

BY4741 Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT#: YC1060)

| | | |
|---------------------------------|----------|------------------|
| BY4741 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 *his3Δ1 leu2 met15Δ ura3-52*

● 产品说明

BY4741 菌株来源于酿酒酵母原始菌株——S288C, 是实验室的常用菌株, 为配子 MATa 型, 广泛应用于钠, 钾离子平衡; 细胞抗盐; 各种金属离子的吸收; 重金属毒性; 各种糖类, 碳源对真核生物细胞生长的影响; 过氧化物, 超氧化物的吸收与运输的研究中。BY4741 酿酒酵母为组氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、尿嘧啶缺陷型菌株, 可直接通过 PEG/LiAc 将 pYES2 质粒转化进入 BY4741 细胞内。质粒 pYES2 的筛选标志为 URA, 可用 SD-URA 平板进行筛选。唯地生物生产的 BY4741 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 >10³ 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 BY4741 感受态细胞, 依次加入预冷的目的质粒 1-3 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. 将感受态移到 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, 29°C 培养 48-96 h。

● 培养基配制

① 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.

② SD medium (1L) (唯地 CAT#:YM3101-YM3611):

Yeast Nitrogen base 6.7g
葡萄糖 20g
Dropout 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。

③ 0.2% adenine (0.5L) (唯地 CAT#: YC6030)

Adenine 1g; 补水到 0.5L; 溶解后高压灭菌或 0.22 μ m 滤膜过滤除菌。

● 注意事项

1. 感受态细胞最好在冰上融化。
2. 若使用 pYES2 质粒表达蛋白, 需在培养基中加入 2%的半乳糖 (筛选培养基中不用加半乳糖; 当需要目的蛋白表达时, 需加入半乳糖代替葡萄糖作为碳源), 以诱导目的基因的表达。
3. 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
4. 同时转化 2-3 种质粒时可增加质粒的用量。
5. 酵母为真核生物, 不易长期保存, 随感受态在-80°C保存时间的延长, 转化效率会不断下降, 建议保存时间不超过 90 天。
6. BY4741 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。
7. 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。