



WAT11 Chemically Competent Cell 产品说明书

产品规格 (CAT#: YC512)

WAT11 Competent 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

酵母 WAT11 是将拟南芥的 CPR1 替换酵母内源性 CPR 构建的工程化菌株, 配套的载体是 pYeDP。更详细的介绍, 请查阅文献获得。WAT11 感受态细胞经特殊工艺制作, -80°C 可保存三个月, pGADT7 质粒检测转化效率 > 10⁴ cfu/μg DNA。

基因型: MATa leu2-3, 112 trp1-1 can1-100 ura3-1 ade2-1his3-11,15

操作方法

1. 取 WAT11 感受态细胞 100 μL 于冰上融化, 依次加入预冷的目的质粒 2-5 μg, Carrier DNA (95-100°C, 5min, 快速冰浴, 重复一次) 10 μL, PEG/LiAc 500 μL 并吹打几次混匀, 30°C 水浴 30 min (15min 时翻转 6-8 次混匀)。
2. 将离心管置于 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, ddH₂O 400 μL 重悬, 离心 30s 弃上清。
4. ddH₂O 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. 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. WAT11 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, 48 h 培养可见直径 1 mm 克隆; 涂 SD 单缺平板 29°C, 48-60 h 培养可见直径 1 mm 克隆, 涂 SD 双缺平板 29°C, 60-80 h 培养可见直径 1 mm 克隆, 涂 SD 三缺或四缺平板 29°C, 80-90 h 培养可见直径 1 mm 克隆。