

pYES2 (INVSc1) 酵母表达套装使用说明书

产品货号: YM4000/YM4001

储存条件: 请按产品包装要求储存。

产品组成:

产品内容	产品货号	套装 YM4000	套装 YM4001
pYES2 质粒 (赠品)	PL001	20 µg	20 µg
INVSc1 感受态细胞	CC303	10×100 µL	10×100 µL
SD/-Ura Broth (含葡萄糖)	PM2271	0.5 L	0.5 L
SD/-Ura with Agar (含葡萄糖)	PM2272	0.5 L	0.5 L
SG/-Ura Broth (含半乳糖)	PM22715	0.5 L	0.5 L
SG/-Ura with Agar(含半乳糖)	PM22725	0.5 L	0.5 L
LB 液体培养基/LB 肉汤 (干粉)	PM0010	—	2×0.5 L
LB 固体培养基/LB 琼脂 (干粉)	PM0020	—	2×0.25 L
*氨苄青霉素储存液(100mg/ml)	SL3810	—	10×1mL
TOP10F' 感受态细胞	CC101	—	10×100µL
说明书	1 份		

产品说明:

1. 感受态细胞和氨苄青霉素请-80℃储存, 干冰运输。其余产品可常温或蓝冰运输。
2. SD 和 SG 系列的产品, 请在 500mL 的蒸馏水中, 加入一包干粉, 搅拌混匀后, 于 115℃灭菌 20min 后使用。

3. LB 肉汤，请在 500mL 的蒸馏水中，加入一包干粉，搅拌混匀后，于 115°C 灭菌 20min 后使用。

4. LB 琼脂，请在 250mL 的蒸馏水中，加入一包干粉，搅拌混匀后，于 115°C 灭菌 20min 后使用。

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 500mL。如需获得大量诱导表达产物，诱导培养基可以单独订购。

套装 YM4000 包含酵母转化、筛选、诱导所选的全部试剂，均为即用型或者预混型，使用方便，不会造成资源浪费。

套装 YM4001 在 YM4000 基础上，增加了克隆感受态细胞以及大肠杆菌培养，筛选试剂，使用方便，省去多次感受态购买运输的费用。

使用说明(仅供参考)：

一、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 TOP10F' 感受态细胞使用说明书）。
3. 用含氨苄（50-100ug/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（50-100ug/mL）的 LB 培养基摇菌，用 15%-25%甘油保存阳性菌。
6. 利用碱裂解法提取质粒，备用。

二、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℃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 *GALI* 启动子的转录，抑制半乳糖的利用率，棉子糖不会。棉子糖可以提高酵母在诱导培养基中的生长速度。

三、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℃摇床过夜培养。
2. 于 4℃ 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℃摇床培养。
4. 离心去上清，冷冻保存或直接用于蛋白提取。