

AH109 酵母感受态细胞说明书

产品规格 (Cat.Y0019)

AH109 Chemically Competent Cell	100 μ l/支	-80 $^{\circ}$ C (3个月)
Carrier DNA (10 μ g/ μ l)	10 μ l/支	-20 $^{\circ}$ C (12个月)
PEG/LiAC	6.5ml	4 $^{\circ}$ C (12个月)

基因型:

MATa, trp1-901, leu2-3, 112, ura3-52, his3-200, gal4 Δ , gal80 Δ , LYS2::GAL1UAS-GAL1TATA-HIS3, MEL1 GAL2UAS-GAL2TATA-ADE2, URA3::MEL1UAS-MEL1TATA-lacZ

产品简介:

AH109 是由 Clontech 公司开发, 基于酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 的 MATa 型菌株, 是 GAL4 系统酵母双杂交实验的经典菌株, 源自 PJ69-2A 并新增 lacZ 报告基因, 常与 MAT α 型的 Y187 菌株配对 mating 进行蛋白互作筛选 / 验证。Transformation marker 为: trp1、leu2。报告基因为: lacZ, HIS3, ADE2, MEL1。AH109-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 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 与目标蛋白 (Prey)的融合蛋白。AH109 有四个报告基因: lacZ、HIS3、ADE2、MEL1。AH109 感受态细胞经 pGADT7 质粒 (7988bp, AmpR) 检测转化效率 >104 cfu/ μ g DNA。

使用方法:

1. Carrier DNA 的预处理: 将 Carrier DNA 插入 95 $^{\circ}$ C 金属浴 5 min 或插入浮漂中 95 $^{\circ}$ C 水浴 5min, 加热后快速插入冰中。
2. 取 100 μ l 冰上融化的 AH109 感受态细胞, 依次加入预冷的目的质粒 2-5 μ g, 预处理后的 Carrier DNA 10 μ l, PEG/LiAc 640 μ l 并吸打几次混匀, 30 $^{\circ}$ C 水浴摇床 60min。
3. 将管放 42 $^{\circ}$ C 水浴 17 min, 冰浴 5min, 5000rpm 离心 5min。
4. 弃上清, 加 1ml YPD 重悬, 30 $^{\circ}$ C 恒温摇床 1h。
5. 5000rpm 离心 5min 去上清, 1ml 无菌水洗 2 次, 离心去上清。
6. 加 100 μ l 无菌水重悬, 涂相应缺陷型平板。30 $^{\circ}$ C 培养 3-4 天。

注意事项:

1. 初次使用 Carrier DNA, 请把装有 Carrier DNA 的管子在沸水中煮沸 5 min, 然后立即放在冰上, 用后放在 -20 $^{\circ}$ C 储存备用。下次使用前请于冰上解冻 Carrier DNA。反复冻融 3-5 次后需重新变性 Carrier DNA。
2. 感受态细胞最好在冰上融化。
3. 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
4. 酿酒酵母对温度敏感, 适宜的生长温度是 28 $^{\circ}$ C-30 $^{\circ}$ C, 温度超过 31 $^{\circ}$ C 影响酵母生长。
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。