

# 毕赤酵母感受态制备与转化试剂盒 使用说明书

储存条件： -20 °C保存，未开封有效期 24 个月。

产品内容：

Components	SK2430-20T	SK2430-100T
B1 溶液（制备液）	105 mL	105 mL×5
B2 溶液（转化液）	28 mL	50 mL×3
B3 溶液（悬浮液）	20 mL	50 mL×2
Carrier DNA	200 μL	1 mL×2
说明书	1 份	1 份

## 一、毕赤酵母感受态细胞的制备

1. 活化菌种。-80 °C保存的菌种在固体 YPD 培养基平板上划线，30 °C培养 2-4 天。
2. 选取酵母菌落接种到 10 mL 液体 YPD 培养基中，30 °C摇床过夜培养后将培养物按 1%的接种量接种到 100 mL 液体 YPD 培养基中三角瓶中培养至 OD 值为 0.6-1.0。

**注：每 10 mL 菌液可用于一次转化。以下操作步骤适用于 10 mL 菌液。**

3. 3,000 rpm 离心 3 min 收集菌体沉淀。
4. 加入 5 mL B1 溶液重悬菌体，3,000 rpm 离心 3 min 收集菌体沉淀。
5. 再加入 200 μL B1 溶液重悬菌体，转移到无菌 1.5 mL 离心管，即为制备好的感受态细胞，可直接用于转化或冻存备用。
6. 制备好的感受态细胞需缓慢冷冻后，再置于-80 °C冰箱长期保存。将感受态细胞放入程序降温盒，或用多层纸包裹放入泡沫盒中，先置于-80 °C冰箱过夜后，再取出感受态置于-80 °C冰箱，可保存半年。使用前冰上解冻或直接用于转化。

**注：缓慢冷冻会保证良好的转化效率。扩大酵母菌培养体积，相应增加冻存液的使用量，可以一次性制备多只毕赤酵母感受态细胞。**

## 二、毕赤酵母转化

1. 取 0.1-5 μg 质粒 DNA（线性化质粒加入量 5-50 μg）和 10 μL 预变性 Carrier DNA 加入到未融化的感受态细胞上，置于 30 °C水浴，每隔 15 s 颠倒混匀，直至感受态细胞刚好完全融化。（融化后及时取出）
2. 加入 1.4 mL B2 溶液颠倒混匀。30 °C水浴 60 min。

3. 3,000 rpm 离心 3 min 弃上清留菌体沉淀，加入 1 mL B3 溶液重悬菌体。
4. 3,000 rpm 离心 3 min 弃上清留菌体沉淀，加入 100  $\mu$ L B3 溶液重悬菌体。
5. 将 100  $\mu$ L 菌液全部涂布到相应的平板培养基，30  $^{\circ}$ C 恒温培养 3-5 天，直至平板出现酵母克隆。

**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  $^{\circ}$ C 储存备用。下次使用前请于冰上解冻 Carrier DNA。反复冻融 3-5 次后需重新变性 Carrier DNA。

**相关产品：**

产品名称	货号规格	产品名称	货号规格
YNB/酵母氮源基础 (不含硫酸铵，不含氨基酸)	PM2069-100g	YNB/酵母氮源基础 (含硫酸铵，不含氨基酸)	PM2070-100g
YPD/YEPD 培养基	PML2010-2 $\times$ 500ml	YPD 平板	PMP2010-10
MD 培养基	PML4000-2 $\times$ 500ml	毕赤酵母 MD 平板	PMP4000-10
MM 培养基	PML4030-2 $\times$ 500ml	毕赤酵母 MDH 平板	PMP4000H-10
BMM 培养基	PML4040-2 $\times$ 500ml	毕赤酵母 RD 平板	PMP4010-10
MG 培养基	PML4050-2 $\times$ 500ml	毕赤酵母 RDH 平板	PMP4010H-10
BMGH 培养基	PML4060H-2 $\times$ 500ml	毕赤酵母 MM 平板	PMP4030-10
BMGY 培养基	PML4070-500ml	毕赤酵母 MMH 平板	PMP4030H-10
BMMY 培养基	PML4080-500ml	毕赤酵母 MG 平板	PMP4050-10
MMM <sub>a</sub> 培养基	PML4090-2 $\times$ 500ml	毕赤酵母 MGH 平板	PMP4050H-10
MGM <sub>a</sub> 培养基	PML4100-2 $\times$ 500ml	毕赤酵母 PAD 平板	PMP4510-10

更多产品请关注 [www.coolaber.com](http://www.coolaber.com)。