



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
 订货热线: 400-1683301或800-8283301
 订货e-mail: order@beyotime.com
 技术咨询: info@beyotime.com
 网址: http://www.beyotime.com

毕赤酵母GS115甘油菌

产品编号	产品名称	包装
D0412	毕赤酵母GS115甘油菌	200μl

产品简介:

- 碧云天生产的毕赤酵母GS115甘油菌(*Pichia Pastoris* GS115 Yeast Glycerol Stock)是取对数生长期的毕赤酵母GS115菌液,加入等体积30% (v/v)甘油制备而成。本甘油菌可以直接平板划线或小量、大量培养。
- 毕赤酵母具有真核细胞表达系统多方面的优势,包括较好的蛋白翻译后剪切、蛋白折叠以及翻译后修饰等[1]。与昆虫细胞表达系统和哺乳动物细胞表达系统相比,毕赤酵母表达系统快速、高效且经济,通常外源蛋白还具有较高的表达水平。与酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)相比,毕赤酵母的外源蛋白表达水平往往高10-100倍,并且能进行分泌蛋白的N-连接糖苷键修饰。但表达分泌蛋白进行糖基化修饰时的糖链长度是有差别的,毕赤酵母修饰的分泌蛋白的糖链长度通常是8-14个甘露糖残基(Mannose residue),而酿酒酵母修饰的分泌蛋白的糖链长度通常是50-150个甘露糖残基,此外,毕赤酵母很少对分泌蛋白进行O-连接糖苷键的修饰[2]。
- 毕赤酵母表达系统中高水平重组蛋白表达的宿主是甲基营养型(即甲醇利用正常型)毕赤酵母(Methylotrophic yeast *Pichia pastoris*)。在没有葡萄糖的情况下,毕赤酵母使用甲醇作为碳源。乙醇氧化酶(Alcohol oxidase, AOX1)启动子控制乙醇氧化酶的表达,是催化甲醇代谢的第一步。通常,甲醇诱导的细胞中总可溶性蛋白质的30%是乙醇氧化酶[3]。一些毕赤酵母表达载体利用强大的AOX1启动子,并使用甲醇诱导目的基因的高水平表达。如果更倾向于不依赖于甲醇诱导的表达,可以使用GAPDH(Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase)基因的启动子实现组成型表达。诱导型和组成型表达构建物均整合到毕赤酵母基因组中,形成稳定的宿主,产生极高的蛋白质表达水平。AOX1基因突变丧失功能时,乙醇氧化酶活性缺失,产生Methanol utilization slow (Mut^s)基因型,也称Methanol utilization minus (Mut⁻)基因型,而AOX1基因表达正常则被称为Methanol utilization plus (Mut⁺)基因型[4]。毕赤酵母GS115为Mut⁺基因型。
- 毕赤酵母GS115的组氨酸脱氢酶基因(Histidinol dehydrogenase, *his4*)发生突变,阻止其合成组氨酸,所以GS115属于组氨酸缺陷型菌株(His⁻);如果表达载体上携带有组氨酸脱氢酶基因,就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,适用于筛选带有*his4*基因的表达载体。
- 毕赤酵母GS115基因型: *Aox1⁺, his4⁻*, 即为Mut⁺, *his4⁻*, 即为Methanol utilization plus and histidinol dehydrogenase mutation。
- 本甘油菌适宜的生长温度是28-30°C,温度超过32°C不利于蛋白的表达,并可能导致细胞死亡。
- 本甘油菌可以在复合培养基如YPD中生长,或者在补充有组氨酸的基础培养基中生长。
- 关于碧云天不同甘油菌菌种的比较和选择,可参考碧云天的相关网页: <http://www.beyotime.com/support/strain.htm>

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D0412	毕赤酵母GS115甘油菌	200μl
—	说明书	1份

保存条件:

-80°C保存,至少2年有效。须注意避免反复冻融。

注意事项:

- 使用本甘油菌时不必完全融解,在甘油菌表面蘸取少量涂板或进行液体培养即可。也可以完全融解后使用,但随着冻融次数的增加酵母菌的活力会逐渐下降。在没有结冻的情况下,菌体会逐渐沉淀至管底,请务必注意适当混匀后使用。
- 为保证菌种纯正,避免其它细菌污染,尽量先划平板然后再挑单克隆菌落进行后续操作。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用,不得用于临床诊断或治疗,不得用于食品或药品,不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 划平板接种:

取出甘油菌置于冰上,并置于超净台内,后续操作都在超净台内操作。

- 用镊子和塑料枪头操作:**镊子的顶端在70%酒精中蘸一下,并且在酒精灯上略略烧一下,使镊子的顶端处于无菌状态。用镊子夹取一个无菌的200μl塑料枪头,蘸取少量甘油菌,然后把蘸有菌液的塑料枪头,以尽量和YPD平板接近平行的角度,连续作S

形或Z形划动，再用一个无菌的200 μ l塑料枪头，在原先的划线上以90°或120°角，再在YPD平板上连续作S形或Z形划动。通常换枪头重复操作2-3次即可。30°C倒置培养2-4天。

- b. 用接种环操作：**将接种环在酒精灯上略略烧一下，使接种环处于无菌状态。微冷后，蘸取少量甘油菌，在YPD平板上连续作S形或Z形划动。把接种环再烧一下，微冷后，在原先的划线上以90°或120°角，再在YPD平板上连续作S形或Z形划动。通常用接种环重复操作2-3次即可。30°C倒置培养2-4天。

2. 直接培养：

取出甘油菌置于冰上，并置于超净台内，后续操作都在超净台内操作。把镊子的顶端在70%酒精中蘸一下，并且在酒精灯上略略烧一下，使镊子的顶端处于无菌状态。用镊子夹取一个无菌的塑料枪头或牙签，蘸取甘油菌，然后把蘸有菌液的塑料枪头或牙签放到装有3ml YPD培养基内或装有100ml或更大体积YPD培养基内。28-30°C摇床过夜培养。

参考文献：

1. LiuY, SuC, Hu YH, Ouyang KQ, Cai SX. Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao. 2005. 21(3):430-4.
2. Grinna LS, Tschopp JF. Yeast. 1989. 5(2):107-15.
3. Kielkopf CL, Bauer W, Urbatsch IL. Cold Spring Harb Protoc. 2021. 2021(1).
4. Orman MA, Calik P, Ozdamar TH. Biotechnol Appl Biochem. 2009. 52(Pt 3):245-55.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D0412	毕赤酵母GS115甘油菌	200 μ l
D0413	毕赤酵母KM71甘油菌	200 μ l
D0414	毕赤酵母X-33甘油菌	200 μ l
D2881-1 μ g	pAOX1-MCS-His-Zeocin	1 μ g
D2881-100 μ g	pAOX1-MCS-His-Zeocin	100 μ g
D2882-1 μ g	pAOX1- α factor-MCS-His-Zeocin	1 μ g
D2882-100 μ g	pAOX1- α factor-MCS-His-Zeocin	100 μ g
D2883-1 μ g	pAOX1-MCS-His-Amp&Zeo	1 μ g
D2883-100 μ g	pAOX1-MCS-His-Amp&Zeo	100 μ g
D2884-1 μ g	pAOX1- α factor-MCS-His-Amp&Zeo	1 μ g
D2884-100 μ g	pAOX1- α factor-MCS-His-Amp&Zeo	100 μ g

Version 2022.08.22