



INVSc1 感受态细胞

INVSc1 Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1607

感受态组成	保存	ZC1607-1	ZC1607-2
INVSc1 Chemically Competent Cell	-80°C (3 个月)	10 支 ×100μl	20 支 ×100μl
pYES2 *(control vector, 10 ng/μl)	-80°C (12 个月)	10μl	10μl
Carrier DNA (10 μg/μl)	-20°C (12 个月)	100μl	100μl ×2
PEG/LiAc	-20°C (12 个月)	5ml	5ml ×2

* 注: pYES2 非空载, 仅用于质量控制。

产品介绍:

本公司生产的 INVSc1 感受态细胞经特殊工艺制作, 可用于 DNA 的化学转化, 经 pYES2 质粒检测转化效率高达 10^4 cfu/μg DNA, -80°C 可保存三个月。

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

产品特点:

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 酵母配套使用, 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。

操作方法:

1. 取 100μl 冰上融化的 INVSc1 感受态细胞, 依次加入预冷的目的质粒 2-5μg, Carrier DNA (95-100°C 5min, 快速冰浴, 重复一次) 10μl, PEG/LiAc 500μl 并吸打几次混匀, 30°C 水浴 30min (15min 时翻转 6-8 次混匀)。

* 备注: Carrier DNA 加入请提前变性处理: 95-100°C 5min, 快速冰浴, 重复一次。置于冰浴 5min 之内使用。

2. 将管放 42°C 水浴 15min (7.5 min 时翻转 6-8 次混匀)。
3. 5000rpm 离心 40s 弃上清, ddH₂O 400μl 重悬, 离心 30s 弃上清。
4. ddH₂O 50μl 重悬, 涂质粒筛选用: SD-U medium 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. INVSc1 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 1mm 克隆; 涂 SD 单缺平板 29°C, 48-60h 培养可见直径 1mm 克隆, 涂 SD 双缺平板 29°C, 60-80h 培养可见直径 1mm 克隆, 涂 SD 三缺或四缺平板 29°C, 80-90h 培养可见直径 1mm 克隆。