

经典酵母转化试剂盒

■ 目录号

TSM-312

■ 产品简介

经典酵母转化试剂盒主要用于酿酒酵母质粒转化实验。该试剂盒分别提供 PEG、LiAc 和 Carrier DNA 溶液，PEG、LiAc 均经过滤除菌，Carrier DNA 经特殊优化处理，更有助于提高质粒 DNA 的转化效率。该试剂盒可根据实际需要灵活配制 1×LiAc 溶液和转化预混液。

■ 产品组成

组分	规格 (200 次)
PEG Solution	50 mL
10×LiAc Solution	50 mL
Carrier DNA	2×1.0 mL

■ 产品应用

本产品适用于酿酒酵母质粒转化实验。

■ 操作步骤

1. 感受态细胞制备

- 1) 活化菌种：-80℃ 保存的菌种在 YPDA 培养基平板上划线，30℃ 培养 2~4 天；
- 2) 挑取酵母单菌落在 YPDA 培养基平板上划 3~5 mm 的短线，30℃ 培养 2~4 天；
- 3) 酵母单菌落长至直径 2 mm 时，将酵母细胞接种到 3 mL YPDA 液体培养基中，30℃ 过夜培养；
- 4) 第二天转接至含有 30~50 mL YPDA 液体培养基的三角瓶中继续培养，待 OD₆₀₀ 达到 0.4~0.5，3000 rpm 离心 5 min，弃上清液；
- 5) 菌体使用 30~50 mL 无菌去离子水悬浮，3000 rpm 离心 5 min，弃上清液；
- 6) 菌体使用 1.5 mL 1×LiAc (150 μL 10×LiAc Solution 加 1350 μL 无菌水) 重悬后转移至 1.5 mL 离心管中，3000 rpm 离心 5 min，弃上清液；

注：10×LiAc Solution 经过 pH 缓冲，无需添加 TE 作为缓冲剂。

- 7) 加入 1 mL 1×LiAc 重悬，小体积转化按照每管 100 μL 分装（用于文库转化不分装）；
- 8) 3000 rpm 离心 5 min，弃上清，感受态细胞即制备完毕。

注：制备好的感受态建议立即使用，在第 8 步离心前，室温放置不应超过 5 h。

2. 转化预混液配制

组分	质粒转化预混液	文库转化预混液
PEG Solution	240 μ L	1680 μ L
10 $\times$ LiAc Solution	36 μ L	252 μ L
Carrier DNA	10 μ L	40 μ L
质粒	5 μ L (约 200 ng/ μ L)	5~15 μ g (文库质粒)
ddH ₂ O	up to 360 μ L	up to 2520 μ L

3. 质粒转化

3.1 酵母质粒转化

- 1) 将 360 μ L 预混液加入 1 支感受态细胞中，反复吹吸沉淀，使酵母细胞彻底悬浮于预混液中；
- 2) 30 $^{\circ}$ C 的水浴锅中孵育 30 min，每 10 min 混匀一次；
- 3) （加入 20 μ L DMSO，可选）42 $^{\circ}$ C 的水浴锅中热击 30 min，每 10 min 混匀一次；
- 4) 12000 rpm 离心 15 s，弃上清液；
- 5) （可选）用 1 mL YPD Plus Liquid Medium 重新悬浮，30 $^{\circ}$ C 摇床震荡培养 30~60 min，12000 rpm 离心 15 s，弃上清液；
- 6) 加 0.1~1 mL 无菌去离子水或 0.9% 氯化钠溶液重悬菌体，涂筛选培养基平板，30 $^{\circ}$ C 培养 2~4 d。

3.2 酵母文库转化（需用 15~50 mL 的离心管）

- 1) 将 2520 μ L 预混液加入到感受态细胞（未分装）沉淀中，震荡使感受态细胞充分重悬；
- 2) 放置在 30 $^{\circ}$ C 的水浴锅中孵育 50 min，每 10 min 混匀一次；
- 3) （加入 160 μ L DMSO，可选）放置在 42 $^{\circ}$ C 的水浴锅中热击 30 min，每 10 min 混匀一次；
- 4) 3000 rpm 离心 5 min，弃上清液；
- 5) （可选）用 3 mL YPD Plus Liquid Medium 重悬沉淀，30 $^{\circ}$ C 摇床震荡培养 90 min，3000 rpm 离心 5 min，弃上清液；
- 6) 加 15 mL 无菌去离子水或 0.9% 氯化钠溶液重悬菌体，涂筛选培养基平板（约 50 个），30 $^{\circ}$ C 培养 2~4 d。

■ 注意事项

- 转化全程需无菌操作；
- Carrier DNA 在 -25~-15 $^{\circ}$ C 保存。首次使用，请把 Carrier DNA 在沸水中煮沸 5 min（变性），然

后立即放置于冰上。每次使用前 Carrier DNA 需在冰上解冻，反复冻融 3~5 次后需重新变性；

- PEG Solution 在低温环境下易析出，请于常温环境下完全溶解后使用；
- 根据质粒浓度增减体积，增加酵母质粒的纯度和浓度可以提高转化效率。

■ 保存条件

Carrier DNA 在 -25~-15 °C 保存，其它组分 15~25 °C（室温）保存，保质期 2 年。

■ 技术支持

本公司产品使用过程中如有任何疑问与建议，欢迎随时与我们联系：product@tsingke.com.cn。

本产品仅供研究使用，不用于临床诊断。