

克
必
隆
系
列

CAT#:140387-10
干冰运输、-80℃保存

TIANDZ

酵母 EGY48 化学感受态细胞

EGY48 Chemical Competent Cell

使用手册 V1.1

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506
网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

<p>产品及特点</p>	<p>EGY48 菌株是 LexA 系统酵母双杂实验用菌株, MATa 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 互作时才能启动 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(x8), 只有当 Bait 和 Prey 互作时才能启动 LacZ 表达。</p> <p>EGY48感受态细胞是实验室常用酵母双杂用菌株, 本产品经特殊工艺制作而成, 经 PGBKT7质粒检测转化效率为 10^4 cfu/μg DNA。</p> <p>菌株基因型如下: <i>MATa, ura3, his3, trp1, LexAop_(x6)-LEU2</i></p>																		
<p>规格及成分</p>		<table border="1"> <thead> <tr> <th>成分</th> <th>编号</th> <th>包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>EGY48 感受态细胞</td> <td>140387A</td> <td>0.1 mL \times 10</td> </tr> <tr> <td>Carrier DNA, 5 μg/μL</td> <td>140387B</td> <td>100 μL</td> </tr> <tr> <td>PEG/liAC</td> <td>140387C</td> <td>5 mL</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td colspan="2">1 份</td> </tr> </tbody> </table>	成分	编号	包装	EGY48 感受态细胞	140387A	0.1 mL \times 10	Carrier DNA, 5 μ g/ μ L	140387B	100 μ L	PEG/liAC	140387C	5 mL	使用手册	1 份			
成分	编号	包装																	
EGY48 感受态细胞	140387A	0.1 mL \times 10																	
Carrier DNA, 5 μ g/ μ L	140387B	100 μ L																	
PEG/liAC	140387C	5 mL																	
使用手册	1 份																		
<p>运输及保存</p>	<p>感受态细胞干冰运输、-80$^{\circ}$C保存, Carrier DNA -20$^{\circ}$C保存; PEG/liAC 4$^{\circ}$C保存; 有效期半年。</p>																		
<p>自备试剂</p>	<p>目的 DNA、YPDA、SD 培养基等</p>																		
<p>使用方法</p>	<ol style="list-style-type: none"> 取感受态细胞置于冰浴中。一次转化感受态细胞的建议用量为 50-100μL, 可以根据实际情况分装使用。 以下实验以 100 μL 感受态细胞为例。 待感受态细胞融化后, 向感受态细胞悬液中依次加入预冷的目的质粒 2-5μg, Carrier DNA (95-100$^{\circ}$C 5 分钟, 快速冰浴, 重复一次) 10μL, PEG/LiAc 500μL, 吹打混匀, 30$^{\circ}$C水浴 30 分钟 (15 分钟时翻转 6-8 次混匀)。 42$^{\circ}$C水浴 15 分钟 (7.5 分钟时翻转 6-8 次混匀)。 5000 rpm 离心 40 秒, 弃上清。取 400μL ddH₂O 重悬沉淀, 5000rpm 离心 30 秒, 弃上清。 取 50μL ddH₂O 重悬沉淀, 涂板, 29$^{\circ}$C培养 48-96 小时。 <p>注意:</p> <ol style="list-style-type: none"> EGY48 酵母菌株对高温敏感, 最适生长温度为 27-30$^{\circ}$C; 高于 31$^{\circ}$C, 生长速度和转 																		

	<p>化效率呈指数下降。</p> <p>2. 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℃，60-80h 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。</p> <p>3. 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。</p> <p>4. 同时转化 2-3 种质粒时可增加质粒的用量。</p>
<p>关联产品</p>	<p>AH109 酵母感受态细胞 (CAT#: 140386)</p>