1.1×TE/醋酸锂溶液

制品内容

货号	名称	规格
QM4404-250mL	1.1× TE/LiAc Solution	250mL
QM4404-500mL	1.1× TE/LiAc Solution	500mL

产品简介

1.1×TE/LiAc Solution是用于制备酿酒酵母感受态细胞的缓冲液体系。其中TE组分作为缓冲液维持pH稳定，LiAc则诱导酵母细胞进入短暂感受态，使其具备外源DNA摄取能力。

保存

4℃，保存两年。

使用方法

一、感受态制作方法

1）酵母菌种在YPDA平板上划线，挑新鲜单菌落到3ml YPDA（50ml离心管）中30℃、250rpm摇菌12h，取50ul转接至50ml YPDA（250ml三角瓶）中，250rpm摇菌至OD600约0.15-0.3。

2）室温700g离心5min收集菌体，弃上清，用100ml YPDA重悬，30℃、250rpm摇菌至OD600=0.4-0.5。

3）室温700g离心5min收集菌体，弃上清，用50ml无菌ddH2O重悬，700g离心5min弃上清。

4）用15ml预冷1.1×TE/LiAc重悬菌体，1500g离心30s弃上清，0.6ml 1.1×TE/LiAc重悬，可直接转化或分装10管（冰浴保存≤3h）。

二、感受态转化方法

1）Carrier DNA预处理：每次使用前需95℃水浴/金属浴变性3 min，立即冰浴3 min；重复一次，最后冰浴≥3 min。

2）按体系配制转化混合液：

组分	酵母文库质粒（15 mL管）	普通酵母质粒（1.5 mL管）
预冷目的质粒	5-15 μg	0.1-2 μg
Carrier DNA	40 μl	5 μl
酵母感受态	600 μl	50-100 μl
PEG/LiAc	2.5 ml	500 μl

吸打混匀，30℃水浴孵育（文库45 min，普通30 min），期间每隔15 min（文库）或10 min（普通）翻转混匀6-8次。

3）加入DMSO：文库体系加160 μl，普通体系加20 μl。

4）42℃热激（文库20 min，普通15 min），期间每隔10 min（文库）或7.5 min（普通）翻转混匀6-8次。

5）4000 rpm离心40 s弃上清，用2×YPDA或YPD Plus重悬（文库3 ml，普通1 ml）。

30℃、200 rpm复苏培养1.5 h，离心30 s弃上清。

0.9% NaCl重悬（文库5-15 ml，普通0.05-1 ml），涂板，30℃培养48-120 h。

1.1×TE/醋酸锂溶液

产品组分与配方

产品组分	Formulation（mL/L）
10X TE	110ml
1 M LiAc	110ml
ddH2O	780ml

注意事项

1）可根据实验需求按比例调整1.1×TE/LiAc Solution的用量，但该方法制备的酵母感受态细胞不可-80℃保存。

2）4℃保存，有效期2年；若发现污染（如浑浊、沉淀等），应立即停止使用。

江西其云生物有限公司
Jiang×i qiyun Biotech Co., Ltd
www.qiyunbio.com
400-886-5210