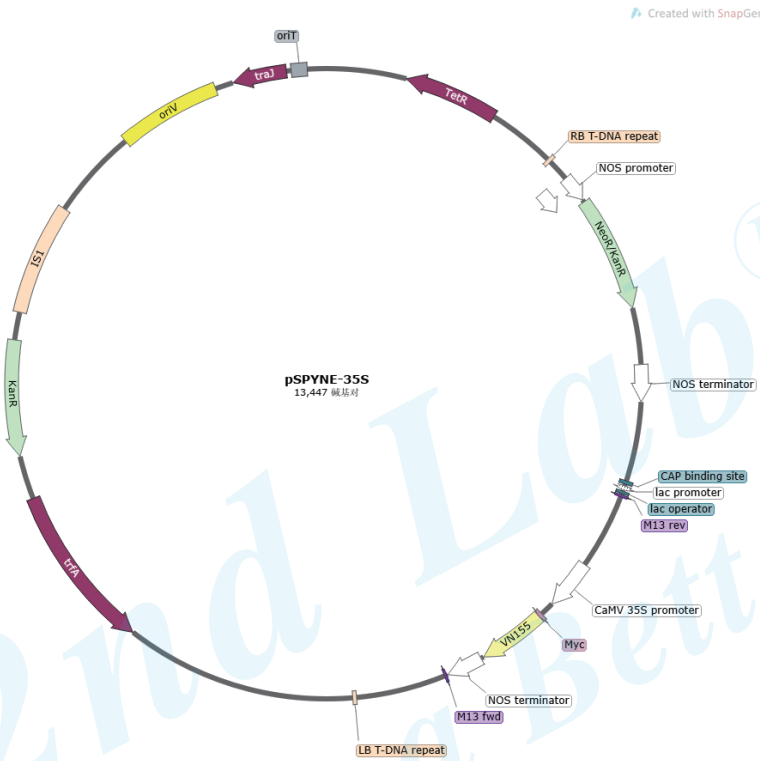
pSPYNE-35S 质粒说明书

● 产品规格内容（CAT#：PL1323）

pSPYNE-35S 质粒	150μl /1 支	-20 度保存/大于 10 年
DH5 α-m(含 pSPYNE-35S 质粒)甘油菌种	400μl /1 支	-80 度保存/大于 10 年

● 质粒图谱与基础信息



质粒名称	pSPYNE-35S	质粒大小	13447bp
宿主	农杆菌	质粒类型	bifc 质粒
大肠中质粒复制子	High/高拷贝	宿主中质粒复制子	oriV/低拷贝
大肠中抗性	Kan 硫酸卡那霉素 50ug/ml	宿主中筛选标记	农杆菌：Kan

● 质粒简介

pSPYNE-35S /pSPYCE-35S 简介：这是一套植物 BiFC（双分子荧光互补）双元载体，经典 Walter 2004 体系，专门用来在活植物细胞内验证蛋白 - 蛋白互作，同时看到互作的亚细胞定位。都是农杆菌二元载体（带 T-DNA），CaMV 35S 强启动子驱动，Nos 终止子；适合烟草叶片农杆菌浸润瞬时表达，也可稳定转化植物。

质粒名称	融合片段	特点
pSPYNE-35S	YFP N 端（YFP，aa1–155）	c-Myc 标签，WB 可检测表达
pSPYCE-35S	YFP C 端（YFP，aa156–239）	HA 标签，WB 可检测表达

2nd Lab For a Better Lab®

核心原理：

YFP 被切成两段，单独表达都没有荧光；蛋白 A 连 YFPN，蛋白 B 连 YFPC，如果 A、B 在细胞内发生直接相互靠近、互作，YFPN 与 YFPC 自发组装重构为完整 YFP，在共聚焦显微镜下检出黄色荧光；荧光在哪，互作就在哪个亚细胞位置（质膜、细胞核、叶绿体等）。

主要用途：

1. 体内验证蛋白互作：酵母双杂筛到候选互作后，用这套载体在植物原生环境（烟草 / 拟南芥叶片）复检，排除酵母假阳性；
2. 定位互作位点：直接看互作发生在哪个细胞器，这是 BiFC 相比酵母双杂最大优势；
3. 亚细胞定位辅助：单独空载对照可辅助判断蛋白本身定位（但主要用途不是单独定位）；
4. 瞬时表达首选：最常用在本氏烟农杆菌浸润（+p19 抑制沉默），注射后 2–4 d 拍照；也可用于稳定转基因株系构建；
5. 搭配 WB 验证：c-Myc / HA 标签可以验证两个融合蛋白是否正常表达，排除“没荧光是蛋白不表达”的假阴性。

常见对照设计（实验必做）：

- 阴性对照 1：A-pSPYNE-35S + 空 pSPYCE-35S；
- 阴性对照 2：空 pSPYNE-35S + B-pSPYCE-35S；
- 阳性对照：文献配套互作对（如 CBL/CIPK）或本公司的 p1300S-YFPN-hal3（货号：PL1017）+ p2300S-YFPC-hal3（货号：PL1028）。

相关产品

质粒名称	来源	货号	特点
pSPYNE	Walter, 2004	CAT：PL1305	YFP N 端（YFP，aa1–155），c-Myc 标签，转原生质体
pSPYCE	Walter, 2004	CAT：PL1304	YFP C 端（YFP，aa156–239），HA 标签，转原生质体
pSPYNE-35S	Walter, 2004	CAT：PL1323	YFP N 端（YFP，aa1–155），c-Myc 标签，可转农杆菌
pSPYCE-35S	Walter, 2004	CAT：PL1324	YFP C 端（YFP，aa156–239），HA 标签，可转农杆菌
pUC-SPYNE173	Waadt, 2008	CAT：PL1320	YFP N 端（YFP，aa1–173），YFPN 接蛋白 C 端
pUC-SPYNE(R)173	Waadt, 2008	CAT：PL1321	YFP N 端（YFP，aa1–173），YFPN 接蛋白 N 端
pUC-SPYCE(MR)	Waadt, 2008	CAT：PL1322	YFP C 端，aa156–239，YFPC 接蛋白 N 端；突变 A206K

● 产品说明

1. 本公司质粒均为质粒大提试剂盒提取质粒，因不同质粒的复制子不同，质粒浓度有差异，收到质粒后可直接酶切用于构建载体。
2. 随质粒同时提供一管含有质粒的 DH5α-m 甘油菌种，收到菌种后可直接放-80 度长期保存，也可用交叉划线法划线后挑单菌落接菌，大量扩繁质粒。DH5α-m 菌株兼顾 DH5α和 DH10B 菌株的优点，在 DH5α基因组中引入 mcrA、mcrBC、mrr-、hsdRMS 突变使得 DH5α-m 菌株中保存的质粒更稳定，有利于质粒大量扩繁。
3. 质粒序列可在产品页面下载 snapgene 文件或 text 文件。

● 注意事项

1. 收到含有质粒的菌株应立即放-80 度，不可放-20 度保存；在 4 度或室温长时间存放会增加发生错误突变的概率。
2. 质粒在不同实验室保存的过程中有发生突变的概率，所以实际的测序结果与数据库下载序列可能会有部分序列存在 SNP 或突变，只要不在核心元件发生突变或不影响质粒核心功能，一般不影响使用。