天
净
沙
系
列

CAT#:2-0154
低温运输, -80℃保存

BINGENE

毕赤酵母 GS115 菌种

Pichia pastoris GS115 Strain

使用手册 V1.0

江苏天净沙基因诊断技术有限公司

网址: www.bingene.com; 电话: 400-6005850; 电邮: order@bingene.com

<p>产品及特点</p>	<p>毕赤酵母 GS115 菌株具有氨苄和卡纳特性。质粒转化的条件为电转化，应用于蛋白表达。本菌株是组氨酸缺陷型 (<i>His4</i> 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}。</p>												
<p>规格及成分</p>	<p style="text-align: center;">本产品使用塑料袋包装</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 25%;">成分</th> <th style="width: 25%;">编号</th> <th style="width: 25%;">规格</th> <th style="width: 25%;">包装材料</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>毕赤酵母 GS115 甘油菌</td> <td>2-0154</td> <td>1 mL</td> <td>2.0mL 红盖管</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>2-0154sc</td> <td>1 份</td> <td>无</td> </tr> </tbody> </table>	成分	编号	规格	包装材料	毕赤酵母 GS115 甘油菌	2-0154	1 mL	2.0mL 红盖管	使用手册	2-0154sc	1 份	无
成分	编号	规格	包装材料										
毕赤酵母 GS115 甘油菌	2-0154	1 mL	2.0mL 红盖管										
使用手册	2-0154sc	1 份	无										
<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 ($\leq 1:100$) 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； 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 												

	<p>至 1.5 mL 的 EP 管中，置于 30℃摇床低速培养 1 小时；</p> <p>11. 将菌体悬液涂布于 MD 平板上，每 200~600 μL 涂布一块平板；</p> <p>12. 将平板置于 30℃倒置培养，直至单个菌落出现（3-4 天）。</p>
关联产品	YPD 培养基