

## p35SPPDK-EGFP-Flag(植物用绿色荧光蛋白)

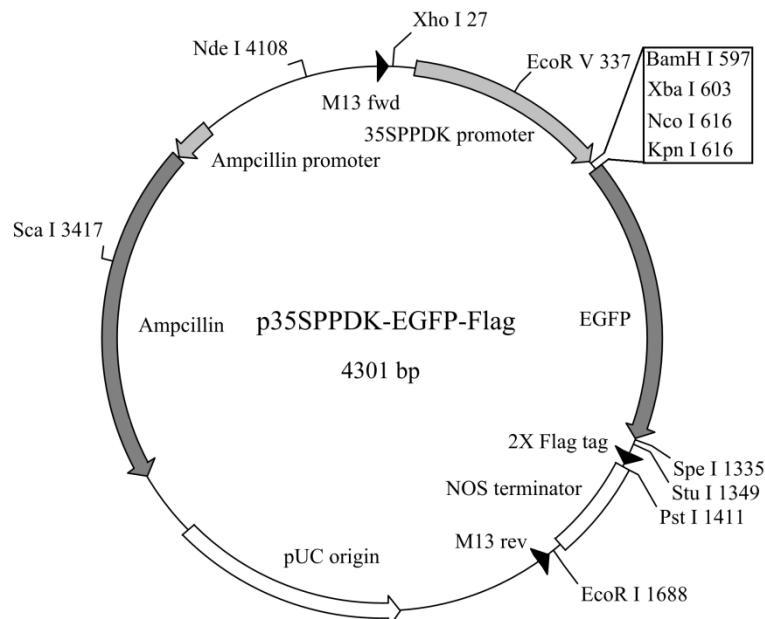
产品编号	产品名称	包装
D2627-1μg	p35SPPDK-EGFP-Flag(植物用绿色荧光蛋白)	1μg
D2627-100μg	p35SPPDK-EGFP-Flag(植物用绿色荧光蛋白)	100μg

### 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
    GTTCTATATG  CAGAGTCTTC  TGGTTTCCCG  ATAACTCTGA  AAAGTTGTTT

101  GGGTAATATC  GGGAAACCTC  CTCGGATTCC  ATTGCCCAGC  TATCTGTCAC
    CCCATTATAG  CCCTTTGGAG  GAGCCTAAGG  TAACGGGTCG  ATAGACAGTG

151  TTCATCAAAA  GGACAGTAGA  AAAGGAAGGT  GGCACCTACA  AATGCCATCA
    AACGCTATTT  CCTTTCGGAT  AGCAAGTTCT  ACGGAGACGG  CTGTCACCAG

201  TTGCGATAAA  GGAAAGGCTA  TCGTTCAAGA  TGCCTCTGCC  GACAGTGGTC
    AACGCTATTT  CCTTTCGGAT  AGCAAGTTCT  ACGGAGACGG  CTGTCACCAG

251  CCAAAGATGG  ACCCCCACCC  ACAAGGAGCA  TCGTGGAAAA  AGAAGACGTT
    GGTTCCTACC  TGGGGTGGG  TGTTCCTCGT  AGCACCTTTT  TCTTCTGCAA

301  CCAACCACGT  CTTCAAAGCA  AGTGGATTGA  TGTGATATCT  CCACTGACGT
    GGTGTTGGTGA  GAAGTTTCGT  TCACCTAACT  AACTATAGA  GGTGACTGCA

351  AAGGGATGAC  GCACAATCCC  ACTATCCTTC  GCCCAAGCT  TGGGCCCAAG
    TTCCCTACTG  CGTGTAGGG  TGATAGGAAG  CGGGTTCGA  ACCCGGGTTC

C4PPDK basal promoter
401  CTTGG|GTCGC  GCCCCACGGA  TGGTATAAGA  ATAAAGGCAT  TCCGCGTGCA
    GAACC|CAGCG  CGGGTGCCT  ACCATATTCT  TATTTCCGTA  AGGCGCACGT

