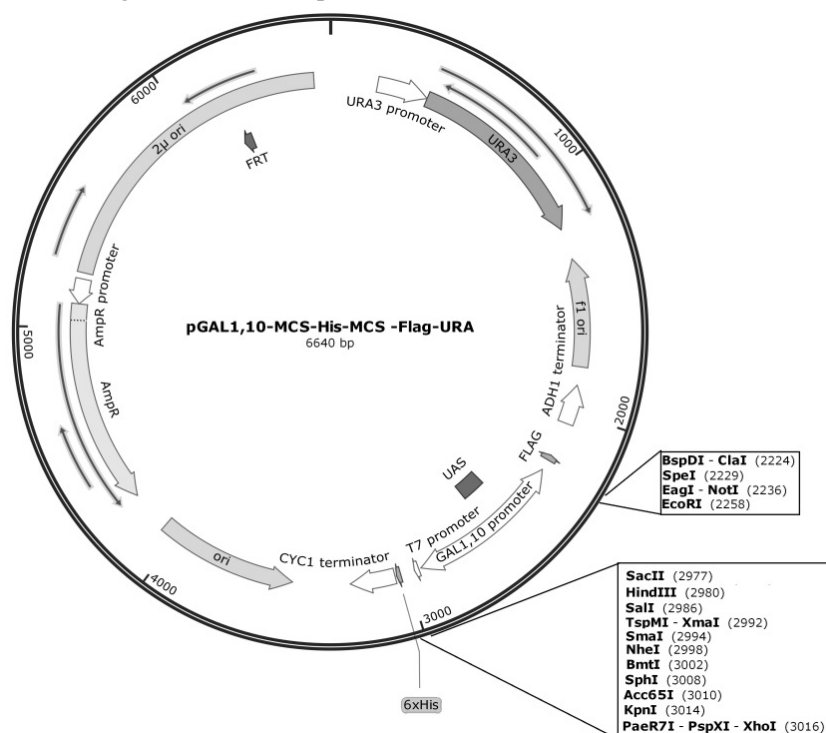


## pGAL1,10-MCS-His-MCS-Flag-URA

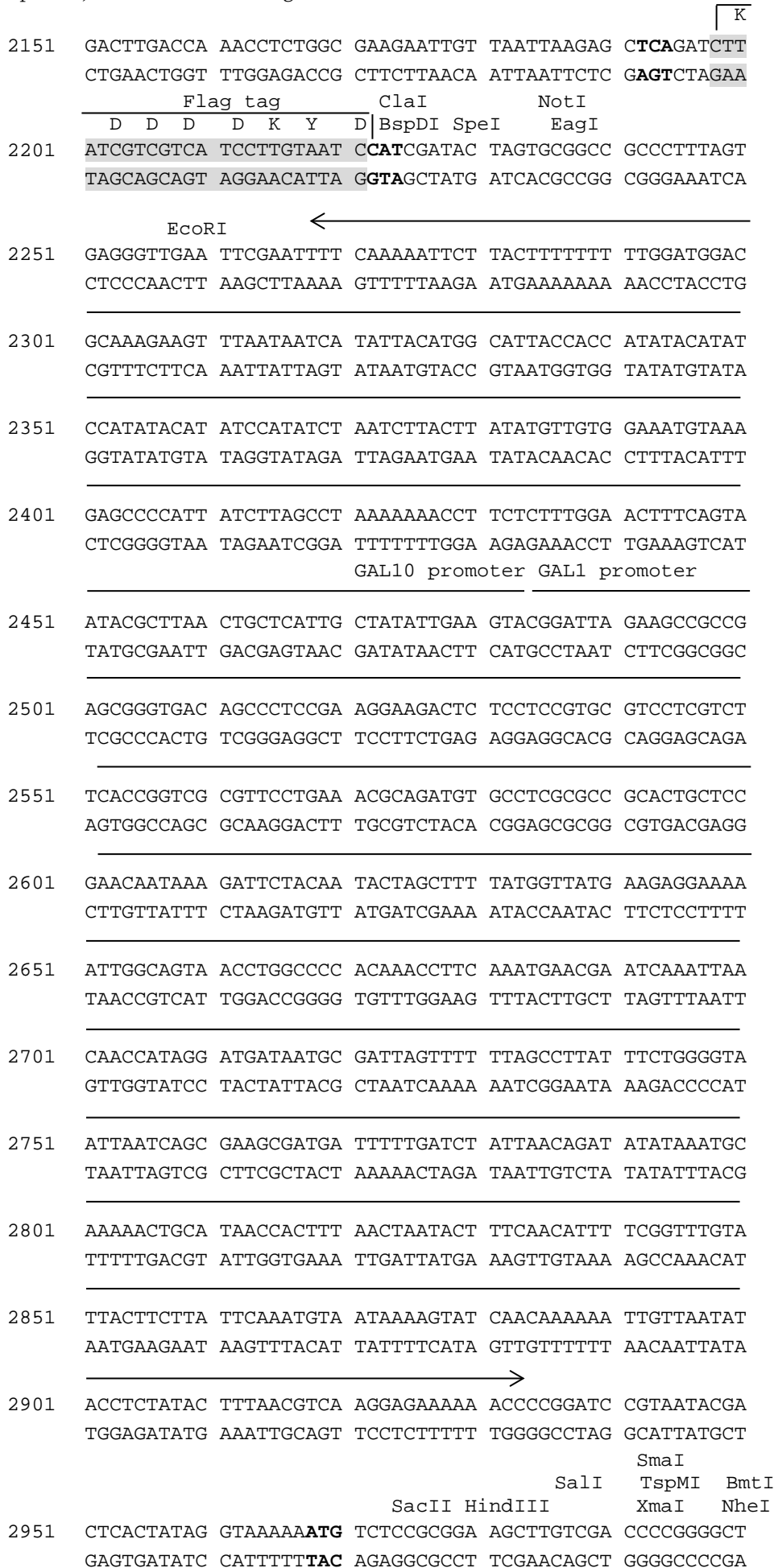
产品编号	产品名称	包装
D2894-1μg	pGAL1,10-MCS-His-MCS-Flag-URA	1μg
D2894-100μg	pGAL1,10-MCS-His-MCS-Flag-URA	100μg

