

天
净
沙
系
列

CAT#:12-198
低温运输和-80℃保存

TIANDZ

酿酒酵母 EBY100

Saccharomyces cerevisiae EBY100

使用手册 V1.0

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

产品及特点	EBY100 是酿酒酵母菌株，属于真核细胞，具有氨苄和卡那霉素抗性。 质粒转化条件为电转化，应用于酵母表面展示。此菌株必须生长在营养丰富的培养基中，例如 YPD 培养基，无法在 minimal media 中生长。在 GAL1 启动子的作用下，此菌株能够表达 AGA1 基因。EBY100 的配套载体是 pYD1 载体。此菌株的基因型如下： <i>MATa ura3-52 trp1 leu2Δ1 his3Δ200 pep4::HIS3 prb1Δ1.6R can1 GAL (pIU211: URA3)</i> 。			
规格及成分		成份	编号	热封袋包装
		酿酒酵母 EBY100	12-198	1 mL
		使用手册	1 份	
运输及保存	低温运输，-80℃保存，有效期一年。			
自备试剂	YPD 培养基、TE 缓冲液（pH 7.5）、乙酸锂、DTT、山梨醇、超纯水等			
使用方法	本手册提供一个质粒转化酵母的电转化方法，供参考。			
	一、感受态细胞制备			
	1. 挑一环酵母菌接种于 5 mL YPD 培养基中，30℃、250-300 rpm 培养过夜； 2. 取适量的过夜培养液分别接种于两瓶 50 mL YPD 培养基中，30℃、250-300 rpm 培养约 16-18 小时（OD：1.3-1.5）； 3. 于 4℃，4000 g 离心收集菌体，用 25 mL 冰浴的无菌水洗涤一次后，细胞用 10 mL 冰浴的无菌水重悬，可换成较小的离心管； 4. 加入 1 mL 的 10×TE 缓冲液（pH 7.5），摇晃均匀，再加入 1 mL 10×乙酸锂，旋转摇匀，于 30℃轻轻摇动 45 分钟； 5. 再加入 0.4 mL 1 mol/L DTT，并同时旋转摇动，于 30℃轻轻摇动 15 分钟； 6. 于 4℃，4000-6000 g 离心，弃上清（用枪吸），再用 25 mL 冰浴的无菌水洗涤后 4℃离心，收集菌体； 7. 用 2.5 mL 冰冷的 1 mol/L 山梨醇重悬细胞，离心收集菌体，弃上清（用枪吸）； 8. 每管用 100 uL 1 mol/L 的山梨醇溶解，分装于 EP 管中（80 uL/管），于-70℃冰箱保存。 二、电转化 1. 向感受态细胞中加入约 5~10 ug（体积小于 10 uL）的 DNA，用枪吹			

	吸均匀，转移至预冷的电转杯中，静置 5 分钟； 2. 擦干电转杯，电击，电击参数：1.5 KV，25 uF，200 欧姆（详细请参考电穿孔仪的说明书）； 3. 立即加入 1 mL 预冷的 1 mol/L 山梨醇，轻轻吹吸混匀，转移至 EP 管中，于 30℃静置 1 小时； 4. 离心，弃上清，加入 1 mL YPD 后，于 30℃、200 rpm 培养 2 小时； 5. 离心得菌体后，吸除 550 uL 上清液，然后按 150 uL/板在相应的选择培养基平板，于 30℃培养 3-6 天，直到平板上出现菌落。（注：酿酒酵母适宜的生长温度是 30℃，温度超过 32℃可能导致细胞的死亡。）
关联产品	YPD 培养基（CAT#:130895）、山梨醇（CAT#:87-79-6）、TE 缓冲液（CAT#:80934）、超纯水（CAT#:100935）

20160225xhh