

Y2HGold 酵母感受态细胞

Y2HGold Chemically Competent Cell

产品规格: 10×100 μl

保存条件: -80℃

Y2HGold	10×100μl	保存条件: -80℃
Carrier DNA	5ug/μl; 100 μl	保存条件: -20℃
PEG/LiAc	5ml	保存条件: 4℃

基 因 型

MATa, trp1-901, leu2-3, 112, ura3-52, his3-200, gal4Δ, gal80Δ, LYS2 : : GAL1_{UAS}–Gal1_{TATA}–His3, GAL2_{UAS}–Gal2_{TATA}–Ade2 URA3 : : MEL1_{UAS}–Mel1_{TATA} AUR1-C MEL1

简 要 说 明

Y2HGold 菌株是 GAL4 系统酵母双杂实验用菌株, MATa 型, 可直接转化质粒或与 MATα型酵母菌株 Y187 通过 mating 操作进行蛋白互作验证或筛库试验。Y2HGold 有四个报告基因: AbAr, HIS3, ADE2, MEL1, 分别由三种不同的启动子 (G1, G2, M1)启动, 这三种启动子只有 GAL4 识别的 17 bp 核心区相同, 其余部分均不同, 大大降低了酵母双杂假阳性发生的概率。此外新报告基因 AbAr 与以前的营养缺陷报告基因相比具有更低背景的优点, 也可以降低酵母双杂假阳性发生的概率。Y2HGold 感受态细胞经特殊工艺制作, -80℃可保存三个月, pGADT7 质粒检测转化效率>10⁴cfu/μg DNA。

操 作 说 明

- 1.取一支无菌的 1.5ml EP 管, 依次加入预冷的目的质粒 1-3μg, Carrier DNA 10μl(95-100 度 5min 快速冰浴, 重复一次), 100μl 冰上融化的感受态细胞, PEG/LiAc 500μl, 轻轻翻转混匀 6-8 次;
2. 30℃水浴 30min, 每 10min 轻轻翻转混匀 6-8 次;
3. 每支加入 20μl 的二甲基亚砷(用以提高转化效率);
4. 42℃水浴 15min, 每 5min 轻轻翻转混匀 6-8 次;
5. 12000rpm 瞬时离心弃上清, 每支加入 1ml 的 YPD Plus (或 YPDA) 于 30℃复苏 1h (用以提高转化效率);

6. 12000rpm 瞬时离心弃上清，用 100μl 0.9% NaCl 重悬，涂板，30℃培养 48-96h。

注 意 事 项

1. PEG 在低温下易析出，请在常温下完全溶解后使用。

2. 同时转化 2-3 种质粒时可增加质粒的用量。

3. Y2HGold 酵母菌株对高温敏感，最适生长温度为 27-30℃；高于 31℃，生长速度和转化效率呈指数下降。

4. 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，然而，Y2HGold 的 ADE2 基因被破坏，Adenine 合成途径受阻；又由于其 ADE4,5,6,7,8 基因均正常，所以造成中间产物 P-ribosylamino imidazole (AIR) 在细胞中积累而使菌落变为粉红色。

5. 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，以转化涂板为例：涂 YPDA 平板 29℃，48h 培养可见直径 1mm 克隆；涂 SD 单缺平板 29℃，48-60h 培养可见直径 1mm 克隆，涂 SD 双缺平板 29℃，60-80h 培养可见直径 1mm 克隆，涂 SD 三缺或四缺平板 29℃，80-90h 培养可见直径 1mm 克隆。