



YTK12 感受态细胞

YTK12 Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1614

感受态组成	保存	规格
YTK12 Chemically Competent Cell	-80°C (6 个月)	100μl×10 支
Carrier DNA (10 μg/μl)	-20°C (12 个月)	100μl
PEG/LiAc	-20°C (12 个月)	5ml

产品介绍:

YTK12 是一个蔗糖酶外泌缺陷型酿酒酵母, 该酵母广泛用于分析鉴定分泌蛋白的信号肽。蔗糖酶转化基因 *suc2* 能够将棉子糖或蔗糖转化成酵母可以利用的葡萄糖, 酵母信号肽追踪系统中使用的 pSUC2 载体含有蔗糖酶基因 *suc2*, 但其为丧失了分泌活性的缺失信号肽序列的基因。YTK12 酵母菌株则为 *suc2* 基因缺陷型菌种, 无法在以棉子糖为单一碳源的 YPRAA 培养基上正常生长。只有将具有分泌活性的信号肽序列连接在 pSUC2 载体蔗糖酶基因 *suc2* 的 N 端, 转化入 YTK12 酵母菌株中, 才能使蔗糖转化酶正常分泌, YTK12 酵母才能将棉子糖转化为葡萄糖, 在 YPRAA 培养基上正常生长。

操作方法:

1. 取 100μL 冰上融化的 YTK12 感受态细胞, 依次加入预冷的目的质粒 2-5μg, Carrier DNA(95-100°C, 5min, 快速冰浴, 重复一次)10μL, PEG/LiAc 500μL 并吸打几次混匀, 30°C 水浴 30min (15 min 时翻转 6-8 次混匀)。
2. 将离心管放 42°C 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°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. 一般酿酒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。
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。