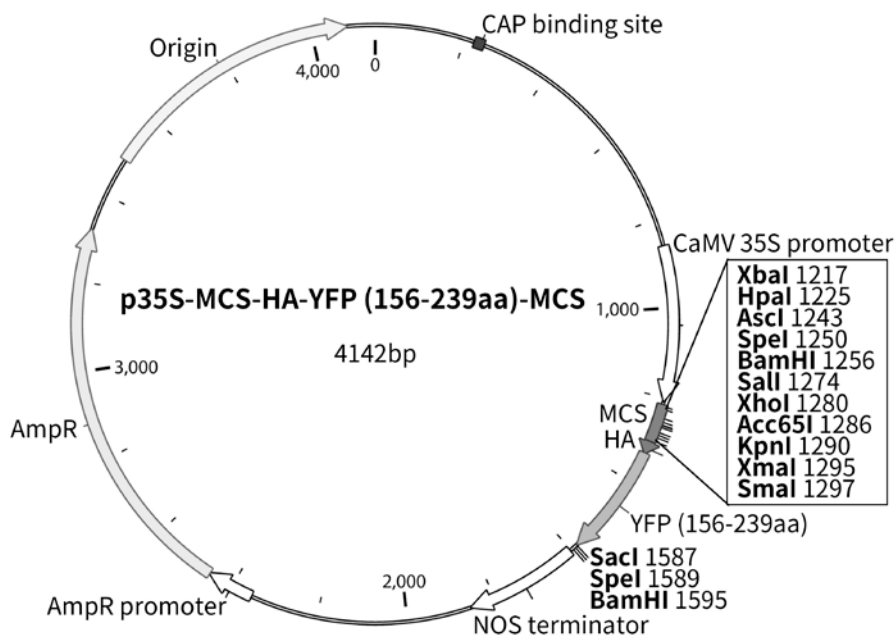


## p35S-MCS-HA-YFP (156-239aa)-MCS (for BiFC)

产品编号	产品名称	包装
D2691-1μg	p35S-MCS-HA-YFP (156-239aa)-MCS (for BiFC)	1μg
D2691-100μg	p35S-MCS-HA-YFP (156-239aa)-MCS (for BiFC)	100μg

### 产品简介:

- p35S-MCS-HA-YFP (156-239aa)-MCS (for BiFC)是一种碧云天研发的植物表达质粒, 可用于表达目的蛋白与HA标签及YFP (156-239aa)的融合蛋白, 并用于双分子荧光互补(Bimolecular fluorescence complementation, BiFC)实验。
- 双分子荧光互补(Bimolecular fluorescence complementation, BiFC)是一种直观、快速可视地判断目的蛋白在活细胞中的定位和相互作用的技术, 通常与酵母双杂、Co-IP、Pull-down等实验结果相互验证, 具有灵敏度高和实验周期短等的优点。BiFC利用荧光蛋白两个β片层间的环状结构上有多个特异性位点可插入外源蛋白却不影响其荧光活性的特性, 将荧光蛋白切割成两个没有荧光活性的分子片段, 然后将两个荧光蛋白片段分别与待研究的两个目的蛋白融合表达。当两个目的蛋白发生相互作用时, 两个不完整的非荧光片段重新结合或空间上相互靠近, 就会重新形成完整的具有活性的荧光蛋白, 在激发光的激发下, 荧光蛋白发出荧光。反之, 若蛋白没有相互作用, 则不能被激发出荧光[1]。
- 本质粒含两个多克隆位点(Multiple cloning sites, MCS), 第一个MCS可用于连接细胞器定位序列或其他标签; 第二个MCS可用于连接目的基因或其他标签。本质粒含有CMV 35S启动子, 可以高效启动目的蛋白在植物细胞中的表达, 在第二个多克隆位点根据阅读框插入目的基因A就可以实现其与HA标签及YFP (156-239aa)的融合表达, 在含YFP (1-155aa)的质粒(D2677/D2681/D2693/D2697)的多克隆区插入目的基因B则可实现它们的融合表达。将这两个表达质粒一起共转化植物原生质体, 可用于验证目的蛋白A和B的相互作用关系及相互作用的位置[1]; 当A和B蛋白发生相互作用时, 可以观察到黄色的YFP荧光信号; 当A和B蛋白没有发生相互作用时, 则观察不到荧光。
- p35S-MCS-HA-YFP (156-239aa)-MCS质粒含植物瞬时转染所需元件, 不可用于植物稳定遗传株系的构建。
- 本质粒为氨苄青霉素(Ampicillin)抗性。可利用其氨苄青霉素抗性, 转化大肠杆菌后筛选阳性克隆。
- 碧云天研发了多对用于BiFC实验的质粒(D2677和D2679、D2681和D2683、D2685和D2687、D2689和D2691、D2693和D2695、D2697和D2699), 可按实验需求选择其中一对或组合(如D2677与D2679/D2683/D2695/D2699, D2679与D2677/D2681/D2693/D2697), 只需简单地将待验证的外源目的基因分别构建到含N段YFP和C段YFP的融合表达质粒上, 搭配碧云天的植物原生质体制备与转化试剂盒(C0360), 或者搭配碧云天的植物原生质体分离试剂盒(C0362)与植物原生质体转染试剂盒(C0563)使用, 即可快速完成从载体构建到荧光检测, 并确认蛋白与蛋白相互作用的实验过程。
- p35S-MCS-HA-YFP (156-239aa)-MCS质粒(4142bp)的图谱如下:



