

酵母电感受态细胞制备液

储存条件：4℃保存，有效期1年。

产品内容：

Components	CC203
1M 山梨醇溶液（无菌）	100mL
LiAc Solution	50 ml
Carrier DNA	2×1 ml
说明书	1份

产品说明：

1M的山梨醇一般用于酿酒酵母或者裂殖酵母电转感受态的制备。

酵母感受态细胞的制备：

1. 活化菌种。-80℃保存的菌种在固体 YPDA 培养基（YPDA 加 20g Agar/L）上划线，在 30℃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℃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 50 ml 液体 YPDA 培养基的三角瓶中继续培养，待 OD600 到 1.3-1.5 范围内。
4. 将酵母菌置于冰上放置 10 min 后，收集细胞。1000 g，离心 5 min，去上清。
5. 沉淀用 30-50 ml 的预冷的无菌水悬浮。1000 g，离心 5 min，去上清。重复洗涤 2 次。
6. 沉淀用 5mL 冰上预冷的 1M 山梨醇溶液重悬。1000 g，离心 5 min，去上清。
7. 沉淀用 0.4 mL 的预冷的 1M 山梨醇溶液重悬，按照 40 uL 分装。

酵母转化：

1. 在 40uL 的酵母感受态细胞中，加入 5uL（100ng）的质粒，混匀。
2. 转移到预冷的电转槽中，电击。
3. 在电转槽中加入 500uL 预冷的 1M 山梨醇溶液，轻柔混匀。
4. 涂布于相应的筛选培养基上，28-30℃培养 3-5 天。