



快捷型毕赤酵母高效感受态制备试剂盒

Pichia pastoris positive clone assay kit

Cat.NO. ZC136

版本号: 2022-03-25

试剂盒组成、储存、稳定性：

试剂盒组成	20T	100T
溶液 A (制备液)	105 mL	250 mL×2
溶液 B (转化液)	28 mL	150 mL
溶液 C (悬浮液)	20 mL	100 mL
Carrier DNA	200 μ L	1 mL×2
说明书	1 份	1 份

储存：-20℃ 保存，未开封有效期 24 个月。

适用范围：

适用于毕赤酵母。

产品说明：

(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 YPD 培养基平板上划线，30℃培养 2-4 天。
2. 选取酵母菌落接种到 10mL 液体 YPD 培养基中，30℃摇床过夜培养后将培养物按 1% 的接种量接种到 100mL 液体 YPD 培养基中三角瓶中培养至 OD 值为 0.6-1.0。
注：每 10mL 菌液可用于一次转化。以下操作步骤适于用于 10 mL 菌液。
3. 3,000rpm 离心 3min 收集菌体沉淀。
4. 加入 5mL 溶液 A 重悬菌体，3,000 rpm 离心 3min 收集菌体沉淀。
5. 再加入 200 μ L 溶液 A 重悬菌体，转移到无菌 1.5mL 离心管，即为制备好的感受态细胞，可直接用于转化或冻存储用。
6. 制备好的感受态细胞需缓慢冷冻后，再置于 -80℃冰箱长期保存。将感受态细胞放入程序降温盒，或用多层纸包裹放入泡沫盒中，先置于 -80℃冰箱过夜后，再取出感受态置于 -80℃冰箱，可保存半年。使用前冰上解冻或直接用于转化。
注：缓慢冷冻会保证良好的转化效率。扩大酵母菌培养体积，相应增加冻存液的使用量，可以一次性制备多支酵母感受态细胞。



ZOMANBIO

Order: 010-62617225
Technical: 010-62979301
Email: zomanbio@126.com

本产品仅供科研使用. 请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

(二) 酵母转化:

1. 取 0.1-5 μ g 质粒 DNA (线性化质粒加入量 5-50 μ g) 和 10 μ L 预变性 Carrier DNA 加入到未融化的感受态细胞上, 置于 30 $^{\circ}$ C 水浴, 每隔 15s 颠倒混匀, 直至感受态细胞刚好完全融化。(融化后及时取出)
2. 加入 1.4mL 溶液 B 颠倒混匀。30 $^{\circ}$ C 水浴 60min。
3. 3,000rpm 离心 3min 弃上清留菌体沉淀, 加入 1mL 溶液 C 重悬菌体。
4. 3,000rpm 离心 3min 弃上清留菌体沉淀, 加入 100 μ L 溶液 C 重悬菌体。
5. 将 100 μ L 菌液全部涂布到相应的平板培养基, 30 $^{\circ}$ C 恒温培养 3-5 天, 直至平板出现酵母克隆。

注: 初次使用 Carrier DNA, 请把装有 Carrier DNA 的管子在沸水中煮沸 5min, 然后立即放在冰上, 用后放在 -20 $^{\circ}$ C 储存备用。下次使用前请于冰上解冻 Carrier DNA。反复冻融 3-5 次后需重新变性 Carrier DNA。

ZOMANBIO