

天
净
沙
系
列

CAT#:12-154
低温运输, -80℃保存

TIANDZ

毕赤酵母 GS115 菌种

Pichia pastoris Strain GS115

使用手册 V1.0

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

<p>产品及特点</p>	<p>GS115 是毕赤酵母菌株，属于真核细胞。一般的针对原核生物的抗生素例如卡那和氨苄对酵母是无效的，因此为了防止大肠杆菌等原核生物对酵母培养菌株污染，往往会在培养基中加入一些氨苄和卡那霉素的抗生素，来抑制细菌的污染和生长。GS115 毕赤酵母自身表型为 Mut⁺，但是 GS115 转化株既能够产生出 Mut⁺菌株，也能够产生出 Mut^s 菌株。目的蛋白在这两种转化株的表达水平可能是不同的，并且具有不可预测性，所以只有通过实验才能得到最好的酵母表达方案。</p> <p>毕赤酵母适宜的生长温度是 28 至 30 度，温度超过 32 度对蛋白的表达是有害的，并可能导致细胞的死亡。GS115 毕赤酵母是组氨酸缺陷型 (His4 基因型)，如果表达载体上携带有组氨酸基因，可补偿宿主菌的组氨酸缺陷，因此可以在不含组氨酸的培养基上筛选转化子。这些受体菌自发突变为组氨酸野生型的概率一般低于 10⁻⁸。GS115 毕赤酵母可以在 YPD 培养基中生长，或者在补充有组氨酸的 minimal media 中生长，但是无法在单独的 minimal media 培养基中生长。</p> <p>本菌株的基因型为 <i>His4</i>，表型是 Mut⁺。</p>			
<p>规格及成分</p>		<p>成份</p>	<p>编号</p>	<p>塑料袋包装</p>
		<p>毕赤酵母 GS115</p>	<p>12-154</p>	<p>1 mL</p>
		<p>使用手册</p>	<p>1 份</p>	
<p>运输及保存</p>	<p>低温运输，-80℃保存，有效期一年。</p>			
<p>自备试剂</p>	<p>YPD 培养基、山梨醇、超纯水等</p>			
<p>使用方法</p>	<p>质粒转化毕赤酵母 GS115 的菌株的方法有很多，如电转化、化学转化等。根据实验方法的不同，用的试剂和培养基有所不同。本手册提供一个电转化方法。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 挑取酵母单菌落，接种至含有 5 mL YPD 培养基的 50 mL 三角瓶中，30℃，250-300 r/min 培养过夜； 2. 取 100-500 μL (≤1:100) 的培养物接种至含有 50 mL 新鲜培养基的 200 mL 三角摇瓶中，28~30℃，250-300 r/min 培养过夜(约 20 小时)，至 OD600 达到 1.3~1.5； 3. 将细胞培养物于 4℃，1500g 离心 5 分钟，用 50 mL 的冰预冷的无菌水将菌体沉淀重悬； 4. 按步骤 3 离心，用 25 mL 的冰预冷的无菌水将菌体沉淀重悬； 			

	<ol style="list-style-type: none"> 5. 按步骤 3 离心,用 2-5 mL, 1M 的冰预冷的山梨醇溶液将菌体沉淀重悬; 6. 按步骤 3 离心,用 160 μL 的冰预冷的 1M 的山梨醇溶液将菌体沉淀重悬,其终体积约为 240 μL; 7. 将 5~20 μg 的线性化 DNA 溶解在 5~10 μL TE 溶液中,与 80 μL 的上述步骤 6 所得的菌体混匀,转至 0.2 cm 冰预冷的电转化杯中; 8. 将电转化杯冰浴 5 分钟; 9. 根据电转化仪提供的资料,参考其他文献及多次摸索,确定合适的电压、电流、电容等参数,按优化的参数,进行电击(推荐:电压 1.5 kV ; 电容 25 μF ; 电阻 200 Ω; 电击时间为 4 ~10 msec) 。 10. 电击完毕后,马上加入 1 mL 1M 的冰预冷的山梨醇溶液将菌体混匀,转至 1.5 mL 的 EP 管中,置于 30$^{\circ}$C 摇床低速培养 1 小时; 11. 将菌体悬液涂布于 MD 平板上,每 200~600 μL 涂布一块平板; 12. 将平板置于 30$^{\circ}$C 倒置培养,直至单个菌落出现(3-4 天)。
<p>关联产品</p>	<p>YPD 培养基 (CAT#:130895) 、 山梨醇 (CAT#:87-79-6) 、 超纯水 (CAT#:100935)</p>