



Y1HGold 感受态细胞

Y1HGold Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1601

感受态组成	保存	ZC1601-1	ZC1601-2
Y1HGold Chemically Competent Cell	-80°C (3 个月)	10 支 ×100μl	20 支 ×100μl
pGADT7* (control vector, 10 ng/μl)	-80°C (12 个月)	10μl	10μl
Carrier DNA (10 μg/μl)	-20°C (12 个月)	100μl	100μl ×2
PEG/LiAC	-20°C (12 个月)	5ml	5ml ×2

* 注: pGADT7 非空载, 仅用于质量控制。

产品介绍:

本公司生产的 Y1HGold 感受态细胞经特殊工艺制作, 可用于 DNA 的化学转化, 经 pGADT7 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: MAT α , ura3-52, his3-200, ade2-101, trp1-901, leu2-3, 112, gal4 Δ , gal80 Δ , met-, MEL1

产品特点:

Y1HGold 菌株是 Clontech 公司开发的 GAL4-AbA 酵母单杂系统用菌株, MAT α 型, 可直接转化质粒进行筛库试验。Transformation marker 为: ura3, leu2; 报告基因为: AbAr。Y1HGold-GAL4-AbA 酵母单杂系统需要两种质粒配套使用: pAbAi 和 PGADT7。质粒 pAbAi 的筛选标志为 URA, 用于表达 pBait-AbAi construct (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(GAL4 C 端 768~881 位氨基酸) 与目标蛋白 (Prey) 的融合蛋白。GAL4-AbA 酵母单杂系统原理: Aureobasidin A (AbA) 是一种环酯肽抗生素, 在低浓度 (0.1-0.2 μg/ml) 下即可对酵母产生毒性。基因组中整合了 pBait-AbAi 的酵母菌株 (Bait-Reporter Yeast Strains), 当猎物蛋白 (Prey) 结合到诱饵序列 (Bait DNA) 上, GAL4 AD 就会激活 AbAr 的表达, 从而能够在含有抗生素 AbA 的培养基上生长。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。

操作方法:

1. 取 pBait-AbAi 质粒 5μg, BstBI 或 BbsI 酶切 1 小时, 回收。
2. 取 100μl 冰上融化的 Y1HGold 感受态细胞, 依次加入预冷的线性 pBait-AbAi 质粒 1-5μg (体积不高于 15 μl), 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)。
* 备注: Carrier DNA 加入请提前变性处理: 95-100°C 5min, 快速冰浴, 重复一次。置于冰浴 5min 之内使用。
3. 将管放 42°C 水浴 15min (7.5min 时翻转 6-8 次混匀)。
4. 5000rpm 离心 40s 弃上清, ddH₂O 400μl 重悬, 离心 30s 弃上清。
5. ddH₂O 50μl 重悬, 涂 SD/-Ura 平板, 29°C 培养 72h。
6. 挑取 5-10 个克隆, 用 PCR 方法确定 pBait-AbAi 整合到 Y1HGold 基因组中, PCR 阳性菌株在 SD/-Ura 平板划线, 29°C 培养 72h, 4°C 保存, 此菌株即是 Y1HGold[Bait/AbAi] 菌株。



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。

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. Y1HGold 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。
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 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℃，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℃，60-80 h 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。

ZOMANBIO