# SGR/-Trp/-Ura/+X-gal Broth

## 制品内容

| 货号 | 名称 | 规格 |
|---|---|---|
| QM4427-0.5L | SGR/-Trp/-Ura/+X-gal Broth | 0.5L |
| QM4427-2.5L | SGR/-Trp/-Ura/+X-gal Broth | 2.5L |

## 产品简介

X-gal（X-β-gal）是β-半乳糖苷酶（β-galactosidase）的显色底物，其化学名称为5-溴-4-氯-3-吲哚基-β-D-吡喃半乳糖苷（5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl-β-D-Galactoside）。该试剂广泛应用于大肠杆菌蓝白斑筛选及酵母单/双杂交系统的X-Gal显色检测。由于葡萄糖会抑制β-半乳糖苷酶的表达，因此不能作为lacZ基因显色反应的碳源。SGR/-Trp/-Ura/+X-gal Broth是以半乳糖和棉子糖为碳源并添加X-gal显色底物的固体培养基，专门用于酵母单/双杂交系统中LacZ报告基因的检测。当蛋白互作发生时，lacZ报告基因表达产生β-半乳糖苷酶，该酶可水解X-gal生成半乳糖和深蓝色的5-溴-4-氯靛蓝，使阳性菌落呈现蓝色。SGR/-Trp/-Ura/+X-gal培养基适用于EGY48/pJG4-5/pLacZi酵母单杂交系统的显色检测；添加了Ura的SGR/-Trp/-Ura/+X-gal还可用于Y187/pGBKT7系统中转录因子自激活活性的分析检测。

## 产品组分与配方

| 产品组分 | QM4427-0.5L | QM4427-2.5L | 含量/100mL | 保存条件 |
|---|---|---|---|---|
| SC/–Trp/–Ura Broth | 0.5L | 2.5L | 0.74 g | 室温干燥 |
| 20%半乳糖溶液（过滤除菌） | 50 ml | 250 mL | 10 mL | 室温干燥 |
| 20%棉子糖溶液（过滤除菌） | 25 mL | 125 mL | 5 mL | 室温干燥 |
| 10X BU Salts | 50 mL | 250 mL | 10 mL | 4℃ |
| X-gal 溶液（20 mg/ml，过滤除菌） | 1 mL×2 | 5 mL×2 | 0.4 mL | -20℃ |

## 使用方法

一、SGR/–Trp/–Ura/+X-gal显色板倒平板：

SC/–Trp/–Ura Broth培养基按0.74g/100ml比例加水，加入2g琼脂粉（凝集度>1200）混匀，121℃-15min灭菌，温度降到60度以下依次加入适量的半乳糖、棉子糖溶液，10X BU Salts，X-gal 溶液，摇匀倒平板。平板凝固后可放入4度避光保存（最多可保存两个月，半乳糖、棉子糖、10X BU Salts加入量较大，可在添加前放55度预热，以防止倒板过程中凝固）。

二、SGR/–Trp/–Ura/+X-gal Broth平板操作步骤

**EGY48/pJG4-5/pLacZi系统**

1）将构建好的重组质粒转化酵母感受态细胞，涂布于筛选平板SD/–Trp/–Ura

2）待筛选平板菌落生长后，转接至显色平板SGR/–Trp/–Ura/+X-gal

3）30℃培养72小时观察显色结果

**Y187/pGBKT7系统**

1）将构建好的重组质粒转化酵母感受态细胞，涂布于筛选平板SD/–Trp

2）待筛选平板菌落生长后，转接至显色平板SGR/–Trp/+X-gal

3）30℃培养72小时观察显色结果

特别说明：使用SGR/-Trp/-Ura/+X-gal显色平板进行Y187/pGBKT7系统转录因子自激活分析时，需在培养基中添加终浓度为20mg/L的尿嘧啶。

**注意事项**

1）未开封的各组分可保存1年，开封后如发现污染应立即停止使用。

2）使用SGR/–Trp/–Ura/+X-gal显色平板进行Y187/PGBKT7系统的转录因子自激活活性分析时，需在培养基中添加20mg/L终浓度的尿嘧啶。