

R5421 二代甘油菌种说明书

● 产品规格 (CAT#: Bsa-1080)

R5421 二代甘油菌	400 μ l / 1 支	保存: -80 $^{\circ}$ C/大于 10 年
YPDA+100mM KCl 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 leu2 trk1 Δ his3 Δ 200 his4-15 trk2 Δ 1::pCK64

● 产品说明

R5421 酿酒酵母菌株为 K⁺/钾离子缺陷型菌株，在文献中也称为 CY162，MAT α 型，多用于 K⁺/钾离子转运蛋白的鉴定试验中，也可用于 K⁺/钾离子通道或钠钾离子泵的鉴定试验。Transformation marker 为: ura3, leu2, 该菌株可以在含有 100mM KCl 的培养基中正常生长，在含有 5-10mM KCl 的培养基中生长缓慢，当培养基中 KCl 浓度低于 0.5mM, R5421 (CY162) 细胞停止生长。本产品为二代甘油菌株(一代种扩增两个世代后保种)，未经过大量扩繁，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+100mM KCl 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。

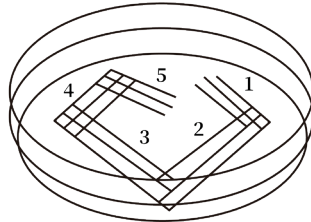


图 1. 五段交叉划线法示意图

● 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。