

BY4741 Chemically Competent Cell 产品使用说明书

产品储存：-80 °C 保存，一年有效。

产品货号：CC301

产品组成：

产品组成	规格	温度
BY4741 Competent Cell	10×100 μl /支	-80°C (6 个月)
Carrier DNA (10 μg/μl)	100 μl	-20°C (12 个月)
PEG/LiAc	5ml	4°C (12 个月)
说明书	1 份	

基因型：

MATa his3Δ1 leu2 met15Δ ura3-52

产品说明：

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>10³ cfu/μg DNA。

使用方法：

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，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。

5. 筛选培养基可选本公司 SD 系列产品，产品链接

(http://www.coolaber.com/Column_Content.asp?Column_ID=48766)

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 三缺或四缺平板平板 29℃，80-90h 培养可见直径 1 mm 克隆。