



SMD1163 感受态细胞

SMD1163 Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1657

感受态组成	保存	规格
SMD1163 Chemically Competent Cell	-80℃ (6 个月)	100μl×10 支
B2 溶液 (酵母促转化剂)	-20℃ (12 个月)	50μl
B3 溶液 (毕赤酵母转化液)	RT (12 个月)	5ml

产品介绍:

SMD1163 是毕赤酵母菌株, 属于真核细胞。一般的针对原核生物的抗生素例如卡那和氨苄对酵母是无效的, 因此为了防止大肠杆菌等原核生物对酵母培养菌株污染, 往往会在培养基中加入一些氨苄和卡那霉素的抗生素, 来抑制细菌菌的污染和生长。SMD1163 毕赤酵母适宜的生长温度是 28-30℃, 一般使用 30℃培养, 温度超过 32℃可能导致细胞的死亡。SMD1163 毕赤酵母是 His 营养缺陷型菌株, 在缺乏组氨酸的 minimal media 中无法生长。SMD1163 的配套载体是含有 His4 基因的酵母表达载体, 例如 pPIC9K, pPIC3.5K。SMD1163 基因组中的 Pep4 和 prb1 基因发生突变, 造成蛋白水解酶 A 和蛋白水解酶 B 活性的丧失, 可以保护表达产物免受降解, 促进表达量的提高。SMD1163 菌株是 Mut+ 型, 能够生成乙醇氧化酶, 正常使用甲醇。

操作方法:

1. 取需转化质粒 5μg, 酶切, 回收;
2. 取一支无菌的 1.5ml EP 管, 依次加入预冷的线性质粒 1-5μg (体积不高于 15μl), 酵母促转化剂 5μl, 100μl 冰上融化的 SMD1163 感受态细胞, 毕赤酵母转化液 500μl, 轻轻翻转混匀 6-8 次。
3. 30℃水浴 30min, 每 15min 轻轻翻转混匀 6-8 次。
4. 每支加入 20μl 的二甲基亚砷 (用于提高转化效率, 也可不做)。
5. 42℃水浴 15min, 每 7.5min 轻轻翻转混匀 6-8 次。
6. 12000rpm 瞬时离心弃上清, 每支加 1ml 的 YPG Plus (或 YPG) 于 30℃复苏 1h (用于提高转化效率, 也可不做)。
7. 12000rpm 瞬时离心弃上清, 用 100μl 0.9% NaCl 重悬, 涂板, 30℃培养 3-7d。

注意事项:

1. 使用酵母促转化剂前, 请把装有酵母促转化剂的管子在沸水中煮沸 5min, 然后立即放在冰上, 用后放在 -20℃储存备用。
2. 转化液低温环境下会析出, 请于常温下完全溶解后使用。
3. 转化全程要无菌操作。
4. 12000rpm 瞬时离心指离心速度升到 12000rpm 时立即停止离心。