BY4743 二代甘油菌种说明书

● 产品规格（CAT#：Bsa-1062）

BY4743 二代甘油菌	400μl /1 支	保存：-80℃/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/MAT α *his3Δ1/his3Δ1 leu2Δ0/leu2Δ0 met15Δ0*/MET15 LYS2/*lys2Δ0 ura3Δ0/ura3Δ0*

● 产品说明

BY4743 菌株来源于酿酒酵母原始菌株——S288C，是由 BY4741（MATa）与 BY4742（MATα）杂交得到的 MATa/MATα二倍体菌株，是酵母基因功能研究的常用菌株，广泛应用于杂合基因敲除文库构建、减数分裂与四分体分析、二倍体生理代谢及胁迫耐受等研究。BY4743 酿酒酵母为组氨酸、亮氨酸、尿嘧啶缺陷型菌株（甲硫氨酸、赖氨酸标记为杂合），可转化筛选标记为组氨酸、亮氨酸或尿嘧啶的质粒，可直接通过 PEG/LiAc 将 pYES2 等质粒转化进入 BY4743 细胞内。质粒 pYES2 是 BY4743 的配套质粒，含有一个半乳糖诱导的蛋白表达框；pYES2 质粒的筛选标志为 URA，可用 SD/-URA 平板筛选阳性菌落，SGR/-URA 液体培养基诱导蛋白表达。

● 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。

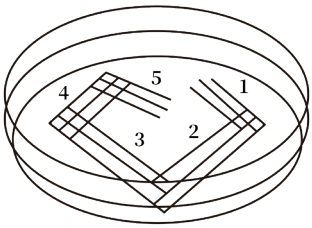


图 1. 五段交叉划线法示意图

● 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。

2nd Lab®
For a Better Lab