

## EGY48(p8op-LacZ)二代甘油菌种说明书

### ● 产品规格 (CAT#: Bsa-1031)

EGY48(p8op-LacZ)二代甘油菌	400 $\mu$ l / 1 支	保存: -80°C/大于 10 年
SD/-Ura 平板	9cm / 2 块	4 度保存/30 天
一次性接种环	4 支	——

### ● 基因型

MAT $\alpha$ , ura3, his3, trp1, LexAop (x6)-LEU2 (p8op-LacZ: URA)

### ● 产品说明

EGY48 菌株是 Clontech 公司开发的 LexA 系统酵母双杂实验用菌株, MAT $\alpha$  型, 将 p8op-LacZ 报告质粒转入 EGY48 即是 EGY48(p8op-LacZ), 可直接转化质粒进行蛋白互作验证或筛库试验; Transformation marker 为: his3, trp1, EGY48 的报告基因为 LEU2; p8op-LacZ 质粒的报告基因为 LacZ; 报告基因 UAS (上游激活序列) 来源于 LexA op(x6), 只有当 Bait 和 Prey 互作时才能启动 LEU2、LacZ 的表达。EGY48(p8op-LacZ)-LexA 酵母双杂系统需要三种质粒配套使用: pLexA、pB42AD、p8op-LacZ。质粒 pLexA 的筛选标志为 HIS3, 用于表达 DNA-BD(来自原核的 202 个氨基酸残基组成的 LexA 蛋白)与目标蛋白 (Bait)的融合蛋白; 质粒 pB42AD 的筛选标志为 TRP1, 用于表达 AD(来自疱疹病毒的 88 个氨基酸残基组成的 B42AD 蛋白)与目标蛋白 (Prey)的融合蛋白; 报告质粒 p8op-LacZ 的筛选标志为 URA3, 报告基因为 LacZ, 报告基因 UAS 来源于 LexA op(x6), 只有当 Bait 和 Prey 互作时才能启动报告基因表达。EGY48(p8op-LacZ) 菌株中已经转入 p8op-LacZ 质粒, 试验中只需要转入 Bait 和 Prey 质粒即可完成酵母双杂试验。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 SD/-Ura 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。

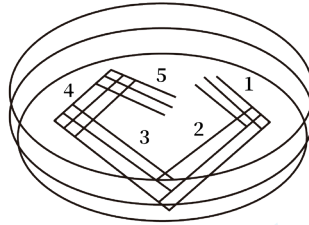


图 1. 五段交叉划线法示意图

## ● 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。