



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

BY4741 酵母感受态细胞

BY4741 Chemically Compete

货号: S32919

名称 \ 货号	S32919	储存
Carrier DNA	5ug/ μ l 、 100 μ l	-20℃
PEG/LiAc	5ml	4℃

基因型: MATa his3 Δ 1 leu2 met15 Δ ura3-5

简要说明: AngYuBio 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。AngYuBio BY4741 感受态细胞经特殊工艺制作, pYES2 质粒检测转化效率>10³ cfu/ μ g DNA。

操作说明:

1. 取一支无菌的 1.5ml EP 管, 依次加入预冷的目的质粒 1-3 μ g,



Carrier DNA 10 μ l(95-100 度 5min 快速冰浴, 重复一次), 100 μ l 冰上融化的感受态细胞, PEG/LiAc 500 μ l, 轻轻翻转混匀 6-8 次;

2. 30℃水浴 30min, 每 10min 轻轻翻转混匀 6-8 次;

3. 每支加入 20 μ l 的二甲基亚砷; (用于提高转化效率,可不做)

4. 42℃水浴 15min, 每 5min 轻轻翻转混匀 6-8 次;

5. 12000rpm 瞬时离心弃上清, 每支加入 1ml 的 YPD Plus 于 30℃复苏 1h; (用于提高转化效率, 可不做)

6. 12000rpm 瞬时离心弃上清, 用 100 μ l 0.9% NaCl 重悬, 涂板, 30℃培养 48-96h

注 意 事 项:

1. 感受态细胞最好在冰上融化。

2. 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。

3. 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。

4. 同时转化 2-3 种质粒时可增加质粒的用量。

5. 酵母为真核生物, 不易长期保存, 随感受态在-80℃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℃; 高于 31℃, 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



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

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℃, 80-90h 培养可见直径 1 mm 克隆。

源叶生物