

本产品仅供科研使用,请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

版本号:2023-09-10

BY4742 感受态细胞 BY4742 Chemically Competent Cell Cat.NO. ZC1618

感受态组成	保存	ZC1618-1
BY4742 Chemically Competent Cell	-80℃ (3 个月)	10 支 ×100μl
Carrier DNA (10 μg/μl)	-20°C(12 个月)	50μΙ
PEG/LiAC	-20°C(12 个月)	1.25ml×4

产品介绍:

本公司生产的 BY4742 感受态细胞经特殊工艺制作,可用于 DNA 的化学转化,经 pYES2 质粒检测转化效率高达 10^4 cfu/ μ g DNA, -80° C可保存三个月。

产品特点:

BY4742 菌株来源于酿酒酵母原始菌株——S288C, 是实验室的常用菌株, 可直接通过 PEG/LiAc 将 pYES2 质粒转化进入 BY4742 细胞内。质粒 pYES2 的筛选标志为 URA, 可用 SD-URA 板进行筛选。

操作方法:

- 1. 取 100μl 冰上融化的 BY4742 感受态细胞, 依次加入预冷的目的质粒 0.5-5μg, Carrier DNA (95-100°C 5min, 快速冰浴, 重复一次) 5μl, 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℃ 5min, 快速冰浴, 重复一次。置于冰浴 5min 之内使用。
- 2. 将管放 42℃水浴 15 min (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:

- 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. BY4742 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° C,48h 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,60-80 h 培养可见直径 1mm 克隆,涂 SD 三缺或四缺平板平板 29° C,80-90h 培养可见直径 1 mm 克隆。

北京庄盟国际生物基因科技有限公司



本产品仅供科研使用.请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

注意事项:

- 1. 感受杰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. Y2HGold 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° C,48h 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,60-80 h 培养可见直径 1mm 克隆,涂 SD 三缺或四缺平板平板 29° C,80-90h 培养可见直径 1 mm 克隆。

