天净沙系列

CAT#:26-122

干冰运输、-80℃保存

天净沙

巴斯德毕赤酵母 GS115 化学感受态细胞

Pichia pastoris GS115 Chemical Competent Cell

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

巴斯德毕赤酵母 GS115 化学感受态细胞是一种毕赤酵母感受态细胞，属于真核细胞。该菌株自身为 Mut+，但经质粒转化后既能产生 Mut+菌株，也能产生 Muts 菌株。此外该菌株是 *His4* 缺陷型，自身不能合成组氨酸，只能在含组氨酸的培养基中生长，但当携带组氨酸基因的表达质粒转化进入该菌株时，该菌的组氨酸缺陷被补偿，因此可利用该菌株此特性在不含组氨酸的培养基上筛选转化子。本产品具有以下特点：

1. 转化后既能产生 Mut+菌株，也能产生 Muts 菌株。
2. 可使用 YPD 培养基培养或使用额外添加了组氨酸的基础培养基培养。
3. 可通过互补营养缺陷型来选择转化子。
4. 具有完整的乙醇氧化酶（AOX1）基因，可利用甲醇诱导外源蛋白表达。
5. 本产品足够 10 次 100 μL 的转化实验。
6. 本产品只可用于科研。

规格及成分

本产品采用塑料袋包装

成分	编号	规格	包装
巴斯德毕赤酵母 GS115 化学感受态细胞	26-122a	100 μL×10	1.5 mL 本色管
10 μg/μL 载体 DNA	26-122b	100 μL	1.5 mL 本色管
10 ng/μL pPIC9K 对照载体	26-122c	10 μL	1.5 mL 本色管
PD 缓冲液	26-122d	15 mL	15 mL 本色瓶
PN 缓冲液	26-122e	18 mL	25 mL 本色瓶
使用手册	26-122sc	1 份	无

运输及保存

干冰运输，巴斯德毕赤酵母 GS115 化学感受态细胞和 pPIC9K 对照载体需要-80℃保存，有效期分别为 3 个月和 12 个月，载体 DNA 需要-20℃保存，有效期 12 个月，其他组分 4℃保存，有效期 3 个月,。

自备物品

质粒，EP 管，0.9% NaCl。

使用方法

一、实验方法

1. 预处理：将载体 DNA 进行 95℃，3 分钟的水浴或 95℃，5 分钟的金属浴，之后快速放入冰中备用。
2. 在无菌条件下，依次加入：
   1) 冰上融化的感受态细胞 100 μL。
   2) 预冷的线性质粒 2-10 μg（体积不超过 10 μL）。
   3) 预处理后的载体 DNA 10 μL。
   4) PD 缓冲液 1.4 mL。

	3. 吹打混匀，将 EP 管置于 30℃水浴中 60 分钟（30℃水浴 30 分钟轻轻翻转混匀 6-8 次）。 4. 42℃水浴 20 分钟，第十分钟时可轻轻翻转混匀 6-8 次。 5. 5000×g 离心 40 秒弃上清。 6. 每支加入 1.4 mL 的 PN 缓冲液重悬，5000×g 离心 30 秒弃上清。 7. 在得到的沉淀中加入 0.3 mL 的 PN 缓冲液重悬，涂板，30℃培养 3-5 天。 **二、注意事项：** 8. pPIC9K 对照载体转化前需单酶切进行线化，一般用 *SalI* 处理。 9. 感受态需冰上融化，质粒浓度较高时可减少涂布的菌量。 10. 巴斯德毕赤酵母 GS115 菌株对温度敏感，适宜生长温度为 27-30℃，高于 31℃时其转化效率和生长速度会降低。 11. 整个转化过程需在无菌条件下操作。
关联产品	*Pichia pastoris* 巴斯德毕赤酵母 Pichiapink-4 化学感受态细胞