

酵母转化试剂盒使用说明书（第二版）

储存条件：Carrier DNA 短期 4℃，长期-20℃保存，其它组分可室温或 4℃保存，有效期 1 年。

产品内容：

Components	SK2400-200
PEG Solution	50 ml
LiAc Solution	50 ml
Carrier DNA	2×1 ml
说明书	1 份

酵母感受态细胞的制备：

1. 活化菌种。-80℃保存的菌种在固体 YPDA 培养基（YPDA 加 20g Agar/L）上划线，在 30℃培养 2-4 天。
2. 挑取酵母单菌落在固体 YPDA 培养基上划 3-5 mm 的短线，在 30 ℃培养 2-4 天。待酵母单菌落长至 2 mm 长时，接种。
3. 首先把酵母细胞接种到 3 ml 液体 YPDA 培养基中，30℃过夜培养。
4. 第二天转接到含有 30 ml 液体 YPDA 培养基的三角瓶中继续培养，待 OD₆₀₀ 到 0.4-0.5 范围内。收集细胞，1000 g，离心 5 min，去上清。
5. 沉淀用 30-50 ml 的无菌的去离子水悬浮。1000 g，离心 5 min，去上清。
6. 沉淀用合适体积的 1/10 浓度的 LiAc 悬浮（30 ml 的酵母菌最多用不超过 1mL 的 1/10 浓度的 LiAc 悬浮，通常 100 μl 的酵母细胞用于转化一个质粒，即一个反应）。
1/10 浓度的 LiAc 稀释方法：100 μl LiAc Solution+900 μl 无菌水。
7. 把酵母细胞的悬浮液分装到 1.5 ml 的离心管中，每管分装 100 μl，用于转化一个质粒即一个反应。
1000 g，离心 5 min，去上清。制备好的感受态细胞备用。

酵母转化：

1. 配制预混液，每转化一个质粒即一个反应需要 360 μl 的预混液。

PEG Solution	240 μl
LiAc Solution	36 μl
Carrier DNA	10 μl
质粒（大约 200 ng/μl）	5 μl（根据质粒的浓度加入相应的体积）
总体积	360 μl（不足体积用 ddH ₂ O 补充）

2. 吸取 360 μl 的预混液加入到感受态细胞中，用枪头反复吹吸沉淀，使离心管底的酵母细胞彻底地悬浮在含有 PEG 的预混液中。
3. 放置在 30 ℃的水浴锅中孵育 30 min，每 10 min 混匀一次。
4. 放置在 42 ℃的水浴锅中热击 30 min，每 10 min 混匀一次。

- 12000 rpm, 离心 1 min, 去掉上清液。
- 沉淀中加入 100 μ l 的无菌的去离子水, 悬浮沉淀。
- 把酵母细胞涂到相应的酵母培养基平板上, 30℃培养 2-4 天。

注意事项:

- 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。下次使用时请在冰上解冻 Carrier DNA。
- PEG 溶液在低温环境下会析出, 请于常温环境下完全溶解后使用。
- 转化全程要无菌操作。

特别推荐: 酵母培养基可选用 Coolaber 产品。

中文名称	产品货号	包装规格
YPD Medium	PM2010-250g	250g
YPD Medium	PM2010-500g	500g
YPDA Medium	PM2011-250g	250g
YPDA Medium	PM2011-500g	500g
Minimal SD Base	PM2030-267g	267g
Minimal SD Agar Base	PM2040-467g	467g
Minimal SD Base Gal/Raf	PM2050-185g	185g
Minimal SD Agar Base Gal/Raf	PM2060-270g	270g
Agar	CA1331-500g	500g
D0 Supplement - Ade/ - His/ - Leu/ - Trp	PM2110-20g	20g
D0 Supplement - His	PM2120-20g	20g
D0 Supplement - His/ - Leu	PM2130-20g	20g
D0 Supplement - His/ - Leu/ - Met/ - Trp	PM2140-20g	20g
D0 Supplement - His/ - Leu/ - Trp	PM2150-20g	20g
D0 Supplement - His/ - Leu/ - Trp/ - Ura	PM2160-20g	20g
D0 Supplement - His/ - Leu/ - Ura	PM2170-20g	20g
D0 Supplement - His/ - Trp/ - Ura	PM2180-20g	20g
D0 Supplement - His/ - Ura	PM2190-20g	20g
D0 Supplement - Leu	PM2200-20g	20g
D0 Supplement - Leu/ - Met/ - Trp	PM2210-20g	20g
D0 Supplement - Leu/ - Trp	PM2220-20g	20g
D0 Supplement - Leu/ - Trp/ - Ura	PM2230-20g	20g
D0 Supplement - Met/ - Trp	PM2240-20g	20g
D0 Supplement - Trp	PM2250-20g	20g
D0 Supplement - Trp/ - Ura	PM2260-20g	20g
D0 Supplement - Ura	PM2270-20g	20g