



MaV203 感受态细胞

MaV203 Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1615

感受态组成	保存	规格
MaV203 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:

MaV203 菌株是利用酵母体内重组酶构建质粒的菌株, MATa 型, 可直接转化线性化质粒和基因片段; 可以用于筛选标记为 TRP, LEU, HIS, ADE 的酵母质粒的转化。MaV203 感受态细胞经特殊工艺制作, -80℃ 可保存三个月, pGADT7 质粒检测转化效率 $>10^6$ cfu/μg DNA。

基因型: MATa, leu2-3,112; trp1-901; his3Δ200; ade2-101; cyh2R; can1R; gal4Δ; gal80Δ; GAL1::lacZ; HIS3UASGAL1:: HIS3 LYS2; SPAL10 UASGAL1::URA3

操作方法:

1. Carrier DNA 的预处理: 将 Carrier DNA 插入 95℃ 金属浴 5min 或插入浮漂中 95℃ 水浴 3 min, 加热后快速插入冰中。
2. 取 100μl 冰上融化的 MaV203 感受态细胞, 依次加入预冷的目的质粒 2-5μg, 预处理后的 Carrier DNA 10μl, PEG/LiAc 500μl 并吸打几次混匀, 30℃ 水浴 30 min (15 min 时翻转 6-8 次混匀)。
3. 将离心管放 42℃ 水浴 15min (7.5min 时翻转 6-8 次混匀)。
4. 5000rpm 离心 40s 弃上清, ddH₂O 400μl 重悬, 离心 30s 弃上清。
5. ddH₂O 50μl 重悬, 涂相应的 SD-/ 氨基酸缺陷型板, 29℃ 培养 48-96 h。
6. 平板长出的菌落做菌落 PCR (为提高成功率, 菌落 PCR 产物最好控制在 300-500bp), PCR 正确的菌落接菌提质粒, 酵母提取的质粒转化高效率的商业化大肠杆菌化学感受态 (比如 DH5α, TOP10 等), 再从大肠杆菌中提质粒酶切或测序鉴定, 鉴定正确的质粒放 -20℃ 可长期保存。

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. MaV203 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℃, 48 h 培养可见直径 1 mm 克隆; 涂 SD 单缺平板 29℃, 48-60 h 培养可见直径 1 mm 克隆, 涂 SD 双缺平板 29℃, 60-80 h 培养可见直径 1 mm 克隆, 涂 SD 三缺或四缺平板 29℃, 80-90h 培养可见直径 1 mm 克隆。