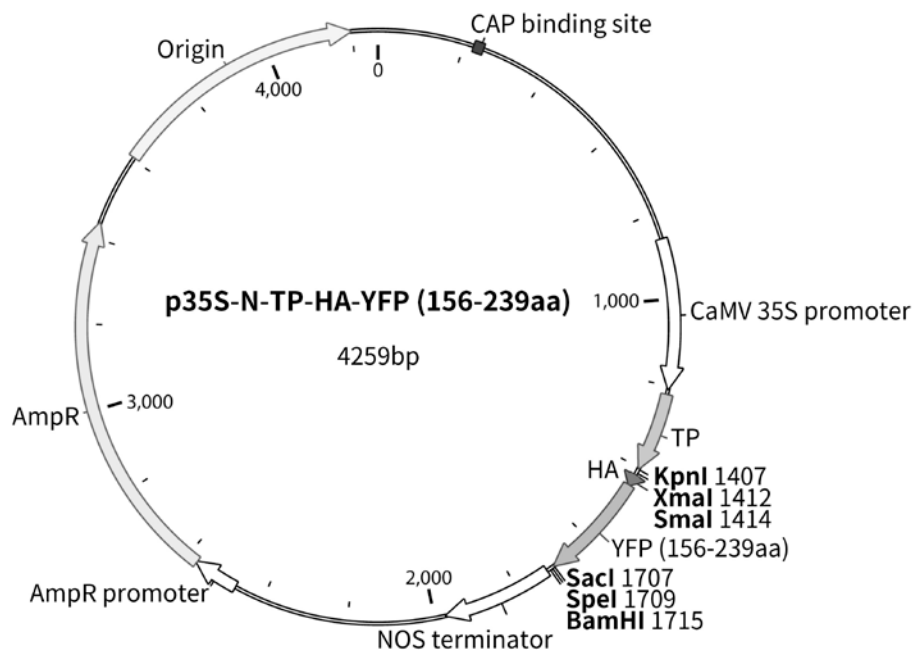


p35S-N-TP-HA-YFP (156-239aa) (for BiFC)

产品编号	产品名称	包装
D2699-1μg	p35S-N-TP-HA-YFP (156-239aa) (for BiFC)	1μg
D2699-100μg	p35S-N-TP-HA-YFP (156-239aa) (for BiFC)	100μg

产品简介:

- p35S-N-TP-HA-YFP (156-239aa) (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]。
- 本质粒含有CMV 35S启动子和叶绿体的转运肽(Transit peptide, TP)，可以高效启动目的蛋白在植物细胞中的表达并将表达的目的蛋白转运到叶绿体中[2]。在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-N-TP-HA-YFP (156-239aa)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-N-TP-HA-YFP (156-239aa)质粒(4259bp)的图谱如下:



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

Feature	Nucleotide	Position
---------	------------	----------

CAP binding site	225-246
CaMV 35S promoter	863-1208
TP (Transit Peptide of Chloroplast)	1223-1402
HA-tag	1418-1447
YFP (156-239aa)	1448-1699
MCS (Multiple Cloning Sites)	1700-1717
NOS terminator	1721-1973
AmpR promoter	2472-2576
AmpR	2577-3437
Origin	3608-4196

➤ p35S-N-TP-HA-YFP (156-239aa)的多克隆位点的详细图谱如下:

