

DL-Y2HGold Chemically Competent Cell DL-Y2HGold 感受态细胞

目录号

DLC402

基因型

MATa, *trp1-901*, *leu2-3, 112*, *ura3-52*, *his3-200*, *gal4Δ*, *gal80Δ*, *LYS2::GAL1UAS-Gal1 TATA-His3*, *GAL2UASGal2TATA-Ade2 URA3::MEL1UAS-Mel1TATA AUR1-C MEL1*

产品简介

本产品由Y2HGold菌株开发而来,适用于GAL4-AbA酵母双杂系统, *MATa*型,可直接用于杂交筛库。该菌株可直接转化质粒或与*MATa*型的酵母菌株Y187进行杂交操作,用于蛋白互作验证或库筛选等操作。Y2HGold-GAL4酵母双杂系统需要两种质粒配套使用: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(GAL4C端768~881位氨基酸)与目标蛋白(Prey)的融合蛋白。该菌株包含四个报告基因,分别为AbAr、HIS3、ADE2和MEL1,这四个基因均由三种不同的启动子(G1、G2和M1)驱动。而这三种启动子只有在GAL4识别的17 bp核心区上是相同的,其余部分均有所区别,此设计可大幅降低在酵母双杂实验中出现假阳性的概率。另外,新的报告基因AbAr相比以往的营养缺陷型报告基因

具有更低的背景优势,亦可降低酵母双杂实验中假阳性出现的可能性。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-Y2HGold 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

本产品适用于酵母双杂交实验,可直接用于杂交筛库。

操作步骤

1. 取100 μL冰上融化的Y2HGold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种质粒时可增加质粒的用量;

- Y2HGold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。一旦环境温度超过31°C,其生长速率和转化效率将呈现急剧的下降趋势;
- 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

