

学校概况 机构设置 师资队伍 人才培养 科学研究 校园文化
对外交流 思政在线 服务社会 招生就业 信息公开 来访预约



祝钦泷研究员团队开发一套高效的模块化荧光融合蛋白工具箱AioFFP

审核发布: 宣传部 曾子焉 来源单位及审核人: 生命科学学院 陈乐天 发布时间: 2022-02-25 浏览次数: 1193

近日, 我校生命科学学院、亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室、岭南现代农业科学与技术广东省实验室祝钦泷研究员团队在国际知名学术期刊Plant Biotechnology Journal (IF2020=9.803, 生物学/工程技术1区) 在线发表了题为“**All-in-one: A Robust Fluorescent Fusion Protein Vector Toolbox for Protein Localization and BiFC Analyses in Plants**”的研究论文(论文链接: <https://doi.org/10.1111/pbi.13790>)。该研究开发了一套基于特异核酸序列引导Gibson组装介导的模块化载体工具箱AioFFP (All-in-one Fluorescent Fusion Protein Vector Toolbox), 用于高通量分析植物蛋白亚细胞定位和蛋白体内相互作用。



RESEARCH ARTICLE | [Open Access](#) |

All-in-one: A Robust Fluorescent Fusion Protein Vector Toolbox for Protein Localization and BiFC Analyses in Plants

Jingluan Han, Kun Ma, Huali Li, Jing Su, Lian Zhou, Jintao Tang, Shijuan Zhang, Yuke Hou, Letian Chen, Yao-Guang Liu, Qinlong Zhu

First published: 18 February 2022 | <https://doi.org/10.1111/pbi.13790>

基于荧光蛋白标记的蛋白定位 (FTPL) 和双分子荧光互补 (BiFC) 技术是在植物体内分析蛋白质亚细胞定位和蛋白间相互作用的常用工具。相比于以往使用的多个质粒共同转化相比, 将多个表达盒组装于单一质粒上进行转化能够提高不同融合蛋白的共表达效率。该模块化AioFFP载体工具箱利用特异核苷酸序列引导的高效Gibson组装反应(一种不依赖限制性内切酶的DNA连接方法, 可使用购买的试剂盒或自配

试剂盒)，可实现将不同荧光标记蛋白的功能模块进行高效灵活组装。其包括了一套基于mCherry荧光蛋白的亚细胞器标记蛋白质粒（12个）、基于eGFP和eCFP及mCherry的FTPL载体（6个）、基于Vn和Vc的BiFC载体（4个）以及2个二元接受载体，如下图1所示。

