



YPD Plus 培养基

产品货号: Y0003

储存条件: 常温干燥保存

产品描述

用 LiAc 转化法进行酵母转化时, 通常会通过加入 Carrier DNA, 选用对数期的酵母菌, 以及优化质粒 DNA 的质量和浓度等方法来提高转化效率。在完成转化操作后, 将转化产物用 YPD Plus 液体培养基重悬培养 30-60 分钟, 有助于酵母细胞从热激中复苏, 可以有效提高转化效率 50-100%。适用于转化酵母菌株 Y2H Gold、AH109 或 Y187 等, 尤其适合对转化效率要求更高的文库转化。

使用说明 (以经典转化方法为例)

YPD Plus 液体培养基的配制

1. 取 50 g 的 YPD Plus 加入到 1 L 的去离子水中加热溶解。
2. 121°C 高压灭菌 15 分钟, 冷却至室温后用于后续转化实验。

质粒转化:

1. 在含有约 1 μg 质粒的 1.5 mL 无菌离心管中加入 5 μL 预变性的 Carrier DNA, 50 μL 酵母感受态细胞, 350 μL LiAc / PEG3350 混合液轻柔混匀。
2. 30°C 水浴或者金属浴 30 min, 每 10 min 轻柔上下颠倒混匀一次。
3. 每管加入 20 μL DMSO, 轻柔上下颠倒混匀。
4. 42°C 水浴热激 15 min, 每 5 min 轻柔上下颠倒混匀一次。
5. 1000 g 离心 5 min, 弃掉上清。
6. 菌体沉淀用 1 mL YPD Plus 液体培养基重新悬浮, 30°C 摇床震荡培养 30-60 min。
7. 1000 g 离心 5 min, 弃掉上清, 加入 1 mL 无菌 0.9% NaCl 重悬菌体。
8. 分别稀释 10 倍, 100 倍后涂布于相应的缺陷型培养基平板上。
9. 平板倒置于培养箱中 30°C 恒温培养 3-5 天。

文库转化:

1. 在含有约 5-15 μg 文库质粒的 15 mL 无菌离心管中, 加入 20 μL 预变性的 Carrier DNA, 600 μL 酵母感受态细胞, 2.5 mL LiAc / PEG3350 混合液轻柔混匀。
2. 30°C 水浴 45 min, 每 10 min 轻柔上下颠倒混匀一次。
3. 每管加入 160 μL DMSO, 轻柔上下颠倒混匀。
4. 42°C 水浴热激 20 min, 每 5 min 轻柔上下颠倒混匀一次。
5. 1000 g 离心 5 min, 弃掉上清。
6. 菌体沉淀用 3 mL YPD Plus 液体培养基重新悬浮, 30°C 摇床震荡培养 90 min。
7. 1000 g 离心 5 min, 弃掉上清, 根据实验需求加入相应体积的无菌 0.9% NaCl 重悬菌体。
8. 涂布于相应的缺陷型培养基平板上, 将平板倒置于培养箱中 30°C 恒温培养 3-5 天。

注意事项

1. 本品出现结块请勿使用。
2. 本产品仅作科研用途, 不得用于临床诊断或治疗。
3. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

