天净沙系列

CAT#:901201

常温运输和保存

天净沙

酵母电转感受态细胞制备试剂盒

Yeast Electro Competent Cell Preparation Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品是一种通过化学处理酿酒酵母和裂殖酵母电感受态细胞，使之不但马上能用于电转化，还能长期放置后用于电转化。它具有下列特点：

1. 操作简单，单溶液制备，除酵母培养的时间外，整个操作只需要 10 余分钟。
2. 制备得到的感受态细胞可以-80℃保存一年，方便多次使用，免去每次转化都要新鲜制备感受态细胞。
3. 主要用于酿酒酵母和粟酒裂殖酵母，但能否用于其他酵母不详。
4. 最高转化效率可达到 0.2-1E6 个转化子/μg 质粒 DNA。
5. 得到的感受态细胞可以用各种线性或环状酵母穿梭质粒 DNA 进行转化，例如 YIp，YRp，YCp，YEp 和 YAC 等。
6. 可以用于酵母双杂交、定点突变、基因破坏、等位突变基因修复等实验。
7. 本试剂盒足够处理 200 mL 酵母菌液，制备 40 管酵母感受态细胞。

规格及成分

本产品采用塑料袋包装

成分	编号	规格	包装
酵母电转感受态细胞制备试剂 A	901201	100 mL	120 mL 本色瓶
使用手册	901201sc	1 份	无

运输及保存

常温运输和保存，有效期一年。

自备试剂

灭菌水、SD 液体培养基（不含氨基酸的 0.67% Bacto Yeast Nitrogen Base，2%葡萄糖）、SD 固体培养基（在 SD 液体培养基中再加 2%琼脂）、YPD 液体培养基（1% Bacto Yeast Extract，2% Bacto Peptone，2%葡萄糖）、YPD 固体培养基（在 YPD 液体培养基中再加 2%琼脂）

使用方法

一：电感受态细胞的制备

说明：按本方法制备 1 管酵母电转感受态细胞就需要 OD600 达到 1.0 的新鲜酵母培养液 5 mL，用户需根据制备的酵母感受态细胞数量决定培养细胞的体积。下面操作只是以 10 mL 酵母为例说明。

1. 培养粟酒裂殖酵母细胞：挑取新鲜单菌落（4℃放置不超过 3 周的也可以），接种到 10 mL SD 液体培养基中。30℃摇晃培养，摇床速度 250 转/分钟，直到 OD600 达到 1.0 左右（相当于 1E7 细胞/mL）。
2. 培养酿酒酵母细胞：挑取新鲜单菌落（4℃放置不超过 3 周的也可以），接种到装在 10 mL YPD 液体培养基中。30℃摇晃培养，摇床速度 250 转/分钟，直到 OD600 达到 1.0 左右（相当于 1E7 细胞/mL）。
3. 冰上放置 15 分钟后室温 1600×g 离心 5 min，弃上清。

	4. 用冰浴的灭菌水洗涤 3 次。 5. 用 0.2 mL 冰浴的酵母电转感受态细胞制备试剂 A 重悬细胞。 6. 按每管 0.1 mL 分装到 1.5-2 mL 的冷冻管中，直接放入-80℃冰箱待用。 注意：不能放在液氮中，否则将丧失电转化能力。 **二：电转化酵母感受态细胞** 1. 将装有 0.1 mL 感受态细胞的冷冻管从冰箱取出的、放置在 30℃水浴中快速化冻（快速化冻的效果好于缓慢化冻）。 2. 用 1 mL 冰浴的酵母电转感受态细胞制备试剂 A 洗涤一次。 3. 加入 50 μL 冰浴的酵母电转感受态细胞制备试剂 A 重悬细胞。 4. 加入 1-30 ng 质粒 DNA 并轻柔混匀。 5. 转移到预冷的、距离为 0.2 cm 的电击杯中。 6. 按电击仪的手册设置电击参数并进行电击处理，参考条件为：10 kV/cm(对 0.2 cm 的电击杯，则为 2 kV)，5 ms(25 F，200)（各厂家仪器的使用略有不同，请严格按电击仪厂家提供的手册进行操作）。 7. 电击后将细胞转移到 1 mL 预冷的本产品中，轻柔混匀。 8. 取 0.2 mL 转化细胞涂盘（粟酒裂殖酵母细胞需涂盘在 SD 固体培养基上，酿酒酵母细胞需涂盘在 YPD 固体培养基上），30℃培养 4-6 天。
关联产品	酵母化学感受态细胞制备试剂盒、酵母化学感受态细胞转化试剂盒