



# BY4741 感受态细胞

## BY4741 Chemically Competent Cell

### Cat.NO. ZC1608

感受态组成	保存	ZC1608-1	ZC1608-2
BY4741 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 BY4741 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  $10^3$ cfu/μg DNA, -80°C 可保存三个月。

基因型为: MATa his3Δ1 leu2 met15Δ ura3-52

### 产品特点:

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。

### 操作方法:

1. 取 100μl 冰上融化的 BY4741 感受态细胞, 依次加入预冷的目的质粒 1-3μg, Carrier DNA (96°C 水浴 3min, 快速冰浴 3min, 重复一次) 10 μl, 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. 将感受态移到 42°C 水浴 15min (7.5 min 时翻转 6-8 次混匀)。
3. 5000rpm 离心 40s 弃上清, ddH<sub>2</sub>O 400μl 重悬, 离心 30s 弃上清。
4. ddH<sub>2</sub>O 50μl 重悬, 涂板, 29°C 培养 48-96h。

### 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. 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。
5. 酵母为真核生物, 不易长期保存, 随感受态在 -80°C 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°C 高于 31°C 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°C, 48h 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, 60-80 h 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。