

EBY100 二代甘油菌种说明书

● 产品规格 (CAT#: Bsa-1110)

EBY100 二代甘油菌	400 μ l / 1 支	保存: -80°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

MATa AGA1::GAL1-AGA1::URA3 ura3-52 trp1 leu2-delta200 his3-delta200 pep4::HIS3 prbd1.6R can1 GAL

● 产品说明

EBY100 菌株是 Invitrogen 公司开发的酵母展示用菌株, MATa 型, 与 pYD1 质粒配套使用, 可直接转化质粒进行蛋白展示试验; Transformation marker 为: leu2, trp1。EBY100-pYD1 酵母展示系统通过酿酒酵母的 α 凝集素受体 (α -agglutinin receptor) 将目标蛋白展示在细胞表面, 方便后期筛选。其基本原理为: α 凝集素受体由 AGA1 和 AGA2 两个亚基组成, AGA1 蛋白(725 个氨基酸)由 EBY100 细胞合成, 分泌到细胞外, 在细胞外基质中与酵母细胞壁的 β -葡聚糖共价结合, AGA2 蛋白(69 个氨基酸)可以通过两个二硫键结合到 AGA1 蛋白上; 将目标蛋白构建到 pYD1 质粒上, 与 AGA2 蛋白融合表达, AGA2 蛋白在 N 端, 目标蛋白在 C 端, 当含有 pYD1 质粒的 EBY100 酵母菌在含有半乳糖, 同时不含葡萄糖的培养基中诱导表达时可以表达出 AGA2-target protein 融合蛋白, 该融合蛋白通过 AGA2 结合到 EBY100 酵母细胞表面的 AGA1 蛋白上进而将目标蛋白展示在酵母表面。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 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。

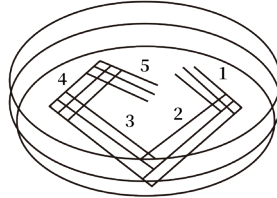


图 1. 五段交叉划线法示意图

● 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。