### 产品简介:

- pGAL1,10-MCS-His-MCS-Flag-URA是碧云天研发的以酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)为表达菌株, 带有双启动子的表达质粒。本质粒可以在多克隆位点(Multiple cloning sites, MCS)按照开放读码框(Open reading frame, ORF)插入不带有终止密码子的目的基因, 经半乳糖诱导可以通过 *GAL1* promoter表达C端带有His标签(His Tag, HHHHHH)的目的蛋白或通过 *GAL10* promoter表达C端带有Flag标签(Flag Tag, DYKDDDDK)的目的蛋白, 并且这两种蛋白可以同时表达。
- 酿酒酵母是真核生物, 基因组约 $1.2 \times 10^7$ bp, 细胞核内含有16条染色体, 约6000个ORF, 仅4%的酵母基因有内含子, 遗传背景简单[1]。酿酒酵母具有类似原核生物的生长特性, 便于培养和进行遗传操作, 是一种模式真核生物, 被称为真核生物的‘大肠杆菌’。酿酒酵母表达系统表达外源基因时具有一定的翻译后加工能力, 收获的外源蛋白质在一定程度上进行了折叠加工和糖基化修饰, 有利于保持蛋白的活性和稳定性, 并且外源基因可在酿酒酵母中分泌表达, 表达产物分泌至胞外不仅有利于纯化, 还避免了产物在胞内大量蓄积[2]。
- 酿酒酵母能够以半乳糖为唯一碳源。半乳糖通过特定的半乳糖苷通透酶(Galactoside permease)运输到细胞中, 并通过半乳糖激酶、 $\alpha$ -D-半乳糖-1-磷酸尿苷转移酶和尿苷二磷酸葡萄糖-4-差异异构酶的顺序作用转化为葡萄糖-1-磷酸, 这三种酶分别由名为 *GAL1*、*GAL7*和 *GAL10*的一簇紧密联系的基因编码[3]。酿酒酵母转化中质粒的选择基于营养缺陷型突变菌株的使用, 如果没有特定的培养基成分(氨基酸、嘌呤或嘧啶), 突变菌株就无法生长, 因此用与突变基因互补的质粒进行转化使转化子能够在缺乏所需营养成分的培养基上生长。
- 本质粒含有相反方向的酵母启动子 *GAL1*和 *GAL10*, 可以在可抑制启动子的控制下将一个或两个目的基因引入酵母宿主菌株中。在 *GAL10* promoter后的MCS插入目的基因时, 需要目的基因带有起始密码子, 而在 *GAL1* promoter后的MCS插入目的基因时, 多克隆位点前已带有起始密码子, 插入的目的基因不需要带有起始密码子。当两个基因分别插入两个MCS共表达时, 可以通过免疫沉淀分析确认蛋白质-蛋白质相互作用。本质粒含有酵母2 $\mu$  origin复制子, 2 $\mu$  origin的序列最初是从天然存在的酵母2 $\mu$ 质粒中分离出来, 因此含有2 $\mu$  origin能够在酿酒酵母中自主复制质粒。
- 本质粒含有氨苄青霉素(Ampicillin)抗性和URA3筛选标记。在大肠杆菌中呈现氨苄青霉素抗性。本质粒转化酵母细胞后, 可利用URA3筛选标记, 转化酿酒酵母Ura营养缺陷型菌株, 如酿酒酵母INVSc1 (D0432), 在不含Uracil的培养基中筛选稳定表达目的蛋白的细胞株。
- pGAL1,10-MCS-His-MCS-Flag-URA质粒(6640bp)的图谱如下:



