

附表

附表 1 本文所用的菌株和质粒

Table1 Strains and plasmids used in this study

菌株与质粒	性质	来源
菌株		
<i>Escherichia coli</i> JM109	克隆宿主用于质粒的构建	实验室保藏
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>		
CEN.PK2-1C	MAT α ; leu2-3, 112; ura3-52; his3- Δ 1; trp1-289; MAL2-8C; SUC2	实验室保藏
CY03	<i>ERG5A::P_{GAL1}-XIDHCR7</i>	实验室保藏
CE01	CY03, <i>ARS1114A::P_{GAL1}-BtCYP11A1-P_{GAL1}-BtADX-P_{GAL10}-BtADR</i>	本研究构建
CE02	CY03, <i>ARS1114A::P_{GAL1}-BtCYP11A1-P_{GAL1}-HsADX-P_{GAL10}-HsADR</i>	本研究构建
CE03	CY03, <i>ARS1114A::P_{GAL1}-HsCYP11A1-P_{GAL1}-BtADX-P_{GAL10}-BtADR</i>	本研究构建
CE04	CY03, <i>ARS1114A::P_{GAL1}-HsCYP11A1-P_{GAL1}-HsADX-P_{GAL10}-HsADR</i>	本研究构建
CE05	CY03, <i>ARS1114A::P_{GAL1}-SsCYP11A1-P_{GAL1}-BtADX-P_{GAL10}-BtADR</i>	本研究构建
CE06	CY03, <i>ARS1114A::P_{GAL1}-SsCYP11A1-P_{GAL1}-HsADX-P_{GAL10}-HsADR</i>	本研究构建
CE07	CY03, <i>ARS1114A::P_{GAL1}-CYP87A4-P_{GAL10}-ATR1</i>	本研究构建
CE08-1-8	CY03, <i>rDNA::P_{GAL1}-CYP87A4-P_{GAL10}-ATR1</i> 改造的 8 株转化子	本研究构建
CE09	CY03, <i>ARS1114A::P_{GAL1}-CYP87A4(GGGGS)₂ATR1</i>	本研究构建
CE10	CY03, <i>ARS1114A::P_{GAL1}-ATR1(GGGGS)₂CYP87A4</i>	本研究构建
CE11	CY03, <i>ARS1114A::P_{GAL1}-CYP87A4(GGGGS)₃ATR1</i>	本研究构建
CE12	CY03, <i>ARS1114A::P_{GAL1}-CYP87A4(GGGGS)₃ATR1</i>	本研究构建
质粒		
pESC-Leu- BtCYP111A1	携带来源于 <i>Bos taurus</i> 的 <i>CYP11A1</i> 基因	本研究构建
pESC-Leu- HsCYP111A1	携带来源于 <i>Homo sapiens</i> 的 <i>CYP11A1</i> 基因	本研究构建
pESC-Leu- SsCYP111A1	携带来源于 <i>Sus scrofa</i> 的 <i>CYP11A1</i> 基因	本研究构建
pESC-Leu- BtADX- BtADR	携带来源于 <i>Bos taurus</i> 的 <i>ADX</i> 基因, <i>ADR</i> 基因	本研究构建
pESC-Leu- HsADX- HsADR	携带来源于 <i>Homo sapiens</i> 的 <i>ADX</i> 基因, <i>ADR</i> 基因	本研究构建
pESC-Leu- CYP87A4-ATR1	携带来源于 <i>Digitalis lanata</i> 的 <i>CYP87A4</i> 基因, <i>Arabidopsis thaliana</i> 的 <i>ATR1</i> 基因	本研究构建
pESC-Leu- CYP87A4(GGGGS) ₂ ATR1	携带 <i>P_{GAL1}-CYP87A4(GGGGS)₂ATR1</i> 表达框	本研究构建
pESC-Leu- ATR1(GGGGS) ₂ CYP87A4	携带 <i>P_{GAL1}-ATR1(GGGGS)₂CYP87A4</i> 表达框	本研究构建
pESC-Leu- CYP87A4(GGGGS) ₃ ATR1	携带 <i>P_{GAL1}-CYP87A4(GGGGS)₃ATR1</i> 表达框	本研究构建
pESC-Leu- ATR1(GGGGS) ₃ CYP87A4	携带 <i>P_{GAL1}-ATR1(GGGGS)₃CYP87A4</i> 表达框	本研究构建

