

DL-Y1HGold Chemically Competent Cell

DL-Y1HGold 感受态细胞

目录号

DLC401

基因型

MATa, ura3-52, his3-200, ade2-101, trp1-901, leu2-3, 112, gal4Δ, gal80Δ, met-, MEL1

产品简介

本产品由Y1HGold菌株开发而来,适用于GAL4-AbA酵母单杂系统,(MAT斜体)a型,可直接用于杂交筛库。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(GAL4C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。本产品经优化的感受态制备工艺制备而成,在-80℃下可保存1年,使用pGADT7质粒DNA检测,转化效率可达 1×10^4 cfu/μg。

产品组成

组分	规格	保存条件
DL-Y1HGold Chemically Competent Cell	100 μL×10支	-83~-78℃ 保存1年
Carrier DNA (10 μg/μL)	50 μL	
PEG/LiAc	5 mL	

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 μL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 μg, Carrier DNA (95~100℃ 孵育5 min,快速冰浴,重复一次) 5 μL, PEG/LiAc 500 μL,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 μL重悬,离心30 s弃上清;
- 4.加入ddH₂O 50 μL重悬,涂板,28℃培养72 h。

注意事项

- 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/LiAc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。

保存和运输条件

-83~-78℃保存, 保质期1年。≤-78℃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

产品名称	货号	应用
FlashPure快速质粒小提试剂盒	DLN702	适用于1-5 mL菌液质粒DNA快速提取
T8高保真PCR预混液	DLP201	适用于基因组、cDNA、噬菌体、质粒等模板的扩增
Trelief® 无缝克隆试剂盒	DLV201	适用于无缝克隆与定点突变等实验
pGADT7克隆构建试剂盒	DLV303	适用于pGADT7载体为基础的酵母杂交实验
Trelief® 5a感受态细胞	DLC101	适用于常规克隆、蓝白斑筛选等实验

