

R5421 酵母感受态细胞说明书

产品规格 (Cat.Y0030)

R5421 Chemically Competent Cell	100μl/支	-80°C (3 个月)
Carrier DNA (10 μg/μl)	100μl/支	-20°C (12 个月)
PEG/LiAC	6.5ml	4°C (12 个月)

基因型:

MAT α ura3-52 leu2 trk1 Δ his3 Δ 200 his4-15 trk2 Δ 1::pCK64

产品简介:

R5421 (又称 CY162) 是酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) MAT α 单倍体菌株, 核心用途是钾离子 (K⁺) 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 >10³ 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 R5421 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。30°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°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。