

天  
净  
沙  
系  
列

CAT#:220156-20  
常温运输和保存

**BINGENE**

## 酵母化学感受态细胞制备试剂盒

Yeast Chemical Competent Cell Preparation Kit

---

使用手册 V1.0

江苏天净沙基因诊断技术有限公司

网址: [www.bingene.com](http://www.bingene.com); 电话: 400-6005850; 电邮: [order@bingene.com](mailto:order@bingene.com)

<p><b>产品及特点</b></p>	<p>本酵母化学感受态细胞制备试剂是一种通过化学处理，高效快速制备酿酒酵母化学感受态细胞，用于长期冻存以备后续转化的产品，它具有下列特点：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 一次制备，-80℃保存，多次使用，免去每次转化都要制备酿酒酵母感受态细胞。</li> <li>2. 操作简单，单溶液制备，除酵母培养的时间外，整个操作只需要 30 分钟</li> <li>3. 主要用于酿酒酵母 <i>S. cerevisiae</i>，也适用于其他多种实验用酵母菌株，包括 <i>S. pombe</i>、<i>C. albicans</i>、<i>Pichia pastoris</i> 等。</li> <li>4. 受体酵母可以不含质粒，也可用于携带有选择性质粒的酵母（如双杂交体系中的酵母）。</li> <li>5. 对酿酒酵母，最高转化效率可达到 <math>0.2-1 \times 10^5</math> 个转化子/ug 质粒 DNA。对其他酵母，效率稍低，范围在 100-2000 个转化子/ug 质粒 DNA。</li> <li>6. 得到的感受态细胞可以用各种线性或环状酵母穿梭质粒 DNA 进行转化，例如 YIp, YRp, YCp, YEp 和 YAC 等。</li> <li>7. 可以用于酵母双杂交、定点突变 (Site-Directed Mutagenesis)、基因破坏 (Gene Disruption)、等位突变基因修复 (Mutant Allele Recovery) 等实验。</li> <li>8. 本产品可以制备 20 只酵母感受态细胞（需要 200mL 酵母培养液），并还带高效转化液。</li> </ol>																															
<p><b>规格及成分</b></p>	<table border="1" data-bbox="483 1290 1447 1733"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>规格</th> <th>包装材料</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>酵母化学感受态制备液 A</td> <td>220156a</td> <td>120 mL</td> <td>125mL 本色瓶</td> </tr> <tr> <td>酵母化学感受态制备液 B</td> <td>220156b</td> <td>6 mL</td> <td>10mL 本色瓶</td> </tr> <tr> <td>酵母化学感受态制备液 C</td> <td>220156c</td> <td>10 mL</td> <td>10mL 本色瓶</td> </tr> <tr> <td>酵母化学感受态转化液 A</td> <td>220156a</td> <td>30 mL</td> <td>30mL 本色瓶</td> </tr> <tr> <td>酵母化学感受态转化液 B</td> <td>220156b</td> <td>30 mL</td> <td>30mL 本色瓶</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>220156sc</td> <td>1 份</td> <td>无</td> </tr> </tbody> </table>				成份	编号	规格	包装材料	酵母化学感受态制备液 A	220156a	120 mL	125mL 本色瓶	酵母化学感受态制备液 B	220156b	6 mL	10mL 本色瓶	酵母化学感受态制备液 C	220156c	10 mL	10mL 本色瓶	酵母化学感受态转化液 A	220156a	30 mL	30mL 本色瓶	酵母化学感受态转化液 B	220156b	30 mL	30mL 本色瓶	使用手册	220156sc	1 份	无
成份	编号	规格	包装材料																													
酵母化学感受态制备液 A	220156a	120 mL	125mL 本色瓶																													
酵母化学感受态制备液 B	220156b	6 mL	10mL 本色瓶																													
酵母化学感受态制备液 C	220156c	10 mL	10mL 本色瓶																													
酵母化学感受态转化液 A	220156a	30 mL	30mL 本色瓶																													
酵母化学感受态转化液 B	220156b	30 mL	30mL 本色瓶																													
使用手册	220156sc	1 份	无																													
<p><b>自备试剂</b></p>	<p>YPD 培养基</p>																															
<p><b>运输及保存</b></p>	<p>常温运输和保存，有效期一年。</p>																															
<p><b>使用方法</b></p>	<p><b>一：酵母化学感受态细胞的制备</b></p> <p>说明：按本方法制备 1 管酵母化学感受态细胞就需要 OD600 达到 0.6-1.0 的新鲜酵母培养液 10 mL，用户需根据所需酵母感受态细胞的数量决定培养细胞的体积。如果超过 10 mL，则制备液的使用量需要按比例增加。</p>																															

