

## R5421 酵母感受态细胞说明书

### 产品规格 (Cat.Y0030)

R5421 Chemically Competent Cell	100 $\mu$ l/支	-80 $^{\circ}$ C (3 个月)
Carrier DNA (10 $\mu$ g/ $\mu$ l)	10 $\mu$ l/支	-20 $^{\circ}$ C (12 个月)
PEG/LiAC	6.5ml	4 $^{\circ}$ C (12 个月)

### 基因型:

MAT $\alpha$  ura3-52 leu2 trk1 $\Delta$  his3 $\Delta$ 200 his4-15 trk2 $\Delta$ 1::pCK64

### 产品简介:

R5421 (又称 CY162) 是酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) MAT $\alpha$  单倍体菌株, 核心用途是钾离子 (K<sup>+</sup>) 转运蛋白 / 通道 / 泵的异源功能互补鉴定。Transformation marker 为: ura3, leu2, 该菌株可以在含有 100mM KCl 的培养基中正常生长, 在含有 5-10mM KCl 的培养基中生长缓慢, 当培养基中 KCl 浓度低于 0.5mM, R5421 (CY162) 细胞停止生长。R5421 感受态细胞经 pGADT7 质粒 (7988bp, AmpR) 检测转化效率 >10<sup>3</sup> cfu/ $\mu$ g DNA。

### 使用方法:

1. 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。
2. 取 100  $\mu$ l 冰上融化的 R5421 感受态细胞, 依次加入预冷的目的质粒 2-5  $\mu$ g, 预处理后的 Carrier DNA 10  $\mu$ l, PEG/LiAc 640  $\mu$ l 并吸打几次混匀, 30 $^{\circ}$ C 水浴摇床 60min。
3. 将管放 42 $^{\circ}$ C 水浴 17 min, 冰浴 5min, 5000rpm 离心 5min。
4. 弃上清, 加 1ml YPD 重悬, 30 $^{\circ}$ 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 100 $\mu$ 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:

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 $^{\circ}$ 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。
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 $^{\circ}$ C-30 $^{\circ}$ C, 温度超过 31 $^{\circ}$ 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。