

LacZ 基因胞外表达显色试剂盒

储存条件：

4℃保存，X-gal 储存液-20℃保存，有效期 18 个月。

产品内容：

货号	品名	规格
PT1236	10×BU Buffer (PH7.0, 无菌)	100ml
PY1092	X-gal (20mg/ml) (进口)	5ml
JM1041	20%半乳糖溶液(过滤除菌)	100ml
JM1042	20%棉子糖溶液(过滤除菌)	50ml
PT1080	SD/-Trp/-Ura with Agar	0.5L
PT1038	SC/-Trp/-Ura Broth	8g (1L)
WS1013	高纯酵母专用 Agar (增强型)	20g
1 份	说明书	

产品说明：

本试剂盒用于 EGY48 酵母杂交系统中，LacZ 报告基因的检测。互作后激活 LacZ 报告基因，生成 B-半乳糖苷酶，从而将 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. 取 SD/-Trp/-Ura with Agar 一袋 (0.5L)，加超纯水溶解并定容至 500ml；
2. 121℃灭菌 15 min，冷却后倒板。

注：培养基重复加热会使营养流失，若一次使用不完，可按需称量配制。

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

1. 配制比例:

组分	配制量: 100ml	配制量: 500ml
20%半乳糖溶液	10ml	50ml
20%棉子糖溶液	5ml	25ml
10×BU Buffer (PH7.0, 无菌)	10ml	50ml
X-gal (20mg/ml) (进口)	0.4ml	2ml
高纯酵母专用 Agar (增强型)	2g	10g
SC/-Trp/-Ura Broth	0.8g	4g

2. 如配制 100ml: 按上表称取 0.8g SC/-Trp/-Ura Broth 和 2g Agar, 加水定容至 75ml 混匀。

3. 121℃ 灭菌 15 min, 同时预热 20%半乳糖溶液、20%棉子糖溶液、10×BU buffer 至 50℃ 左右。

4. 待培养基冷却至 50℃ 后加入预热的上述组分以及 X-gal, 混匀后倒板。

注意: 显色平板请避光并尽快使用。

实验步骤: (以 EGY48-pLacZi 酵母单杂体系为例)

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 PT1183 使用说明);

3. 转化后涂布 SD/-Trp/-Ura with Agar 平板, 28-30℃ 倒置培养 3-5d;

4. 挑选 5 个单克隆, 做好标记, 用枪头沾取少量菌斑进行阳性克隆鉴定 (参照 PY1057 使用说明);

5. 将鉴定的阳性克隆, 点斑或涂布 SD/-Trp/-Ura/Gal/Raf/X-gal with Agar 显色平板, 28-30℃ 倒置培养 3-5d 后观察显色反应。