

毕赤酵母 PAD (Pichia Adenine Dropout) Agar 说明书

● 产品规格和内容:

包装名称	货号	包装含量	包装数量	保存条件/时间
PAD Agar 粉剂培养基	PIM4010S-01	87.5g(每瓶可配制 2.5L 固体 PAD)	1 瓶	室温干燥/24 个月
		50%葡萄糖溶液 (已过滤除菌)	100ml	室温干燥/24 个月
	PIM4010S-02	175g(每瓶可配制 5L 固体 PAD)	1 瓶	室温干燥/24 个月
		50%葡萄糖溶液 (已过滤除菌)	200ml	室温干燥/24 个月

● 产品组分与配方:

产品组分	PAD Agar 配方/L
YNB(含硫酸铵, 不含氨基酸)	13.4g
DO Supplement -Ade	1.56g
葡萄糖	20g
生物素(Biotin)	0.8mg
Agar	20g

● PH 值(25°C): 6.0 ± 0.2 : 本产品加入 PH7.0 的去离子水后 PH 接近 6.0, 可不调 PH 值直接使用。

● 产品说明

PAD(Pichia Adenine Dropout) Agar 是一种由确定成分组成的全合成酵母培养基。PAD 培养基缺失腺嘌呤(Ade), 含有除腺嘌呤外的所有必须氨基酸、尿嘧啶、微量元素、大量元素、维生素、葡萄糖等营养成分, 可以用来筛选含有表达腺嘌呤合成基因的酵母, 主要用于 PichiaPink1、2、3、4 四种毕赤酵母的质粒转化筛选试验。pPink-HC、pPink-LC、pPink- α -HC 这三个质粒都有 Ade2 筛选标记, 先对质粒做单酶切, 将线性化的质粒回收后转化毕赤酵母感受态细胞, 涂布在 PAD 平板上, PichiaPink 1、2、3、4 菌株均为腺嘌呤营养缺陷型, 只有线性化质粒重组成功的毕赤酵母细胞才能正常生长, 长出的菌落有三种颜色: 1, 白色菌落, 2, 淡红色菌落, 3, 紫红色菌落(ADE2 基因表达量低时, Adenine 合成途径受阻; 又由于其 ADE4,5,6,7,8 基因均正常, 所以造成中间产物 P-ribosylamino imidazole 在细胞中积累而使菌落变为粉红色), 菌落颜色直接反映酵母细胞中 Ade2 基因的表达量, Ade2 蛋白表达量越高, 菌落越白, 表达量越低, 菌落越红, 由此推测菌落越白, 重组进酵母基因组的质粒拷贝数越高, 目的蛋白表达量越高, 所以挑菌时尽量挑白色的菌落用于后续的表达试验。

● 使用方法

PAD Agar 粉剂培养基为固体培养基, 取 17.5g, 加蒸馏水 400ml 搅拌溶解后, 定容到 0.48L(不用调 pH 值), 121°C-15min 高压灭菌, 灭菌后温度降到 55 度以下加入过滤除菌的 50%葡萄糖溶液 20ml 即可。

● 注意事项

1. PAD Agar 粉剂培养基需先补水, 121°C-15min 高压灭菌后使用; 若发现有严重吸潮现象, 停止使用。
2. PAD Agar 粉剂培养基加入 PH7.0 的去离子水后 PH 约 7.0, 可不调 PH 值直接使用, 不影响酵母生长。
3. 若配制少于 0.5L, 按相应的比例加入即可, 剩余培养基可封口后放干燥处保存。