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：2026-11-26

酵母蔗糖转运活性检测试剂盒

Yeast Sucrose Transport Activity Assay Kit

目录号：ZL4142

产品组分	产品货号	规格	保存温度
SC/-Ura Broth	ZC1769	3×0.5L	RT
20%蔗糖溶液	ZCS142	50 mL	4°C
20%葡萄糖溶液	ZCS103	100 mL	4°C
pDR196 质粒	ZK17580	1μg	-20°C
pDR196-AtSUC2 质粒	ZK95362	1μg	-20°C
SUSY7/ura3 感受态细胞	ZC1622	100 μL×20 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 115°C灭菌 20min 后使用。

特别强调：

SUSY7/ura3 感受态极容易突变，因此 SUSY7/ura3 感受态仅可一次性使用，切不可再次划线扩繁。

如需自行制备感受态，请购买原始 SUSY7/ura3 菌株，及快捷型酿酒酵母高效感受态制备试剂盒（货号ZC135）。

产品简介

酵母突变体(SUSY7/ura3)，此种突变体不能分泌转化酶，但可表达一个源于植物编码的胞质蔗糖合成酶(sucrosesynthase)的基因，致使酵母可以在胞内代谢蔗糖。这一突变体菌株与在酵母表达载体上构建的 cDNA 文库一起转化，转化体根据它们在以蔗糖为唯一碳源的培养基上的生长能力而被筛选出来。这样通过功能互补从文库中克隆出未知蔗糖运输蛋白基因。

pDR196 是酿酒酵母蛋白高效表达载体，筛选标记为 Ura3。将蔗糖转运蛋白 Xgene 构建到 pDR196 载体中(pDR196-Xgene)，将其转化 SUSY7/ura3 感受态细胞，Xgene 蛋白就会促进酵母吸收利用培养基中的蔗糖，进而使得 SUSY7/ura3 酵母菌能够在含蔗糖培养基中正常生长。

本试剂盒可用于检测蛋白是否具有蔗糖转运活性，简单高效。包含了蔗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，115°C菌 20min，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。

SS/-Ura with Agar(含蔗糖)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，115°C灭菌 20min，冷却至到 50-60°C时加入预热的 50mL 已除菌的 20%蔗糖溶液，混合均匀倒平板即可。

SD/-Ura Broth (含葡萄糖)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，115°C灭菌 20min，使用时加入 50mL 已除菌的 20%葡萄糖溶液。

二、载体构建

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

pDR196-F：GTCCTATCATTATCGTCTAACATC

pDR196-R：ACCTGACCTACAGGAAAGAG

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

三、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 SUSY7/ura3 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；

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 SD/-Ura with Agar 平板。28-30°C培养 2-3 d。

酵母转化反应

质粒	培养基
pDR196	SD/-Ura with Agar (含葡萄糖)
pDR196-Xgene	SD/-Ura with Agar (含葡萄糖)
pDR196-AtSUC2	SD/-Ura with Agar (含葡萄糖)

四、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。

五、蔗糖转运活性检测

1. 在每个平板中挑取新鲜单菌落，用 SD/-Ura Broth (含葡萄糖)液体培养基过夜培养，OD_{600} 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 OD_{600} 为 1。

3. 用 ddH_2O 依次稀释 10 倍，100 倍，1000 倍(即 OD_{600}=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(SD/-Ura、SS/-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蔗糖转运活性。

六、示例结果与分析

将阳性对照、阴性对照以及实验组载体分别转化 SUSY7/ura3 感受态细胞。

结果分析：

SUSY7/ura3[pDR196-AtSUC2]（阳性对照）、

SUSY7/ura3[pDR196]（阴性对照）、

SUSY7/ura3[pDR196-Xgene]（实验组）、

在 SD/-Ura (含葡萄糖)培养基均能够正常生长；

在 SS/-Ura（注：该培养基含蔗糖，PH 需调至 5.0）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 AtSUC2 具有蔗糖转运活性，AtSUC2 的表达促进了酵母吸收利用蔗糖。

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蔗糖，即 Xgene具有蔗糖转运活性。反之 Xgene 则不具有蔗糖转运活性。

注意事项

载体注意事项：

1. 建议收到质粒后请先转化感受态（克隆菌株），再挑选单菌落重新提取后使用。
2. 转化前请准确查找该质粒对应的抗生素、抗生素浓度、感受态（克隆菌株）和培养温度。
3. 如有必要请测序后使用，我司网站检索对应货号可下载质粒图谱。

培养基注意事项：

1. 一般情况下 pH 值不必调节，建议测定一下 pH5.8±0.2 即可。
2. SD 培养基可能溶解不彻底或灭菌后有少量沉淀，不影响实验进行。
3. SD 培养基灭菌后，颜色为白色至浅黄色。

感受态注意事项：

1. 一支感受态不建议分成两份使用。
2. 如果转化效率低，只有几个单克隆，建议做 PCR 鉴定。
3. 筛选出来的单克隆，一般是圆形凸起、边缘整齐、表面光滑湿润、不透明、乳白色-浅黄-浅粉色的菌落，有酵母气味。

本试剂盒注意事项：

1. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗，食品及化妆品等用途。
2. 为了您的安全和健康，请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作。
3. 请注意无菌操作，避免微生物污染。
4. 此方案仅供参考，如有疑问请致电咨询。