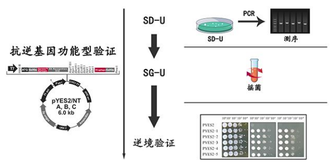
非生物胁迫功能基因筛选

Screening of Abiotic stress functional genes

实验流程



SD-U

SG-U

逆境验证

服务内容	
酵母过表达文库构建	1、mRNA提取 2、cDNA合成与接头连接（三框文库） 3、重组到酵母载体pYES2上和电转化 4、文库制备、文库检测和质粒提取
酵母工作菌液制备	5、酵母工作菌液制备 6、酵母工作菌液PCR质检
逆境条件摸索	7、配置逆境筛选条件5个不同浓度培养基（逆境条件摸索）/高温/低温/干旱等逆境条件摸索
酵母筛选	8、酵母工作菌液涂布：15cm平板20个
阳性克隆鉴定	9、酵母菌落PCR鉴定 10、一代测序及回转验证
NGS测序	11、NGS测序及数据分析

文献案例

非生物抗逆性领域

A genetic analysis reveals novel histone residues required for transcriptional reprogramming upon stress:

发表期刊:Nucleic Acids Res　　影响因子:11.501

材料:酵母菌株:BY4741，BY4742，Y5563

交配建新库单细胞转录筛查

↓

三维分析/Northern blot RNA测序分析

↓

酵母斑点试验/生长曲线

↓

蛋白质组学分析

酵母菌株在96孔板上生长，并经受热应激 (39°C)或渗透胁迫(0.4 M NaCl) 45分钟，采用荧光流式细胞术™对胁迫诱导的表达进行定量。

酵母菌株在主富的培养基中培养到对数中期，然后对H4-S47野生型和H4-S47D菌株施加渗透性(15分钟0.4 M NaCl) 或对H4-T30野生型、H4-T30A和H4-T30D菌株进行热应激(10分钟39°C)。每种情况下进行三次生物重复,采用标准热酚法和玻璃珠法提取总RNA。

将野生型和所指示的组蛋白突变株在琼脂YPD平板上进行连续稀释让细胞在30°C(渗透胁迫) 或39°C (热胁迫) 下生长3-5天,绘制生长曲线和斑点图。

实验结果

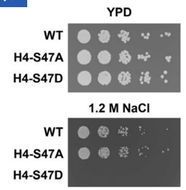


图1:渗透胁迫下的细胞生长分析

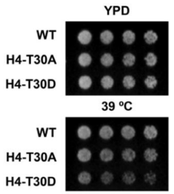


图2:热应激下细胞生长分析

高通量筛选抗逆基因

Screening of high throughput stress resistant genes

利用酵母菌，在逆境胁迫下的差异蛋白表达模式，检测酵母菌表达可溶性蛋白是否可以帮助酵母菌度过逆境胁迫。通过抗性梯度实验结合NGS测序技术对基因组范围内的抗性相关基因进行筛查，并对筛查的结果进行生物信息学分析，将这些抗逆基因进行归纳、分类。

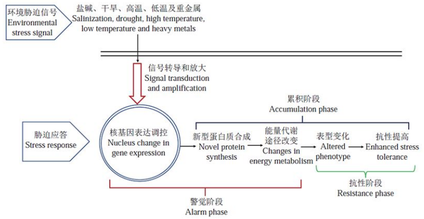
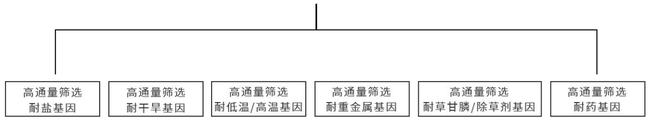


图 1　植物细胞水平响应逆境胁迫的信号转导和应答机制

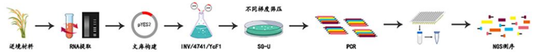
Summarize and refer to the conclusions of Kosova *et al*

抗逆基因筛选应用场景

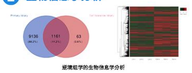


服务流程

1 逆境处理+seq流程



2 生物信息学分析



400-863-8520
market@bestofbest.top
www.bestofbest.top
江苏省南京市栖霞区仙林街道齐民西路6号南京仙林智谷3C栋10楼

