



## BY4741 Chemically Competent Cell 产品说明书

### 产品规格 (CAT#: YC508)

BY4741Competent Cell:	100μl/支	保存: -80°C (3个月)
pGADT7 (control vector, 10 ng/μl)	10μl	保存: -20°C (12个月)
Carrier DNA (10 μg/μl)	100μl	保存: -20°C (12个月)
PEG/LiAc:	5ml	保存: -20°C (12个月)

### 产品介绍

BY4741 菌株来源于酿酒酵母原始菌株——S288C, 是实验室的常用菌株, 为配子 MATa 型, 广泛应用于钠, 钾离子平衡; 细胞抗盐; 各种金属离子的吸收; 重金属毒性; 各种糖类, 碳源对真核生物细胞生长的影响; 过氧化物, 超氧化物的吸收与运输的研究中。BY4741 酿酒酵母为组氨酸、亮氨酸、甲硫氨酸、尿嘧啶缺陷型菌株, 可直接通过 PEG/LiAc 将 pYES2 质粒转化进入 BY4741 细胞内。质粒 pYES2 的筛选标志为 URA, 可用 SD-URA 板板进行筛选。唯地生物生产的 BY4741 感受态细胞经特殊工艺制作, -80°C 可保存三个月, pYES2 质粒检测转化效率 > 10<sup>3</sup> cfu/μg DNA。

**基因型:** *MATa his3Δ1 leu2 met15Δ ura3-52*

### 操作方法

1. 取 100 μl 冰上融化的 BY4741 感受态细胞, 依次加入预冷的目的质粒 1-3 μg, Carrier DNA (96°C 水浴 3 min, 快速冰浴 3 min, 重复一次) 10 μl, PEG/LiAc 500 μl 并吸打几次混匀, 30°C 水浴 30 min (15 min 时翻转 6-8 次混匀)。
2. 将感受态移到 42°C 水浴 15 min (7.5 min 时翻转 6-8 次混匀)。
3. 5000 rpm 离心 40 s 弃上清, ddH<sub>2</sub>O 400 μl 重悬, 离心 30s 弃上清。
4. ddH<sub>2</sub>O 50 μl 重悬, 涂板, 29°C 培养 48-96 h。

### 注意事项

1. 感受态细胞最好在冰上融化。
2. 若使用 pYES2 质粒表达蛋白, 需在培养基中加入 2% 的半乳糖 (筛选培养基中不用加半乳糖; 当需要目的蛋白表达时, 需加入半乳糖代替葡萄糖作为碳源), 以诱导目的基因的表达。
3. 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
4. 同时转化 2-3 种质粒时可增加质粒的用量。

5. 酵母为真核生物，不易长期保存，随感受态在-80℃保存时间的延长，转化效率会不断下降，建议保存时间不超过 90 天。
6. BY4741 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。
7. 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。