附表 2 本文所用的的引物

Table 2 Primers for this study

引物	序列 5'→3'	用途
pESC-Leu- <i>XhoI</i> -F	CTCGAGTAAGCTTGGTACCG	反向扩增带有 <i>XhoI</i> 位点的 pESC-Leu 质粒
pESC-Leu- <i>BamHI</i> -R	GGATCCGGGGTTTTTCTCCT	反向扩增带有 <i>BamHI</i> 位点的 pESC-Leu 质粒
pESC-Leu- <i>NotI</i> -F	GCGGCCGCCCTTAGTGAGG	反向扩增带有 <i>NotI</i> 位点的 pESC-Leu 质粒
pESC-Leu- <i>SpeI</i> -R	ACTAGTATCGATGGATTACA	反向扩增带有 <i>SpeI</i> 位点的 pESC-Leu 质粒
pESC-Leu- <i>HindIII</i> -F	AAGCTTGGTACCGCGGCTAG	反向扩增带有 <i>HindIII</i> 位点的 pESC-Leu 质粒
Bt-CYP11A1-F	AGGAGAAAAAACCCGGATCCATGTTGGCCAGAGGTCTACC	扩增带有 <i>BamHI</i> 、 <i>XhoI</i> 位点的 <i>Bos taurus</i> 源 <i>CYP11A1</i> 基因
Bt-CYP11A1-R	CGGTACCAAGCTTACTCGAGTTAAGCTTGTGGTGGATCTT	扩增带有 <i>BamHI</i> 、 <i>XhoI</i> 位点的 <i>Bos taurus</i> 源 <i>CYP11A1</i> 基因

