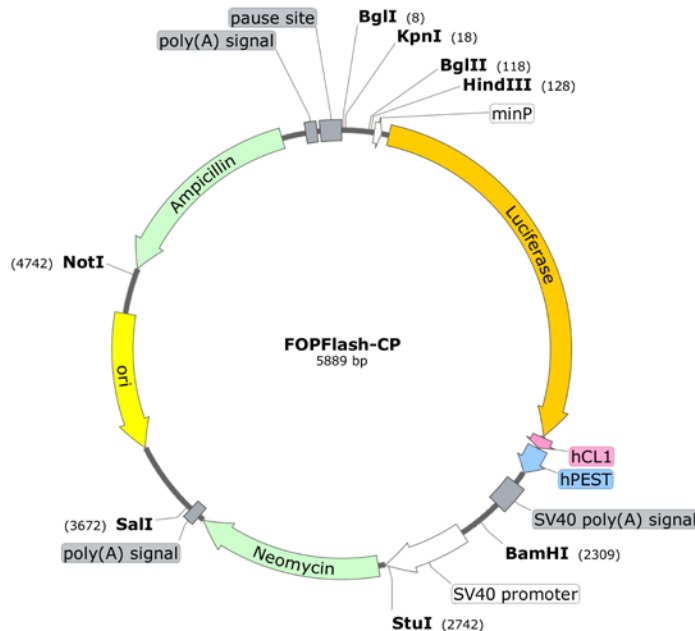


FOPFlash-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)

产品编号	产品名称	包装
D2504-1μg	FOPFlash-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	1μg
D2504-100μg	FOPFlash-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	100μg

产品简介：

- FOPFlash-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)是TOPFlash-CP (D2502)的阴性对照报告基因质粒。
- FOPFlash-CP是一种超灵敏快速降解型报告基因质粒(Super sensitive and destabilized reporter plasmid), 也被称为是快速响应萤光素酶报告基因质粒(Rapid response luciferase reporter plasmid), 是以碧云天的pGL6-TA-CP质粒(D2094)为模板, 在其多克隆位点插入突变的TCF/LEF结合位点序列; 它包括两组突变的TCF/LEF结合位点序列, 一组为正向序列, 另一组是它的反向互补序列, 每组中有三个重复序列。与FOPFlash (D2503)相比, FOPFlash-CP中的萤光素酶增加了泛素化修饰识别序列CP。
- FOPFlash-CP质粒是用于在哺乳动物细胞中进行萤火虫萤光素酶(Firefly luciferase)报告基因检测的新一代质粒, 该报告基因质粒和Promega公司的pGL3系列相比有了全面的改进。一方面对于luciferase的编码进行了改进, 确保能更好地在哺乳动物细胞中进行表达; 另一方面应用了快速降解型报告基因技术, 在luciferase后增加了泛素-蛋白酶体系统识别和降解序列CL1和PEST, 合并简称CP, 从而可以促进luciferase-CP在细胞中的降解, 降低萤光素酶的本底活性。同时整个质粒中可以被预测出的可能的转录因子结合位点全部进行了适当的突变处理, 在保持原有功能不变的情况下, 使各种转录因子在质粒上的非特异性结合降到最低。
- 本质粒中的CP包含针对哺乳动物细胞密码子优化的降解序列hCL1和hPEST。CL1源自酿酒酵母的16个氨基酸序列, 可以引导蛋白质通过泛素-蛋白酶体系统(Ubiquitin-proteasome system)降解[1]; PEST源自小鼠鸟氨酸脱羧酶(Ornithine decarboxylase) C端的40个氨基酸序列(富含脯氨酸/proline (P)、谷氨酸/glutamic acid (E)、丝氨酸/serine (S)和苏氨酸/threonine (T), PEST), 该序列可通过泛素-蛋白酶体系统促进蛋白质的降解[2]。与普通报告基因相比, 快速降解型报告基因的背景更低, 响应性更好, 检测灵敏度更高, 更适合监测动态变化过程, 例如转录活性的节律变化等。
- 萤光素、萤光素酶、萤火虫萤光素酶和海肾萤光素酶也经常被称为荧光素、荧光素酶、萤火虫荧光素酶和海肾荧光素酶。
- FOPFlash-CP质粒的图谱如下:



- FOPFlash-CP质粒的主要信息如下:

Base pairs	5889
Minimal TA promoter (pTA)	140-171
Luciferase reporter gene	204-1853
hCL1	1860-1907
hPEST	1911-2030

SV40 late poly(A) signal	2086-2207
SV40 early enhancer/promoter	2401-2758
Neomycin	2789-3583
Synthetic poly(A) signal	3608-3656
Reporter Vector primer 4 (RVprimer4) binding region	3723-3742
ColE1-derived plasmid replication origin	3980
Ampicillin	4771-5631
Synthetic poly(A) signal/transcriptional pause site	5736-5889
Reporter Vector primer 3 (RVprimer3) binding region	5838-5857

➤ FOPFlash-CP质粒的TCF binding sites (mutant)序列如下:

