



## AH109 菌株

**产品保存:** -80°C冰箱冻结法保存

**产品信息:**

出品公司: clontech

溶剂: 15-20%甘油

体积: 0.2mL

基因型: MATa, trp1-901, leu2-3, 112, ura3-52, his3-200, gal4Δ, gal80Δ, LYS2::GAL1UAS-GAL1TATA-HIS3, MEL1 GAL2UAS- GAL2TATAADE2, URA3::MEL1UAS-MEL1TATA-lacZ

**产品说明:**

AH109 菌株来源于 PJ69-2A 酵母菌株, 将 lacZ 报告基因引入 PJ69-2A 诞生了 AH109, 此菌株是 GAL4 系统酵母双杂实验用菌株, MATa 型, 可直接转化质粒或与 MAT $\alpha$ 型酵母菌株 Y187 通过 mating 操作进行蛋白互作验证或筛库试验。Transformation marker 为: trp1, leu2, 报告基因为: lacZ, HIS3, ADE2, MEL1。AH109-GAL4 酵母双杂系统需要两种质粒配套使用: pGBKT7 和 pGADT7。质粒 pGBKT7 的筛选标志为 TRP1, 用于表达 DNA-BD(来自酵母转录因子 GAL4 N 端 1~174 位氨基酸)与目标蛋白(Bait)的融合蛋白; 质粒 pGADT7 的筛选标志为 LEU, 用于表达 AD(GAL4 C 端 768~881 位氨基酸)与目标蛋白(Prey)的融合蛋白。

GAL4 系统原理: 一个完整的酵母转录因子 GAL4 可分为功能上相互独立的两个结构域: 位于 N 端 1~174 位氨基酸区段的 DNA 结合域(DNA-BD)和位于 C 端 768~881 位氨基酸区段的转录激活域(AD)。DNA-BD 能够识别 GAL4-responsive gene 的上游激活序列 UAS, 并与之结合。而 AD 可以启动 UAS 下游的基因进行转录。BD 和 AD 单独存在不能激活转录, 但当二者接近时, 则呈现完整的 GAL4 活性, 使含有 UAS 的启动子下游基因转录表达。正常条件下, BD 不与 AD 结合, 将要检测的蛋白质分别与 BD 和 AD 融合, 形成 bait 融合蛋白(bait-BD)和 prey 融合蛋白(pre-AD), 如果 bait 和 prey 发生相互作用, 就会促使 BD 和 AD 的相互接近, 形成完整的 GAL4, 从而激活报告基因的转录。

AH109 有四个报告基因: lacZ, HIS3, ADE2, MEL1, 分别由三种不同的启动子(GAL1, GAL2, MEL1)启动, 这三种启动子只有 GAL4 识别的 17 bp 核心区相同, 其余部分均不同, 大大降低了酵母双杂假阳性发生的概率。

**菌株活化说明:**

菌种活化就是将保藏状态的菌种放入适宜的培养基中培养，逐级扩大培养是为了得到纯而壮的培养物，即获得活力旺盛的、接种数量足够的培养物。菌种活化一般需要 2-3 代的复壮过程，因为保存时的条件往往和培养时的条件不相同，所以要活化，让菌种逐渐适应培养环境。

**使用说明**（如果是甘油保藏菌，忽略**步骤一冻干粉溶解**）：

**一、冻干粉溶解**（可选择将冻存管中冻干粉全部溶解或部分溶解）

1. 全部溶解

取一整管冻干粉，加入 200  $\mu\text{L}$  无菌水或无菌培养基溶解，重悬后即可得 200  $\mu\text{L}$  菌悬液，直接用于菌株活化，剩余菌液-80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存（建议分装保存，注意避免反复冻融）。

2. 部分溶解

用枪头刮取管中冻干粉，用无菌水或无菌培养基溶解，直接用于菌株活化，剩余冻干粉-80 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

**二、菌株活化**

1. 将 10-50 $\mu\text{L}$  菌液移至 YPDA 培养基（平板）上进行划线（图 1）。置于培养箱 28-30 $^{\circ}\text{C}$ 培养 2-3 天。

2. 挑选其中茁壮菌落接种到新的 YPDA 培养基（平板）中培养，重复此步骤 2-3 次。从而得到生长良好的菌落。



图 1 平板划线

**注意事项：**

1. 收到菌株后，尽快活化，再次分装保存。
2. 如果菌株活性差，离心后，取沉淀划线，并再次保存。
3. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗，食品及化妆品等用途。
4. 为了您的安全和健康，请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作。
5. 如有疑问请致电 400-878-6800 咨询。

20240904 版