续附表 2 本研究的引物

Table 2 Primers for this study

引物	序列 5'→3'	用途
Hs-CYP11A1-F	AGGAGAAAAACCCCGGATCCATGCTGGCTAAGGGATTACC	扩增带有 <i>Bam</i> HI、 <i>Xho</i> I 位点的 <i>Homo sapiens</i> 源 CYP11A1 基因
Hs-CYP11A1-R	CGGTACCAAGCTTACTCGAGTTATTGCTGGGTTGCTTCTT	扩增带有 <i>Bam</i> HI、 <i>Xho</i> I 位点的 <i>Homo sapiens</i> 源 CYP11A1 基因
Ss-CYP11A1-F	AGGAGAAAAACCCCGGATCCATGCTGGCCAGGGTCTAGC	扩增带有 <i>Bam</i> HI、 <i>Xho</i> I 位点的 <i>Sus scrofa</i> 源 CYP11A1 基因
Ss-CYP11A1-R	CGGTACCAAGCTTACTCGAGTTACGCTTGTAAAGGGTCTCT	扩增带有 <i>Bam</i> HI、 <i>Xho</i> I 位点的 <i>Sus scrofa</i> 源 CYP11A1 基因
DI-CYP87A4-F	AGGAGAAAAACCCCGGATCCATGTCATTAGTTGCAATGTC	扩增带有 <i>Bam</i> HI、 <i>Xho</i> I 位点的 <i>Digitalis lanata</i> 源 CYP87A4 基因
DI-CYP87A4-R	CGGTACCAAGCTTACTCGAGTTAACCTCTTTCAGTCATAT	扩增带有 <i>Bam</i> HI、 <i>Xho</i> I 位点的 <i>Digitalis lanata</i> 源 CYP87A4 基因
Bi-ADX-F	AGGAGAAAAACCCCGGATCCATGGCGGCTAGGCTACTAAG	扩增带有 <i>Bam</i> HI、 <i>Xho</i> I 位点的 <i>Bos taurus</i> 源 ADX 基因
Bi-ADX-R	CGGTACCAAGCTTACTCGAGTTACTCTACTTACTGCTATTCAT G	扩增带有 <i>Bam</i> HI、 <i>Xho</i> I 位点的 <i>Bos taurus</i> 源 ADX 基因
Bi-ADR-F	CCTCACTAAAGGGCGGCCGCATGGCGCCTAGGTGTTGGCG	扩增带有 <i>Not</i> I、 <i>Spe</i> I 位点的 <i>Bos taurus</i> 源 ADR 基因
Bi-ADR-R	TGTAATCCATCGATACTAGTTAATGTCCAAGCAACCTCA	扩增带有 <i>Not</i> I、 <i>Spe</i> I 位点的 <i>Bos taurus</i> 源 ADR 基因
Hs-ADX-F	AGGAGAAAAACCCCGGATCCATGGCTGCTGCTGGAGGTGC	扩增带有 <i>Bam</i> HI、 <i>Xho</i> I 位点的 <i>Homo sapiens</i> 源 ADX 基因
Hs-ADX-R	CGGTACCAAGCTTACTCGAGTTATGAGGTTTTGCCAACAT	扩增带有 <i>Bam</i> HI、 <i>Xho</i> I 位点的 <i>Homo sapiens</i> 源 ADX 基因
Hs-ADR-F	CCTCACTAAAGGGCGGCCGCATGGCATCAAGGTGCTGGAG	扩增带有 <i>Not</i> I、 <i>Spe</i> I 位点的 <i>Bos taurus</i> 源 ADR 基因
Hs-ADR-R	TGTAATCCATCGATACTAGTTAATGCCCTAACAGTCTTAGCAT T	扩增带有 <i>Not</i> I、 <i>Spe</i> I 位点的 <i>Bos taurus</i> 源 ADR 基因
ATR1-F	CCTCACTAAAGGGCGGCCGCATGACTTCTGCTTTGTATG	扩增带有 <i>Not</i> I、 <i>Spe</i> I 位点的 <i>Arabidopsis thaliana</i> 源 ATR1 基因
ATR1-R	TGTAATCCATCGATACTAGTTCAATGGTGATGGTGATGATGCC AGACATC	扩增带有 <i>Not</i> I、 <i>Spe</i> I 位点的 <i>Arabidopsis thaliana</i> 源 ATR1 基因
ARS1114-UF	ACTAAAACACTGTTGTCCTG	扩增 ARS1114 位点上游片段
ARS1114-UR	CAGCTATTAATACACATTCG	扩增 ARS1114 位点上游片段
ARS1114-DF	GAATCAGTGATTGAAAGGAA	扩增 ARS1114 位点下游片段
ARS1114-DR	CAGGACCAAGACTGATACTG	扩增 ARS1114 位点下游片段
ARS1114-ADHI-CYCI-1F	CGAATGTGTATTAATAGCTGGAGCGACCTCATGTATAACC	扩增带有 ARS1114 位点同源臂的目的基因表达盒片段
ARS1114-ADHI-CYCI-1R	GATACCTGAGTATTCACAGTTCTTCGAGCGTCCCAAAACCT	扩增带有 ARS1114 位点同源臂的目的基因表达盒片段
LEU-1F	AGGTTTTGGGACGCTCGAAGAAGTGTGGGAATACTCAGGTATC	扩增带有 ARS1114 位点同源臂的 Leu 标签片段
LEU-1R	TTCCTTCAACTACTGATTCTTAAGCAAGGATTTCTTAACCTCT TCGGC	扩增带有 ARS1114 位点同源臂的 Leu 标签片段
ARS1114-P _{GAL1} -CYCI-2F	ATCAGGAGAACGAATGTGTATTAATAGCTGAGTACGGATTAGA AGCCGCC	扩增带有 ARS1114 位点同源臂的目的基因表达盒片段
ARS1114-P _{GAL1} -CYCI-2R	GGTATAGCATGAGGTGCTCCGCGGTACCAAGCTTACTCG	扩增带有 ARS1114 位点同源臂的目的基因表达盒片段
ARS1114-ADHI-CYCI-2F	CGAGTAAGCTTGGTACCGCGGACGACCTCATGTATAACC	扩增带有 ARS1114 位点同源臂的目的基因表达盒片段
ARS1114-ADHI-CYCI-2R	GATACCTGAGTATTCACAGTTCTTCGAGCGTCCCAAAACCT	扩增带有 ARS1114 位点同源臂的目的基因表达盒片段
LEU-2F	AGGTTTTGGGACGCTCGAAGAAGTGTGGGAATACTCAGGTATC	扩增带有 ARS1114 位点同源臂的 Leu 标签片段
LEU-2R	TTCCTTCAACTACTGATTCTTAAGCAAGGATTTCTTAACCTCT TCGGC	扩增带有 ARS1114 位点同源臂的 Leu 标签片段

