

INVSc1 酵母感受态细胞说明书

产品规格 (Cat.Y0026)

INVSc1 Chemically Competent Cell	100μl/支	-80°C (3 个月)
Carrier DNA (10 μg/μl)	10μl/支	-20°C (12 个月)
PEG/LiAc	6.5ml	4°C (12 个月)

基因型:

MATa his3Δ1 leu2 trp1-289 ura3-52/MATα his3Δ1 leu2 trp1-289 ura3-52

产品简介:

INVSc1 是酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 双倍体菌株, 专为真核重组蛋白表达设计, 是 pYES 系列载体的标准配套宿主。pYES2 质粒与 INVSc1 酵母配套使用, 激活 pYES2 质粒的 GAL1 启动子的转录进而启动下游重组蛋白的表达。INVSc1 为合子型, 可直接通过 PEG/LiAc 将 pYES2 质粒转化进入 INVSc1 细胞内。质粒 pYES2 的筛选标志为 URA, 可用 SD-URA 板进行筛选。INVSc1 感受态细胞经 pYES2 质粒 (5857bp, AmpR) 检测转化效率 >10⁴ cfu/μg DNA。

使用方法:

1. Carrier DNA 的预处理: 将 Carrier DNA 插入 95°C 金属浴 5 min 或插入浮漂中 95°C 水浴 5min, 加热后快速插入冰中。
2. 取 100 μl 冰上融化的 INVSc1 感受态细胞, 依次加入预冷的目的质粒 2-5 μg, 预处理后的 Carrier DNA 10 μl, PEG/LiAc 640 μl 并吸打几次混匀, 30°C 水浴摇床 60min。
3. 将管放 42°C 水浴 17 min, 冰浴 5min, 5000rpm 离心 5min。
4. 弃上清, 加 1ml YPD 重悬, 30°C 恒温摇床 1h。
5. 5000rpm 离心 5min 去上清, 1ml 无菌水洗 2 次, 离心去上清。
6. 加 100ul 无菌水重悬, 涂相应缺陷型平板。

注意事项:

1. 初次使用 Carrier DNA, 请把装有 Carrier DNA 的管子在沸水中煮沸 5 min, 然后立即放在冰上, 用后放在 -20°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。
2. 感受态细胞最好在冰上融化。
3. 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
4. 酿酒酵母对温度敏感, 适宜的生长温度是 28°C-30°C, 温度超过 31°C 影响酵母生长。
5. 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。