



EGY48 感受态细胞

EGY48 Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1605

版本号: 2018-10-30

| 感受态组成 | 保存 | 规格 |
|-----------------------------------|---------------|--------------|
| EGY48 Chemically Competent Cell | -80°C (3 个月) | 20 支 × 100μl |
| pGBKT7 (control vector, 10 ng/μl) | -80°C (12 个月) | 10μl |
| Carrier DNA (5 μg/μl) | -20°C (12 个月) | 100μl × 2 |
| PEG/LiAC | 4°C (12 个月) | 5ml × 2 |

产品介绍:

本公司生产的 EGY48 感受态细胞经特殊工艺制作, 可用于 DNA 的化学转化, 经 pGBKT7 质粒检测转化效率高达 10^4 cfu/μg DNA, -80°C 可保存三个月。

基因型为: MATα, ura3, his3, trp1, LexAop(x6)-LEU2

产品特点:

EGY48 菌株是 Clontech 公司开发的 LexA 系统酵母双杂实验用菌株, MATα 型, 可直接转化质粒进行蛋白互作验证或筛库试验; Transformation marker 为: his3, trp1, ura3, 报告基因为: LEU2; 报告基因 UAS (上游激活序列) 来源于 LexA op(x6), 只有当 Bait 和 Prey 互动时才能启动 LEU2 表达。EGY48-LexA 酵母双杂系统需要三种质粒配套使用: pLexA、pB42AD、p8op-LacZ。质粒 pLexA 的筛选标志为 HIS3 用于表达 DNA-BD (来自原核的 202 个氨基酸残基组成的 LexA 蛋白) 与目标蛋白 (Bait) 的融合蛋白; 质粒 pB42AD 的筛选标志为 TRP1, 用于表达 AD (来自疱疹病毒的 88 个氨基酸残基组成的 B42AD 蛋白) 与目标蛋白 (Prey) 的融合蛋白; 报告质粒 p8op-LacZ 的筛选标志为 URA3, 报告基因为 LacZ, 报告基因 UAS 来源于 LexA op(x6), 只有当 Bait 和 Prey 互动时才能启动 LacZ 表达。

操作方法:

1. 取 100μl 冰上融化的 EGY48 感受态细胞, 依次加入预冷的目的质粒 2-5μg, Carrier DNA (95-100°C 5min, 快速冰浴, 重复一次) 10μl, PEG/LiAc 500μl 并吸打几次混匀, 30°C 水浴 30min (15min 时翻转 6-8 次混匀)。
2. 将管放 42°C 水浴 15min (7.5 min 时翻转 6-8 次混匀)。
3. 5000rpm 离心 40s 弃上清, ddH₂O 400μl 重悬, 离心 30s 弃上清。
4. ddH₂O 50μl 重悬, 涂板, 29°C 培养 48-96h。

注意事项:

1. 感受态细胞最好在冰上融化。
2. 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
3. 同时转化 2-3 种质粒时可增加质粒的用量。
4. EGY48 酵母菌株对高温敏感, 最适生长温度为 27-30°C; 高于 31°C, 生长速度和转化效率呈指数下降。
5. 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, 有些菌株的 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



ZOMANBIO

本产品仅供科研使用. 请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

P-ribosylamino imidazole (AIR) 在细胞中积累而使菌落变为粉红色。

6. 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°C, 48 h 培养可见直径 1mm 克隆; 涂 SD 单缺平板 29°C, 48-60h 培养可见直径 1mm 克隆, 涂 SD 双缺平板 29°C, 60-80h 培养可见直径 1mm 克隆, 涂 SD 三缺或四缺平板 29°C, 80-90h 培养可见直径 1mm 克隆。

ZOMANBIO