



EGY48(p8op-lacz) 感受态细胞

EGY48(p8op-lacz) Chemically Competent Cell

Cat.NO. ZC1624

感受态组成	保存	ZC1624-1
EGY48(p8op-lacz) Chemically Competent Cell	-80°C (3 个月)	100μl × 10 支
Carrier DNA (10 μg/μl)	-20°C (12 个月)	50μl
PEG/LiAC	-20°C (12 个月)	5ml

产品介绍:

本公司生产的 EGY48(p8op-lacz) 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。

产品特点:

EGY48(p8op-lacz) 菌株是 LexA 系统酵母双杂实验用菌株, MAT α 型, 可直接转化质粒验证蛋白互作或筛库; 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 LexAop(x6), 只有当 Bait 和 Prey 互作时才能启动 LEU2 表达。EGY48-LexA 系统有三种配套质粒: pLexA, pB42AD, p8op-LacZ。质粒 pLexA 筛选标志为 HIS3, 用于表达 DNA-BD 与目标蛋白 (Bait) 的融合蛋白; 质粒 pB42AD 筛选标志为 TRP1, 用于表达 AD 与目标蛋白 (Prey) 的融合蛋白; 报告质粒 p8op-LacZ 筛选标志为 URA3, 报告基因为 LacZ, 报告基因 UAS 来源于 LexAop(x6), 只有当 Bait 和 Prey 互作时才能启动 LacZ 表达。

操作方法:

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 5μl, 100μl 冰上融化的 EGY48(p8op-lacz) 感受态细胞, PEG/LiAc 500μl, 轻轻翻转混匀 6-8 次;
2. 30°C 水浴 30min, 每 15min 轻轻翻转混匀 6-8 次;
3. 42°C 水浴 15min, 每 7.5min 轻轻翻转混匀 6-8 次;
4. 12000rpm 瞬时离心弃上清, 用 100μl 0.9% NaCl 或 ddH₂O 重悬, 涂板, 30°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 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, 48h 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, 60-80 h 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 1 mm 克隆。