	XbaI	Transit Peptide of Chloroplast				
1201	AGAGAACACG	GGGGACTCTA	GAATGGCTTC	CTCTATGCTC	TCTTCCGCTA	
	TCTCTTGTGC	CCCCTGAGAT	CTTACCGAAG	GAGATACGAG	AGAAGGCGAT	
1251	<u>CTATGGTTGC</u>	<u>CTCTCCGGCT</u>	<u>CAGGCCACTA</u>	<u>TGGTCGCTCC</u>	<u>TTTCAACGGA</u>	
	GATACCAACG	GAGAGGCCGA	GTCCTGGTAT	ACCAGCGAGG	AAAGTTGCCT	
1301	<u>CTTAAGTCCT</u>	<u>CCGCTGCCTT</u>	<u>CCCAGCCACC</u>	<u>CGCAAGGCTA</u>	<u>ACAACGACAT</u>	
	GAATTCAGGA	GGCGACGGAA	GGGTCCGGTG	GCGTTCCGAT	TGTTGCTGTA	
1351	<u>TACTTCCATC</u>	<u>ACAAGCAACG</u>	<u>GCGGAAGAGT</u>	<u>TAAGTGCATG</u>	<u>CAGGTGTGGC</u>	
	ATGAAGGTAG	TGTTCTGTTG	CGCCTTCTCA	ATTGACGTAC	GTCCACACCG	
	KpnI	XmaI				
	Acc65I	SmaI	HA-tag		YFP (156-239aa) sequence	
1401	<u>CTGGTACCGC</u>	<u>TCCCGGGATG</u>	<u>TACCCATACG</u>	<u>ATGTTCCAGA</u>	<u>TTACGCTGAC</u>	
	GACCATGGCG	AGGGCCCTAC	ATGGGTATGC	TACAAGGCTT	AATGCGACTG	
1451	<u>AAGCAGAAGA</u>	<u>ACGGCATCAA</u>	<u>GGTGAAGTTC</u>	<u>AAGATCCGCC</u>	<u>ACAACATCGA</u>	
	TTCGTCTTCT	TGCCGTAGTT	CCAATTGAAG	TTCTAGGCGG	TGTTGTAGCT	
1501	<u>GGACGGCAGC</u>	<u>GTGCAGCTCG</u>	<u>CCGACCACTA</u>	<u>CCAGCAGAAC</u>	<u>ACCCCATCG</u>	
	CCTGCCGTCG	CACGTCGAGC	GGCTGGTATG	GGTCGTCTTG	TGGGGGTAGC	
1551	<u>GCGACGGCCC</u>	<u>CGTGCTGCTG</u>	<u>CCCGACAACC</u>	<u>ACTACCTGAG</u>	<u>CTACCAGTCC</u>	
	CGCTGCCGGG	GCACGACGAC	GGGCTGTTGG	TGATGGACTC	GATGGTCAGG	
1601	<u>GCCCTGAGCA</u>	<u>AAGACCCCAA</u>	<u>CGAGAAGCGC</u>	<u>GATCACATGG</u>	<u>TCCTGCTGGA</u>	
	CGGGACTCGT	TTCTGGGGTT	GCTCTTCGCG	CTAGTGTACC	AGGACGACCT	
1651	<u>GTTTCGTGACC</u>	<u>GCCGCCGGGA</u>	<u>TCACTCTCGG</u>	<u>CATGGACGAG</u>	<u>CTGTACAAGT</u>	
	CAAGCACTGG	CGGCGGCCCT	AGTGAGAGCC	GTACCTGCTC	GACATGTTCA	
	SacI	SpeI	BamHI	NOS terminator		
1701	<u>AAGAGCTCAC</u>	<u>TAGTGGATCC</u>	<u>CCCGATCGTT</u>	<u>CAAACATTTG</u>	<u>GCAATAAAGT</u>	
	<u>TTCTCGAGTG</u>	<u>ATCACCTAGG</u>	<u>GGGCTAGCAA</u>	<u>GTTTGTA AAC</u>	<u>CGTTATTTCA</u>	

➤ p35S-N-TP-HA-YFP (156-239aa)中没有的酶切位点包括:

AanI	AatI	AbsI	AccB7I	AcvI	AdeI	AfeI
AgeI	AleI	AlfI	AloI	Aor51HI	Apal	AscI
AsiGI	AsiSI	AspI	AspA2I	AsuII	AsuNHI	AvrII
AxyI	BaeI	BalI	BanIII	BarI	BbrPI	BbvCI
BclI	BglII	BlnI	BlpI	BmtI	BpII	Bpu14I
Bpu1102I	Bsa29I	BsaAI	Bse21I	BseCI	BseX3I	BshVI
BshTI	BsiWI	Bsp68I	Bsp119I	Bsp120I	Bsp1720I	BspDI
BspOI	BspT104I	BspXI	BssNAI	Bst1107I	BstBI	BstBAI
BstEII	BstENI	BstPI	BstSNI	BstXI	BstZI	BstZ17I
Bsu15I	Bsu36I	BsuTUI	BtuMI	CciNI	CelII	Cfr42I
ClaI	CpoI	CsiI	CspI	Csp45I	CspAI	DraIII
EagI	EclXI	Eco47III	Eco52I	Eco72I	Eco81I	Eco91I
Eco105I	Eco147I	EcoNI	EcoO65I	FbaI	FseI	FspAI
I-CeuI	I-PpoI	I-SceI	KflI	KspI	Ksp22I	MabI
MlsI	MluI	MluNI	Mox20I	MreI	MroNI	MscI

