

S288C Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT#: YC1190)

S288C Competent Cell	100µl /支	保存: -80°C (3个月)
pRS415-HYG(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

MAT α SUC2 *mal mel gal2 CUP1 flo1 flo8-1*

● 产品说明

S288C 是酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 最重要和研究最深入的实验室菌株, 是酵母研究的“模式生物中的模式菌株”, 也是酵母中第一个被测序出的菌株 (NCBI 中酵母参考序列来自 S288C)。它是由 Robert Mortimer 和 Robert Hawthorne 在 20 世纪 50 年代在加州大学伯克利分校通过一系列精心设计的杂交和单孢子分离选育而来。其选育目标是获得一个遗传背景清晰、稳定、生长良好、孢子形成能力强的菌株。其关键祖包括菌株 EM93 (一个来自英格兰的野生分离株) 和一系列用于引入特定标记 (如 SUC2、MAL) 的杂交后代。“S288C”命名: “S”代表“*Saccharomyces*”, “288”是 Mortimer 实验室的菌株收藏编号, “C”表示它是该谱系中选出的第三个单倍体分离株。S288C 菌株具有正常的蔗糖酶和铜离子抗性基因; *mal*: 不能利用麦芽糖; *mel*: 不能发酵蜜二糖 (与 GAL 基因簇连锁); *gal2*: 半乳糖透性酶缺陷, 导致半乳糖利用缓慢, 在含半乳糖的培养基中生长缓慢; *flo1 flo8-1*: 絮凝调控基因突变, 导致絮凝能力丧失; 菌株表现为分散生长, 静置不聚集。S288C 菌株无可用的营养缺陷筛选标记, 可转化 G418、HYG 等抗生素筛选质粒。S288C 感受态细胞经特殊工艺制作, -80°C 可保存三个月, pRS415-HYG 质粒 (5857bp, Amp^R) 检测转化效率 >200 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 S288C 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 (筛选平板可根据转化质粒的筛选标记选择), 29°C 培养 48-96 h。

● 培养基配制

YPDA (1L) (唯地 CAT#: YM1020):

Tryptone 20g

Yeast extract 10g

0.2% adenine 15ml

补水到 950ml, 用盐酸调 PH 到 6.5;

Agar 20g(for plates only)

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 40% 葡萄糖 50 ml。

0.2% adenine (1L) (唯地 CAT#: YC6030)

Adenine 2g; 补水到 1L; 溶解后高压灭菌或 0.22µm 滤膜过滤除菌。

● 潮霉素溶液配制 (唯地 CAT#: BC1010L) :

Hygromycin B 潮霉素B 50mg/ml溶于无菌ddH₂O, 完全溶解后用0.22µm的滤膜过滤除菌; 酵母中工作浓度: 200-300 µg/ml。

● 注意事项

1. 感受态细胞最好在冰上融化, 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量, 同时转化 2-3 种质粒时可增加质粒的用量。
2. S288C 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。
3. 酵母在添加了 HYG 的培养基中生长速度比 YPDA 培养基慢, 潮霉素浓度越高生长越慢。