



## 毕赤酵母转化试剂盒使用说明书

储存条件：-20 °C保存，未开封有效期 24 个月。

产品内容：

Components	SK2430-20T	SK2430-100T
B1 溶液（制备液）	105 mL	105 mL×5
B2 溶液（转化液）	28 mL	50 mL×3
B3 溶液（悬浮液）	20 mL	50 mL×2
Carrier DNA	200 μL	1 mL×2
说明书	1 份	1 份

使用说明：

### （一）酵母感受态细胞的制备：

1. 活化菌种。-80°C保存的菌种在固体 YPD 培养基上划线，在 30°C培养 2-4 天。
2. 把酵母细胞接种到 10 mL 液体 YPD 培养基中，30°C摇床过夜培养后将培养物按 1%的接种量接种到 100mL 的 YPD 培养基中培养，直至其 OD 值为 0.6-1.0。

注：每 10 mL 菌液可用于一次转化。以下操作步骤用于 10mL 的菌液。

3. 3,000 rpm 离心 3 min 收集菌体沉淀。
4. 加入 5 mL 的 B1 溶液重悬菌体，3,000 rpm 离心 3 min 收集菌体沉淀。
5. 再加入 200 μL B1 溶液重悬菌体，转移到无菌的 1.5 mL 离心管，可直接用于转化反应或冻存备用。
6. 将感受态缓慢冷冻后置于-80°C冰箱保存。建议将感受态细胞放入程序降温盒，或者几层纸包好放入泡沫盒中，再放于-80°C冰箱过夜，后将感受态取出置于-80°C保存。保存半年基本不影响其转化效率。使用时，-80°C冰箱取出，直接用于转化，操作流程见（二）酵母转化。

注：1.缓慢冷冻会保证良好的转化效率。

2.扩大酵母菌培养体积，相应增加冻存液的使用量，可以一次性制备多只酵母感受态细胞。

### （二）酵母转化：

1. 取 0.1-5 μg 的质粒 DNA（线性化质粒 5-50 μg）和 10 μL Carrier DNA（95-100 °C，5 min，快速冰浴，重复一次），加入到未融化的感受态细胞上，置于 30 °C水浴，每隔 15 s 颠倒混匀，至感受态完全融化。
2. 加入 1.4 mL B2 溶液颠倒混匀，30 °C水浴 60 min。
3. 3,000 rpm 离心 3 min 弃上清留菌体沉淀，加入 1 mL B3 溶液重悬菌体。



4. 3,000 rpm 离心 3 min 弃上清留菌体沉淀，加入 100  $\mu$ L B3 溶液重悬菌体，将 100  $\mu$ L 菌体全部涂布到相应的平板培养基，30 $^{\circ}$ C恒温培养 3-5 天直至平板出现酵母克隆。

**注：**1.初次使用 Carrier DNA，请把装有 Carrier DNA 的管子在沸水中煮沸 5 min，然后立即放在冰上，用后放在-20  $^{\circ}$ C储存备用。下次使用前请于冰上解冻 Carrier DNA，反复冻融 3-5 次后需重新变性 Carrier DNA。

**注意事项：**

1. 同时转化 2-3 种质粒时可增加质粒的用量，质粒总体积不超过感受态体积的 1/10。
2. 毕赤酵母适宜的生长温度是 28-30 $^{\circ}$ C，温度超过 32 $^{\circ}$ C对蛋白的表达是有害的，并可能导致细胞的死亡。

**特别推荐：**酵母培养基可选用 Coolaber 产品。

中文名称	产品货号	包装规格
YPD Medium	PM2010-250g	250g
YPD Medium	PM2010-500g	500g
YPDA Medium	PM2011-250g	250g
YPDA Medium	PM2011-500g	500g
Minimal SD Base	PM2030-267g	267g
Minimal SD Agar Base	PM2040-467g	467g
Minimal SD Base Gal/Raf	PM2050-185g	185g
Minimal SD Agar Base Gal/Raf	PM2060-270g	270g
Agar	CA1331-500g	500g
Agar	CA1331-1kg	1kg
DO Supplement -Ade/-His/-Leu/-Trp	PM2110-20g	20g
DO Supplement -His	PM2120-20g	20g
DO Supplement -His/-Leu	PM2130-20g	20g
DO Supplement -His/-Leu/-Met/-Trp	PM2140-20g	20g
DO Supplement -His/-Leu/-Trp	PM2150-20g	20g
DO Supplement -His/-Leu/-Trp/-Ura	PM2160-20g	20g
DO Supplement -His/-Leu/-Ura	PM2170-20g	20g
DO Supplement -His/-Trp/-Ura	PM2180-20g	20g
DO Supplement -His/-Ura	PM2190-20g	20g
DO Supplement -Leu	PM2200-20g	20g
DO Supplement -Leu/-Met/-Trp	PM2210-20g	20g
DO Supplement -Leu/-Trp	PM2220-20g	20g
DO Supplement -Leu/-Trp/-Ura	PM2230-20g	20g
DO Supplement -Met/-Trp	PM2240-20g	20g
DO Supplement -Trp	PM2250-20g	20g



DO Supplement –Trp/–Ura	PM2260-20g	20g
DO Supplement –Ura	PM2270-20g	20g

20231103 版