Msp20I	MssI	NaeI	Nb.BbvCI	NgoMIV	NheI	NotI
NruI	NspV	Nt.BbvCI	OliI	PacI	PaeR7I	PalAI
PasI	PceI	PdiI	Pfl23II	PflFI	PflMI	PI-PspI
PI-SceI	PinAI	PmaCI	PmeI	PmlI	Ppu21I	PsiI
PspCI	PspEI	PspLI	PspOMI	PspXI	PsyI	RgaI
RigI	RruI	RsrII	Rsr2I	SacII	SalI	SanDI
SexAI	SfaAI	SfiI	Sfr274I	Sfr303I	SfuI	Sgfi
SgrAI	SgrBI	SgrDI	SgsI	SlaI	SmiI	SnaBI
SrfI	SseBI	SstII	StuI	Swal	TstI	Tth111I
Van91I	XagI	XcmI	XhoI	XmaJI		

➢ p35S-N-TP-HA-YFP (156-239aa)中的单酶切位点包括:

AatII	AccI	Acc65I	AhdI	AlwNI	ApoI	BamHI
BanII	BmgBI	BsaBI	BsgI	BsmI	BspEI	BspQI
BsrGI	BstAPI	BtgI	BtgZI	Eco53kI	EcoRI	EcoRV
HindIII	HpaI	KasI	KpnI	MauBI	MfeI	NarI
NcoI	NdeI	NsiI	PaqCI	PluTI	PstI	SacI
SapI	SbfI	SfoI	SmaI	SpeI	SspI	TspMI
XbaI	XmaI	ZraI				

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

YFP forward primer (1596-1613): 5'-TGAACCGCATCGAGCTGAAG-3'

tNOS reverse primer (1879-1895): 5'-AAATGTATAATTGCGGG-3'

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

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D2699-1μg	p35S-N-TP-HA-YFP (156-239aa)	1μg
D2699-100μg	p35S-N-TP-HA-YFP (156-239aa)	100μg
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存。

注意事项:

- 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1μg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. 100μg包装的本产品质粒浓度为0.5μg/μl。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.
2. Ouyang M, Li X, Zhang J, Feng P, Pu H, K, et al. Cell. 2020. 180(6):1144-1159.e20.

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×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)	1μg/100μg

D2491	pUBI10-GUS (植物报告基因质粒)	1μg/100μg
D2627	p35SPPDK-EGFP-Flag (植物用绿色荧光蛋白)	1μg/100μg
D2675	HA&Myc标签BiFC阳性对照质粒对	各1μg/各100μg
D2677	p35S-C-Myc-YFP (1-155aa) (for BiFC)	1μg/100μg
D2679	p35S-C-HA-YFP (156-239aa) (for BiFC)	1μg/100μg
D2681	p35S-C-Myc-YFP (1-155aa)-DsRed (for BiFC)	1μg/100μg
D2683	p35S-C-HA-YFP (156-239aa)-DsRed (for BiFC)	1μg/100μg
D2685	p35S-C-Myc-YFP (1-155aa)-YFP (1-155aa) (for BiFC)	1μg/100μg
D2687	p35S-C-HA-YFP (156-239aa)-YFP (156-239aa) (for BiFC)	1μg/100μg
D2689	p35S-MCS-Myc-YFP (1-155aa)-MCS (for BiFC)	1μg/100μg
D2691	p35S-MCS-HA-YFP (156-239aa)-MCS (for BiFC)	1μg/100μg
D2693	p35S-TP-C-Myc-YFP (1-155aa) (for BiFC)	1μg/100μg
D2695	p35S-TP-C-HA-YFP (156-239aa) (for BiFC)	1μg/100μg
D2697	p35S-N-TP-Myc-YFP (1-155aa) (for BiFC)	1μg/100μg
D2699	p35S-N-TP-HA-YFP (156-239aa) (for BiFC)	1μg/100μg

Version 2026.03.11