

INVSc1 菌株

产品保存: -80℃冰箱冻结法保存

产品信息:

出品公司: Invitrogen

溶剂: 15-20%甘油

体积: 0.2mL

基因型: MATa his3Δ1 leu2 trp1-289 ura3-52/MATα his3Δ1 leu2 trp1-289 ura3-52

产品说明:

INVSc1 酿酒酵母是生长快速的双倍体酵母细胞,是蛋白表达的理想菌株。INVSc1 酿酒酵母是 His, Leu, Trp 和 Ura 营养缺陷型菌株,在缺乏组氨酸,亮氨酸,色氨酸和尿嘧啶的 SC minimal media 中无法生长。INVSc1 酿酒酵母是非常理想的蛋白表达菌株,但是不应该用于遗传分析研究,因为该菌株的孢子形成不好。

INVSc1 菌株是专门用来做重组蛋白表达的宿主酵母, pYES2 质粒与 INVSc1 酵母配套用,激活 pYES2 质粒的 GAL1 启动子的转录进而启动下游重组蛋白的表达。INVSc1 为合子型,可直接通过 PEG/LiAc 将 pYES2 质粒转化进入 INVSc1 细胞内。质粒 pYES2 的筛选标志为 URA,可用 SD-URA 板进行筛选。

菌株活化说明:

菌种活化就是将保藏状态的菌种放入适宜的培养基中培养,逐级扩大培养是为了得到纯而壮的培养物,即获得活力旺盛的、接种数量足够的培养物。菌种活化一般需要 2-3 代的复壮过程,因为保存时的条件往往和培养时的条件不相同,所以要活化,让菌种逐渐适应培养环境。

菌株活化操作 (仅供参考):

1. 从冰箱中取出菌株冻存管,室温溶解并适当快速摇动。直到内部结冰全部溶解为止。
2. 开启冻存管,将 10μL 内容物移至 YPDA 培养基(平板)上进行划线(图 1)。置于培养箱 28-30℃培养 2-3 天。
3. 挑选其中茁壮菌落接种到新的 YPDA 培养基(平板)中培养,重复此步骤 2-3 次。从而得到生长良好的菌落。



图 1 平板划线

注意事项:

1. 收到菌株后,尽快活化,再次分装保存。
2. 如果菌株活性差,离心后,取沉淀划线,并再次保存。
3. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗,食品及化妆品等用途。
4. 为了您的安全和健康,请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作。
5. 如有疑问请致电 400-878-6800 咨询。

Super 酵母感受态制备与转化试剂盒 (Plus)

储存条件: -20 °C 保存, 未开封有效期 24 个月。Y3 避免多次冻融; Y1、Y2 溶液可 2-8 °C 保存。

产品货号: SK2402-20T

产品内容:

Components	编号	SK2402-20T	SK2402-200T
Y1 溶液 (制备液)	SK2402-1	10mL	50 mL× 2
Y2 溶液 (冻存液)	SK2402-2	1mL	5 mL× 2
Y3 溶液 (转化液)	SK2402-3	8mL	20 mL× 4
YPD Plus Liquid Medium	YT0004	10mL	100mL
说明书	1 份		

产品说明:

Coolaber 的 Super 酵母感受态制备与转化试剂盒 (SK2401) 可以完成酿酒酵母感受态制备, 感受态冻存, 转化实验。最突出的优点可一次性制备 200 支感受态, -80 °C 冰箱可冻存一年, 后续酵母转化实验无需重新制备感受态, 操作简单快速, 该试剂盒的转化效率与经典酵母转化试剂盒 (SK2400) 基本相同。如需进一步提高酵母转化效率, 可选用 Coolaber 的 Super 酵母感受态制备与转化试剂盒 Plus (SK2402) 或单独购买 YPD Plus Liquid Medium (YT0004), 转化产物用 YPD Plus 复苏, 其转化效率可以提高 50-100%。

