

BY4741 酵母感受态细胞说明书

产品规格 (Cat.Y0021)

BY4741 Chemically Competent Cell	100 μ l/支	-80 $^{\circ}$ C (3 个月)
Carrier DNA (10 μ g/ μ l)	10 μ l/支	-20 $^{\circ}$ C (12 个月)
PEG/LiAc	6.5ml	4 $^{\circ}$ C (12 个月)

基因型:

MATa his3 Δ 1 leu2 met15 Δ ura3-52

产品简介:

BY4741 菌株来源于酿酒酵母原始菌株—S288C, 是实验室的常用菌株, 为配子 MATa 型。BY4741 酿酒酵母为组氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、尿嘧啶缺陷型菌株, 可直接通过 PEG/LiAc 将 pYES2 质粒转化进入 BY4741 细胞内。质粒 pYES2 的筛选标志为 URA, 可用 SD-URA 平板进行筛选。BY4741 感受态细胞经 pYES2 质粒 (5857bp, AmpR) 检测转化效率 >10³ cfu/ μ g DNA。

使用方法:

- Carrier DNA 的预处理: 将 Carrier DNA 插入 95 $^{\circ}$ C 金属浴 5 min 或插入浮漂中 95 $^{\circ}$ C 水浴 5min, 加热后快速插入冰中。
- 取 100 μ l 冰上融化的 BY4741 感受态细胞, 依次加入预冷的目的质粒 2-5 μ g, 预处理后的 Carrier DNA 10 μ l, PEG/LiAc 640 μ l 并吸打几次混匀, 30 $^{\circ}$ C 水浴摇床 60min。
- 将管放 42 $^{\circ}$ C 水浴 17 min, 冰浴 5min, 5000rpm 离心 5min。
- 弃上清, 加 1ml YPD 重悬, 30 $^{\circ}$ C 恒温摇床 1h。
- 5000rpm 离心 5min 去上清, 1ml 无菌水洗 2 次, 离心去上清。
- 加 100 μ l 无菌水重悬, 涂相应缺陷型平板。30 $^{\circ}$ C 培养 3-4 天。

注意事项:

- 初次使用 Carrier DNA, 请把装有 Carrier DNA 的管子煮沸 5 min, 然后立即放在冰上, 用后放在 -20 $^{\circ}$ C 储存备用。下次使用前请于冰上解冻 Carrier DNA。反复冻融 3-5 次后需重新变性 Carrier DNA。
- 感受态细胞最好在冰上融化。
- 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
- 酿酒酵母对温度敏感, 适宜的生长温度是 28 $^{\circ}$ C-30 $^{\circ}$ C, 温度超过 31 $^{\circ}$ C 影响酵母生长。
- 酵母在缺陷培养基中生长速度比 YPDA 培养基慢, 培养基中缺陷成分越多, 生长越慢。