天净沙系列

CAT#:220156

常温运输和保存

天净沙

酵母化学感受态细胞制备试剂盒

Yeast Chemical 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

本酵母化学感受态细胞制备试剂是一种通过化学处理，高效快速制备酿酒酵母化学感受态细胞，用于长期冻存以备后续转化的产品，它具有下列特点：

1. 一次制备，-80℃保存，多次使用，免去每次转化都要制备酿酒酵母感受态细胞。
2. 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 30 分钟。
3. 主要用于酿酒酵母 *S. cerevisiae*，也适用于其他多种实验用酵母菌株，包括 *S. pombe*、*C. albicans*、*Pichia pastoris* 等。
4. 受体酵母可以不含质粒，也可用于携带有选择性质粒的酵母（如双杂交体系中的酵母）。
5. 对酿酒酵母，最高转化效率可达到 0.2-1×1E6 个转化子/μg 质粒 DNA。对其他酵母，效率稍低，范围在 100-2000 个转化子/μg 质粒 DNA。
6. 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。
7. 可以用于酵母双杂交、定点突变（Site－Directed Mutagenesis）、基因破坏（Gene Disruption）、等位突变基因修复（Mutant Allele Recovery）等实验。
8. 本产品可以制备 20 只酵母感受态细胞（需要 200 mL 酵母培养液），并还带高效转化液。
9. 本产品只可用于科研。

规格及成分

本产品使用大扁盒包装

成份	编号	规格	包装
酵母化学感受态制备液 A	220156a	120 mL	125 mL 本色瓶
酵母化学感受态制备液 B	220156b	6 mL	10 mL 本色瓶
酵母化学感受态制备液 C	220156c	10 mL	10 mL 本色瓶
酵母化学感受态转化液 A	220156a	30 mL	30 mL 本色瓶
酵母化学感受态转化液 B	220156b	30 mL	30 mL 本色瓶
使用手册	220156sc	1 份	无

运输及保存

常温运输和保存，有效期一年。

自备试剂

YPD 培养基。

使用方法

一、酵母化学感受态细胞的制备

说明：按本方法制备 1 管酵母化学感受态细胞就需要 OD600 达到 0.6-1.0 的新鲜酵母培养液 10 mL，用户需根据所需酵母感受态细胞的数量决定培养细胞的体积。如果超过 10 mL，则制备液的使用量需要按比例增加。

1. 挑取酵母受体菌的新鲜的单菌落（4℃放置不超过 3 周的也可以），接种到装在 50 mL

	离心管中的 10 mL 的自备的 YPD 培养基中。 2. 30℃摇晃培养，摇床速度 250×g/分钟，直到 OD600 达到 0.6-1.0（相当于 0.6-1×10^7细胞/mL）。 3. 室温 3000×g 离心 5 min，弃上清得酵母细胞沉淀。 4. 新鲜制备适量的酵母感受态制备工作液。对 10 mL 酵母需要 5.25 mL 的工作液，其配制方法是：将 4.75 mL 酵母化学感受态制备液 A、0.25 mL 酵母化学感受态制备液 B 和 0.25 mL 酵母化学感受态制备液 C 加入到一个无菌的离心管中后充分震荡混匀即可。酵母感受态制备工作液可放室温待用。 5. 用 0.5 倍体积的新鲜配制的酵母感受态制备工作液洗涤酵母细胞沉淀一次（对 10 mL 酵母则需要 5 mL 酵母感受态制备工作液）。即混合后振荡 1 分钟，室温 3000×g 离心 3 分钟，去上清得洗涤后的酵母细胞沉淀。 6. 再用 0.02 倍体积的酵母感受态制备工作液充分重悬菌体（对 10 mL 酵母，则需要 0.2 mL 酵母感受态制备工作液）。 7. 按每管 0.2 mL 分装到冷冻管中，放入保温冰盒中冷却半小时后再放入-80℃冰箱待用。0.2 mL 的感受态细胞足够 1 次转化使用。注意：放入保温冰盒的目的是使温度缓慢下降，急冻将使转化效率降低，这点跟大肠杆菌感受态制备过程不同。 **二、化学转化酵母感受态细胞** 8. 将总体积不超过 20 μL 的 0.1-5 μg 质粒 DNA 加到刚从-80℃冰箱取出的、还处于凝固状态的 0.2 mL 酵母感受态细胞上。注意：最好同时做一个不加质粒 DNA 的阴性对照组。 9. 室温充分振荡直到凝固的感受态细胞完全融化。注意：此步非常关键，如果能在恒温振荡器上 37℃振荡 5 分钟，则效果更好。 10. 加入 1.4 mL 酵母化学感受态转化液 A，轻柔颠倒混匀一分钟。 11. 30℃培养 1 小时。 12. 室温 3000×g 离心 5 分钟，弃上清。 13. 在酵母细胞沉淀中加 1.0 mL 酵母化学感受态转化液 B，振荡一分钟。 14. 室温 3000×g 离心 5 分钟，弃上清。 15. 在酵母沉淀细胞中加入适量（如 100 μL）的酵母化学感受态转化液 B，混匀后在在选择培养基上全部涂盘。 16. 30℃培养 3-5 天后即得酵母转化菌落。
关联产品	酵母电转感受态细胞制备试剂盒，裂殖酵母感受态细胞制备试剂盒