

p35SPPDK-EGFP-Flag(植物用绿色荧光蛋白)

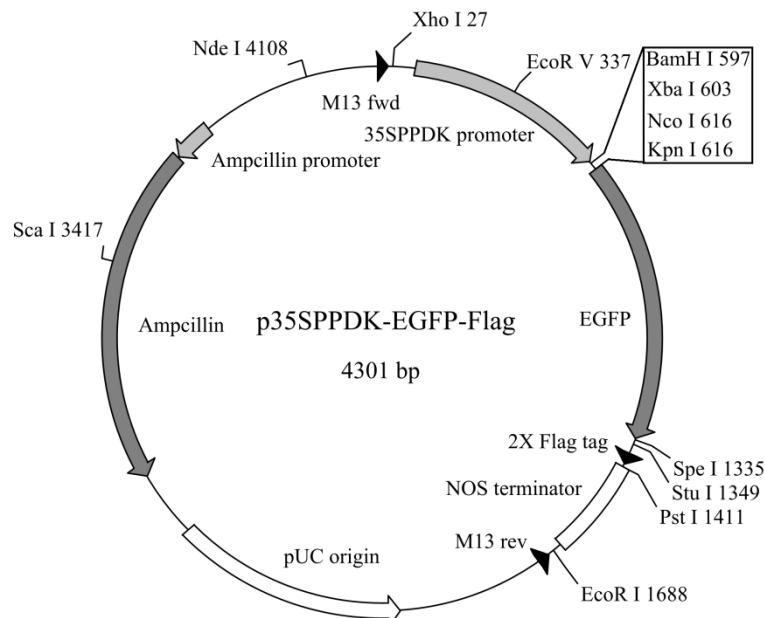
产品编号	产品名称	包装
D2627-1μg	p35SPPDK-EGFP-Flag(植物用绿色荧光蛋白)	1μg
D2627-100μg	p35SPPDK-EGFP-Flag(植物用绿色荧光蛋白)	100μg

产品简介:

- p35SPPDK-EGFP-Flag(植物用绿色荧光蛋白)是碧云天自行研发的植物(如拟南芥等)原生质体表达质粒, 可以作为原生质体瞬时转染的阳性对照质粒或通过构建EGFP融合蛋白而实现观察目的蛋白的亚细胞定位的目的。EGFP序列的N端有多个限制性酶切位点, 根据阅读框在此插入目的基因就可以表达C端含有EGFP标签的融合蛋白, 利用EGFP的荧光特性可以比较容易地观察融合蛋白的表达水平和细胞内定位; EGFP序列的C端有2X Flag标签(DYKDDDDKDYKDDDDK), 可以在融合蛋白质粒转染原生质体后实现Western Blot检查融合蛋白表达水平的目的。质粒为氨苄青霉素抗性。
- p35SPPDK promoter-EGFP-Flag载体中EGFP基因由35SPPDK强启动子驱动表达。35SPPDK强启动子由花椰菜花叶病毒35S(CaMV35S)启动子与玉米C4PPDK启动子融合而成, 可以高效启动目的蛋白在植物细胞中的表达。
- p35SPPDK-EGFP-Flag载体仅保植物留瞬时转染所需元件, 为避免由于载体过大导致原生质体转染效率降低而采用精简的载体结构。此载体不可用于植物稳定遗传株系的构建。
- p35SPPDK-EGFP-Flag采用来自农杆菌的胭脂碱合酶基因的终止子(nopaline synthase terminator, NOS-T), 用于终止RNA聚合酶转录, 对目的基因的表达进行调控。
- p35SPPDK-EGFP-Flag质粒的主要信息如下:

Feature	Nucleotide	Position
M13 forward primer(M13 fwd)		1-17
35SPPDK promoter		84-593
EGFP		617-1333
2X Flag-tag		1355-1402
NOS terminator		1411-1663
M13 reverse primer(M13 rev)		1702-1718
lac operator		1726-1742
lac promoter		1750-1780
CAP binding site		1795-1816
pUC origin		2104-2692
Ampicillin resistance ORF		2863-3723
Ampicillin promoter		3724-3828

