

LacZ 基因胞外表达显色试剂盒

(EGY48 酵母菌)

产品编号: YK3010-50P

储存条件: 常温保存, X-Gal 储存液-20℃保存, 有效期一年。

产品内容:

货号	成分	规格
SL0960	10×BU buffer (过滤除菌)	100mL
SL3800	X-Gal 储存液 (20mg/ml)	5mL
SL0980	20%半乳糖溶液 (过滤除菌)	100mL
SL0990	20%棉子糖溶液 (过滤除菌)	50mL
PM2262	SD/-Trp/-Ura with Agar (干粉)	0.5L
PM2263	SC/-Trp/-Ura Broth (干粉)	8g
CA1331	Agar	20g
1 份	说明书	

产品介绍:

本试剂盒用于 EGY48 酵母杂交系统中, LacZ 报告基因的检测; 当有互作发生, LacZ 报告基因表达, 生成 β-半乳糖苷酶, 将 X-Gal 切割成半乳糖和深蓝色的底物 5-溴-4 氯靛蓝。

筛选培养基配制: (SD/-Trp/-Ura 平板)

1. 请将 0.5 L 的 SD/-Trp/-Ura with Agar 干粉, 加入 500mL 的蒸馏水中, 搅拌溶解;
2. 115 °C 灭菌 20 min, 冷却后倒板;

注意: 灭菌的培养基如有剩余, 可置于超净台密封保存, 再次使用时微波加热溶解后倒板即可。

显色培养基配制：（SD/-Trp/-Ura/Gal/Raf/X-Gal 平板）

1. 组分配比，见下表；

组分	培养基体积	100mL	500mL
	20%半乳糖溶液	10mL	50mL
	20%棉子糖溶液	5mL	25mL
	10×BU buffer	10mL	50mL
	X-gal 储存液 (20mg/ml)	0.4mL	2mL
	Agar	2g	10g
	SC/-Trp/-Ura Broth	0.8g	4g

2. 根据需要按照上表称取适量 SC/-Trp/-Ura Broth 和 Agar，加水至 75ml 搅拌溶解；

3. 115 °C 灭菌 20 min；同时预热 20%半乳糖溶液、20%棉子糖溶液、10×BU buffer 至 55 °C 左右；

4. 培养基冷却到 55 °C 左右后加入预热的上述成分以及 X-gal 储存液，混匀倒板。

注意：显色平板请尽快使用。3 天内避光 4 °C 保存的板子亦可以使用。

实验方法：（以 EGY48-pLacZi 酵母单杂交体系为例）

1. 载体构建 pLacZi-X & pB42AD-Y；

2. 载体共转化 EGY48 酵母感受态细胞（参照 SK2400 使用说明）；

3. 转化产物涂布 SD/-Trp/-Ura with Agar 平板，28-30 °C 培养 3-5 天；

4. 随机选择 5 个单菌落，Marker 笔做好标记，挑取少量菌落做阳性克隆检测（参照 SK2420 使用说明）；

5. 挑取鉴定为阳性克隆的菌落涂布 SD/-Trp/-Ura/Gal/Raf/X-Gal with Agar 显色平板，28-30 °C 培养 3-5 天后观察显色反应。