



X33 感受态细胞

X33 Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1652

感受态组成	保存	规格
X33 Chemically Competent Cell	-80℃ (6 个月)	100μl×10 支
Carrier DNA (酵母促转化剂)	-20℃ (12 个月)	100μl
B 液 (转化液)	-20℃ (12 个月)	15ml
C 液 (悬浮液)	-20℃ (12 个月)	12ml

产品介绍:

X-33 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。毕赤酵母适宜的生长温度是 28 至 30 °C, 温度超过 32 °C 对蛋白的表达是有害的,并可能导致细胞的死亡。

X-33 毕赤酵母被推荐用来表达含有 Zeocin 抗性的载体载体重组质粒,例如 pPICZ A,B,C 系列的载体。在筛选 X-33 重组转化菌株时, Zeocin 抗生素的工作浓度是 100 μg/ml。

基因型为: 野生型; 表型: Mut+。

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 10μl, 100μl 冰上融化的 X33 感受态细胞, 加入 B 液 (转化剂) 1.4ml, 轻轻翻转混匀 6-8 次。
3. 30℃水浴 60min, 每 30min 轻轻翻转混匀 6-8 次。
4. 42℃水浴 20min, 每 10min 轻轻翻转混匀 6-8 次。
5. 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)。
6. 12000rpm 瞬时离心弃上清, 加入 1ml C 液 (悬浮剂) 重悬。
7. 12000rpm 瞬时离心弃上清, 用 100μl C 液 (悬浮剂) 重悬, 涂板, 30℃培养 3-7d。

注意事项:

1. 使用 Carrier DNA (酵母促转化剂) 前, 请把管子在沸水中煮沸 5min 或金属浴 100℃处理 10min, 然后立即放在冰上 2-3min, 使用后于 -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. Zeocin/ 博来霉素正常使用浓度为 100μg/ml (适当降低浓度至 70μg/ml 可增加菌落数并缩短筛选周期), 筛选高拷贝整合转化子可增加抗生素浓度。
4. 12000rpm 瞬时离心指离心速度升到 12000rpm 立即停止离心。