

AH109 Chemically Competent Cell

AH109 感受态细胞

■ 目录号

TSC0503

■ 基因型

MAT α , *trp1-901*, *leu2-3, 112*, *ura3-52*, *his3-200*, *gal4 Δ* , *gal80 Δ* , *LYS2::GAL1UAS-GAL1 TATA-HIS3*, *MEL1-GAL2UAS-GAL2TATA-ADE2*, *URA3::MEL1UAS-MEL1TATA-lacZ*

■ 产品简介

本产品为GAL4系统酵母双杂实验用菌株,其MAT α 型菌株由PJ69-2A酵母菌株衍生,通过引入lacZ报告基因至PJ69-2A而获得AH109。此菌可直接转化质粒或与MAT α 型酵母菌株Y187进行杂交操作,用于蛋白质互作验证或库筛选。其转化标记物为trp1和leu2,报告基因为lacZ、HIS3、ADE2和MEL1。在GAL4酵母双杂系统中,需要配套使用两种质粒:pGBKT7和pGADT7。四个报告基因(lacZ、HIS3、ADE2和MEL1)由三种不同的启动子(GAL1、GAL2和MEL1)启动,这些启动子仅具有17 bp的核心区由GAL4识别,其余部分均不相同,这大大降低了酵母双杂法假阳性的概率。AH109感受态细胞经过特殊工艺制备而成,于-80°C可保存12个月。pGADT7质粒(7988 bp, AmpR)质粒DNA检测,转化效率可达 1×10^4 cfu/ μ g。

■ 产品组成

组分	规格	保存条件及稳定性
AH109 Chemically Competent Cell	100 μ L \times 10支	-83°C~-78°C
Carrier DNA (10 μ g/ μ L)	50 μ L	-25°C~-15°C
PEG/LiAC	5 mL	RT

■ 产品应用

本产品适用于酵母双杂交实验,可直接用于杂交筛库。

■ 操作步骤

1. 取100 μ L冰上融化的AH109感受态细胞,依次加入预冷的目的质粒片段2~5 μ g, Carrier DNA (95~100°C孵育5 min,快速冰浴,重复一次) 10 μ L, PEG/LiAc 500 μ L,用枪吹打几次充分混匀,30°C水浴30 min (15 min时翻转6~8次混匀);
2. 将离心管放42°C水浴15 min (7.5 min时翻转6~8次混匀);
3. 6,000 rpm离心40 s弃上清,加入ddH₂O 400 μ L重悬,离心30 s弃上清;
4. 加入ddH₂O 50 μ L重悬,涂SD/-Ura平板,28°C培养48~96 h。

■ 注意事项及准备

- 感受态细胞应在冰上融解,并在无菌环境下进行转化操作。
- 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
- 同时转化2~3种质粒时可增加质粒的用量。
- AH109酵母菌株对高温条件表现出明显的敏感性,其最佳生长温度范围为27~30°C。在温度高于31°C时,其生长速度和转化效率呈现出显著的指数级下降趋势。

- PEG溶液在低温环境下会析出,请于常温下完全溶解后使用。
- 菌落变粉不是污染,是酵母细胞生长中一个常见现象。当细胞在平板培养几天后,平板上的Adenine被酵母消耗完毕,酵母试图通过自身代谢途径合成Adenine以供利用,中间产物P-ribosylamino imidazole (AIR) 在细胞中积累而使菌落变为粉红色。
- 酵母在缺陷培养基中生长速度比YPDA培养基慢,培养基中缺陷成分越多,生长越慢。

■ 保存条件

保质期1年,保存条件见产品组成。干冰运输。

■ 技术支持

本公司产品使用过程中如有任何疑问与建议,欢迎随时与我们联系:

product@tsingke.com.cn。

■ 关联产品推荐

产品系列	产品名称	货号
感受态系列	Y1HGold 感受态细胞	TSC0501
	Y2HGold 感受态细胞	TSC0502
	Y187 感受态细胞	TSC0504
核酸提取系列	Trelief® Plasmid Mini Kit Plus 高纯度质粒小提试剂盒	TSP502
克隆系列	Trelief® Seamless Cloning Kit	TSV-S3

