



# R5421 感受态细胞

## R5421 Chemically Competent Cell

### Cat.NO. ZC1610

感受态组成	保存	ZC1610-1	ZC1610-2
R5421 Chemically Competent Cell	-80°C (3 个月)	10 支 ×100μl	20 支 ×100μl
pGADT7 *(control vector, 10 ng/μl)	-80°C (12 个月)	10μl	10μl
Carrier DNA (10 μg/μl)	-20°C (12 个月)	100μl	100μl ×2
PEG/LiAC	-20°C (12 个月)	5ml	5ml ×2

\* 注: pGADT7 非空载, 仅用于质量控制。

### 产品介绍:

本公司生产的 R5421 感受态细胞经特殊工艺制作, 可用于 DNA 的化学转化, 经 pGADT7 质粒检测转化效率高达  $10^3$  cfu/μg DNA, -80°C 可保存三个月。

基因型为: MAT $\alpha$  ura3-52 leu2 trk1 $\Delta$  his3 $\Delta$ 200 his4-15 trk2 $\Delta$ 1::pCK64

### 产品特点:

R5421 酿酒酵母菌株为 K<sup>+</sup>/ 钾离子缺陷型菌株, 在文献中也称为 CY162, MAT $\alpha$  型, 多用于 K<sup>+</sup>/ 钾离子转运蛋白的鉴定试验中, 也可用于 K<sup>+</sup>/ 钾离子通道或钠钾离子泵的鉴定试验。Transformation marker 为: ura3, leu2, 该菌株可以在含有 100mM KCl 的培养基中正常生长, 在含有 5-10mM KCl 的培养基中生长缓慢, 当培养基中 KCl 浓度低于 0.5mM, R5421(CY162) 细胞停止生长。

### 操作方法:

- Carrier DNA 在每次使用前要通过加热处理使其变性为单链状态, 步骤如下: Carrier DNA 放 95°C 水浴或金属浴 3min 快速插入冰中静置 3min, 再次放 95°C 水浴或金属浴 3min 快速插入冰中, 静置 3min 以上。  
\* 备注: Carrier DNA 加入请提前变性处理: 95-100°C 5min, 快速冰浴, 重复一次。置于冰浴 5min 之内使用。
- 取 100μl 冰上融化的 R5421 感受态细胞, 依次加入预冷的目的质粒 0.5-3μg, Carrier DNA 10μl, PEG/LiAc 500μl 并吸打几次混匀, 30°C 水浴 30min (15min 时翻转 6-8 次混匀)。
- 将管放 42°C 水浴 15min (7.5min 时翻转 6-8 次混匀)。
- 5000rpm 离心 40s 弃上清, ddH<sub>2</sub>O 400μl 重悬, 离心 30s 弃上清。
- ddH<sub>2</sub>O 50μl 重悬, 涂板, 29°C 培养 48-96h。

### 注意事项:

- 感受态细胞最好在冰上融化。
- 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
- 同时转化 2-3 种质粒时可增加质粒的用量。
- R5421 酵母菌株对高温敏感, 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。



**ZOMANBIO**

本产品仅供科研使用. 请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

### 注意事项：

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 1mm 克隆; 涂 SD 单缺平板 29°C, 48-60h 培养可见直径 1mm 克隆, 涂 SD 双缺平板 29°C, 60-80h 培养可见直径 1mm 克隆, 涂 SD 三缺或四缺平板 29°C, 80-90h 培养可见直径 1mm 克隆。

ZOMANBIO