

酵母感受态制备与转化试剂盒

使用说明书 (版本号: Ver.0.0.1)

产品特点

- ◆ 快速制备转化效率高的酵母细胞。
- ◆ 每微克的质粒DNA转化效率可达到 10^5 - 10^6 。
- ◆ 冷冻储存的酵母细胞可长期使用。
- ◆ 10分钟就可以制备酵母感受态细胞, 步骤快速简单。转化流程只需一步, 简单快速, 只需1小时。
- ◆ 适用范围广泛: 包括酿酒酵母、白色念珠菌、裂殖酵母、毕赤酵母等。
- ◆ 兼容环状DNA和线性DNA。

产品货号:

TT2001-20 (20次反应) TT2001-120 (120次反应)



扫描二维码了解更多产品信息

目录Contents

产品组份	1
产品特性	1
感受态细胞的制备	1
转化步骤	2
附录	2

产品组份

试剂盒组成	TT2001-20	TT2001-120	保存
溶液1	10ml	60ml	0 - 4°C
溶液2	1ml	6ml	0 - 4°C
溶液3	10ml	60ml	0 - 4°C

售出后一年内产品质量是可以保证。试剂已经过大量的常规检测来保证其可操作性。此产品仅供研究并且需要由专业人员来使用。试剂盒中的部分试剂是有刺激性的，请带好手套和防护眼镜。

产品特性

酵母感受态制备与转化试剂盒使酵母转化比目前广泛使用的方案更快捷，更有效，进一步提高了转化效率。用该试剂盒制备的酵母感受态细胞可立即用于转化试验，也可以在-70°C或低于-70°C冷冻保存（缓慢冷冻保存），以备长期使用。该方法适用于环状和线性化DNA。

感受态细胞的制备

1. YPD固体培养基划线酵母细胞，30°C恒温培养，直至长出酵母单菌落（酵母单菌落直径在3mm左右最好）。
2. 挑取酵母单菌落转至30 ml YPD液体培养基，在30°C 250rpm条件下培养。（以下步骤均室温操作）
3. 待酵母细胞OD 600为0.8-1.0时，取3ml转接至30ml YPD液体培养基，30°C 250rpm条件下培养。
4. 测细胞密度，OD600值为0.8-1.0即可。
5. 取15ml上述酵母细胞培养物，放到无菌离心管中，1000g离心4分钟，丢弃上清。
6. 用10ml的溶液1清洗细胞，充分重悬，离心后丢弃上清。
7. 加入1ml的溶液2充分重悬细胞，按 50 μ l每管分装于无菌离心管中，感受态细胞即制备完毕，可直接用于转化。

以上步骤均为无菌操作

此时感受态细胞可直接转化，或在-70°C以下冷冻保存，以备长期备用。慢慢冷冻细胞很重要，可以用毛巾均匀的包裹细胞，也可以在放入冰箱前装在泡沫盒中。禁止使用液氮快速冷冻细胞。

转化步骤

对于冷冻储存（室温下可迅速解冻）和新鲜制备的酵母细胞，以下转化过程相同。

1. 将50 μ l的感受态细胞与0.2 - 1 μ g DNA (体积小于5 μ l) 混合均匀，加入500 μ l 的溶液3，充分混匀。
2. 30 $^{\circ}$ C孵育60min，孵育期间，每隔15min轻弹混匀一次。适当延长孵育时间可提高转化效率。
(可选步骤：12000rpm离心15s，弃上清。用0.5ml YPD-Plus Media 重悬沉淀，30 $^{\circ}$ C摇床震荡培养30-60min，12000rpm 离心15s，丢弃300 μ l上清液，剩余部分重悬涂板即可。YPD-Plus Media需额外购买。)
3. 孵育结束立即将100-200 μ l 以上的转化混合物，涂在筛选培养基平板上，在30 $^{\circ}$ C培养2-4 天。

注意：转化白色念珠菌时，使用现制备的感受态细胞，冷冻的细胞有时效果会不佳。

附录

优化条件以获得更高的转化效率：

细胞生长条件、性质差异、和其他因素都可能影响转化效率。如果您的实验要求较高的转化效率，需要考虑以下因素：

1. 细胞生长状态：所使用的细胞应处于中对数阶段。早期或晚期对数相细胞会产生相对较少的转化子。
2. 加入溶液2后孵育时间可适当延长，但不要超过3小时
3. DNA用量可增加到1 μ g，对于整合转化，DNA的纯度和浓度也很重要。建议使用纯度较好的线性化DNA以达到最佳效果(最多5 μ g的DNA)
4. 冰箱里存放的酵母转化溶液可以直接使用。但如果实验要求最大的转化效率，如文库筛选，对溶液进行预热处理，计算每种溶液所需要的量，在做实验之前，将这些溶液预热到20-37 $^{\circ}$ C后使用。

常见问题

1. 酵母感受态细胞在-70 $^{\circ}$ C以下可以保存多久？
-70 $^{\circ}$ C以下储存6个月，转化效率没有损失。6个月以后转化效率逐渐下降。
2. 冷冻的酵母感受态细胞如何解冻？
在室温下解冻。
3. 冷冻和解冻的次数对酵母感受态细胞是否有影响？
会有影响，最好解冻一次全部用完，避免再次冷冻。
4. 在转化孵育过程中，是否需要严格控制孵育温度30 $^{\circ}$ C？
不需要。温度在30 ~ 37 $^{\circ}$ C之间为最佳温度范围内。低于或高于这个范围会降低转化效率。
5. 可以直接使用限制性内切酶消化的DNA，不经过纯化吗？
可以。
注:以上数据大部分是基于酿酒酵母的检测结果。