

酵母转化试剂盒

产品货号: BA3163

产品规格: 200T

产品简介:

酵母转化试剂盒主要用于酿酒酵母质粒转化实验, 该试剂盒遵循广大用户的使用习惯, 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, 既方便使用, 又经济实惠。

本产品在原先试剂盒上进行了升级, 增加了感受态冻存液, 感受态保存6-12个月还可以保证较高的转化效率。

产品组成:

产品名称	规格	保存条件
PEG Solution	50ml	室温
10 × LiAc Solution	10ml	室温
感受态冻存液/Y2溶液	10ml	室温
Carrier DNA	1ml×2	-20°C

感受态细胞制备:

1. 活化菌种。-80°C保存的菌种在YPDA培养基平板上划线, 30°C培养2-4天。
2. 挑取酵母单菌落在YPDA培养基平板上划3-5mm的短线, 30°C培养2-4天。
注意: 冻存半年以内的酵母菌, 活化一次即可。
3. 待酵母单菌落长至直径2mm时, 把酵母细胞接种到3mL YPDA液体培养基中, 30°C过夜培养。
4. 第二天转接到含有50mL YPDA液体培养基的三角瓶中继续培养, 待OD600达到0.5-0.8, 4000rpm离心5min, 弃上清。
5. 沉淀用30mL的无菌的去离子水悬浮。4000rpm离心5min, 弃上清。
6. 沉淀用1.5mL 1×LiAc (150μL 10×LiAc Solution加1350μL无菌水) 重悬后转移至1.5mL离心管中, 4000rpm离心5min, 弃上清。
注意: 10×LiAc Solution经过pH缓冲, 无需添加TE作为缓冲剂。
7. 加入1mL感受态冻存液/Y2溶液重悬, 小体积转化按照每管50μL分装于1.5mL无菌冻存管, 转文库按600μL分装, 感受态细胞即制备完毕, 可直接用于转化或按下述方案冻存。
8. 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, 可保存一年。使用前室温融化后用于转化。

转化预混液配制:

成分	质粒转化预混液	文库转化预混液
PEG Solution	240μL	1680μL
10 × LiAc Solution	36μL	252μL
Carrier DNA	10μL	40μL
质粒	5μL (≈200ng/μL)	5-15μg



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

总体积	310 μ L (ddH ₂ O补足体积)	2170 μ L (ddH ₂ O补足体积)
-----	--------------------------------------	---------------------------------------

酵母质粒转化:

1. 将310 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 °C的水浴锅中孵育30min, 每10min混匀一次。
3. (加入20 μ L DMSO, 可选) 42°C的水浴锅中热击30min, 每10min混匀一次。
4. 12000rpm离心15s, 弃上清液。
5. (可选步骤) 用1mL YPD Plus Liquid Medium重新悬浮, 30°C摇床震荡培养30-60 min。12000rpm离心15s, 弃上清液。
6. 加入0.1-1mL无菌去离子水或0.9%氯化钠溶液重悬沉淀, 涂筛选培养基平板, 30°C培养2-4天。

酵母文库转化: (需用15-50mL离心管)

1. 将2170 μ L预混液加入到感受态细胞(600 μ L)中, 震荡使感受态细胞充分重悬。
2. 放置在30°C的水浴锅中孵育50min, 每10min混匀一次。
(加入160 μ L DMSO, 可选) 放置在42°C的水浴锅中热击30min, 每10min混匀一次。
3. 4000rpm离心5min, 弃上清液。
4. (可选步骤) 用3mLYPD Plus Liquid Medium重悬沉淀, 30°C摇床震荡培养90min, 4000rpm离心5min, 弃上清液。
5. 加入15mL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(50个平板左右), 30°C培养2-4天。

注意事项:

1. 转化全程需无菌操作。
2. 初次使用Carrier DNA, 请把装有Carrier DNA的管子在沸水中煮沸5min, 然后立即放在冰上, 用后-20°C储存备用。下次使用前在冰上解冻Carrier DNA。反复冻融3-5次后需重新变性Carrier DNA。
3. 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。
4. 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。

储存条件:

Carrier DNA -20°C保存, 其它组分可室温保存, 未开封有效期24个月。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>