➤ pGAL1,10-MCS-His-MCS-Flag-URA的多克隆位点的详细图谱如下:



PaeR7I  
KpnI PspXI  
SphI Acc65I XhoI His tag

```

3001 AGCGCATGCG GTACCCTCGA GCATCATCAT CATCATCATT GATAAGATCC
      TCGCGTACGC CATGGGAGCT CGTAGTAGTA GTAGTAGTAA CTATTCTAGG
  
```

➤ pGAL1,10-MCS-His-MCS-Flag-URA中没有的酶切位点包括:

AarI	AatII	AbsI	AccIII	AccB7I	AcvI	AflII
AleI	Aor13HI	AscI	AsiSI	AspI	AspA2I	AvrII
AxyI	BaeI	BalI	BbeI	BbrPI	BbvCI	BclI
BfrI	BlnI	BlpI	BoxI	BplI	Bpu1102I	BsaBI
Bse8I	Bse21I	BseAI	BseJI	BsePI	BsiWI	Bsp13I
Bsp68I	Bsp1720I	BspEI	BspTI	BssHII	Bst98I	BstAFI
BstEII	BstENI	BstHPI	BstPI	BstPAI	Bsu36I	BtuMI
CelII	CpoI	CsiI	CspI	DinI	Eco72I	Eco81I
Eco91I	EcoNI	EcoO65I	EgeI	EheI	FbaI	FseI
FspAI	HpaI	I-CeuI	I-PpoI	I-SceI	KasI	KflI
Kpn2I	Ksp22I	KspAI	MabI	MamI	MauBI	MlsI
MluNI	Mly113I	Mox20I	MreI	MroI	MscI	Msp20I
MspCI	MssI	NarI	Nb.BbvCI	NruI	Nt.BbvCI	OliI
PalAI	PaqCI	PasI	PauI	Pfl23II	PflFI	PflMI
PI-PspI	PI-SceI	PluTI	PmaCI	PmeI	PmlI	PshAI
PspCI	PspEI	PspLI	PsrI	PsyI	PteI	RgaI
RigI	RruI	RsrII	Rsr2I	SanDI	SexAI	SfaAI
SfiI	SfoI	SgfI	SgrAI	SgrDI	SgsI	SmiI
SrfI	SspDI	SwaI	Tth111I	Van91I	Vha464I	XagI
XmaJI	ZraI					

➤ pGAL1,10-MCS-His-MCS-Flag-URA中的单酶切位点包括:

Acc65I	AgeI	AhdI	ApaI	BamHI	BfuA	BglII
BmgBI	BmtI	Bpu10I	BsaHI	BsgI	BsmI	BspDI
BspMI	BsrGI	BstAPI	BstXI	Clal	CspCI	EagI
Eco53kI	EcoRI	EcoRV	HindIII	KpnI	MfeI	MluI
NaeI	NcoI	NdeI	NgoMIV	NheI	NotI	PacI
PaeR7I	PspOMI	PspXI	PstI	SacI	SacII	SalI
SbfI	SmaI	SnaBI	SpeI	SphI	StuI	TspMI
XbaI	XhoI	XmaI				

➤ pGAL1,10-MCS-His-MCS-Flag-URA质粒中对于插入片段进行测序时, 推荐使用的正向测序引物GAL1-F、GAL10-F和反向测序引物GAL1-R、GAL10-R的序列如下:

