



版本号：DE240902

## Frozen Yeast Transformation Kit

### 经典酵母转化试剂盒（冻存型）

产品编号：SK2400

#### 产品内容：

产品内容	保存	产品货号	200T
PEG Solution	2-8°C	SK2400-1	50 mL
10 × LiAc Solution	2-8°C	SK2400-2	10 mL
感受态冻存液/Y2 溶液	2-8°C	SK2401-2	10 mL
Carrier DNA	-20°C	YT0003	1 mL×2
说明书			1 份

**运输及储存条件：** 本试剂盒常温运输；Carrier DNA -20°C保存，其它组分可 2-8°C保存，保质期 2 年。



## 产品说明：

Coolaber出品的经典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。

本产品在原基础上进行了升级，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。

## 注意事项：

1. 转化全程要求无菌操作。
2. 为了保证转化效率，务必缓慢冻存感受态，感受态不宜直接用液氮冻存。
3. 初次使用Carrier DNA，建议按照实验需求进行分装，然后将装有Carrier DNA的管子在沸水中煮沸5 min，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次后需重新变性Carrier DNA。
4. 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。
5. 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。
6. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗，食品及化妆品等用途。
7. 为了您的安全和健康，请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作。

## 操作步骤：

### 感受态细胞制备

**注：**以下方案可制备1 mL感受态，可分装为20支50 μL用于小体积质粒转化，或按600 μL分装用于文库质粒转化。若只需制备少量感受态，可将步骤4中菌液（OD<sub>600</sub>值仍为0.5-0.8）和步骤5、6、7中所用试剂体积等比例缩小。同样，也可按比例扩大。



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 d。
2. 挑取酵母单菌落在YPDA培养基平板上划 3-5 mm的短线，30°C培养 2-4 d。  
**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 2 mm 时，把酵母细胞接种到 3 mL YPDA 液体培养基中，30°C过夜培养。
4. 第二天转接到含有 50 mL YPDA 液体培养基的三角瓶中继续培养，待 OD<sub>600</sub> 达到 0.5-0.8，4000 rpm 离心 5 min，弃上清。
5. 沉淀用 30 mL 的无菌的去离子水悬浮。4000 rpm 离心 5 min，弃上清。
6. 沉淀用 1.5 mL 1 × LiAc (150 μL 10 × LiAc Solution 加 1350 μL 无菌水) 重悬后转移至 1.5 mL 离心管中，4000 rpm 离心 5 min，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 1 mL 感受态冻存液/Y2 溶液重悬，小体积转化按照每管 50 μL 分装于 1.5 mL 无菌冻存管，转文库按 600 μL 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	240 μL	1680 μL
10 × LiAc Solution	36 μL	252 μL
Carrier DNA	10 μL	40 μL
质粒	5 μL (≈200 ng/μL)	5-15 μg (文库质粒)
总体积	310 μL (ddH <sub>2</sub> O 补足体积)	2170 μL (ddH <sub>2</sub> O 补足体积)



## 酵母质粒转化

1. 将 310  $\mu\text{L}$  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 30 min，每 10 min 混匀一次。
3. （加入 20  $\mu\text{L}$  DMSO，可选）42°C 的水浴锅中热击 15 min，每 5 min 混匀一次。
4. 12000 rpm 离心 15 s，弃上清液。
5. （可选步骤）用 1 mL YPD Plus Liquid Medium 重新悬浮，30°C 摇床震荡培养 30-60 min。  
12000 rpm 离心 15 s，弃上清液。
6. 加入 0.1-1 mL 无菌去离子水或 0.9% 氯化钠溶液重悬沉淀（建议用 200  $\mu\text{L}$  液体重悬，取 100  $\mu\text{L}$  涂布），涂筛选培养基平板，30°C 培养 2-4 d。

## 酵母文库转化（需用 15-50 mL 离心管）

1. 将 2170  $\mu\text{L}$  预混液加入到感受态细胞（600  $\mu\text{L}$ ）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 50 min，每 10 min 混匀一次。
3. （加入 160  $\mu\text{L}$  DMSO，可选）放置在 42°C 的水浴锅中热击 20 min，每 10 min 混匀一次。
4. 4000 rpm 离心 5 min，弃上清液。
5. （可选步骤）用 3 mL YPD Plus Liquid Medium 重悬沉淀，30 °C 摇床震荡培养 90 min，4000 rpm 离心 5min，弃上清液。
6. 加入 15 mL 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 d。