GS115 感受态细胞使用说明书

产品编号：CC200

产品储存：-80 ℃保存，6 个月有效。

产品组成：

产品组成	规格	温度
GS115 Competent Cell	10×100 μL/支	-80 ℃（6 个月）
Carrier DNA (10 μg/μL)	100 μL	-20 ℃（24 个月）
B2 溶液（转化液）	20 mL	-20 ℃（24 个月）
B3 溶液（悬浮液）	20 mL	-20 ℃（24 个月）
说明书	1 份	

注：本菌株的基因型为 *His4*，表型是 Mut^+。

产品说明：

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 至 30 度，温度超过 32 度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。质粒转化毕赤酵母 GS115 的菌株的方法有很多，如电转化、化学转化等。根据实验方法的不同，用的试剂和培养基有所不同。本手册提供一个化学转化方法。

使用方法：

1. 取 0.1-5 μg 质粒 DNA（线性化质粒加入量 5-50 μg）和 10 μL 预变性 Carrier DNA，加入到未融化的 100-200 μL 感受态细胞上，置于 30 ℃水浴，每隔 15 S 颠倒混匀，直至感受态细胞刚好完全融化（融化后及时取出）。
2. 加入 1.4 mL B2 溶液颠倒混匀。30 ℃水浴 60 min，每隔 20 min 颠倒混匀
3. 3,000 rpm 离心 3 min 弃上清留菌体沉淀，加入 1 mL B3 溶液重悬菌体。
4. 3,000 rpm 离心 3 min 弃上清留菌体沉淀，加入 100 μL B3 溶液重悬菌体。
5. 将 100 μL 菌液全部涂布到相应的平板培养基，30 ℃恒温培养 3-5 天，直至平板出现酵母克隆。

注意事项：

1. 初次使用 Carrier DNA，请把装有 Carrier DNA 的管子在沸水中煮沸 5 min，然后立即放在冰上，用后放在-20 ℃储存备用。下次使用前请于冰上解冻 Carrier DNA。反复冻融 3-5 次后需重新变性 Carrier DNA。
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. 毕赤酵母适宜的生长温度是 28 至 30 度，温度超过 32 度对蛋白的表达是有害的，并可能导致细胞的死亡。