

W303-1A 二代甘油菌种说明书

● 产品规格 (CAT#: Bsa-1180)

W303-1A 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

MATa can1-100 ade2-1 his3-11,15 leu2-3,112 trp1-1 ura3-1

● 产品说明

W303 系列是由 Rodney Rothstein 实验室在 20 世纪 80 年代通过 S288C 和 A364A 的杂交构建而成的, 目的是创建一套遗传背景清晰、携带多个常用选择标记、且适合进行遗传学操作(尤其是基因敲除和互补)的菌株系列。通过杂交和孢子分离, 获得了具有不同交配型的同基因型单倍体菌株: W303-1A: MATa (a 交配型单倍体)和 W303-1B: MAT α (α 交配型单倍体)以及相应的二倍体 W303。W303-1A 是一个遗传背景经典、携带多个重要突变(尤其是 ade2-1 和隐含的 rad5-535)的单倍体实验室酵母菌株, 主要用于以下领域的研究: 1. 遗传学操作和分析; 2. 研究 DNA 修复、复制压力响应和基因组稳定性的不可或缺的标准模型; W303-1A 被发现对 DNA 损伤剂(如 UV, MMS, 羟基脲 HU)异常敏感, 这后来被追溯到其携带的一个隐性突变**rad5-535** (有时在基因型中不会明确列出, 但存在于其 A364A 祖先血统中), RAD5 是 DNA 损伤耐受途径(模板转换)的关键基因。这种内在的 DNA 修复缺陷使得 W303 成为研究 DNA 损伤应答、复制压力、修复途径和基因组不稳定性的极其重要和独特的模型; 3. 进行细胞周期、染色体生物学等基础细胞过程研究的常用工具; 由于其清晰的遗传背景和易于操作, W303 被广泛用于研究细胞周期调控、染色体分离、纺锤体组装检查点、端粒维持等基本细胞过程。W303-1A 菌株的筛选标记为: leu2, ura3, trp1, his3, 可配合诱导型质粒 pYES2、pESC -LEU/URA/TRP/HIS 或组成型表达质粒 pGADT7 等使用。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 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。

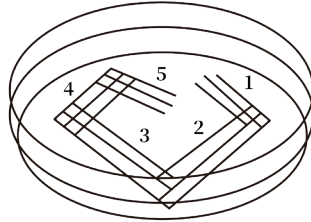


图 1. 五段交叉划线法示意图

● 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。