



## GS115 Chemically Competent Cell 产品说明书

### 产品规格 (CAT#: YC501)

|                        |         |                    |
|------------------------|---------|--------------------|
| GS115 Competent Cell:  | 100μl/支 | 保存: -80℃ ( 6 个月 )  |
| Carrier DNA (10 μg/μl) | 100μl   | 保存: -20℃ ( 12 个月 ) |
| 转化液                    | 20ml    | 保存: -20℃ ( 12 个月 ) |
| 悬浮液                    | 20ml    | 保存: -20℃ ( 12 个月 ) |

### 产品介绍

GS115 是毕赤酵母菌株, 属于真核细胞。一般的针对原核生物的抗生素例如卡那和氨苄对酵母是无效的, 因此为了防止大肠杆菌等原核生物对酵母培养菌株污染, 往往会在培养基中加入一些氨苄和卡那霉素的抗生素, 来抑制细菌的污染和生长。GS115 毕赤酵母自身表型为 Mut<sup>+</sup>, 但是 GS115 转化株既能够产生出 Mut<sup>+</sup> 菌株, 也能够产生出 Muts 菌株。目的蛋白在这两种转化株的表达水平可能是不同的, 并且具有不可预测性, 所以只有通过实验才能得到最好的酵母表达方案。毕赤酵母适宜的生长温度是 28 至 30 度, 温度超过 32 度对蛋白的表达是有害的, 并可能导致细胞的死亡。GS115 毕赤酵母是组氨酸缺陷型 ( His4 基因型 ), 如果表达载体上携带有组氨酸基因, 可补偿宿主菌的组氨酸缺陷, 因此可以在不含组氨酸的培养基上筛选转化子。这些受体菌自发突变为组氨酸野生型的概率一般低于 10<sup>-8</sup>。GS115 毕赤酵母可以在 YPD 培养基中生长, 或者在补充有组氨酸的 minimal media 中生长, 但是无法在单独的 minimal media 培养基中生长。质粒转化毕赤酵母 GS115 的菌株的方法有很多, 如电转化、化学转化等。根据实验方法的不同, 用的试剂和培养基有所不同。本手册提供一个化学转化方法。

**基因型:** His4 ( 基因型 ), Mut<sup>+</sup> ( 表型 )

### 操作方法

1. 取 0.1-5 μg 质粒 DNA ( 线性化质粒加入量 5-50 μg ) 和 10 μL 预变性 Carrier DNA, 加入到未融化的 100-200 μL 感受态细胞上, 置于 30 °C 水浴, 每隔 15 S 颠倒混匀, 直至感受态细胞刚好完全融化 ( 融化后及时取出 )。
2. 加入 1.4 mL 转化液颠倒混匀。30 °C 水浴 60 min, 每隔 20 min 颠倒混匀
3. 3,000 rpm 离心 3 min 弃上清留菌体沉淀, 加入 1 mL 悬浮液重悬菌体。
4. 3,000 rpm 离心 3 min 弃上清留菌体沉淀, 加入 100 μL 悬浮液重悬菌体。
5. 将 100 μL 菌液全部涂布到相应的平板培养基, 30 °C 恒温培养 3-5 天, 直至平板出现酵母克隆。

### 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. 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. 毕赤酵母适宜的生长温度是 28 至 30 度, 温度超过 32 度对蛋白的表达是有害的, 并可能导致细胞的死亡。