

## X33 感受态细胞使用说明书

产品编号: CC130

产品储存: -80 °C保存, 6 个月有效。

产品组成:

产品组成	规格	温度
X-33 Competent Cell	10×100 μL/支	-80 °C (6 个月)
Carrier DNA (10 μg/μL)	100 μL	-20 °C (24 个月)
B2 溶液 (转化液)	20 mL	-20 °C (24 个月)
B3 溶液 (悬浮液)	20 mL	-20 °C (24 个月)
说明书		1 份

注: 本菌株的基因型: 野生型; 表型: Mut<sup>+</sup>。

产品说明:

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 ug/ml。

使用方法:

1. 取 0.1-5 μg 质粒 DNA (线性化质粒加入量 5-50 μg) 和 10 μL 预变性 Carrier DNA, 加入到未融化的 100-200 μL 感受态细胞上, 置于 30 °C 水浴, 每隔 15 S 颠倒混匀, 直至感受态细胞刚好完全融化 (融化后及时取出)。
2. 加入 1.4 mL B2 溶液颠倒混匀。30 °C 水浴 60 min, 每隔 20 min 颠倒混匀
3. 3,000 rpm 离心 3 min 弃上清留菌体沉淀, 加入 1 mL B3 溶液重悬菌体。

4. 3,000 rpm 离心 3 min 弃上清留菌体沉淀，加入 100  $\mu$ L B3 溶液重悬菌体。

5. 将 100  $\mu$ L 菌液全部涂布到相应的平板培养基，30  $^{\circ}$ C 恒温培养 3-5 天，直至平板出现酵母克隆。

**注意事项：**

1. 初次使用 Carrier DNA，请把装有 Carrier DNA 的管子在沸水中煮沸 5 min，然后立即放在冰上，用后放在 -20  $^{\circ}$ C 储存备用。下次使用前请于冰上解冻 Carrier DNA。反复冻融 3-5 次后需重新变性 Carrier DNA。
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. 毕赤酵母适宜的生长温度是 28 至 30  $^{\circ}$ C，温度超过 32  $^{\circ}$ C 对蛋白的表达是有害的，并可能导致细胞的死亡。