

武汉贝科新肽公司 BIFC

产品名称	武汉贝科新肽公司 BIFC
公司名称	武汉贝科新肽科技有限公司
价格	面议
规格参数	
公司地址	湖北省武汉市洪山区关山大道289号紫菘逸景华庭二期109栋2层2002-3号
联系电话	15002786799 15002786799

产品详情

亚细胞定位原理

利用GFP、RFP等荧光蛋白具有的荧光性质和灵敏性，来示踪细胞内的蛋白。将目标蛋白与荧光蛋白的N端或者C端融合，通过瞬转或稳转，使该融合蛋白在受体材料细胞内表达，目标蛋白会牵引荧光蛋白一起定位到目标细胞器，经过激光共聚焦显微镜激光照射，荧光蛋白会发出荧光，通过观察荧光蛋白在细胞内显示的位置，从而可以确定目标蛋白的亚细胞定位情况，即可对蛋白质进行精确定位。

为什么不先对一个基因做预测，在预测的结果上直接做共定位？

不同的预测网站有不同的计算方法，同一个基因在不同的预测网站也可能得出不同的定位结果。另外所有的结果都应是基于实验得到的，对于不清楚可能定位在哪里的基因，一般推荐先做普通定位，根据普通定位的结果再决定做哪种细胞器的共定位。

为什么有的基因做原生质体转化时荧光蛋白不亮？

不同物种的细胞可能对基因表达有影响，当在一种材料的原生质体中观察不到荧光时，可以考虑换一种受体材料。另外，如果是分泌蛋白，在原生质体中无法观察到荧光，此时可以考虑注射叶片来观察荧光。

拍摄时为什么有明场通道？

(1) 显示细胞状态，有活力的原生质体细胞应该是饱满圆润的，变形或破碎的细胞说明此时细胞不是适状态或细胞已。

(2) 显示荧光确实是细胞内蛋白表达的，BIFC，而不是细胞碎片及杂质产生的杂光。

亚细胞定位操作步骤

1、通过一些在线网站预测亚细胞定位

2、亚细胞定位载体构建

(1) 引物设计：利用引物设计软件，根据pEGP-MCS-N1或pEGP-C1-MCS的酶切位点设计目的基因引物。

(2) 载体构建：将PCR产物酶切后插入pEGP-MCS-N1或pEF-C1-MCS，得到表达目的基因与EGP融合蛋白质的真核表达载体。

3、细胞转染

当细胞生长到对数生长期时，接种到共聚焦显微镜的玻璃底培养皿（35mm petri dish，10 mm Microwell）中，培养过夜。当细胞贴壁率达到30%~50%时，将融合绿色荧光蛋白GFP的重组载体质粒和目标细胞器质粒共转染细胞。37℃ 孵箱培养24~72h。

4、激光扫描共聚焦显微镜观察

将上述细胞分别在24、36、48、72h的时间点，根据实验需求选择对应激发波长（常用405nm、488nm和561nm），使用共聚焦显微镜观察，采取图像。

武汉贝科新肽公司-BIFC由武汉贝科新肽科技有限公司提供。“原位杂交，亚细胞定位，蛋白互作，启动子筛选”选择武汉贝科新肽科技有限公司，公司位于：湖北省武汉市洪山区关山大道289号紫菘逸景华庭二期109栋2层2002-3号，多年来，贝科新肽坚持为客户提供好的服务，联系人：夏总。欢迎广大新老客户来电，来函，亲临指导，洽谈业务。贝科新肽期待成为您的长期合作伙伴！