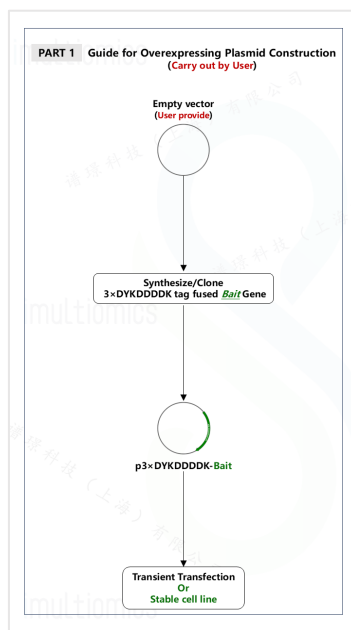
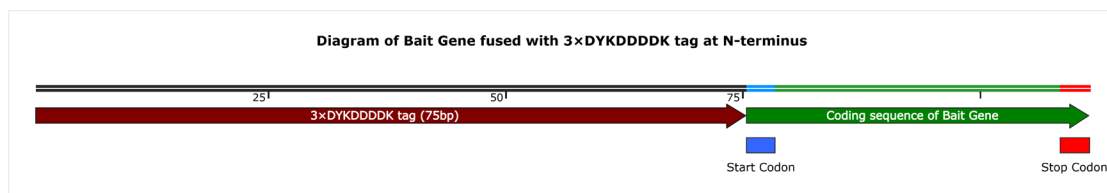


PART 1. 过表达质粒构建设计



- 访问 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 网站，查询 Bait 蛋白的编码基因信息。
- 访问 Uniprot (<https://www.uniprot.org/>) 网站，查询 Bait 蛋白的详细信息。***有些蛋白质包含信号肽 (signal peptide)，故而要注意 3×DYKDDDDK tag 的融合位置。如信号肽位于 Bait 蛋白的 N-末端，则应将 3×DYKDDDDK tag 序列融合在 Bait 蛋白的 C-末端。反之亦然。**
- 本试剂盒提供的 3×DYKDDDDK tag 序列：(1) 即可融合在 Bait 蛋白的 N-末端，(2) 亦可融合在 C-末端，(3) 序列进行了优化，标签更易“暴露”，从而通过 Co-IP 可实现对 Bait 蛋白质互作复合物的高效富集。
- 相应的基因构建设计如下：

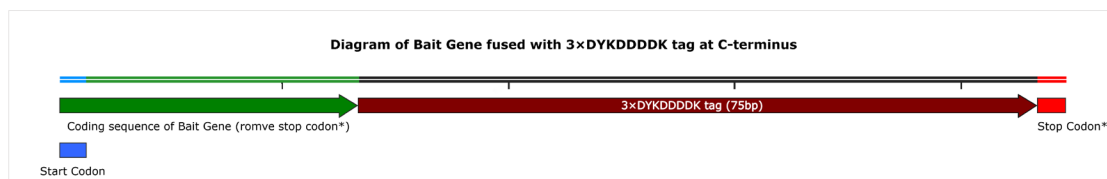
一. N-末端融合方案：



N-末端融合的 3×DYKDDDDK tag 序列 (75bp)

atggactacaaagaccatgacgggtgattataaagatcatgatcgattacaaggatgacgatgacaagggatcc

二. C-末端融合方案：



C-末端融合的 3×DYKDDDDK tag 序列 (75bp)

ggatccatggactacaaagaccatgacgggtgattataaagatcatgatcgattacaaggatgacgatgacaag

三. 载体建议：

-
1. 如后续采用顺转方式 (Transient Transfection) 进行 IP-MS 样品制备, 建议使用高表达启动子 (如 CMV) 的哺乳动物过表达载体 (如 Invitrogen, pcDNA3.1 系列载体)。
 2. 如后续采用稳定细胞株方式 (Stable Cell Line) 进行 IP-MS 样品制备, 请使用相应的慢病毒载体 (lentivirus vector)。
 3. 推荐咨询相应基因合成服务公司, 直接通过基因合成方式构建融合本 3×DYKDDDDK tag 的过表达质粒。