

Y1HGold 二代甘油菌种说明书

● 产品规格 (CAT#: Bsa-1001)

Y1HGold 二代甘油菌	400 μ l / 1 支	保存: -80 $^{\circ}$ C/大于 10 年
YPDA 平板	9cm / 2 块	4 度保存/30 天
一次性接种环	4 支	—

● 基因型

MAT α , *ura3-52*, *his3-200*, *ade2-101*, *trp1-901*, *leu2-3*, *112*, *gal4 Δ* , *gal80 Δ* , *met-*, MEL1

● 产品说明

Y1HGold 菌株是 Clontech 公司开发的 GAL4-AbA 酵母单杂系统用菌株, MAT α 型, 可直接转化质粒进行筛库试验。Transformation marker 为: *ura3*, *leu2*; 报告基因为: *AbAr*。Y1HGold-GAL4-AbA 酵母单杂系统需要两种质粒配套使用: *pAbAi* 和 *PGADT7*。质粒 *pAbAi* 的筛选标志为 URA, 用于表达 *pBait-AbAi* construct (1~3 个 bait DNA 序列重复串联后克隆到 *pAbAi* 中); 质粒 *pGADT7* 的筛选标志为 LEU, 用于表达 AD(GAL4 C 端 768~881 位氨基酸)与目标蛋白 (Prey)的融合蛋白。GAL4-AbA 酵母单杂系统原理: Aureobasidin A (AbA)是一种环酯肽抗生素, 在低浓度 (0.1-0.2 μ g/ml) 下即可对酵母产生毒性。基因组中整合了 *pBait-AbAi* 的酵母菌株 (Bait-Reporter Yeast Strains), 当猎物蛋白 (Prey)结合到诱饵序列 (Bait DNA)上, GAL4 AD 就会激活 *AbAr* 的表达, 从而能够在含有抗生素 AbA 的培养基上生长。*AbAr* 与营养缺陷报告基因相比具有更低背景的优点, 可以降低酵母单杂假阳性发生的概率。本产品为二代甘油菌株(一代种扩增两个世代后保种), 未经大量扩繁, 核 DNA 及表型稳定, 菌落表型及生长曲线与原种匹配度大于 99.5%。

● 操作方法

- 1, 客户收到菌株后, 不可直接吸取菌液接种扩繁。应先对菌种进行复壮, 待长出单菌落后挑单菌落接菌扩繁; 复壮方法如下: 在超净台打开盖子, 用接种环沾取少量甘油菌液采用交叉划线法 (图 1) 在 YPDA 平板表面轻轻划线 (注意: 不要刺破培养基), 将平板封口后放 30 度培养 3-5 天, 即可长出单菌落。
- 2, 交叉划线法: 划线的目的是经过几次不连续划线达到梯度稀释菌液的效果, 保证能长出单菌落。具体步骤如下: A, -80 度取出的甘油菌应在超净台打开盖子, 立即在表面挑取菌液/菌块划线, 不用等融化后划线, 固体状态时即可用接种环挑取划线, 操作要点是“快速操作, 立即划线”, 目的是最大限度减少温度波动对菌种造成的“冷休克”和冰晶物理损伤; 如果收到的是液体甘油菌, 可直接划线, 在超净台打开盖子用接种环沾取少量甘油菌液划线。

B, 取出无菌接种环, 注意不要污染, 图 1 所示为标准的五段交叉划线法, 分五个区, 每个区划三条直线, 第 1、2 区可共用一个接种环, 划好 1、2 区后换一个新接种环划第 3 区, 再换一个新接种环划第 4 区, 再换一个新接种环划第 5 区, 每一次换接种环划线要经过前面划线区的划线痕迹, 这样就相当于对菌种进行稀释。简易划线也可只划 3 个区或 4 个区。

C, 客户也可用金属接种环灼烧后划线; 本公司提供的接种环为 ABS 材质, 不可灼烧。

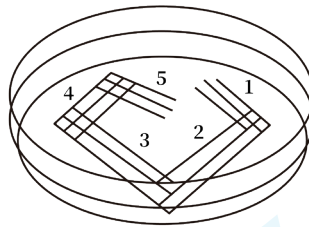


图 1. 五段交叉划线法示意图

● 注意事项

- 1, 客户收到二代甘油菌株后, 应立即放-80度保存, 不可放-20度保存。
- 2, 应减少甘油菌冻融的次数, 冻融的次数越多, 菌种的活力越低;
- 3, 若扩繁菌种, 注意一次扩繁不要超过四个世代, 以保证菌种基因组的稳定; 扩增后重新保存的菌种必须对菌种做表型、功能验证, 所有表型、功能保持完好的菌株才能作为菌种使用。