

Y1HGold Chemically Competent Cell

Y1HGold 感受态细胞

■ 目录号

TSC0501

■ 基因型

MAT α , *ura3-52*, *his3-200*, *ade2-101*, *trp1-901*, *leu2-3, 112*, *gal4 Δ* , *gal80 Δ* , *met-*, *MEL1*

■ 产品简介

本产品为GAL4系统酵母单杂系统所用菌株,其MAT α 型可直接转化质粒进行筛库试验。其转化标记物为ura3、leu2,报告基因为AbAr。Y1HGold-GAL4-AbA酵母单杂系统要求使用两种质粒进行配套:pAbAi和PGADT7。质粒pAbAi的筛选标志为URA,用于表达 pBait-AbAi (1~3个bait DNA序列重复串联后克隆到pAbAi中);质粒pGADT7的筛选标志为LEU,用于表达AD(GAL4 C端768~881位氨基酸)与目标蛋白(Prey)的融合蛋白。AbAr与营养缺陷报告基因相比具有更低背景的优点,可以降低酵母单杂假阳性发生的概率。Y1HGold感受态细胞经过特殊工艺制作,在-80℃下可保存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
Y1HGold Chemically Competent Cell	100 μ L $\times$ 10支	-83~-78℃
Carrier DNA (10 μ g/ μ L)	50 μ L	-25~-15℃
PEG/LiAC	5 mL	RT

■ 产品应用

本产品适用于酵母单杂交实验,可直接用于杂交筛库。

■ 操作步骤

1. 取100 μ L冰上融化的Y1HGold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℃ 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℃水浴30 min (15 min时翻转6~8次混匀);
2. 将离心管放42℃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℃培养72 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,可适当增加质粒的用量。
- Y1HGold酵母菌株对高温较为敏感,其最适生长温度范围为27~30℃。当温度高于31℃时,其生长速度和转化效率将呈指数级下降。

- 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	Y2HGold 感受态细胞	TSC0502
	AH109 感受态细胞	TSC0503
	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