续附表 2 本研究的引物

Table 2 Primers for this study

引物	序列 5'→3'	用途
rDNA-1-UF	GTACCTCCCACTACTTTTCCTCAC	扩增 rDNA 位点上游片段
rDNA-1-UR	CTGAGTATCCACAGTTGATAGTTAACGGAAACGCAGGTG	扩增 rDNA 位点上游片段
rDNA-2-DF	CTTTAATTTGCGGTTGCGGCCATATCTACCAGAAAGC	扩增 rDNA 位点下游片段
rDNA-2-DR	CGTTGCAAAGATGGGTTGAAAGAG	扩增 rDNA 位点下游片段
r-CYP87A4-ATR1-F	GTTAAGAAAATCCTTGCTTAAGAGCGACCTCATGCTATACC	扩增带有 rDNA 位点同源臂的 <i>P_{GALI}-CYP87A4-P_{GALI}-ATR1</i> 表达盒片段
r-CYP87A4-ATR1-R	GATATGGCCGCAACCCTTCGAGCGTCCAAAACCT	扩增带有 rDNA 位点同源臂的 <i>P_{GALI}-CYP87A4-P_{GALI}-ATR1</i> 表达盒片段
LEU-3F	CGTTAAACTATCAACTGTGGGAATACTCAGGTATC	扩增带有 rDNA 位点同源臂的 Leu 标签片段
LEU-3R	GAGGTCGCTCTTAAGCAAGGATTTTCTTAACCTTCTCGGC	扩增带有 rDNA 位点同源臂的 Leu 标签片段
CYP87A4-F	AGGAGAAAAAACCCCGATCCATGTCATTAGTTGCAATGTCAG TGGCGC	扩增带有 <i>Bam</i> HI 位点的 <i>CYP87A4</i> 基因
CYP87A4-(GGGS) ₂ -R	TGAACCTCCTCCGCCACTTCCGCCACCTCCACCTCTTCAGTCA TATTGACATG	扩增 C 端带有 linker(GGGS) ₂ 的 <i>CYP87A4</i> 基因
(GGGS) ₂ -ATR1-F	GGAGGTGGCGGAAGTGGCGGAGGAGTTCAATGACTTCTGCTT GTATGCTTCC	扩增 N 端带有 linker(GGGS) ₂ 的 <i>ATR1</i> 基因
ATR1-R	CTAGCCCGGTACCAAGCTTTCAATGGTGATGGTGATGATGCC AGACATC	扩增带有 <i>Hind</i> III 位点的 <i>ATR1</i> 基因
ATR1-F	AGGAGAAAAAACCCCGATCCATGACTTCTGCTTGTATGCTTC C	扩增带有 <i>Bam</i> HI 位点的 <i>ATR1</i> 基因
ATR1-(GGGS) ₂ -R	TGAACCTCCTCCGCCACTTCCGCCACCTCCATGGTGATGGTGAT GATGCC	扩增 C 端带有 linker(GGGS) ₂ 的 <i>ATR1</i> 基因
(GGGS) ₂ -CYP87A4-F	GGAGGTGGCGGAAGTGGCGGAGGAGTTCAATGTCATTAGTTG CAATGTCAG	扩增 N 端带有 linker(GGGS) ₂ 的 <i>CYP87A4</i> 基因
CYP87A4-R	CTAGCCCGGTACCAAGCTTTAACCTTTCAGTCATATTGAC	扩增带有 <i>Hind</i> III 位点的 <i>CYP87A4</i> 基因
CYP87A4-(GGGS) ₃ -R	CCCACCGGAACCCCTCCGCCAGATCCCCACCTCCACCTCTTT CAGTCATATTGACATG	扩增 C 端带有 linker(GGGS) ₃ 的 <i>CYP87A4</i> 基因
(GGGS) ₃ -ATR1-F	GGCGGAGGGGTTCCGGTGGGGGAGTTCAATGACTTCTGCTT GTATGCTTCC	扩增 N 端带有 linker(GGGS) ₃ 的 <i>ATR1</i> 基因
ATR1-(GGGS) ₃ -R	GGAACCCCTCCGCCAGATCCCCACCTCCATGGTGATGGTGA TGATGCCAGACATCTCT	扩增 C 端带有 linker(GGGS) ₃ 的 <i>ATR1</i> 基因
(GGGS) ₃ -CYP87A4-F	GGATCTGGCGGAGGGGTTCCGGTGGGGGAGTTCAATGTCAT TAGTTGCAATGTCAGTG	扩增 N 端带有 linker(GGGS) ₃ 的 <i>CYP87A4</i> 基因
pESC-Leu-验证-F	ATTCAGGCTGCGCAACTGTT	验证 pESC-Leu
pESC-Leu-验证-R	AAGCGGAAGAGCGCCAAT	验证 pESC-Leu
ARS1114-验证-F	CGTTGAATCAGTCTTACTTC	验证 <i>ARS1114</i> 位点
ARS1114-验证-R	TCGTTACTTAGTGAATGAAT	验证 <i>ARS1114</i> 位点
rDNA-验证-F	CATCCCTGCAGAGTTGATGT	验证 rDNA 位点
rDNA-验证-R	AATGTTAGTGCAGGAAAGCG	验证 rDNA 位点