



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SMD1168H甘油菌

产品编号	产品名称	包装
D0415	毕赤酵母SMD1168H甘油菌	200μl

### 产品简介:

- 碧云天生产的毕赤酵母SMD1168H甘油菌(*Pichia Pastoris* SMD1168H Yeast Glycerol Stock) 是取对数生长期的毕赤酵母SMD1168H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, 并使用甲醇诱导感兴趣基因的高水平表达。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性表达。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<sup>s</sup>)基因型, 也称Methanol utilization minus (Mut<sup>-</sup>)基因型, 而AOX1基因表达正常则被称为Methanol utilization plus (Mut<sup>+</sup>)基因型[4]。毕赤酵母SMD1168H为Mut<sup>+</sup>基因型。
- 毕赤酵母SMD1168H基因组中的*pep4*基因发生突变, 造成蛋白水解酶A活性的丧失, 可以保护表达产物免受降解, 促进表达量的提高, 产生的转化株是Mut<sup>+</sup>(Methanol utilization plus)基因型。SMD1168H毕赤酵母被推荐用来表达含有Zeocin抗性的载体重组质粒, 在筛选SMD1168H重组转化菌株时, Zeocin抗生素的工作浓度推荐是100μg/ml。
- 毕赤酵母SMD1168H基因型: *pep4*。
- 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, 并可能导致细胞的死亡。
- 本甘油菌可以在复合培养基YPD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
D0415	毕赤酵母SMD1168H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。30℃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℃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℃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
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
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
D0432	酿酒酵母INVSc1甘油菌	200μl
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	250次
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
D0432	酿酒酵母INVSc1甘油菌	200μl
ST965	酵母浸出粉胨葡萄糖培养基(YPD)	500ml

Version 2024.03.08