- p35S-MCS-HA-YFP (156-239aa)-MCS质粒的主要信息如下:



PI-SceI	PinAI	PmaCI	PmeI	PmlI	Ppu2II	PsiI
PspCI	PspEI	PspLI	PspOMI	PsyI	RgaI	RigI
RruI	RsrII	Rsr2I	SacII	SanDI	SexAI	SfaAI
SfiI	Sfr303I	SfuI	SgfI	SgrAI	SgrBI	SgrDI
SmiI	SnaBI	SrfI	SstII	Swal	TstI	Tth111I
Van9II	XagI	XcmI	XmaJI			

➤ p35S-MCS-HA-YFP (156-239aa)-MCS中的单酶切位点包括:

AatII	AbsI	Acc65I	AflII	AhdI	AlwNI	ApoI
AscI	BmgBI	BsaBI	BsgI	BsmI	BspDI	BsrGI
BspEI	BspQI	BstAPI	BtgI	BtgZI	ClaI	Eco53kI
EcoRI	EcoRV	HindIII	HpaI	KasI	KpnI	MauBI
MfeI	NarI	NcoI	NdeI	NsiI	PaeR7I	PluTI
PshAI	PspXI	PstI	SacI	Sall	SapI	SbfI
SfoI	SmaI	SphI	SspI	StuI	TspMI	XbaI
XhoI	XmaI	ZraI				

➤ p35S-MCS-HA-YFP (156-239aa)-MCS质粒对于插入片段进行测序时, 推荐使用p35S forward primer和YFP reverse primer, 或tNOS reverse primer, 它们的序列如下:

p35S forward primer (1087-1111): 5'-CGTCTTCAAAGCAAGTGGATTGATG-3'

YFP reverse primer (1404-1425): 5'-GTGTTCTGCTGGTAGTGGTCGG-3'

tNOS reverse primer (1762-1778): 5'-AAATGTATAATTGCGGG-3'

➤ p35S-MCS-HA-YFP (156-239aa)-MCS的全序列信息请参考碧云天的网站上该质粒的信息。

➤ 使用本质粒改造的双荧光质粒p35S-C-HA-YFP (156-239aa)-YFP (156-239aa), 与p35S-C-Myc-YFP (1-155aa)-YFP (1-155aa)共转化拟南芥原生质体后的融合蛋白表达效果请参考图1。

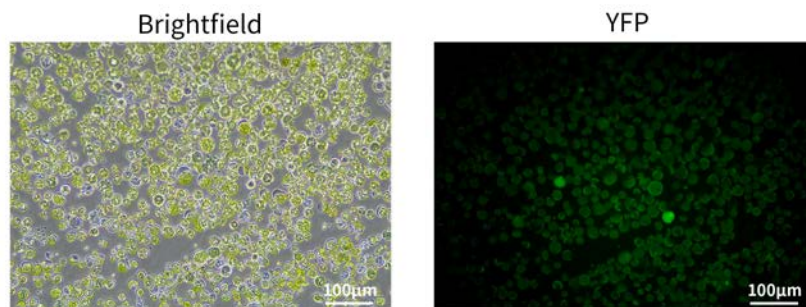


图1. 碧云天p35S-C-HA-YFP (156-239aa)-YFP (156-239aa) (for BiFC) (D2687)与p35S-C-Myc-YFP (1-155aa)-YFP (1-155aa) (for BiFC) (D2685)共转拟南芥原生质体后的融合蛋白表达效果图。在p35S-C-Myc-YFP (1-155aa)-YFP (1-155aa)与p35S-C-HA-YFP (156-239aa)-YFP (156-239aa)质粒上分别连接一对已知的有相互作用的叶绿体蛋白基因 *WRKY33*和 *WRKY12* 作为目的基因, 使用植物原生质体制备与转化试剂盒(C0360)制备拟南芥原生质体并共转各10µg重组质粒, 转化完成后将样品平置25°C弱光培养过夜(约16小时), 次日于荧光显微镜下检测YFP荧光信号。上图为实际检测的明场和荧光照片。实际的检测效果会因检测条件的不同而存在差异, 本图仅供参考。

#### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D2691-1µg	p35S-MCS-HA-YFP (156-239aa)-MCS	1µg
D2691-100µg	p35S-MCS-HA-YFP (156-239aa)-MCS	100µg
—	说明书	1份

#### 保存条件:

-20°C保存。

#### 注意事项:

- 对本质粒的第一个MCS进行载体构建的酶切反应时, 不能选择SpeI和BamHI作为酶切位点, 否则将丢失HA标签和YFP (156-239aa)片段序列。
- 本质粒未经碧云天书面许可不得用于任何商业用途, 也不得移交给订货人所在实验室外的任何个人或单位。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 使用说明:

1. 首次使用1 $\mu$ g包装的本产品时, 请先取少量本质粒转染大肠杆菌, 进行质粒小量、中量或大量抽提后再用于后续用途。抽提获得的质粒可以通过酶切电泳进行鉴定, 或通过测序进行鉴定。
2. 100 $\mu$ g包装的本产品质粒浓度为0.5 $\mu$ g/ $\mu$ l。可以直接用于酶切。

## 参考文献:

1. Hu CD, Chinenov Y, Kerppola TK. Mol Cell. 2002. 9(4):789-98.

## 相关产品:

产品编号	产品名称	包装
C0360	植物原生质体制备与转化试剂盒	10次/40次
C0362S	植物原生质体分离试剂盒	5ml $\times$ 20次
C0563	植物原生质体转染试剂盒	100次/500次
C0268	Protein Endotoxin Removal Kit	200次/1000次
D0026	质粒大量抽提试剂盒	20次
D0028	质粒大量抽提试剂盒(通用型)	20次
D2489	pRD29B-luc (植物报告基因质粒)	1 $\mu$ g/100 $\mu$ g
D2491	pUBI10-GUS (植物报告基因质粒)	1 $\mu$ g/100 $\mu$ g
D2627	p35SPPDK-EGFP-Flag (植物用绿色荧光蛋白)	1 $\mu$ g/100 $\mu$ g
D2675	HA&Myc标签BiFC阳性对照质粒对	各1 $\mu$ g/各100 $\mu$ g
D2677	p35S-C-Myc-YFP (1-155aa) (for BiFC)	1 $\mu$ g/100 $\mu$ g
D2679	p35S-C-HA-YFP (156-239aa) (for BiFC)	1 $\mu$ g/100 $\mu$ g
D2681	p35S-C-Myc-YFP (1-155aa)-DsRed (for BiFC)	1 $\mu$ g/100 $\mu$ g
D2683	p35S-C-HA-YFP (156-239aa)-DsRed (for BiFC)	1 $\mu$ g/100 $\mu$ g
D2685	p35S-C-Myc-YFP (1-155aa)-YFP (1-155aa) (for BiFC)	1 $\mu$ g/100 $\mu$ g
D2687	p35S-C-HA-YFP (156-239aa)-YFP (156-239aa) (for BiFC)	1 $\mu$ g/100 $\mu$ g
D2689	p35S-MCS-Myc-YFP (1-155aa)-MCS (for BiFC)	1 $\mu$ g/100 $\mu$ g
D2691	p35S-MCS-HA-YFP (156-239aa)-MCS (for BiFC)	1 $\mu$ g/100 $\mu$ g
D2693	p35S-TP-C-Myc-YFP (1-155aa) (for BiFC)	1 $\mu$ g/100 $\mu$ g
D2695	p35S-TP-C-HA-YFP (156-239aa) (for BiFC)	1 $\mu$ g/100 $\mu$ g
D2697	p35S-N-TP-Myc-YFP (1-155aa) (for BiFC)	1 $\mu$ g/100 $\mu$ g
D2699	p35S-N-TP-HA-YFP (156-239aa) (for BiFC)	1 $\mu$ g/100 $\mu$ g

Version 2026.03.11