

## Y2HGold 感受态说明书

### 产品规格 (PG1029)

Y2HGold:	100 $\mu$ l $\times$ 10 支/50 支	保存: -80 $^{\circ}$ C (12 个月)
Carrier DNA (10 $\mu$ g/ $\mu$ l)	50 $\mu$ l /250 $\mu$ l	保存: -20 $^{\circ}$ C (12 个月)
PEG/LiAC:	5ml/25ml	保存: RT (12 个月)

### 产品说明

Y2HGold 菌株是 GAL4 系统酵母双杂实验用菌株, MAT $\alpha$  型, 可直接转化质粒或与 MAT $\alpha$ 型酵母菌株 Y187 通过 mating 操作进行蛋白互作验证或筛库试验。Y2HGold 有四个报告基因: AbAr, HIS3, ADE2, MEL1, 分别由三种不同的启动子 (G1, G2, M1)启动, 这三种启动子只有 GAL4 识别的 17 bp 核心区相同, 其余部分均不同, 大大降低了酵母双杂假阳性发生的概率。此外新报告基因 AbAr 与以前的营养缺陷报告基因相比具有更低背景的优点, 也可以降低酵母双杂假阳性发生的概率。Y2HGold 感受态细胞经特殊工艺制作, -80 $^{\circ}$ C 可保存 12 个月, pGADT7 质粒检测转化效率 $>10^4$ cfu/ $\mu$ g DNA。

## 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 1-3 $\mu$ g，Carrier DNA 5 $\mu$ l，100 $\mu$ l 冰上融化的感受态细胞，PEG/LiAc 500 $\mu$ l，轻轻翻转混匀 6-8 次；
2. 30 $^{\circ}$ C 水浴 30min，每 15min 轻轻翻转混匀 6-8 次；
3. 42 $^{\circ}$ 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 100 $\mu$ l 0.9% NaCl 或 ddH<sub>2</sub>O 重悬，涂板，30 $^{\circ}$ C 培养 48-96h。

## 注意事项

1. 使用 Carrier DNA 前，请把装有 Carrier DNA 的管子在沸水中煮沸 5min，然后立即放在冰上，用后放在-20 $^{\circ}$ C 储存备用。
2. PEG 溶液在低温环境下会析出，请于常温下完全溶解后使用。
3. 增加质粒用量或 YPD plus 复苏 1h 能够提高转化效率。
4. 转化全程要无菌操作。
5. 12000rpm 瞬时离心指离心速度升到 12000rpm 时立即停止离心。