

YPD Plus Liquid Medium 使用说明书

保存条件：-20 °C，未开封有效期 24 个月。

包装内容：

产品内容	YT0004-50mL	YT0004-100mL
YPD Plus Liquid Medium	25 mL× 2	25 mL× 4
说明书	1 份	

说明：本产品经高压灭菌处理，为方便使用，短期可密封置于超净台常温保存。为了避免污染，长时间放置请于低温冰箱保存。

产品说明：

用 LiAc 转化法进行酵母转化时，通常会通过加入 Carrier DNA，选用对数期的酵母菌，以及优化质粒 DNA 的质量和浓度等方法来提高转化效率。在完成转化操作后，将转化产物用 YPD Plus Liquid Medium 重悬培养 30-60 分钟，有助于酵母细胞复苏，可以有效提高转化效率 50-100%。适用于转化酵母菌株 Y2HGold、AH109 或 Y187 等，尤其适合对转化效率要求更高的文库转化。

Coolaber 推出的三款转化试剂盒，转化效率为：经典转化 Kit (SK2400) ≈ Super 转化 Kit (SK2401) > 快速转化 Kit (SK2390)，其中经典转化 Kit 转化效率可达 10^3 - 10^5 cfu/ μ g，快速转化 Kit 转化效率可达经典转化效率的 50-80%，转化产物增加 YPD Plus 复苏培养步骤，会在此基础上显著增加转化效率。三款转化试剂盒的区别与特点详见 Coolaber 官网。

使用方法：（以经典转化方法为例，参考 SK2400）

质粒转化：

1. 在含有约 1 μ g 质粒的 1.5 mL 无菌离心管中，加入 5 μ L 预变性的 Carrier DNA (YT0003)，50 μ L 酵母感受态细胞，350 μ L LiAc / PEG3350 混合液 (YT0006) 轻柔混匀。
2. 30 °C 水浴或者金属浴 30 min，每 10 min 轻柔上下颠倒混匀一次。
3. 每管加入 20 μ L DMSO，轻柔上下颠倒混匀。
4. 42 °C 水浴热激 15 min，每 5 min 轻柔上下颠倒混匀一次。
5. 3,000 rmp 离心 5 min，弃掉上清。
6. 菌体沉淀用 1 mL YPD Plus Liquid Medium 重新悬浮，30 °C 摇床震荡培养 30-60 min。
7. 3,000 rmp 离心 5 min，弃掉上清，加入 1 mL 无菌 0.9% NaCl 重悬菌体。

8. 分别稀释 10 倍, 100 倍后涂布于相应的缺陷型培养基平板上。

9. 平板倒置 30 °C 恒温培养 3-5 天。

文库转化:

1. 在含有约 5-15 µg 文库质粒的 15 mL 无菌离心管中, 加入 20 µL 预变性的 Carrier DNA, 600 µL 酵母感受态细胞, 2.5 mL LiAc / PEG3350 混合液轻柔混匀。

2. 30°C 水浴 45 min, 每 10 min 轻柔上下颠倒混匀一次。

3. 每管加入 160 µL DMSO, 轻柔上下颠倒混匀。

4. 42 °C 水浴热激 20 min, 每 5 min 轻柔上下颠倒混匀一次。

5. 3,000 rpm 离心 5 min, 弃掉上清。

6. 菌体沉淀用 3 mL YPD Plus Liquid Medium 重新悬浮, 30 °C 摇床震荡培养 90 min。

7. 3,000 rpm 离心 5 min, 弃掉上清, 根据实验需求加入相应体积的无菌 0.9% NaCl 重悬菌体。

8. 涂布于相应的缺陷型培养基平板上。

9. 平板倒置 30 °C 恒温培养 3-5 天。

相关产品:

产品名称	货号	产品名称	货号
酵母阳性克隆快速检测 Kit (单双杂筛库)	SK2420	YPDA Medium	PM2011
酵母基因组菌落 PCR Kit (单杂诱饵检测)	SK2422	YPDA Agar Medium	PM2021
酵母菌落快速转化 Kit (一步法)	SK2390	酵母蛋白提取 Kit	SK2440
经典酵母转化 Kit	SK2400	金担子素 A	CA2332
Super 酵母感受态制备与转化 Kit	SK2401	2.5 M 3-AT 溶液(过滤除菌)	SL0930
酵母质粒提取 Kit	SK2410	X-α-gal 溶液 (20mg/ml, 过滤除菌)	SL0940
快速酵母质粒提取 Kit	SK2411	Carrier DNA (10mg/ml, 用于酵母转化)	YT0003

注: 更多筛选培养基及相关产品详见 www.coolaber.com