

DL-AH109 Chemically Competent Cell

DL-AH109 感受态细胞

目录号

DLC403

基因型

MATa, *trp1-901, leu2-3, 112, ura3-52, his3-200, gal4Δ, gal80Δ, LYS2::GAL1UAS-GAL1 TATA-HIS3, MEL1-GAL2UAS-GAL2TATA-ADE2, URA3::MEL1UAS-MEL1TATA-lacZ*

产品简介

本产品由AH109菌株开发而来, 适用于GAL4酵母双杂系统, MATa型, 可直接用于杂交筛库。其MATa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MATa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*。AH109-GAL4酵母双杂系统中, 需要配套使用两种质粒: pGBKT7和pGADT7。质粒pGBKT7的筛选标志为TRP1, 用于表达DNA-BD (来自酵母转录因子GAL4N端1~174位氨基酸) 与目标蛋白 (Bait) 的融合蛋白; 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。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。本产品经优化的感受态制备工艺制备而成, 在-80°C下可保存1年, 使用pGADT7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
DL-AH109 Chemically Competent Cell	100 μ L $\times$ 10支	-83~-78°C 保存1年
Carrier DNA (10 μ g/ μ L)	50 μ L	
PEG/LiAc	5 mL	

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) 5 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, 涂板, 28°C培养48~96 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/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°C保存,保质期1年。≤-78°C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

