

EBY.VW4000 二代甘油菌种说明书

● 产品规格 (CAT#: Bsa-1140)

EBY.VW4000 二代甘油菌	400 μ l / 1 支	保存: -80 $^{\circ}$ C/大于 10 年
YPM 平板	9cm / 2 块	4 度保存/30 天
一次性接种环	4 支	——

● 基因型

CEN.PK2-1C, MATa, hxt13 Δ ::loxP, hxt15 Δ loxP, hxt16 Δ ::loxP, hxt14 Δ ::loxP, hxt12 Δ ::loxP, hxt9 Δ ::loxP, hxt11 Δ ::loxP, hx10 Δ ::loxP, hxt8 Δ ::loxP, hxt4-1-5 Δ ::loxP, hxt2 Δ ::loxP, hxt3-6-7 Δ ::loxP, gal2 Δ ::(ura3/FOA), stl1 Δ ::loxP, agt1 Δ ::loxP, mph2(ydl247w) Δ ::loxP, mph3(yjr160c) Δ ::loxP

● 产品说明

EBY.VW4000 菌株来源于 CEN.PK2-1C 酵母菌株, MATa 型, Transformation marker 为 ura3, 可用于筛选标记为 URA3 的质粒的转化, 比如 pYES2/NT、pYC2/NT、pDR196、p416GDP、pESC-URA 等质粒。酿酒酵母含有大量严格控制的具有不同特征的己糖转运蛋白, 这些己糖转运蛋白有转运葡萄糖的潜力, 大部分酵母中含有 17 个己糖转运蛋白 (Hexose transporter) HXT1 - HXT17, CEN.PK2-1C 只含有 16 个己糖转运蛋白 (Hexose transporter) HXT1 - HXT16; GAL2: 半乳糖渗透酶基因, 为半乳糖利用所必须, 同时具有运输葡萄糖的功能; 还有三个麦芽糖转运蛋白家族成员 (Agt1、Ydl247、Yjr160) 能够运输己糖; 此外, STL1 (Sugar Transporter-Like protein) 为质膜甘油质子同向转运体, 也被认为参与到葡萄糖的转运代谢过程中。为了消除 CEN.PK2-1C 酵母对葡萄糖的摄取能力, 利用 Cre/LoxP 系统将 HXT1 - HXT16、GAL2、AGT1、YDL247w 和 YJR160c 这些能够运输己糖的基因, 加上 STL1 共 21 个基因全部删除, 即是 EBY.VW4000。EBY.VW4000 作为己糖转运蛋白缺陷酵母菌株, 其葡萄糖的吸收和转运活性被完全消除, 其他己糖的吸收和转运能力也被消除, 是发现和研究天然或异源 (其他物种) 己糖转运蛋白的高效试验平台。EBY.VW4000 不能同化葡萄糖或其他己糖作为碳源, 在含有 2% 麦芽糖的培养基中生长正常, 培养 WT 细胞推荐使用 YPM 培养基; 筛选含有质粒的酵母细胞推荐使用 SM 培养基。本产品为二代甘油菌种(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 YPM 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 区后换一个接种环划第 3 区, 再换一个接种环划第 4 区, 再换一个接种环划第 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。

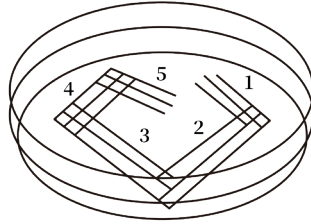


图 1. 五段交叉划线法示意图

● 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。