



WAT11 感受态细胞

WAT11 Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1611

感受态组成	保存	ZC1611-1	ZC1611-2
WAT11 Chemically Competent Cell	-80°C (3 个月)	10 支 ×100μl	20 支 ×100μl
Carrier DNA (10 μg/μl)	-20°C (12 个月)	100μl	100μl ×2
PEG/LiAc	-20°C (12 个月)	5ml	5ml ×2

产品介绍:

本公司生产的 WAT11 感受态细胞经特殊工艺制作, 可用于 DNA 的化学转化, 经 pGADT7 质粒检测转化效率高达 10^3 cfu/μg DNA, -80°C可保存三个月。

基因型为: MATa leu2-3, 112 trp1-1 can1-100 ura3-1 ade2-1his3-11,15

操作方法:

1. 取 100μl 冰上融化的 WAT11 感受态细胞, 依次加入预冷的目的质粒 1-3μg, Carrier DNA (96°C 水浴 3min, 快速冰浴 3min, 重复一次) 10 μl, PEG/LiAc 500μl 并吸打几次混匀, 30°C水浴 30min (15min 时翻转 6-8 次混匀)。

* 备注:Carrier DNA 加入请提前变性处理: 95-100°C 5min, 快速冰浴, 重复一次。置于冰浴 5min 之内使用。

2. 将感受态移到 42°C水浴 15min (7.5 min 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 50μl 重悬, 涂板, 29°C培养 48-96h。

注意事项:

- 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。
- WAT11 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。
- 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。
- 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 1mm 克隆; 涂 SD 单缺平板 29°C, 48-60h 培养可见直径 1mm 克隆, 涂 SD 双缺平板 29°C, 60-80h 培养可见直径 1mm 克隆, 涂 SD 三缺或四缺平板 29°C, 80-90h 培养可见直径 1mm 克隆。