



YM4271 Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC511)

YM4271 Competent Cell:	100μl/支	保存: -80°C (3个月)
pGADT7 (control vector, 10 ng/μl)	10μl	保存: -20°C (12个月)
Carrier DNA (10 μg/μl)	100μl	保存: -20°C (12个月)
PEG/LiAC:	5ml	保存: -20°C (12个月)

产品介绍

YM4271 菌株, *MATa* 型, 可直接转化质粒或与 *MATa*型酵母菌株 EGY48、Y187 等通过 mating 操作进行蛋白互作验证或筛库试验。Transformation marker 为: *trp1*, *leu2*, *ura*, 报告基因为: *HIS3*。可用于酵母双杂, 酵母单杂或异源蛋白表达等试验。YM4271 感受态细胞经特殊工艺制作, -80°C可保存三个月, pGADT7 质粒检测转化效率 $>10^4$ cfu/μg DNA。

基因型: *MATa*, *ura3-52*, *his3-Δ200*, *ade2-101*, *ade5*, *lys2-801*, *leu2-3,112*, *trp1-901*, *tyr1-501*, *gal4 Δ*, *gal80Δ*, *ade5::hisG*

操作方法

1. 取 100 μl 冰上融化的 YM4271 感受态细胞, 依次加入预冷的目的质粒 2-5 μg, Carrier DNA (95-100°C, 5 min, 快速冰浴, 重复一次) 10 μl, PEG/LiAc 500 μl 并吸打几次混匀, 30°C水浴 30 min (15 min 时翻转 6-8 次混匀)。
2. 将管放 42°C水浴 15 min (7.5 min 时翻转 6-8 次混匀)。
3. 5000 rpm 离心 40 s 弃上清, ddH₂O 400 μl 重悬, 离心 30s 弃上清。
4. ddH₂O 50 μl 重悬, 涂板, 29°C培养 48-96 h。

注意事项

1. 感受态细胞最好在冰上融化。
2. 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
3. 同时转化 2-3 种质粒时可增加质粒的用量。
4. YM4271 酵母菌株对高温敏感, 最适生长温度为 27-30°C; 高于 31°C, 生长速度和转化效率呈指数下降。
5. 菌落变粉不是污染, 是酵母细胞生长中一个常见现象。当细胞在平板培养几天后, 平板上的 Adenine 被酵母消耗完毕, 酵母试图通过自身代谢途径合成 Adenine 以供利用, 然而, 有些菌株的 *ADE2* 基因被

破坏, Adenine 合成途径受阻;又由于其 *ADE4,5,6,7,8* 基因均正常,所以造成中间产物 P-ribosylamino imidazole (AIR) 在细胞中积累而使菌落变为粉红色。

6. 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,以转化涂板为例:涂 YPDA 平板 29°C,48 h 培养可见直径 1 mm 克隆;涂 SD 单缺平板 29°C,48-60 h 培养可见直径 1 mm 克隆;涂 SD 双缺平板 29°C,60-80 h 培养可见直径 1 mm 克隆;涂 SD 三缺或四缺平板 29°C,80-90h 培养可见直径 1 mm 克隆。