

Y187 感受态说明书

产品规格 (PG1030)

Y187:	100 μ l \times 10 支/50 支	保存: -80 $^{\circ}$ C (12 个月)
Carrier DNA (10 μ g/ μ l)	50 μ l /250 μ l	保存: -20 $^{\circ}$ C (12 个月)
PEG/LiAC:	5ml/25ml	保存: RT (12 个月)

产品说明

Y187 菌株是 GAL4 系统酵母单杂, 双杂实验用菌株, MAT α 型, 可直接转化质粒或与 MATa 型酵母菌株 (Y2HGold, AH109 等) 通过 mating 操作进行筛库试验。Transformation marker 为: trp1, leu2, 报告基因为: lacZ, MEL1。Y187 有两个报告基因: lacZ, MEL1, 分别由两种不同的启动子 (G1, M1) 启动, 这两种启动子只有 GAL4 识别的 17bp 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。Y187 感受态细胞经特殊工艺制作, pGADT7 质粒检测转化效率 $>10^4$ cfu/ μ 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 μ g，Carrier DNA 5 μ l，100 μ l 冰上融化的 Y187 感受态细胞，PEG/LiAc 500 μ 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 μ l 0.9% NaCl 或 ddH₂O 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. 转化全程要无菌操作。
4. 12000rpm 瞬时离心指离心速度升到 12000rpm 时立即停止离心。