	Bgl I	Kpn I	TCF binding sites		
1	GGCCTAACTG	GCCGGTACCA	GGCCAAAGGG	GGTAAGGCCA	AAGGGGGTAA
	CCGGATTGAC	CGGCCATGGT	CCGGTTTCCC	CCATTCCGGT	TTCCCCCATT
51	GGCCAAAGGG	GGCCCCCTTT	GGCCTTACCC	CCTTTGGCCT	TACCCCTTTT
	CCGGTTTCCC	CCGGGGGAAA	CCGGAATGGG	GGAAACCGGA	ATGGGGGAAA
	Sac I	Mlu I	Bgl II	Hind III	
101	GGCCTGAGCT	CACGCGTAGA	TCTGCAGGAA	GCTTAGACAC	
	CCGGACTCGA	GTGCGCATCT	AGACGTCTT	CGAATCTGTG	

➤ FOPFlash-CP质粒中没有的酶切位点包括:

Aat II	Asc I	Ase I	Bsa I	BsaA I	BsiW I	BspM II	BssH II
Eco72 I	EcoR I	EcoR V	Nde I	Nhe I	Nru I	Paer7 I	PflM I
Pme I	Pml I	Psp1406 I	PspA I	Rsr II	Sma I	SnaB I	Spl I
Srf I	Tth111 I	Vsp I	Xcm I	Xho I			

➤ FOPFlash-CP质粒中的单酶切位点包括:

Sfi I	GGCCN, NNN`NGGCC	8	EcoN I	CCTNN`N, NNAGG	3263
Bgl I	GCCN, NNN`NGGC	8	BstB I	T`CG, AA	3658
Acc65 I	G`GTAC, C	14	Sal I	G`TCGA, C	3672
Asp718	G`GTAC, C	14	ApaL I	G`TGCA, C	4236
Kpn I	G, GTAC`C	18	Not I	GC`GGCC, GC	4742
Sac I	G, AGCT`C	110	BstX I	CCAN, NNNN`NTGG	4766
Mlu I	A`CGCG, T	112	BstE II	G`GTNAC, C	4769
Bgl II	A`GATC, T	118	Ahd I	GACNN, N`NNGTC	4844
Hind III	A`AGCT, T	128	Bsu36 I	CC`TNA, GG	5200
BsrG I	T`GTAC, A	694	Pvu I	CG, AT`CG	5214
Gsu I	CTGGAG 21/19	1584	Sac II	CC, GC`GG	5238
Bpm I	CTGGAG 22/20	1584	Bst1107 I	GTA TAC	5354
Mun I	C`AATT, G	2216	Spe I	A`CTAG, T	5673
BamH I	G`GATC, C	2309	BsmA I	GTCTC`/9	5686
Stu I	AGG CCT	2742	BsmB I	CGTCTC 7/11	5686

➤ FOPFlash-CP质粒中推荐的测序引物序列如下:

RVprimer3 (5838-5857): CTA GCA AAA TAG GCT GTC CC

➤ FOPFlash-CP质粒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
D2504-1μg	FOPFlash-CP	1μg
D2504-100μg	FOPFlash-CP	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. 首次使用时请先取少量本质粒转化大肠杆菌，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0.1µg/µl，共1ml。可以直接用于酶切或者转染细胞。
3. FOPFlash-CP可以用常规的细胞转染方法转染细胞。检测时可采用碧云天的萤光素酶报告基因检测试剂盒(RG005/RG006)或双萤光素酶报告基因检测试剂盒(RG027/RG028)。

参考文献：

1. Gilon T, Chomsky O, Kulka R.G. EMBO J. 1998. 17:2759-66.
2. Rogers S, Wells R, Rechsteiner M. Science. 1986. 234 (4774):364-8.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D2093-1µg	pGL6-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	1µg
D2093-100µg	pGL6-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	100µg
D2094-1µg	pGL6-TA-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	1µg
D2094-100µg	pGL6-TA-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	100µg
D2110-1µg	pAP1-TA-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	1µg
D2110-100µg	pAP1-TA-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	100µg
D2113-1µg	pARE-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	1µg
D2113-100µg	pARE-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	100µg
D2180-1µg	pISRE-TA-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	1µg
D2180-100µg	pISRE-TA-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	100µg
D2208-1µg	pNFκB-TA-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	1µg
D2208-100µg	pNFκB-TA-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	100µg
D2224-1µg	pp53-TA-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	1µg
D2224-100µg	pp53-TA-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	100µg
D2260-1µg	pSTAT3-TA-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	1µg
D2260-100µg	pSTAT3-TA-luc-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	100µg
D2502-1µg	TOPFlash-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	1µg
D2502-100µg	TOPFlash-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	100µg
D2504-1µg	FOPFlash-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	1µg
D2504-100µg	FOPFlash-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	100µg
D2506-1µg	SuperTOPFlash-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	1µg
D2506-100µg	SuperTOPFlash-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	100µg
D2508-1µg	SuperFOPFlash-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	1µg
D2508-100µg	SuperFOPFlash-CP(超灵敏快速降解型报告基因质粒)	100µg

Version 2021.12.09