



Carrier DNA/鲑鱼精 DNA (10mg/mL, 用于酵母转化)

产品储存: -20°C

产品说明:

Carrier DNA (鲑鱼精 DNA) 为短的线形单链 DNA, 可包裹质粒 DNA, 在酵母细胞摄取外源质粒 DNA 过程中发挥作用, 促进质粒进入酵母细胞, 另外还可保护质粒免于被 DNA 酶降解。在每次使用前务必进行两次热变性, 保证 Carrier DNA 在转化实验体系中以单链形式存在。

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°C 储存备用。下次使用时请在冰上解冻 Carrier DNA。

使用说明:

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 YPDA 培养基 (YPDA 加 20g Agar/L) 上划线, 在 30°C 培养 2-4 天。
2. 挑取酵母单菌落在固体 YPDA 培养基上划 3-5 mm 的短线, 在 30 °C 培养 2-4 天。待酵母单菌落长至 2 mm 长时, 接种。
3. 首先把酵母细胞接种到 3 ml 液体 YPDA 培养基中, 30°C 过夜培养。
4. 第二天转接到含有 30 ml 液体 YPDA 培养基的三角瓶中继续培养, 待 OD600 到 0.4-0.5 范围内。收集细胞, 1000 g, 离心 5 min, 去上清。
5. 沉淀用 30-50 ml 的无菌的去离子水悬浮。1000 g, 离心 5 min, 去上清。
6. 沉淀用合适体积的 100 mM LiAc 悬浮 (30 ml 的酵母菌最多用不超过 1 ml 的 100 mM LiAc 悬浮, 通常 100 μ L 的酵母细胞用于转化一个质粒, 即一个反应)。
7. 把酵母细胞的悬浮液分装到 1.5 ml 的离心管中, 每管分装 100 μ L, 用于转化一个质粒即一个反应。1000 g, 离心 5 min, 去上清。制备好的感受态细胞备用。

酵母转化:

1. 配制预混液, 每转化一个质粒即一个反应需要 360 μ L 的预混液。

成分	质粒转化预混液
PEG Solution	240 μ L
10 \times LiAc Solution	36 μ L
Carrier DNA	10 μ L
质粒	5 μ L (\approx 200 ng/ μ L)
总体积	310 μ L (ddH ₂ O 补足体积)

2. 吸取 360 μ L 的预混液加入到感受态细胞中, 用枪头反复吹吸沉淀, 使离心管底的酵母细胞彻底地悬浮在含有 PEG 的预混液中。
3. 放置在 30 °C 的水浴锅中孵育 30 min, 每 10 min 混匀一次。
4. 放置在 42 °C 的水浴锅中热击 30 min, 每 10 min 混匀一次。
5. 12000 rpm, 离心 1 min, 去掉上清液。
6. 沉淀中加入 100 μ L 的无菌的去离子水, 悬浮沉淀。
7. 把酵母细胞涂到相应的酵母培养基平板上, 30°C 培养 2-4 天。

注意事项:

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°C 储存备用。下次使用时请在冰上解冻 Carrier DNA。
2. 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。
3. 转化全程要无菌操作。

20240226 版