

INVSc1 Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT# : YC1050)

INVSc1 Competent Cell	100μl /支	保存: -80°C (3个月)
pYES2 (control vector, 10ng/μl)	10μl	保存: -80°C (12个月)
Carrier DNA (10μg/μl)	100μl	保存: -20°C (12个月)
PEG/LiAc	5ml	保存: 4°C (12个月)

● 基因型

MATa *his3 Δ 1 leu2 trp1-289 ura3-52/MAT a his3 Δ 1 leu2 trp1-289 ura3-52*

● 产品说明

INVSc1 菌株是专门用来做重组蛋白表达的宿主酵母, 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 感受态细胞经特殊工艺制作, -80°C 可保存三个月, pYES2 质粒 (5857bp, Amp^R) 检测转化效率 >10⁴ cfu/μg DNA。

● 操作方法

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 3 min, 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 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)。
3. 将管放 42°C 水浴 15 min (7.5 min 时翻转 6-8 次混匀)。
4. 5000 rpm 离心 40 s 弃上清, ddH₂O 400 μl 重悬, 离心 30s 弃上清。
5. ddH₂O 50 μl 重悬, 涂板 (筛选平板用: SD-U medium 板), 29°C 培养 48-96 h。

● 培养基配制

① 质粒筛选用：SD-U medium (1L)(唯地 CAT#: YM3104):

Yeast Nitrogen base 6.7g
葡萄糖 20g
Dropout (即 DO Supplement -Ura) 适量 (按说明书)
补水到 1L, 调 PH 至 5.8;
Agar 20g(for plates only)
121°C, 15 min 高压灭菌。

② 蛋白诱导用：Induction Medium SGR/-U (1L)(唯地 CAT#: YEM3134):

Yeast Nitrogen base 6.7g
Dropout (即 DO Supplement -Ura) 适量 (按说明书)
补水到 800ml, 调 PH 至 5.8, 121°C, 15 min 高压灭菌;
待培养基温度降到 55°C时, 加入已过滤的 carbon source: 100 ml 20% 半乳糖, 100 ml 10% 棉子糖。

● 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. INVSc1 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。