451  GGATTCACCC  GTTCGCCTCT  CACCTTTTTCG  CTGTACTCTC  TCGCCACACA
    CCTAAGTGGG  CAAGCGGAGA  GTGGAAAAGC  GACATGAGAG  AGCGGTGTGT

501  CACCCCTCT  CCAGCTCCGT  TGGAGCTCCG  GACAGCAGCA  GGCGCGGGGC
    GTGGGGGAGA  GGTCGAGGCA  ACCTCGAGGC  CTGTCGTCTG  CCGCGCCCCG

BmaHI
551  GGTACAGTAG  TAAGCAGCTC  TCGGCTCCCT  CTCCCCTTGC  TCCGTGGATC
    CCAGTGCATC  ATTCGTCGAG  AGCCGAGGGA  GAGGGGAACG  AGGCACCTAG

EGFP
XbaI      KpnI      NcoI
601  CTCTAGAATG  GGTACCATGG  TGAGCAAGGG  CGAGGAGCTG  TTCACCGGGG
    GAGATCTTAC  CCATGGTACC  ACTCGTTCCC  GTCCTTCGAC  AAGTGGCCCC

651  TGGTGCCCAT  CCTGGTCGAG  CTGGACGGCG  ACGTAAACGG  CCACAAGTTC
    ACCACGGGTA  GGACCAGCTC  GACCTGCCGC  TGCATTTGCC  GGTGTTCAAG

701  AGCGTGTCCG  GCGAGGGCGA  GGGCGATGCC  ACCTACGGCA  AGCTGACCCT
    TCGCACAGGC  CGTCCCCTG  CCCGCTACGG  TGGATGCCGT  TCGACTGGGA

751  GAAGTTCATC  TGCACCACCG  GCAAGCTGCC  CGTGCCCTGG  CCCACCCTCG
    CTTCAAGTAG  ACGTGGTGGC  CGTTCGACGG  GCACGGGACC  GGGTGGGAGC

801  TGACCACCTT  CACCTACGGC  GTGCAGTGCT  TCAGCCGCTA  CCCCAGCCAC
    ACTGGTGGAA  GTGGATGCCG  CACGTCACGA  AGTCGGCGAT  GGGGCTGGTG

851  ATGAAGCAGC  ACGACTTCTT  CAAGTCCGCC  ATGCCCGAAG  GCTACGTCCA
    TACTTCGTCG  TGCTGAAGAA  GTTCAGGCGG  TACGGGCTTC  CGATGCAGGT

901  GGAGCGCACC  ATCTTCTTCA  AGGACGACGG  CAACTACAAG  ACCCGCGCCG
    CCTCGCGTGG  TAGAAGAAGT  TCCTGCTGCC  GTTGATGTTC  TGGGCGCGGC

951  AGGTGAAGTT  CGAGGGCGAC  ACCCTGGTGA  ACCGCATCGA  GCTGAAGGGC
    TCCACTTCAA  GCTCCCCTG  TGGGACCACT  TGGCGTAGCT  CGACTTCCCG

1001  ATCGACTTCA  AGGAGGACGG  CAACATCCTG  GGGCACAAGC  TGGAGTACAA
    TAGCTGAAGT  TCCTCCTGCC  GTTGTAGGAC  CCCGTGTTTC  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) <sub>5</sub> `(N) <sub>1</sub> ACNNNNGTAYC(N) <sub>7</sub> , (N) <sub>5</sub> `	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'-CCTTTTCGCTGTACTCTCTCGC-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 $\mu$ g	p35SPPDK-EGFP-Flag	1 $\mu$ g
D2627-100 $\mu$ g	p35SPPDK-EGFP-Flag	100 $\mu$ 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  $\mu$ 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0.1 $\mu$ g/ $\mu$ 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 $\mu$ g	pRD29B-luc (植物报告基因质粒)	1 $\mu$ g
D2489-100 $\mu$ g	pRD29B-luc (植物报告基因质粒)	100 $\mu$ g
D2491-1 $\mu$ g	pUBI10-GUS (植物报告基因质粒)	1 $\mu$ g
D2491-100 $\mu$ g	pUBI10-GUS (植物报告基因质粒)	100 $\mu$ 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