GAL1-F (2837-2857): 5'-ATTTTCGGTTTGTATTACTTC-3'  
 GAL1-R (3113-3133): 5'-GTTCTTAATACTAACATAACT-3'  
 GAL10-F (2319-2340): 5'-GGTGGTAATGCCATGTAATATG-3'  
 GAL10-R (2118-2140): 5'-GGCAAGGTAGACAAGCCGACAAC-3'

➤ pGAL1,10-MCS-His-MCS-Flag-URA的全序列信息请参考碧云天的网站上该质粒的信息。

#### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D2894-1μg	pGAL1,10-MCS-His-MCS-Flag-URA	1μg
D2894-100μg	pGAL1,10-MCS-His-MCS-Flag-URA	100μg
—	说明书	1份

## 保存条件：

-20°C保存。

## 注意事项：

- 本质粒未经碧云天书面许可不得用于任何商业用途，也不得移交给订货人所在实验室外的任何个人或单位。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 使用说明：

1. 首次使用1μg包装的本产品时，请先取少量本质粒转化大肠杆菌，进行质粒小量、中量或大量抽提后再用于后续用途。抽提获得的质粒可以通过酶切电泳进行鉴定，或通过测序进行鉴定。
2. 100μg包装的本产品质粒浓度为0.1μg/μl，共1ml。可以直接用于酶切或者转染细胞。
3. pGAL1,10-MCS-His-MCS-Flag-URA质粒在其多克隆位点适当酶切后可以插入待表达的目的基因，需注意插入基因片段和tag之间的读码框要一致，即需要避免发生移码突变。

## 参考文献：

1. Goffeau A, Barrell BG, Bussey H, Davis RW, Dujon B, et al. Science. 1996. 274(5287):546, 563-7.
2. Bussineau CM, Shuster JR. Dev Biol Stand. 1994. 83:13-9.
3. Yocum RR, Hanley S, West R Jr, Ptashne M. Mol Cell Biol. 1984. 4(10):1985-98.

## 相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D2881-1μg	pAOX1-MCS-His-Zeocin	1μg
D2881-100μg	pAOX1-MCS-His-Zeocin	100μg
D2882-1μg	pAOX1-α factor-MCS-His-Zeocin	1μg
D2882-100μg	pAOX1-α factor-MCS-His-Zeocin	100μg
D2883-1μg	pAOX1-MCS-His-Amp&Zeo	1μg
D2883-100μg	pAOX1-MCS-His-Amp&Zeo	100μg
D2884-1μg	pAOX1-α factor-MCS-His-Amp&Zeo	1μg
D2884-100μg	pAOX1-α factor-MCS-His-Amp&Zeo	100μg
D2892-1μg	pGAL1,10-α factor-MCS-His-MCS-Flag-URA	1μg
D2892-100μg	pGAL1,10-α factor-MCS-His-MCS-Flag-URA	100μg
D2894-1μg	pGAL1,10-MCS-His-MCS-Flag-URA	1μg
D2894-100μg	pGAL1,10-MCS-His-MCS-Flag-URA	100μg
D0412	毕赤酵母GS115甘油菌	200μl
D0413	毕赤酵母KM71甘油菌	200μl
D0414	毕赤酵母X-33甘油菌	200μl
D0415	毕赤酵母SMD1168H甘油菌	200μl
D0308S	毕赤酵母感受态细胞制备及转化试剂盒	50次
D0308M	毕赤酵母感受态细胞制备及转化试剂盒	250次
D0310S	酿酒酵母感受态细胞制备及转化试剂盒	50次
D0310M	酿酒酵母感受态细胞制备及转化试剂盒	250次
D7278S	酵母菌落PCR试剂盒(碱裂解法)	100次
D7278M	酵母菌落PCR试剂盒(碱裂解法)	500次
D7279S	酵母菌落PCR试剂盒(酶解法)	100次
D7279M	酵母菌落PCR试剂盒(酶解法)	500次
D0432	酿酒酵母INVSc1甘油菌	200μl
ST961	BeyoPure™ YPD Broth (premixed powder)	10×500ml
ST963	BeyoPure™ YPD Broth with Agar (premixed powder)	10×500ml
ST965	BeyoPure™ YPD Broth (YPD肉汤培养基)	500ml

Version 2024.03.08