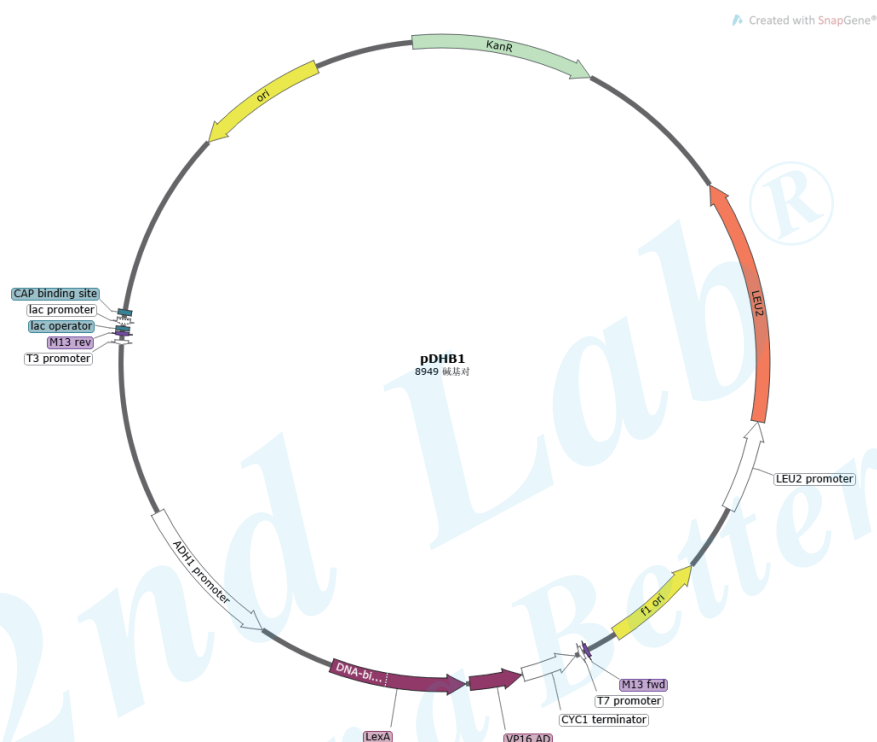


pDHB1 质粒说明书

● 产品规格内容 (CAT#: PS3095)

pDHB1 质粒	150μl / 1 支	> 50ng/ul	-20 度保存/大于 10 年
DH5α-m(含 pDHB1 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	pDHB1	质粒大小	8949bp
宿主	NMY51 膜蛋白酵母	质粒类型	酵母双杂用质粒
大肠中质粒复制子	ColE1/高拷贝	宿主中质粒复制子	CEN/ARS
大肠中抗性	Kan 硫酸卡那霉素 50ug/ml	宿主中筛选标记	LEU/亮氨酸缺陷/SD/-LEU

● 质粒简介

pDHB1 是分裂-泛素膜酵母双杂交 (NMY51 膜系统) 系统的诱饵 (bait) 载体, 专门用于膜蛋白 / 膜相关蛋白互作筛选, 不是普通核酵母双杂交载体。全长: 8979 bp; 配套酵母菌株 NMY51。

pDHB1 融合模式: Ost4 信号肽-【诱饵 Bait】-Cub-LexA-VP16。Ost4 信号肽把整个融合蛋白定位到内质网膜; Ost4 信号肽进入 ER 内腔; 诱饵蛋白的 C 端直接接 Cub-LexA-VP16, 此片段必须暴露在细胞质侧, 系统才能够工作; C 端如果在内质网腔 / 胞外, Cub 被隔离, 酵母的泛素蛋白酶无法识别切割, 报告基因完全不会激活, 实验直接失败。

推荐用 pDHB1 的 Bait 蛋白类型：一，I 型跨膜蛋白（N 端位于 ER 内腔 / 胞外，C-端在细胞质）；二，多跨膜蛋白，蛋白的 C-末端定位于细胞质；三，分泌蛋白 / 效应蛋白（蛋白 N 端信号肽进入 ER 内腔，成熟蛋白主体位于胞质侧或主体位于 ER 腔，但 C 端伸到胞质）；四，无跨膜、可溶性胞质蛋白（注意：可溶性蛋白优先优先考虑 pBT3-STE；只有你希望把可溶性蛋白人为锚定到 ER 膜上做互作，才选 pDHB1）；五，蛋白本身有 N 端信号肽，且 C 端在胞质，需要将蛋白本身的信号肽去除后连接如 pDHB1 质粒。

不推荐使用 pDHB1 的 bait 蛋白：一，诱饵 C-末端位于 ER 内腔 / 胞外（致命拓扑错误）；二，典型 Type-II 型跨膜蛋白：N 端胞质，C 端内腔 / 胞外。优先选 pBT3-N，不能用 pDHB1；三，C-端在线粒体、过氧化物酶体、叶绿体等细胞器内腔的蛋白；四，需要 N 端自由、N 端做互作界面的膜蛋白（若蛋白互作依赖 N 端结构域，N 端被隔离内腔，互作无法发生，这种情况改用 pBT3-N）；五，核蛋白（可溶，不需要膜锚定），核蛋白直接用普通 GAL4 核酵母双杂交（pGBKT7），分裂素膜体系不适合。

● 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 DH5 α -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。DH5 α -m 菌株兼顾 DH5 α 和 DH10B 菌株的优点，在 DH5 α 基因组中引入 mcrA、mcrBC、mrr-、hsdRMS 突变使得 DH5 α -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。