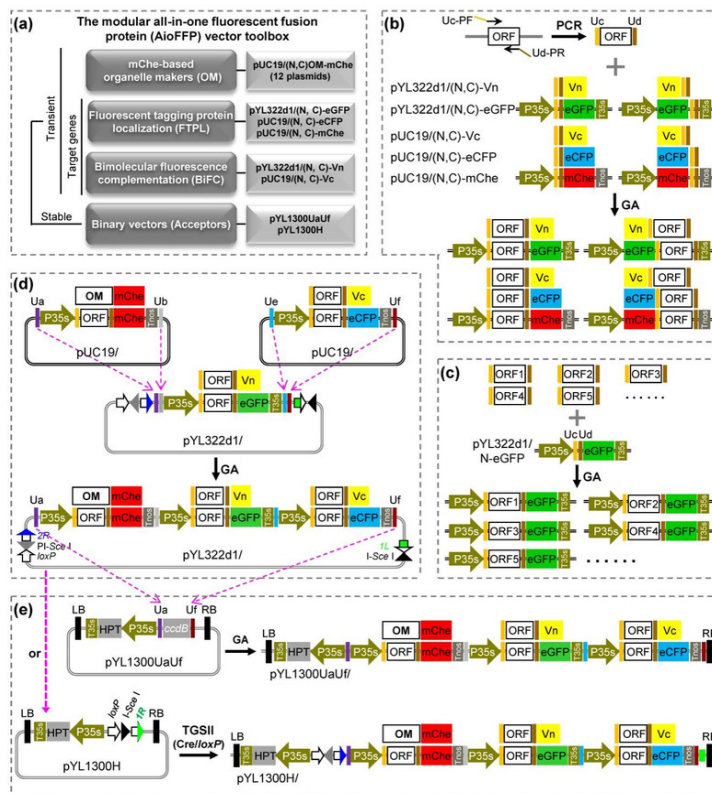


图1 AioFFP载体工具箱组成与原理示意图：（a）不同的功能模块组成；（b）目的基因高效插入不同荧光融合蛋白质粒；（c）多个目的基因高通量插入1个目标荧光融合蛋白质粒；（d）多个荧光蛋白表达盒一步组装到瞬时表达载体；（e）多个荧光蛋白表达盒一步整合到二元表达载体。Ua~Uf为不同的Gibson连接特异位点。

利用不同载体上的相同特异性核苷酸片段，通过特异核苷酸序列引导的高效的DNA组装技术Gibson assembly可在单管反应中实现：

（1）将目的基因克隆到不同的FFP载体中；（2）将多个目的基因插入到相同的FFP载体中；（3）将细胞器标记基因或不同荧光蛋白融合的靶基因表达盒组装到同一个瞬时表达质粒；（4）将在瞬时表达质粒上的多个荧光蛋白融合基因表达盒转移到二元载体上（如下图2）。该AioFFP载体工具箱操作简便，效率高且成本低，在高通量分析植物蛋白亚细胞定位和蛋白相互作用中具有很好的应用潜力，将有力的促进植物功能基因组学的研究。

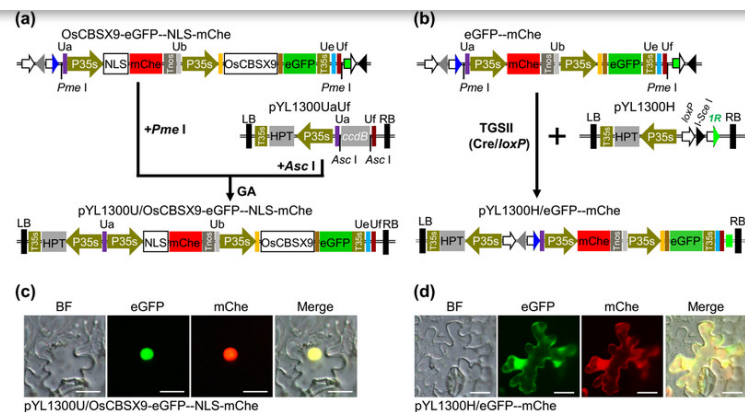


图2 多个荧光蛋白融合的表达模块通过高效Gibson assembly (GA) 反应或多基因叠加系统 (TGSII) 的Cre/loxP重组技术组装至双元载体上, 用于农杆菌介导的本氏烟草叶片的瞬时表达。

生命科学学院博士后韩靖鸾和马坤、亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室李华丽老师、广东省农业科学院植物保护研究所苏菁副研究员为该论文的共同第一作者, 祝钦泂研究员为论文的通讯作者。刘耀光院士、陈乐天教授对该研究工作给予了指导。该研究得到了广东省基础与应用基础研究重大项目、国家自然科学基金、广东特支计划科技创新青年拔尖人才专项、广州市科技计划项目、中国博士后基金的资助。(文图/生命科学学院)

校长信箱 国家科研平台
 招标采购 阳光体育
 质量工程 校园地图
 开放教育资源 精品课程资源

SCAU Copyright © 2018
 华南农业大学 All rights reserved
 地址: 广州市天河区五山华南农业大学
 备案编号: 粤ICP备05008874号 4401060500010
 管理登录