

解脂耶氏酵母 pof1 Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格 (CAT#: YLC1001)

解脂耶氏酵母 pof1 Competent Cell	100μl /支	保存: -80℃ (3个月)
pINA1269 (control vector, 10ng/μl)	10μl	保存: -80℃ (12个月)
Carrier DNA (10μg/μl)	100μl	保存: -20℃ (12个月)
PEG/LiAC	5ml	保存: 4℃ (12个月)

● 基因型

MATa *ura3-302 leu2-270 xpr2-322 axp2-delta*NU49 XPR2::SUC2

● 产品说明

解脂耶氏酵母 pof1 (Yarrowia lipolytica ATCC MYA-2613) 菌株是源自野生型菌株 W29 (ATCC 20460) 的工程菌株。因其遗传背景清晰且具备多重优良特性, pof1 已成为当前合成生物学、代谢工程及工业发酵领域应用最广泛的解脂耶氏酵母宿主之一。该菌株的 *xpr2-322* 和 *axp2-delta*NU49 突变导致其无法产生主要的胞外蛋白酶。这使其在表达对蛋白酶敏感的重组蛋白时具有显著优势。pof1 是尿嘧啶、亮氨酸双重营养缺陷型菌株, 这一特性使其成为携带 URA3 或 LEU2 筛选标记的质粒或基因敲除盒的理想宿主, 便于遗传操作和转化子筛选。pof1 是严格好氧酵母: 生长需要充足的氧气供应, 倍增时间约 1.5 - 2 小时。pof1 因其强大的脂质代谢能力和高效的异源蛋白表达能力, 被广泛应用于生物燃料、食品添加剂、医药及环保等领域: 1, 异源蛋白表达: 用于生产工业酶和治疗性蛋白。2, 代谢工程与合成生物学: 作为底盘细胞, 用于生产多种高价值化学品, 如赤藓糖醇、α-法尼烯、β-胡萝卜素和β-紫罗兰酮等。3, 油脂生产: 作为一种产油酵母, 可用于生产中性油脂和特种脂质。pINA1269、pYL1269GH、pYL1269FH 质粒是解脂耶氏酵母 pof1 的蛋白表达质粒, 筛选标志为 LEU, 可用 SD-LEU 平板进行筛选。解脂耶氏酵母 pof1 感受态细胞经特殊工艺制作, -80℃可保存三个月, pINA1269 质粒 (7257bp, Amp^R) 检测转化效率 >10³ cfu/μg DNA。

● 操作方法

1. 质粒扩繁: 为消除质粒甲基化, 提高转化效率, 可先将解脂耶氏酵母质粒转入 JM110 大肠杆菌感受态 (货号: DL1025), 从 JM110 细胞中提取质粒做后续试验。
2. 质粒线性化: pINA1269、pYL1269GH、pYL1269FH 质粒在转化前需要单酶切, 线性化: 取质粒 5μg, Not I 酶切 1 小时, 回收 (注意: 质粒上只能有一个 Not I 酶切位点)。
3. Carrier DNA 的预处理: 将 Carrier DNA 插入 95℃金属浴 5 min 或插入浮漂中 95℃水浴 3 min, 加热后快速插入冰中。
4. 取 100 μl 冰上融化的解脂耶氏酵母 pof1 感受态细胞, 依次加入预冷的目的质粒 2-5 μg, 预处理后的 Carrier DNA 10 μl, PEG/LiAc 500 μl 并吸打几次混匀, 30℃水浴 30 min (15 min 时翻转 6-8 次混匀)。
5. 将管放 42℃水浴 30 min (15 min 时翻转 6-8 次混匀)。
6. 5000 rpm 离心 40 s 弃上清, ddH₂O 400 μl 重悬, 离心 30s 弃上清。
7. ddH₂O 50 μl 重悬, 涂质粒筛选用: SD-Leu 平板, 29℃培养 48-96 h。

● 质粒介绍

pINA1269 (货号: [PYL1001](#)) , 是一个在解脂耶氏酵母 (Yarrowia lipolytica) 中广泛使用的单拷贝整合型表达质粒, 内含一个组成型蛋白表达框: 强组成型启动子 hp4d, 是驱动外源基因在解脂耶氏酵母中高水平表达的核心元件; XPR2 终止子, 来自碱性胞外蛋白酶基因的转录终止信号, 确保外源基因转录的正确终止。

pINA1269FH (货号: [PYL1003](#)) , 由 pINA1269 改造, 在 MCS 区含有 flag 和 His 标签, 方便蛋白纯化和检测。

pINA1269GH (货号: [PYL1005](#)) , 由 pINA1269 改造, 在 MCS 区含有 eGFP 和 His 标签, 方便蛋白纯化和检测。

● 培养基

① 质粒筛选用: SD-Leu 培养基 (1L)(唯地 CAT#: [YM3102](#)):

Yeast Nitrogen base	6.7g
葡萄糖	20g
Dropout (即 DO Supplement -Leu)	适量 (按说明书)
补水到 1L, 调 PH 至 5.8;	
Agar	20g(for plates only)
121°C, 15 min 高压灭菌。	

② 蛋白表达或发酵用: YPD + Ura (尿嘧啶) (1L):

YPD	50g (唯地 CAT#: YM1010L)
Ura (尿嘧啶)	30mg (唯地 CAT#: YC8061S)
补水到 1L, 调 PH 至 6.2-6.4	
121°C, 15 min 高压灭菌。	

● 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 DNA 可相应减少最终用于涂板的菌量。
3. 解脂耶氏酵母 pof1 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。