官方客服　官方网站　瑞源生物公众号

瑞源生物 Pronetbio

非生物胁迫生物学研究新技术

南京瑞源生物技术有限公司

抗逆基因表型验证

Yeast functional screening of stress resistance gene

技术流程

1、过表达载体构建-PYES2

2、转入至目的菌株

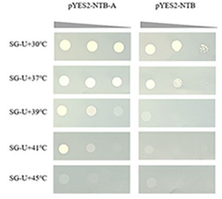
3、空载体PYES2转入空白目的菌株作为对照

4、梯度稀释点板

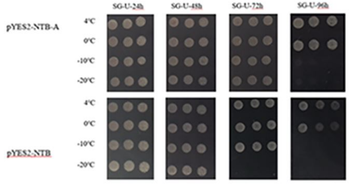
5、逆境处理培养基

逆境基因验证配套菌株	
BY4741	耐高温、耐低温
INVSC1	耐盐、耐干旱
Δycf1	耐重金属
W303	耐农药

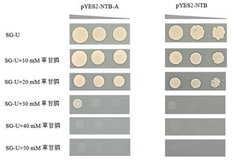
实验结果



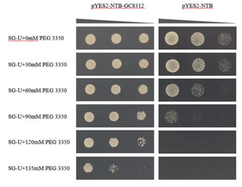
耐高温基因验证



耐低温基因验证



耐草甘膦基因验证



耐干旱基因验证

瑞源生物 Pronetbio
赋能科研·让科研更加简单高效

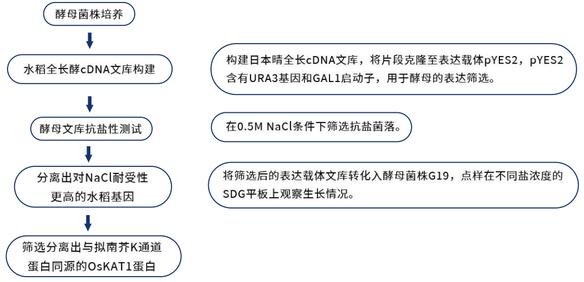
文献案例

耐盐领域

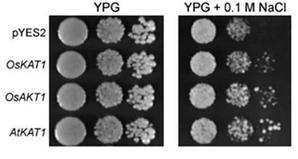
Rice Shaker Potassium Channel OsKAT1 Confers Tolerance to Salinity Stress on Yeast and Rice Cells

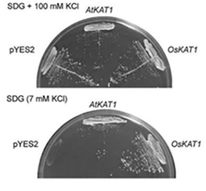
发表期刊： Plant Physiology 影响因子：8.7

材料：酵母菌株：pYES2、G19，日本晴



实验结果





参考文献

【l】Anderson JA, Huprikar SS, Kochian LV, Lucas WJ, Gaber RF (1992) Functional expression of a probable Arabidopsis thaliana potassium channel in Saccharomyces cerevisiae. Proc Natl Acad Sci USA 89 3736–3740

【2】 Fuchs I, Stölzle S, Ivashikina N, Hedrich R (2005) Rice K uptake channel OsAKT1 is sensitive to salt stress. Planta 221 212–221

瑞源生物 Pronetbio
赋能科研·让科研更加简单高效

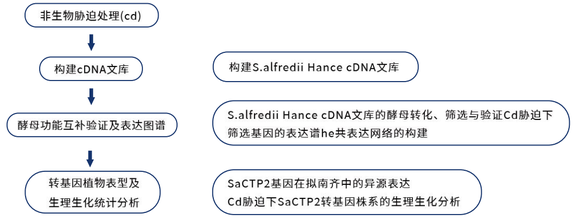
文献案例

重金属领域

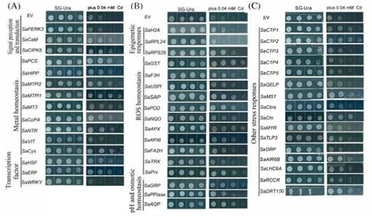
cDNA library for mining functional genes in Sedum alfredii Hance related to cadmium tolerance and characterization of the roles of a novel SaCTP2 gene in enhancing cadmium hyperaccumulation

发表期刊： Environ. Sci. Technol 影响因子： 7.864

材料：东南景天，拟南芥，Cd敏感酵母突变体



实验结果



利用酵母互补法对Cd敏感菌株ycf1中48个与Cd耐受性相关的候选基因进行验证

参考文献

【l】 Rascio, N.; Navari-Izzo, F. Heavy metal hyperaccumulating plants:How and why do they do it? And what makes themso interesting?PlantSci. 2011, 180 (2), 169 181.

【2】Jiang, B.; Adebayo, A.; Jia, J.; Xing, Y.; Deng, S. Q.; Guo, L. M.;Liang, Y. T.; Zhang, D. Y. Impacts of heavy metals and soil properties at a Nigerain e-waste site on soil microbial community. J. Hazard. Mater.2019, 362, 187-195.