

1.1X TE/LiAc Solution 说明书

- 产品规格 (CAT# : YC4210L)

- 产品内容 :

包装名称	包装含量	包装数量	保存条件	保存时间
1.1XTE/LiAc Solution	500ml	1 瓶	4°C	24 个月

- 产品组分与配方 :

产品组分	分子式/CAS 号	配方 ml/L	货号	500ml 含量
10XTE	C4H11NO3 /77-86-1 C10H16N2O8 /60-00-4	110ml	YC4020S	55ml
1 M LiAc	LiAc /546-89-4	110ml	YC4010S	55ml
ddH2O	-----	780ml	-----	390ml

- 产品说明

1.1XTE/LiAc Solution 是一种制作酿酒酵母感受态的 buffer。TE 起缓冲液的作用，提供稳定的 PH 值环境；LiAc 可使酵母细胞处于一种短暂的感受态，此时酵母能够摄取外源 DNA。使用唯地生物的 1.1XTE/LiAc Solution 制作酵母感受态细胞，用 pGADT7 质粒检测转化效率可达 10^4 - 10^6 cfu/ μ g DNA。

- 操作方法

一，感受态制作方法

1. 酵母菌种在 YPDA 平板上划线，挑新鲜的单菌落到 3ml YPDA (用 50ml 离心管) 中 30 度，250rpm 摇菌 12h，取 50ul 到 50ml YPDA (用 250ml 三角瓶) 中，250rpm 摇菌到 OD600 约 0.15-0.3，不要超过。
2. 室温 700g，5min 离心收集菌体，弃上清，用 100ml YPDA 重悬，30 度，250rpm 摇菌到 OD600=0.4-0.5。
3. 室温 700g，5min 离心收集菌体，弃上清，用 50ml 无菌 ddH2O 重悬。
4. 室温 700g，5min 离心收集菌体，弃上清，用 15ml 4°C 预冷的 1.1 X TE/liAC 重悬。1500g，30S 离心，弃上清，用 0.6ml 1.1 X TE/liAC 重悬，此时可以用来转化酵母文库；也可以分装 10 支感受态用来转化普通酵母质粒 (最好立即使用，也可放冰中保存不超过 3 小时)

二、感受态转化方法

1. Carrier DNA 在每次使用前要通过加热处理使其变性为单链状态，步骤如下：Carrier DNA 放 95°C 水浴或金属浴 3 min，快速插入冰中，静置 3 min，再次放 95°C 水浴或金属浴 3 min，快速插入冰中，静置 3 min 以上。

	酵母文库质粒	普通酵母质粒
2. 准备不同大小的离心管	15ml 离心管	1.5ml 离心管
依次加入预冷的目的质粒	5-15ug	0.1-2ug
Carrier DNA	40 μ l	5 μ l
酵母感受态	600ul	50-100ul
PEG/LiAc	2.5ml	500 μ l
吸打几次混匀，30°C 水浴	45 min	30 min
(文库质粒每隔 15min 翻转 6-8 次混匀一次；普通质粒每隔 10min 翻转 6-8 次混匀一次。)		
3. 加入无菌的 DMSO	160ul	20ul
4. 将管放 42°C 水浴	20min	15min
(文库质粒每隔 10min 翻转 6-8 次混匀一次；普通质粒每隔 7.5min 翻转 6-8 次混匀一次。)		
5. 4000 rpm 离心 40s 弃上清，加入 2XYPDA 或 YPD Plus 重悬	3ml	1ml
6. 30°C，200rpm 摇菌 1.5h。离心 30s 弃上清。		
7. 加入 0.9% (w/v) NaCl 重悬，涂板，30°C 培养 48-120 h。	5-15ml	0.05-1ml

● 注意事项

1. 制作不同数量的感受态，按比例使用 1.1XTE/LiAc Solution，此种方法制作的酵母感受态不可-80 度保存。
2. 不开封的 1.1XTE/LiAc Solution 可在 4 度保存 2 年，开封后若发现染菌，停止使用。