- p35SPPDK-EGFP-Flag质粒(4301bp)的图谱如下:



➤ p35SPPDK-EGFP-Flag的详细图谱如下:

	M13 forward primer		XhoI		
1	GTAAAACGAC	GGCCAGTGCC	AAGCTCTCGA	GAAGCTTACT	CCAAGAATAT
	CATTTTGCTG	CCGGTCACGG	TTCGAGAGCT	CTTCGAATGA	GGTTCTTATA
				35SPPDK promoter	
				CaMV 35S promoter	
51	CAAAGATACA	GTCTCAGAAAG	ACCAAAGGGC	TATTGAGACT	TTTCAACAAA
	GTTTCTATGT	CAGAGTCTTC	TGGTTTCCCG	ATAACTCTGA	AAAGTTGTTT
101	GGGTAATATC	GGGAAACCTC	CTCGGATTCC	ATTGCCCAGC	TATCTGTCAC
	CCCATTATAG	CCCTTTGGAG	GAGCCTAAGG	TAACGGGTCG	ATAGACAGTG
151	TTCATCAAAA	GGACAGTAGA	AAAGGAAGGT	GGCACCTACA	AATGCCATCA
	AACGCTATTT	CCTTTCCGAT	AGCAAGTTCT	ACGGAGACGG	CTGTCACCAG
201	TTGCGATAAA	GGAAAGGCTA	TCGTTCAAGA	TGCCTCTGCC	GACAGTGGTC
	AACGCTATTT	CCTTTCCGAT	AGCAAGTTCT	ACGGAGACGG	CTGTCACCAG
251	CCAAAGATGG	ACCCCACCC	ACAAGGAGCA	TCGTGGAAAA	AGAAGACGTT
	GGTTTCTACC	TGGGGTGGG	TGTTCTCTCGT	AGCACCTTTT	TCTTCTGCAA
301	CCAACCACGT	CTTCAAAGCA	AGTGGATTGA	TGTGATATCT	CCACTGACGT
	GGTTGGTGCA	GAAGTTTCGT	TCACCTAACT	ACACTATAGA	GGTGACTGCA
351	AAGGGATGAC	GCACAATCCC	ACTATCCTTC	GCCCCAAGCT	TGGGCCCAAG
	TTCCCTACTG	CGTGTTAGGG	TGATAGGAAG	CGGGGTTCGA	ACCCGGGTTC
				C4PPDK basal promoter	
401	CTTGG GTCGC	GCCCCACGGA	TGGTATAAGA	ATAAAGGCAT	TCCGCGTGCA
	GAACC CAGCG	CGGGGTGCCT	ACCATATTCT	TATTTCCGTA	AGGCGCACGT
451	GGATTCACCC	GTTTCGCCTCT	CACCTTTTTCG	CTGTACTCTC	TCGCCACACA
	CCTAAGTGGG	CAAGCGGAGA	GTGGAAAAGC	GACATGAGAG	AGCGGTGTGT
501	CACCCCTCT	CCAGCTCCGT	TGGAGCTCCG	GACAGCAGCA	GGCGCGGGC
	GTGGGGGAGA	GGTCGAGGCA	ACCTCGAGGC	CTGTCGTCGT	CCGCGCCCCG
				BmaHI	
551	GGTCACGTAG	TAAGCAGCTC	TCGGCTCCCT	CTCCCCCTGC	TCCGTGGATC
	CCAGTGCATC	ATTCTGTCGAG	AGCCGAGGGA	GAGGGGAACG	AGGCACCTAG
				EGFP	
	XbaI	KpnI	NcoI		
601	CTCTAGAATG	GGTACCATGG	TGAGCAAGGG	CGAGGAGCTG	TTCACCGGGG
	GAGATCTTAC	CCATGGTACC	ACTCGTTCCC	GTCCTCTGAC	AAGTGGCCCC
651	TGGTGCCCAT	CCTGGTCGAG	CTGGACGGCG	ACGTAAACGG	CCACAAGTTC
	ACCACGGGTA	GGACCAGCTC	GACCTGCCGC	TGCATTTGCC	GGTGTTC AAG
701	AGCGTGTCCG	GCGAGGGCGA	GGGCGATGCC	ACCTACGGCA	AGCTGACCCT
	TCGCACAGGC	CGCTCCCGCT	CCCGCTACGG	TGGATGCCGT	TCGACTGGGA
751	GAAGTTCATC	TGCACCACCG	GCAAGCTGCC	CGTGCCCTGG	CCCACCCTCG
	CTTCAAGTAG	ACGTGGTGGC	CGTTCGACGG	GCACGGGACC	GGGTGGGAGC
801	TGACCACCTT	CACCTACGGC	GTGCAGTGCT	TCAGCCGCTA	CCCCGACCAC
	ACTGGTGGAA	GTGGATGCCG	CACGTCACGA	AGTCGGCGAT	GGGGCTGGTG
851	ATGAAGCAGC	ACGACTTCTT	CAAGTCCGCC	ATGCCC GAAG	GCTACGTCCA
	TACTTCGTCTG	TGCTGAAGAA	GTTCAGGCGG	TACGGGCTTC	CGATGCAGGT
901	GGAGCGCACC	ATCTTCTTCA	AGGACGACGG	CAACTACAAG	ACCCGCGCCG
	CCTCGCGTGG	TAGAAGAAGT	TCCTGCTGCC	GTTGATGTTC	TGGGCGCGGC
951	AGGTGAAGTT	CGAGGGCGAC	ACCCTGGTGA	ACCGCATCGA	GCTGAAGGGC
	TCCACTTCAA	GCTCCCGCTG	TGGGACCACT	TGGCGTAGCT	CGACTTCCCG
1001	ATCGACTTCA	AGGAGGACGG	CAACATCCTG	GGGCACAAGC	TGGAGTACAA
	TAGCTGAAGT	TCCTCTGCC	GTTGTAGGAC	CCCCTGTTTCG	ACCTCATGTT
1051	CTACAACAGC	CACAACGTCT	ATATCATGGC	CGACAAGCAG	AAGAACGGCA

