



Toll-free:400-611-2007

Order:010-62617225 62979301

Email:zomanbio@126.com

Http://www.zomanbio.com



版本号: 2025-12-26

pYES2 (INVSc1) 酵母表达套装

pYES2 (INVSc1) Yeast Expression Kit

目录号: ZC1912-1

产品货号	产品组分	规格	保存温度
ZK949	pYES2 质粒 (赠品)	1 μ g	-20°C
ZC1791	SD/-Ura Broth (含葡萄糖)	0.5 L	-20°C
ZC1816	SD/-Ura with Agar (含葡萄糖)	0.5 L	-20°C
ZC1769	SC/-Ura Broth (不含半乳糖)	0.5 L \times 2	-20°C
Z1296	Agar (琼脂粉)	10g	-20°C
ZCS130	40%半乳糖	50mL	-20°C
ZC1607-1	INVSc1 感受态细胞	10 \times 100 μ L	-80°C
/	说明书	1 份	/

运输及储存条件:

培养基和质粒冰袋运输, 感受态干冰运输; 各组分按照标签所示温度进行储存。

产品说明:

1. 感受态细胞务必-80°C保存。
2. SD 和 SC 系列的产品, 请在 500 mL 的蒸馏水中, 加入一包干粉, 搅拌混匀后, 于 115°C 灭菌 20 min 后使用。
3. SG 培养基是以半乳糖作为碳源, 可通过在 SC 培养基中加入半乳糖后获得。

实验室使用, 仅用于科研

北京庄盟国际生物基因科技有限公司
Beijing Zoman Biotechnology Co., Ltd.



产品简介

本产品用于酿酒酵母蛋白表达实验，可制备诱导培养基平板25 块，诱导液体培养基 500 mL。如需获得大量诱导表达产物，诱导培养基可以单独订购。本套装包含酵母转化、筛选、诱导所选的全部试剂。

使用说明(仅供参考):

一、培养基配制:

1. SG/-Ura Broth: 请将0.5L的SC/-Ura Broth (不含半乳糖) 干粉加入500mL的蒸馏水中, 搅拌溶解, 115°C灭菌20min, 冷却后加入25mL 40%半乳糖溶液, 混合均匀即可使用。
2. SG/-Ura with Agar: 请将0.5L的SC/-Ura Broth (不含半乳糖) 干粉加入500mL的蒸馏水中, 加入10g Agar (琼脂粉) 搅拌溶解, 115°C灭菌20min, 冷却至55°C左右加入25mL 40%半乳糖溶液, 混合均匀后倒平板使用。

二、蛋白表达载体构建

1. 将目的蛋白克隆到 pYES2 载体 (多克隆位点请参照图谱序列)。
2. 将重组载体转化到大肠杆菌感受态细胞中 (参照 DH5 α 感受态细胞使用说明书)。
3. 用含氨苄 (50-100 μ g/mL) 的 LB 平板筛选转化产物。
4. 挑选 10-20 个克隆, PCR 并测序验证, 筛选阳性克隆。
5. 用含氨苄 (50-100 μ g/mL) 的 LB 培养基摇菌, 用 15%-25%甘油保存阳性菌。
6. 使用质粒小量提取试剂盒 (ZP101) 进行质粒提取, 备用

三、重组载体酵母菌转化

1. 将重组载体转入INVSc1 感受态细胞 (参照INVSc1 感受态细胞使用说明书)。
2. 转化产物涂布 SD/-Ura 平板, 30°C培养 3-5 天, 筛选阳性克隆。
3. 将阳性克隆, 用无菌生理盐水重悬后, 划线或者涂布于 SG/-Ura 平板, 30°C培养 3-5 天。
4. 如 SG/-Ura 平板生长过慢, 可加入 1%的棉子糖, 葡萄糖会抑制 GAL1 启动子的转录, 抑制半乳糖的利用率, 棉子糖不会抑制, 并且棉子糖可以提高酵母在诱导培养基中的生长速度。

四、蛋白诱导表达

1. SD 或 SG 培养筛选出来的阳性克隆, 接种到 15mL 的 SD/-Ura 液体培养基中, 30°C 摇床过夜培养。
2. 于 4°C 1,500 g 离心 5min, 去除上清。
3. 用 50mL 的 SG/-Ura 液体培养基重悬细胞沉淀, 于 30°C 摇床培养。
4. 离心去上清, 冷冻保存或直接用于蛋白提取。

附件

INVSc1 感受态细胞使用说明书

操作方法:

1. 取 100μl 冰上融化的 INVSc1 感受态细胞, 依次加入预冷的目的质粒 2-5μg, Carrier DNA (95-100°C 5min, 快速冰浴, 重复一次) 10μl, PEG/LiAc 500μl 并吸打几次混匀, 30°C 水浴 30min (15min 时翻转 6-8 次混匀)。
- * 备注: Carrier DNA 加入请提前变性处理: 95-100°C 5min, 快速冰浴, 重复一次。置于冰浴 5min 之内使用。
2. 将管放 42°C 水浴 15min (7.5 min 时翻转 6-8 次混匀)。
3. 5000rpm 离心 40s 弃上清, ddH₂O 400μl 重悬, 离心 30s 弃上清。
4. ddH₂O 50μl 重悬, 涂质粒筛选用: SD-U medium 板, 29°C 培养 48-96 h。

注意事项:

1. 感受态细胞最好在冰上融化。
2. 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
3. 同时转化 2-3 种质粒时可增加质粒的用量。
4. INVSc1 酵母菌株对高温敏感, 最适生长温度为 27-30°C; 高于 31°C, 生长速度和转化效率呈指数下降。
5. 菌落变粉不是污染, 是酵母细胞生长中一个常见现象。当细胞在平板培养几天后, 平板上的 Adenine 被酵母消耗完毕, 酵母试图通过自身代谢途径合成 Adenine 以供利用, 然而, 有些菌株的 ADE2 基因被破坏, Adenine 合成途径受阻; 又由于其 ADE4,5,6,7,8 基因均正常, 所以造成中间产物 P-ribosylamino imidazole (AIR) 在细胞中积累而使菌落变为粉红色。
6. 酵母在缺陷培养基中生长速度比 YPDA 培养基慢, 培养基中缺陷成分越多, 生长越慢, 以转化涂板为例: 涂 YPDA 平板 29°C, 48 h 培养可见直径 1mm 克隆; 涂 SD 单缺平板 29°C, 48-60h 培养可见直径 1mm 克隆, 涂 SD 双缺平板 29°C, 60-80h 培养可见直径 1mm 克隆, 涂 SD 三缺或四缺平板 29°C, 80-90h 培养可见直径 1mm 克隆。



扫二维码关注我们