

天
净
沙
系
列

CAT#:100103-20
低温运输和保存

TIANDZ

裂殖酵母化学感受态细胞制备试剂盒

S. pombe Chemical Competent Cell Preparation Kit

使用手册 V2.3

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

<p>产品及特点</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，高效快速制备裂殖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"> 1. 一次制备，-80℃保存，多次使用，免去每次转化都要制备裂殖酵母感受态细胞。 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 3. 只能用于裂殖酵母 <i>S. pombe</i>。 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）。 5. 最高转化效率可达到 2×10^6 个转化子/ug 质粒 DNA。 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。 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。 8. 本产品可以制备 20 只酵母感受态细胞和进行 20 次高效转化。 															
<p>规格及成分</p>	<table border="1" data-bbox="576 1099 1353 1357"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>十孔盒包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>裂殖酵母化学感受态制备液</td> <td>100103a</td> <td>1 mL</td> </tr> <tr> <td>裂殖酵母化学转化液成分</td> <td>100103b</td> <td>1.5 mL × 2</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>100103sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>				成份	编号	十孔盒包装	裂殖酵母化学感受态制备液	100103a	1 mL	裂殖酵母化学转化液成分	100103b	1.5 mL × 2	使用手册	100103sc	1 份
成份	编号	十孔盒包装														
裂殖酵母化学感受态制备液	100103a	1 mL														
裂殖酵母化学转化液成分	100103b	1.5 mL × 2														
使用手册	100103sc	1 份														
<p>自备试剂</p>	<p>100 mL SLD 培养基，无菌水，1.5mL 无菌的塑料离心管</p>															
<p>运输及保存</p>	<p>常温运输和保存，有效期一年。</p>															
<p>使用方法</p>	<p>一：准备工作</p> <p>制备前需要将自备的无菌水防冰上预冷。需要制备 100mL SLD 液体培养基（含 0.67g 的 Bacto Yeast Nitrogen Base 和 0.5g 葡萄糖）。如果酵母含有氨基酸缺陷型，还需要补充相应的氨基酸到终浓度为 150ug/mL。否则酵母不会生长。</p> <p>二：裂殖酵母化学感受态细胞的制备</p> <p>说明：50 mL 培养基可以制备 10 只感受态细胞，下面的操作以此为例子。用户如果需要制备其他的数量的感受态细胞，所用试剂和操作需要相应改动。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 挑取新鲜的裂殖酵母单菌落（4℃放置不超过 3 周的也可以），接种到装在 50 mL 自备的 SLD 培养基中（在玻璃三角瓶中）。 2. 30℃摇晃培养，摇床速度 250 rpm/分钟，直到 OD600 达到 1.0（相当于 															

	<p>1×10E7 细胞/mL)。</p> <ol style="list-style-type: none"> 3. 将培养三角瓶放置在冰上 15 分钟。 4. 室温 1600 rpm 离心 5 min，弃上清得裂殖酵母细胞沉淀。 5. 加入 50 mL 在用冰上预冷的无菌水，轻柔重悬裂殖酵母细胞沉淀，再在常温 1600 rpm 离心 5 min，弃上清。 6. 再重复上步（洗涤步）两次。 7. 加入相当于培养基 1/100 的裂殖酵母化学感受态制备液（此处是 50mL 培养基，故加入裂殖酵母化学感受态制备液 0.5mL）。 8. 重悬细胞沉淀。此时细胞的浓度为 1×10E9 细胞/mL。 9. 将细胞分装到 1.5mL 无菌的塑料离心管中，每管 50uL。 10. 将装有细胞的离心管在冰上放置 30 分钟后再转移到-80℃长期放置待用。 <p>三：化学转化裂殖酵母感受态细胞</p> <ol style="list-style-type: none"> 11. 从-80℃取出装有 50uL 裂殖酵母感受态细胞的离心管，40℃水浴放置 2 分钟。 12. 在融化的细胞中加入代转化的质粒 DNA 和 150 uL 裂殖酵母转化液，轻柔吹打混匀。 13. 防 43℃水浴或金属浴 15 分钟。 14. 取部分转化后的细胞涂盘，或加入 0.8mL TE 缓冲液（pH7.5）稀释转化的细胞，轻柔混匀后取 100uL 涂盘到适当的固体选择培养基。 15. 30℃培养 3-5 天后即得酵母转化菌落。
<p>关联产品</p>	<p>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。</p>