1. 挑取酵母受体菌的新鲜的单菌落 (4℃放置不超过 3 周的也可以), 接种到装在 50mL 离心管中的 10 mL 的自备的 YPD 培养基中。
2. 30℃摇晃培养, 摇床速度 250 rpm/分钟, 直到 OD600 达到 0.6-1.0 (相当于  $0.6-1 \times 10^7$  细胞/mL)。
3. 室温 3000rpm 离心 5 min, 弃上清得酵母细胞沉淀。
4. 新鲜制备适量的酵母感受态制备工作液。对 10 mL 酵母需要 5.25 mL 的工作液, 其配制方法是: 将 4.75 mL 酵母化学感受态制备液 A、0.25 mL 酵母化学感受态制备液 B 和 0.25 mL 酵母化学感受态制备液 C 加入到一个无菌的离心管中后充分震荡混匀即可。酵母感受态制备工作液可放室温待用。
5. 用 0.5 倍体积的新鲜配制的酵母感受态制备工作液洗涤酵母细胞沉淀一次 (对 10 mL 酵母则需要 5 mL 酵母感受态制备工作液)。即混合后振荡 1 分钟, 室温 3000rpm 离心 3 分钟, 去上清得洗涤后的酵母细胞沉淀。
6. 再用 0.02 倍体积的酵母感受态制备工作液充分重悬菌体 (对 10 mL 酵母, 则需要 0.2 mL 酵母感受态制备工作液)。
7. 按每管 0.2 mL 分装到冷冻管中, 放入保温冰盒中冷却半小时后再放入 -80℃冰箱待用。0.2 mL 的感受态细胞足够 1 次转化使用。注意: 放入保温冰盒的目的是使温度缓慢下降, 急冻将使转化效率降低, 这点跟大肠杆菌感受态制备过程不同。

## 二: 化学转化酵母感受态细胞

1. 将总体积不超过 20 uL 的 0.1-5 ug 质粒 DNA 加到刚从 -80℃冰箱取出的、还处于凝固状态的 0.2 mL 酵母感受态细胞上。注意: 最好同时做一个不加质粒 DNA 的阴性对照组。
2. 室温充分振荡直到凝固的感受态细胞完全融化。注意: 此步非常关键, 如果能在恒温振荡器上 37℃振荡 5 分钟, 则效果更好。
3. 加入 1.4mL 酵母化学感受态转化液 A, 轻柔颠倒混匀一分钟。
4. 30℃培养 1 小时。
5. 室温 3000g 离心 5 分钟, 弃上清。
6. 在酵母细胞沉淀中加 1.0 mL 酵母化学感受态转化液 B, 振荡一分钟。
7. 室温 3000g 离心 5 分钟, 弃上清。
8. 在酵母沉淀细胞中加入适量 (如 100 uL) 的酵母化学感受态转化液 B,

	<p>混匀后在在选择培养基上全部涂盘。</p> <p>9. 30℃培养 3-5 天后即得酵母转化菌落。</p>
<b>关联产品</b>	酵母电转感受态细胞制备试剂盒，裂殖酵母感受态细胞制备试剂盒。