

M5 HiPer 超高效酵母转化试剂盒

使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 HiPer 超高效酵母转化试剂盒	200T	MF762-01

【产品组成和储存条件】 Y1 溶液和 Y2 溶液 4℃保存；Y3 溶液和 YPDPlus -20℃保存。

Y1 溶液（制备液）	2X50ml	4℃
Y2 溶液（冻存液）	2X5ml	4℃
Y3 溶液（转化液）	4X20ml	-20℃
YPDPlus Liquid Medium	4X25ml	-20℃

【产品简介】

M5 HiPer 超高效酵母转化试剂盒可以完成酵母感受态制备，酵母感受态储存，酵母转化实验。本试剂盒制备的酵母感受态细胞，可长达一年。后续酵母转化操作简单而快速，转化后复苏酵母菌，转化效率比经典的转化试剂盒提高 50-100%。

【注意事项】

1. 转化全程要无菌操作，YPD Plus 开封后易染菌，需-20℃冻存。
2. 为了保证转化效率，感受态不宜直接用液氮冻存。
3. 增加酵母质粒的质量可以提高转化效率

【操作步骤】

一、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 3-5mm 的短线，在 30℃培养 2-4 天。待酵母单菌落长至 2mm 长时，接种。
3. 把酵母细胞接种到 3mL 液体 YPDA 培养基中，30℃过夜培养。
4. 第二天转接到含有 50 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，3000 rpm，离心 5min，去上清。

注意：可用 4℃一周内的的酵母菌培养产物 3mL 接种 50mLYPDA 培养基过夜培养后，离心收集细胞，用于下游实验。此步可以节约菌种活化，小摇所需的时间。

5. 用 10mL 的 Y1 溶液 悬浮、洗涤沉淀，3000 rpm，离心 5min，去上清。

6. 沉淀中加入 1 mL 的 Y2 溶液悬浮，既获得酵母感受态细胞。按 50 μ L 分装于 1.5mL 无菌冻存管（可直接用于转化）。

7. 将感受态缓慢冷冻后置于-80℃冰箱保存。

建议将感受态细胞放入程序降温盒，或者几层纸包好放入泡沫盒中，再放于-80℃冰箱过夜，后将感受态取出置于-80℃保存。保存一年基本不影响其转化效率。使用时，-80℃冰箱取出，室温融化后直接用于转化，操作流程见（三和四）酵母转化。

注意：缓慢冻存感受态，是保证冻存后的感受态细胞转化效率的关键步骤。

二、转化预混液配制：

成分	质粒转化预混液	文库转化预混液
Y3 溶液	350ul	2520ul
质粒	5-10ul（约 200ng/ul）	5-15ug（文库质粒）
总体积	360ul（ddH ₂ O 补足体积）	2592ul（ddH ₂ O 补足体积）

三、酵母质粒转化

1. 吸取 360 μ L 的预混液加入到 50ul 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完全悬浮在预混液中。
2. 放置在 30℃的水浴锅中热激 60min，每 10min 混匀一次。部分菌种延长孵育时间可提高转化效率，但不要超过 3 小时。
3. 12000rpm 离心 15s，弃上清。
4. （可选步骤）用 1mL YPDPlus Liquid Medium 重新悬浮沉淀，30℃摇床震荡培养 30-60min。12000rpm 离心 15s，弃上清。
5. 加入 400ul 无菌水或 0.9%NaCl 重悬菌体。涂布于相应的缺陷型培养基上。
6. 30℃恒温培养 2-4 天直至平板出现酵母克隆。

四、酵母文库转化（需用 15-50ml 离心管）

1. 吸取 2592 μ L 的预混液加入到 600ul 感受态细胞中，震荡使酵母感受态细胞完全悬浮在预混液中。
2. 放置在 30℃的水浴锅中热激 90min，每 10min 混匀一次。部分菌种延长孵育时间可提高转化效率，但不要超过 3 小时。
3. 3000rpm 离心 5min，弃上清。
4. （可选步骤）用 3mL YPDPlus Liquid Medium 重新悬浮沉淀，30℃摇床震荡培养 90min。3000rpm 离心 5min，弃上清。
5. 加入 15ml 无菌水或 0.9%NaCl 重悬菌体。涂布于相应的缺陷型培养基上。
6. 30℃恒温培养 2-4 天直至平板出现酵母克隆。

注意：1）转化全程要求无菌操作。

2）缓慢冻存感受态，不宜直接用液氮冻存。

3）增加酵母质粒的纯度和浓度可以提高转化效率。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。