



WAT11 Chemically Competent Cell 使用说明书

产品编号：CC311

产品储存：-80 °C保存，6 个月有效。

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. 10,000 rpm 离心 30 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℃；高于 31℃，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℃，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 29℃，80-90 h 培养可见直径 1 mm 克隆。

20240229 版