GATGTTGTCG GTGTTGCAGA TATAGTACCG GCTGTTTCGTC TTCTTGCCGT

1101 TCAAGGTGAA CTTCAAGATC CGCCACAACA TCGAGGACGG CAGCGTGCAG
AGTTCCACTT GAAGTTCTAG GCGGTGTTGT AGCTCCTGCC GTCGCACGTC

1151 CTCGCCGACC ACTACCAGCA GAACACCCCC ATCGGCGACG GCCCCGTGCT
GAGCGGCTGG TGATGGTCTG CTTGTGGGGG TAGCCGCTGC CGGGGCACGA

1201 GCTGCCCGAC AACCACTACC TGAGCACCCA GTCCGCCCTG AGCAAAGACC
CGACGGGCTG TTGGTGATGG ACTCGTGGGT CAGGCGGGAC TCGTTTCTGG

1251 CCAACGAGAA GCGCGATCAC ATGGTCCTGC TGGAGTTCGT GACCGCCGCC
GGTTGCTCTT CGCGTAGTG TACCAGGACG ACCTCAAGCA CTGGCGGCGG

1301 GGGATCACTC ACGGCATGGA CGAGCTGTAC AAGACTAGTC GTACCAGGCC
CCCTAGTGAG TGCCGTACCT GCTCGACATG TTCTGATCAG CATGGTCCGG

2X Flag Tag

D Y K D D D D K D Y K D D D D K

1351 TTCTGACTAC AAGGACGACG ATGACAAGGA CTACAAGGAC GACGATGACA
AAGACTGATG TTCCTGCTGC TACTGTTCTT GATGTTCTTG CTGCTACTGT

PstI

1401 AGTGACTGCA
TCACTGACGT

➤ p35SPPDK-EGFP-Flag中没有的酶切位点(Restriction enzymes that do not cut p35SPPDK-EGFP-Flag包括:

AccI	AfeI	AgeI	AscI	AsiSI	AvrII	BbvCI
BclI	BfuAI	BglII	BlpI	BmtI	BsiWI	BspDI
BspMI	BstBI	BstEII	BstXI	BstZ17I	Bsu36I	ClaI
DraIII	EagI	EcoNI	FseI	HincII	HpaI	MfeI
MluI	MscI	NaeI	NgoMIV	NheI	NotI	NruI
PacI	PflFI	PflMI	PmeI	PmlI	PpuMI	PsiI
PspXI	RsrII	SacII	SalI	SbfI	SexAI	SfiI
SgrAI	SmaI	SnaBI	SphI	SrfI	SwaI	TspMI
Tth111I	XcmI	XmaI				

➤ p35SPPDK-EGFP-Flag中的单酶切位点(Restriction enzymes that cut p35SPPDK-EGFP-Flag once)包括:

AatII	G,ACGT`C	3858	EcoRV	GAT ATC	337
Acc65I	G`GTAC,C	611	KasI	G`GCGC,C	4158
AflII	A`CRYG,T	1440	KpnI	G,GTAC`C	616
AhdI	GACNN,N`NNGTC	2936	NarI	GG`CG,CC	4159
AlwNI	CAG,NNN`CTG	2459	NcoI	C`CATG,G	616
ApaI	G,GGCC`C	396	NdeI	CA`TA,TG	4108
ApoI	R`AATT,Y	1687	NsiI	A,TGCA`T	1531
AvaI	C`YCGR,G	26	Paer7I	C`TCGA,G	26
BaeI	,(N) ₅ `(N) ₁ ACNNNNGTAYC(N) ₇ ,,(N) ₅ `	598	PluTI	G,GCGC`C	4162
BamHI	G`GATC,C	597	PshAI	GACNN NNGTC	245
BmgBI	CAC GTC	308	PspOMI	G`GGCC,C	392
BsaAI	YAC GTR	556	PstI	C,TGCA`G	1411
BsaBI	GATNN NNATC	1474	SacI	G,AGCT`C	523
BsaI	GGTCTCN`NNNN,	2997	SapI	GCTCTCN`NNN,	1927
BsmI	G`AATG,CN`	437	ScaI	AGT ACT	3417
BsoBI	C`YCGR,G	26	SfoI	GGC GCC	4160
BspEI	T`CCGG,A	527	SpeI	A`CTAG,T	1335
BspQI	GCTCTCN`NNN,	1927	SspI	AAT ATT	3740
BsrGI	T`GTAC,A	1326	StuI	AGG CCT	1349
BstAPI	GCAN,NNN`NTGC	4105	StyI	C`CWWG,G	615
CspCI	NN`(N)11CAA(N)5GTGG(N)10,NN`	300	XbaI	T`CTAG,A	603
Eco53kI	GAG CTC	525	XhoI	C`TCGA,G	27
EcoO109I	RG`GNC,CY	3912	ZraI	GAC GTC	3856
EcoRI	G`AATT,C	1688			

➤ p35SPPDK-EGFP-Flag质粒可使用的测序引物序列如下:

35SPPDK forward primer(473-494): 5' -CCTTTTCGCTGTA CTCTCTCGC-3'
EGFP reverse primer(670-689): 5' -CGTTTACGTCGCCGTCCAG-3'

➤ p35SPPDK-EGFP-Flag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
D2627-1 μ g	p35SPPDK-EGFP-Flag	1 μ g
D2627-100 μ g	p35SPPDK-EGFP-Flag	100 μ g
—	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1 μ 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 μ g包装的本产品质粒浓度为0.1 μ g/ μ l，共1ml。可以直接用于酶切。用于植物原生质体转染需进行质粒大量抽提。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
C0362S	植物原生质体分离试剂盒	5mlx20次
C0563S	植物原生质体转染试剂盒	100次
C0563M	植物原生质体转染试剂盒	500次
D2489-1 μ g	pRD29B-luc (植物报告基因质粒)	1 μ g
D2489-100 μ g	pRD29B-luc (植物报告基因质粒)	100 μ g
D2491-1 μ g	pUBI10-GUS (植物报告基因质粒)	1 μ g
D2491-100 μ g	pUBI10-GUS (植物报告基因质粒)	100 μ g
P0043-100ml	植物Western及IP细胞裂解液	100ml
P0045-100ml	植物RIPA裂解液(强)	100ml

Version 2020.07.15