



以生物科技，成就他人，造福大众



欧易生物官方微信公众号



欧易生物客户服务微信号

酵母转化试剂盒说明书

货号: YT001

咨询电话 **021-34781616**

www.oebitech.com market@oebitech.com

版权所有©2021 上海欧易生物医学科技有限公司保留所有权利。

未经上海欧易生物医学科技有限公司书面同意，任何单位或个人不得擅自摘抄、复制本资料内容的全部或部分，并不得以任何形式传播。

试剂盒组成

试剂盒	货号	规格
酵母转化试剂盒	YT001	Each
试剂盒组成	货号	规格
Carrier DNA	C001	1ml×5
YPD plus Liquid Medium	C002	25 ml×2
10 × TE Buffer	C003	50 ml
10 × LiAc (1 M)	C004	50 ml
50% PEG 3350	C005	50 ml×2

产品介绍

酵母转化试剂盒，采用醋酸锂转化法，制备酵母感受态细胞，用于外源质粒DNA的转化。高浓度LiAc改变了酵母细胞膜结构，提高细胞膜的通透性，同时会对酵母细胞产生损害。高分子聚合物PEG可以在高浓度LiAc环境中保护细胞膜，减少LiAc对细胞膜结构的过度损伤，同时使质粒与细胞膜接触更紧密，促进转化。

Carrier DNA (鲑鱼精DNA)，为短的线形单链DNA，在转化实验中主要是保护质粒免于被DNA酶降解，还可在酵母细胞摄取外源性质粒DNA中发挥协助作用，极大提高其转化效率。在每次使用前务必进行两次热变性，使可能结合的双链DNA打开，保证Carrier DNA在转化实验体系中以单链形式存在。

YPD Plus培养基有助于酵母细胞从热击中复苏，提高热激后酵母感受态细胞存活率，提高转化效率。

使用方法

1.制备酵母感受态细胞；

2.按照下表进行转化试剂准备：

Carrier DNA 预变性	99℃ 5min, 冰上2 min; 重复一次
1× PEG/TE/LiAc 配制	50% PEG 3350 : 10 × TE Buffer : 10× LiAc=8 : 1 : 1 (体积比)

3.取制备好的100 μl酵母感受态细胞，依次加入10 μl预变性的 Carrier DNA，1 μg待转化质粒，500 μl 1×PEG/TE/LiAc，混匀；

4.30℃水浴，30 min，每10 min混匀一次；

5.加入 20 μl DMSO，轻轻混匀；

6.42℃水浴热激15 min，每5 min混匀一次；

7.700 g离心5 min，弃掉上清；

8.加入1 ml YPD Plus Liquid Medium重新悬浮，30℃ 220rpm 震荡培养 30-60 min；

9.700 g离心5 min，收集菌体，弃掉上清；

10.加入100 μl 0.9% NaCl，重悬菌体后，涂布相应培养基平板。

11.30℃，培养3-5天，至克隆长出。

注意事项

进行文库筛选时，推荐酵母感受态细胞用量增加至600 μl，30℃水浴时间延长为45 min，每15 min混匀一次，42℃水浴时间延长为20min，每10 min混匀一次，DMSO增加至160 μl，0.9% NaCl用量根据涂布数量增加。

保存方法

试剂名	保存条件
Carrier DNA	-20℃密封
YPD plus Liquid Medium	短期保存4℃密封，长期保存-20℃密封
10 × TE Buffer	常温密封
10 × LiAc (1 M)	常温密封
50% PEG 3350	常温密封