



VL6-48 感受态细胞

VL6-48 Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1613

感受态组成	保存	规格
VL6-48 Chemically Competent Cell	-80℃ (6 个月)	100μl×10 支
Carrier DNA (10 μg/μl)	-20℃ (12 个月)	100μl
PEG/LiAC	-20℃ (12 个月)	5ml

产品介绍：

高转化效率酿酒酵母 VL6-48(ATCC no.MYA-3666) 因 TRP1 基因缺失而不能在 Trp 缺陷培养基中生长.因此, TRP1 基因可用作一个选择标记.对该菌株, HIS3 基因也可作为选择标记.URA3 基因作为标记, 不推荐直接做克隆实验, 尽管该菌株是 URA3 基因缺陷 (The URA3 gene on its chromosome is inactivated but not deleted, and thus unwanted recombination occurs at relatively high frequency between chromosomal URA loci and the URA gene on the vector).

基因型为: MAT alpha, his3-D200, trp1-D1, ura3-52, lys2, ade2-101, met14, psi+cir0

操作方法：

1. 取 100μL 冰上融化的 VL6-48 感受态细胞, 依次加入预冷的目的质粒 2-5μg, Carrier DNA(95-100℃, 5min, 快速冰浴, 重复一次)10μL, PEG/LiAc 500μL 并吸打几次混匀, 30℃水浴 30min (15 min 时翻转 6-8 次混匀)。
2. 将离心管放 42℃水浴 15min (7.5min 时翻转 6-8 次混匀)。
- 3.5000rpm 离心 40s 弃上清, ddH₂O 400μL 重悬, 离心 30s 弃上清。
- 4.ddH₂O 50-100μL 重悬, 涂板, 29℃培养 48-96h。

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. 一般酿酒酵母菌株对高温敏感, 最适生长温度为 27-30℃; 高于 31℃, 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℃, 48h 培养可见直径 1mm 克隆; 涂 SD 单缺平板 29℃, 48-60h 培养可见直径 1mm 克隆。