



GS115 电转感受态细胞

GS115 Electroporation Competent Cell

Cat.NO. ZC1651D

感受态组成	保存	规格
GS115 电转感受态	-80°C (3 个月)	80μl x 10
SD 溶液 (0.45μm 过滤除菌)	4°C (3 个月)	10ml

产品介绍：

GS115 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。GS115 毕赤酵母自身表型为 Mut+, 但是 GS115 转化株既能够产生出 Mut+ 菌株, 也能够产生出 Muts 菌株。目的蛋白在这两种转化株的表达水平可能是不同的, 并且具有不可预测性, 所以只有通过实验才能得到最好的酵母表达方案。毕赤酵母适宜的生长温度是 28~30°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。GS115 毕赤酵母是组氨酸缺陷型 (His4 基因型), 如果表达载体上携带有组氨酸基因, 可补偿宿主菌的组氨酸缺陷, 因此可以在不含组氨酸的培养基上筛选转化子。这些受体菌自发突变为组氨酸野生型的概率一般低于 10⁻⁸。GS115 毕赤酵母可以在 YPD 培养基中生长, 或者在补充有组氨酸的 minimal media 中生长, 但是无法在单独的 minimal media 培养基中生长。

操作方法：

1. 取适量 SD 溶液冰浴, 每管感受态准备 1ml。
2. 0.2 cm 电击杯和杯盖从储存液中拿出倒置于干净的吸水纸上 5 分钟沥干水分, 正置 5 分钟, 待乙醇挥发干净立即插入冰中, 压实冰面, 电击杯顶离冰面 0.5 cm 以方便盖上杯盖, 冰中静置 5 分钟充分降温。
3. 取 -80°C 保存的 GS115 电转感受态细胞插入冰中 2-5 分钟, 待其融化, 加入 2-10μg 线性化的目的 DNA (加入 DNA 的体积不超过 8μl, DNA 纯度越高越好, 保证尽可能低的离子含量), 立即插入冰中。
4. 用 200 μl 枪头 (用刀切除 0.5cm 枪尖) 将感受态 -DNA 混合物缓慢吹打两次, 除去气泡, 快速转移到电击杯中 (避免产生气泡), 轻轻晃动电击杯使液面保持水平状态, 盖上杯盖, 插入冰中。
5. 启动电转仪, 设置参数: C=25 μF, PC=200 Ω, V=2kV, 将电击杯从冰中拿出, 用吸水纸擦拭吸干表面水渍, 放入电转槽中, 电击完成后拿出电转杯放室温, 打开杯盖, 10 秒内加入 1ml 预冷的 SD 溶液, 将感受态 -DNA 混合物转移到原感受态离心管中, 30°C 静置 2-3 小时。
6. 4000 rpm 离心 30 秒收菌, 弃上清, 留 50μl 上清重悬后涂布到含相应抗生素的筛选平板上, 将平板倒置放于 30°C 培养箱培养 3-5 天。

注意事项：

1. 加入质粒时体积不应大于感受态体积的 1/10。
2. 混入质粒时应轻柔操作。