

## EGY48 酵母感受态细胞说明书

### 产品规格 (Cat.Y0023)

EGY48 Chemically Competent Cell	100 $\mu$ l/支	-80 $^{\circ}$ C (3 个月)
Carrier DNA (10 $\mu$ g/ $\mu$ l)	10 $\mu$ l/支	-20 $^{\circ}$ C (12 个月)
PEG/LiAC	6.5ml	4 $^{\circ}$ C (12 个月)

### 基因型:

MAT  $\alpha$  , ura3, his3, trp1, LexAop (x6)-LEU2

### 产品简介:

EGY48 是酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) MAT $\alpha$  单倍体菌株, 专为 LexA 异源系统酵母双杂交设计, 核心用于核内可溶性蛋白互作的筛选与验证, 以 LEU2 为主要营养报告基因, 可搭配 lacZ 显色报告实现双重确证。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 互作时才能启动 LEU2 的表达。EGY48 感受态细胞经 pGBKT7 质粒 (7303bp, KanR) 检测转化效率 >10<sup>4</sup> cfu/ $\mu$ 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  $\mu$ l 冰上融化的 EGY48 感受态细胞, 依次加入预冷的目的质粒 2-5  $\mu$ g, 预处理后的 Carrier DNA 10  $\mu$ l, PEG/LiAc 640  $\mu$ 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 $\mu$ 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。