

WAT11 Chemically Competent Cell 使用说明书

产品编号: CC311

产品储存: -80 °C保存, 一年有效。

产品组成:

产品组成	规格	温度
WAT11 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	5 mL	4 °C (12 个月)
说明书	1 份	

基因型:

MATa leu2-3, 112 trp1-1 can1-100 ura3-1 ade2-1his3-11,15。酵母 WAT11 是一种工程化的酿酒酵母菌株, 是将拟南芥的 CPR1 替换酵母内源性 CPR 构建的工程化菌株。配套表达载体:pYeDP60, PGY, PYES2 等。

使用方法:

1. 取 WAT11 感受态细胞 100 µL 于冰上融化, 依次加入预冷的目的质粒 2-5 µg, Carrier DNA(95-100°C, 5min, 快速冰浴, 重复一次)10 µL, PEG/LiAc 500 µL 并吹打几次混匀, 30°C水浴 30 min (15min 时翻转 6-8 次混匀)。
2. 将离心管置于 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. 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. 酿酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae* WAT11 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 1 mm 克隆；涂 SD 单缺平板 29°C，48-60 h 培养可见直径 1 mm 克隆，涂 SD 双缺平板 29°C，60-80 h 培养可见直径 1 mm 克隆，涂 SD 三缺或四缺平板 29°C，80-90 h 培养可见直径 1 mm 克隆。