

## CEN.PK2-1C 二代甘油菌种说明书

### ● 产品规格 (CAT#: Bsa-1150)

CEN.PK2-1C 二代甘油菌	400 $\mu$ 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 his3D1 leu2-3\_112 ura3-52 trp1-289 MAL2-8c SUC2

### ● 产品说明

CEN.PK2-1C 属于著名的 CEN.PK 系列酿酒酵母菌株, 这个系列是由荷兰代尔夫特理工大学的 Jack T. Pronk 教授实验室主导开发的, 旨在创建一套遗传背景清晰、生理特性优良、适合进行代谢工程和生理学研究的实验室菌株, 以弥补当时常用菌株 S288C、BY4741 等在某些生理特性(如生长速率、糖酵解、对营养限制的响应)上的不足。CEN.PK 系列的祖先菌株复杂, 可以追溯到工业菌株和实验室菌株的杂交组合, 主要贡献者包括: 荷兰酵母菌种保藏中心 (CBS) 保藏的 CBS 6412 (一个用于烘焙或酿造的菌株) 及实验室菌株: FL100 (一个常用于基础研究的菌株), 通过一系列精心设计的杂交、孢子分离和选择步骤, 最终建立了具有不同交配型和营养缺陷型的同基因型菌株组合, 包括 CEN.PK113 (MATa)、CEN.PK2-1C (MATa)、CEN.PK122 (MATa/ $\alpha$  二倍体) 等。CEN.PK2-1C 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。

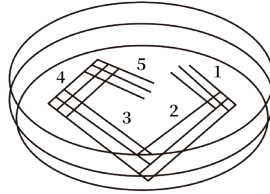


图 1. 五段交叉划线法示意图

## ● 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。