使用方法:

感受态细胞的制备: (按小体积转化制备 20 支感受态计, 可按比例扩大)

1. 活化菌种。-80 °C 保存的菌种在 YPDA 培养基平板上划线, 30 °C 培养 2-4 天。
2. 挑取酵母单菌落在 YPDA 培养基平板上划 3-5 mm 的短线, 30 °C 培养 2-4 天。
3. 待酵母单菌落直径长至 2 mm 时, 把酵母细胞接种到 3 mL 液体 YPDA 培养基中, 30 °C 过夜培养。
4. 第二天转接到含有 50 mL 液体 YPDA 培养基的三角瓶中继续培养, 待 OD600 达到 0.4-0.5, 5000 rpm 离心 5 min, 弃上清。(4 °C 保存 1 周内的酵母菌液, 用 3 mL 接种 50 mL YPDA 培养基过夜培养)
5. 用 10 mL Y1 溶液重悬沉淀, 5000 rpm 离心 5 min, 弃上清。
6. 加入 1 mL Y2 溶液重悬, 按 50 μL 分装于 1.5 mL 无菌冻存管, 转文库按 600 μL 分装, 感受态细胞即制备完毕, 可直接用于转化。
7. 制备好的感受态细胞需缓慢冷冻后, 再置于 -80 °C 冰箱长期保存。将感受态细胞放入程序降温盒, 或用多层纸包裹放入泡沫盒中, 先置于 -80 °C 冰箱过夜后, 再取出感受态置于 -80 °C 冰箱, 可保存一年。使用前室温融化后用于转化。

转化预混液配制:

成分	质粒转化预混液	文库转化预混液
Y3 溶液	350 μL	2520 μL
质粒	5-10 μL (≈200 ng/μL)	5-15 μg (文库质粒)
总体积	360 μL (ddH ₂ O 补足体积)	2592 μL (ddH ₂ O 补足体积)

酵母质粒转化:

1. 吸取 360 μL 预混液加入 50 μL 感受态细胞中, 反复吹吸沉淀, 使酵母细胞完全悬浮于预混液中。



Focus on Life Sciences

COOLABER SCIENCE & TECHNOLOGY Co.,LTD

www.coolaber.com

Phone: 400-878-6800

2.30 °C的水浴锅中热激 60 min，每 10 min 混匀一次。对于部分菌种，延长孵育时间可提高转化效率，但不要超过 3 小时。

3.12,000 rpm 离心 15 s，弃上清。

4. (可选步骤) 用 0.5 mL YPD Plus Liquid Medium 重悬沉淀，30 °C 摇床震荡培养 30-60 min。

12000 rpm 离心 15 s，弃上清。

5. 加入 400 μL 无菌去离子水或 0.9%氯化钠溶液重悬菌体，涂筛选培养基平板，30 °C 培养 2-4 天。

酵母文库转化：(需用 15-50 mL 离心管)

1. 将 2592 μL 预混液加入到 600 μL 感受态细胞中，震荡使感受态细胞充分悬浮于预混液中。

2. 30 °C 的水浴锅中热激 90 min，每 10 min 混匀一次。对于部分菌种，延长孵育时间可提高转化效率，但不要超过 3 小时。

3. 5000 rpm 离心 5 min，弃上清。

4. (可选步骤) 用 3 mL YPD Plus Liquid Medium 重悬沉淀，30 °C 摇床震荡培养 90 min，5000 rpm 离心 5 min，弃上清。

5. 加入 15 mL 无菌去离子水或 0.9%氯化钠溶液重悬菌体，涂筛选培养基平板，30 °C 培养 2-4 天。

注意事项：

1. 转化全程要求无菌操作。
2. 为了保证转化效率，务必缓慢冻存感受态，感受态不宜直接用液氮冻存。
3. 增加酵母质粒的纯度和浓度可以提高转化效率。

202404 版