扫描二维码关注公众号

ZOMANBIO 庄盟生物 www.zomanbio.com

Toll-free:400-611-2007
Order:010-62617225 62979301
Email:zomanbio@126.com
Http://www.zomanbio.com

版本号：2026-06-17

酵母己糖转运活性检测试剂盒

Yeast Hexose Transport Activity Assay Kit

目录号：ZL4141

产品名称	产品货号	规格	保存温度
SC/-Ura Broth	ZC1769	4×0.5L	RT
20%麦芽糖溶液	/	100ml	4°C
20%果糖溶液	/	50ml	4°C
20%葡萄糖溶液	ZCS103	50ml	4°C
pDR196 质粒	ZK17580	10μl	-20°C
pDR196-AtSWEET4 质粒	ZK95342	10μl	-20°C
EBY.VW4000 感受态细胞	ZC1623	20×100μL/支	-80°C
说明书	一份		

产品说明:

1. 感受态细胞请-80°C储存，干冰运输。
2. 培养基系列的产品，请在 500mL 的蒸馏水中，加入一包干粉搅拌混匀后，于 121°C灭菌 15min 后使用。

产品简介

EBY.VW4000 酿酒酵母菌株是己糖转运缺陷型菌株，多用于己糖转运蛋白的鉴定试验。其缺失了全部己糖转运蛋白，丧失了吸收转运己糖的能力。该菌株在含有麦芽糖的培养基上可以正常生长，在己糖为唯一碳源的培养基上基本不生长。

pDR196 是酿酒酵母蛋白高效表达载体，筛选标记为 Ura3。将己糖转运蛋白 Xgene 构建到 pDR196 载体中(pDR196-Xgene)，将其转化 EBY.VW4000 感受态细胞，Xgene 蛋白就会促进酵母吸收利用培养基中的己糖，进而使得 EBY.VW4000 酵母菌能够在含己糖培养基中正常生长。

产品特点:

本试剂盒可用于检测蛋白是否具有己糖转运活性，简单高效。包含了己糖转运活性检测所需的全部试剂、菌株和载体。

操作步骤:

一、培养基准备

SD/-Ura with Agar(含葡萄糖)固体培养基:

将 1 袋 SC/-Ura Broth 培养基和 10g 琼脂粉溶于 0.45L 去离子水中，调节pH 至所需值，121°C灭菌 15min，冷却至到 50-60°C时加入预热的 50mL 已除菌的 20%葡萄糖溶液，混合均匀倒平板即可。

SM/-Ura with Agar(含麦芽糖)固体培养基:

将 1 袋 SC/-Ura Broth 培养基和 10g 琼脂粉溶于 0.45L 去离子水中，调节pH 至所需值，121°C灭菌 15min，冷却至到 50-60°C时加入预热的 50mL 已除菌的 20%麦芽糖溶液，混合均匀倒平板即可。

SF/-Ura with Agar(含果糖)固体培养基:

将 1 袋 SC/-Ura Broth 培养基和 10g 琼脂粉溶于 0.45L 去离子水中，调节pH 至所需值，121°C灭菌 15min，冷却至到 50-60°C时加入预热的 50mL 已除菌的 20%果糖溶液，混合均匀倒平板即可。

SM/-Ura Broth(含麦芽糖)液体培养基:

将 1 袋 SC/-Ura Broth 培养基溶于 0.45L 去离子水中，调节 pH 至所需值，121°C灭菌 15min，使用时加入 50mL 已除菌的20%麦芽糖溶液。

二、实验流程

3.1 载体构建

将待验证 Xgene 的 CDS 构建到 pDR196 载体中，即为实验组 pDR196-Xgene。pDR196 载体克隆检测引物:

pDR196-F：GTCCTATCATTATCGTCTAACATC

pDR196-R：ACCTGACCTACAGGAAAGAG

3.2 酵母转化

1. 将 Carrier DNA 于 95- 100°C水中煮 5min,立即置于冰上 2min ，重复一次，置于冰上备用。
2. 取 100μL 的 EBY.VW4000 感受态细胞冰上融化，依次加入预冷的目的质粒 1-3 μg ，Carrier DNA 5μL，PEG/LiAc 500μL ，轻轻翻转混匀 6-8 次；
3. 30°C水浴 30min ，每 15min 轻轻翻转混匀 6-8 次；

电话:010-62617225 62979301 Email:zomanbio@126.com

4. 42°C水浴 15min ，每 7.5min 轻轻翻转混匀 6-8 次；
5. 10,000 rpm 离心 30s 弃上清；
6. 加入 100μL ddH_2O 重悬，涂布 SM/-Ura with Agar 平板。28-30°C培养 2-3 d 。

按下表，将各质粒分别转化酵母 EBY.VW4000 感受态细胞。

酵母转化反应

质粒	培养基
pDR196	SM/-Ura with Agar(含麦芽糖)
pDR196-Xgene	SM/-Ura with Agar(含麦芽糖)
pDR196-AtSWEET4	SM/-Ura with Agar(含麦芽糖)

3.3 阳性克隆鉴定(选做)

此步骤可以忽略，详细步骤可参考 酵母阳性克隆快速鉴定试剂盒（直扩）ZC221A，鉴定引物可以用pDR196-F与 pDR196-R ，实际扩增条带为 408 bp+目的片段大小。

3.4 己糖转运活性检测

1. 在每个平板中挑取新鲜单菌落，用 SM/-Ura Broth(含麦芽糖)液体培养基过夜培养，OD600 为 1-2 之间 。
2. 6000g 离心 1min ，弃上清。用灭菌 ddH_2O 洗涤三次，并稀释至 OD600 为 1。
3. 用 ddH_2O 依次稀释 10 倍，100 倍，1000 倍(即 OD600= 1 ，0. 1 ，0.01 ，0.001)。
4. 按照先后顺序，分别取 5μL 点板含不同糖平板(SM/-Ura 、SD/-Ura 、SF/-Ura)。
5. 28-30°C培养 2-3d ，观察每个样品在不同筛选平板上的生长状况，确定目标蛋白是否具有糖转运活性。

3.5 示例结果分析

将阳性对照、阴性对照以及实验组载体分别转化 EBY.VW4000 感受态细胞。

结果分析：

EBY.VW4000[pDR196-AtSWEET4]（阳性对照）、

EBY.VW4000[pDR196]（阴性对照）、

EBY.VW4000[pDR196-Xgene]（实验组）、

在 SM/-Ura(含麦芽糖)培养基均能够正常生长；

在 SD/-Ura(含葡萄糖)培养基、SF/-Ura(含果糖)培养基中，同浓度梯度的阳性对照的生长应明显强于阴性对照，因为 AtSWEET4 具有己糖转运活性，AtSWEET4 的表达促进了酵母吸收利用葡萄糖和果糖。

若实验组 Xgene 的生长明显强于阴性对照，则说明 Xgene 的表达促进了酵母吸收利用葡萄糖和果糖，即 Xgene 具有己糖转运活性。反之 Xgene 则不具有己糖转运活性。