



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>

酿酒酵母AH109甘油菌

产品编号	产品名称	包装
D0433	酿酒酵母AH109甘油菌	200 μ l

产品简介:

- 碧云天生产的酿酒酵母AH109甘油菌(*Saccharomyces cerevisiae* AH109 Yeast Glycerol Stock)是取对数生长期的酿酒酵母AH109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。
- 酿酒酵母是单细胞真核微生物, 属于酵母属(*Saccharomyces*)酿酒酵母种(*Saccharomyces cerevisiae*)。酿酒酵母是一种被广泛研究和使用的真核生物模型, 基因组约 1.2×10^7 bp, 细胞核内含有16条染色体, 约6000个ORF, 仅4%的酵母基因有内含子, 遗传背景简单[1]。酿酒酵母具有类似原核生物的生长特性, 便于培养和进行遗传操作, 是一种模式真核生物, 被称为真核生物的‘大肠杆菌’。酿酒酵母能够以单倍体状态存在, 更容易进行基因型表型分析, 以及高效的同源重组, 从而可以轻松编辑基因组序列, 进行高通量遗传分析。酿酒酵母表达系统表达外源基因时具有一定的翻译后加工能力, 收获的外源蛋白质在一定程度上进行了折叠加工和糖基化修饰, 有利于保持蛋白的活性和稳定性, 并且外源基因可在酿酒酵母中可以分泌表达, 表达产物分泌至胞外不仅有利于纯化, 还避免了产物在胞内大量蓄积[2]。
- 酵母双杂交系统是用于体内研究蛋白质相互作用的一种非常便利的方法, 常用的酵母双杂交系统是以GAL4为基础的双杂交系统, 通过酵母转录因子GAL4的转录激活来检测蛋白质的相互作用。其工作原理是: 一个完整的酵母转录因子GAL4由两个可以分开的、功能上相互独立的结构域组成, 分别为由GAL4 N端一个147个氨基酸(1~174位氨基酸)组成的DNA结合域(DNA-binding domain, DNA-BD)和GAL4 C端一个113个氨基酸(768~881位氨基酸)组成的转录激活域(Activation domain, AD)。BD可以识别并结合上游激活序列(Upstream activating sequence, UAS), 单独的BD或AD都不能激活转录; 当分开的AD和BD通过适当的途径在空间上较为接近时, 重新呈现完整的GAL4转录因子活性, 才可激活上游激活序列(Upstream activating sequence, UAS)的下游启动子, 使启动子下游基因得到转录。基于这个原理, 将两个待检测的蛋白分别与BD和AD融合, 并共表达于同一个酵母细胞内, 形成诱饵融合蛋白(bait-DNA)和诱捕融合蛋白(pre-y-DNA), 如果诱饵蛋白和诱捕蛋白发生相互作用, 促使AD和BD相互接近, 通过检测蛋白的桥梁作用使AD与BD形成一个完整的转录激活因子并激活相应的报告基因表达。通过对报告基因表型的测定, 即可验证蛋白分子间是否发生了相互作用。
- AH109是GAL4系统酵母双杂交常用的实验菌株, 来源于PJ69-2A酵母菌株, 将lacZ报告基因引入PJ69-2A从而产生了AH109。AH109是MATa型, 可直接转化质粒或与MATa型酵母菌株Y187通过接合(Mating)操作进行蛋白质相互作用验证或双杂交文库筛选和构建。AH109的转化标记(Transformation marker)为酿酒酵母AH109基因型: MATa, trp1-901, leu2-3, 112, ura3-52, his3-200, gal4 Δ , gal80 Δ , LYS2::GAL1_{UAS}-GAL1_{TATA}-HIS3, MEL1 GAL2_{UAS}-GAL2_{TATA}-ADE2, URA3::MEL1_{UAS}-MEL1_{TATA}-lacZ。
- AH109酵母菌株对高温敏感, 最适的生长温度是27-30 $^{\circ}$ C, 温度超过31 $^{\circ}$ C不利于菌株的生长。
- 本甘油菌可以在复合培养基YPD或YPDA中生长。
- 关于碧云天不同甘油菌菌种的比较和选择, 可参考我们的相关网页: <http://www.beyotime.com/support/strain.htm>

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D0433	酿酒酵母AH109甘油菌	200 μ l
—	说明书	1份

保存条件:

-80 $^{\circ}$ 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。

- 酵母菌落或酵母菌体变粉是酵母细胞生长的一个常见现象，并非污染造成。当酵母细胞在固体平板或液体培养基培养时间过长时，培养基中的腺嘌呤(Adenine)被酵母消耗殆尽，酵母细胞试图通过自身代谢途径合成腺嘌呤以供利用，但是有的菌株的 *ADE2* 基因被破坏导致腺嘌呤合成途径受阻，而其 *ADE4*、*ADE5*、*ADE6*、*ADE7* 和 *ADE8* 基因均正常，所以造成了腺嘌呤合成中间产物 P-ribosylamino imidazole (AIR) 在酵母细胞中累积从而导致菌落或菌体变为粉红色。
- 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200μl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。28°C倒置培养2-4天。
- 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。28°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：

- Goffeau A, Barrell BG, Bussey H, Davis RW, Dujon B, et al. Science. 1996. 274(5287):546, 563-7.
- Bussineau CM, Shuster JR. Dev Biol Stand. 1994. 83:13-9.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D0308S	毕赤酵母感受态细胞制备及转化试剂盒	50次
D0308M	毕赤酵母感受态细胞制备及转化试剂盒	250次
D0310S	酿酒酵母感受态细胞制备及转化试剂盒	50次
D0310M	酿酒酵母感受态细胞制备及转化试剂盒	200次
D0412	毕赤酵母GS115甘油菌	200μl
D0413	毕赤酵母KM71甘油菌	200μl
D0414	毕赤酵母X-33甘油菌	200μl
D0415	毕赤酵母SMD1168H甘油菌	200μl
D0432	酿酒酵母INVSc1甘油菌	200μl
D2881-1μg	pAOX1-MCS-His-Zeocin	1μg
D2881-100μg	pAOX1-MCS-His-Zeocin	100μg
D2882-1μg	pAOX1-α factor-MCS-His-Zeocin	1μg
D2882-100μg	pAOX1-α factor-MCS-His-Zeocin	100μg
D2883-1μg	pAOX1-MCS-His-Amp&Zeo	1μg
D2883-100μg	pAOX1-MCS-His-Amp&Zeo	100μg
D2884-1μg	pAOX1-α factor-MCS-His-Amp&Zeo	1μg
D2884-100μg	pAOX1-α factor-MCS-His-Amp&Zeo	100μg
D2892-1μg	pGAL1,10-α factor-His-Flag-URA	1μg
D2892-100μg	pGAL1,10-α factor-His-Flag-URA	100μg
D2894-1μg	pGAL1,10-MCS-His-MCS-Flag-URA	1μg
D2894-100μg	pGAL1,10-MCS-His-MCS-Flag-URA	100μg
D7278S	酵母菌落PCR试剂盒(碱裂解法)	100次
D7278M	酵母菌落PCR试剂盒(碱裂解法)	500次
D7279S	酵母菌落PCR试剂盒(酶解法)	100次
D7279M	酵母菌落PCR试剂盒(酶解法)	500次
ST961-5L	BeyoPure™ YPD Broth (premixed powder)	10×500ml
ST963-5L	BeyoPure™ YPD Broth with Agar (premixed powder)	10×500ml

ST965-500ml	酵母浸出粉葡萄糖培养基(YPD)	500ml
-------------	------------------	-------

Version 2024.01.22