CAT#: GZ080386-10

酿酒酵母 AH109 化学感受态细胞

AH109 Chemically Competent Cell

使用手册 V1.0

北生京泽（启东）生物科技有限公司
江苏省南通市启东市启东经济开发区林洋路 500 号
网址：www.bsgeneze.com；电话：40001-59600

产品及特点

本公司生产的 AH109 感受态细胞经特殊工艺制作，可用于 DNA 的化学转化，经 pGADT7 质粒检测转化效率高达 10cfu/μg DNA。

基因型为:MATa，trp1-901， leu2-3， 112， ura3-52， his3-200， gal4s，gal80Δ， LYS2::GAL1UAS-GAL1TATA-HIS3， MEL1 GAL2UAS-GAL2TATA-ADE2，URA3::MEL1UAS-MEL1TATA-lacZ。

AH109 菌株来源于 PJ69-2A 酵母菌株，将 lacZ 报告基因引入 PJ69-2A 诞生了 AH109，此菌株是 Clontech 公司开发的 GAL4 系统酵母双杂实验用菌株，MATa 型，可直接转化质粒或与 MATa 型酵母菌株 Y187 通过 mating 操作进行蛋白互作验证或筛库试验。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(来自酵母转录因子 GAL4N 端 1-174 位氨基酸)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(GAL4 C 端 768~881 位氨基酸)与目标蛋白(Prey)的融合蛋白。GAL4 系统原理：一个完整的酵母转录因子 GAL4 可分为功能上相互独立的两个结构域：位于 N 端 1~174 位氨基酸区段的 DNA 结合域(DNA-BD)和位于 C 端 768~881 位氨基酸区段的转录激活域(AD)。DNA-BD 能够识别 GAL4-responsive gene 的上游激活序列 UAS，并与之结合。而 AD 可以启动 UAS 下游的基因进行转录。BD 和 AD 单独存在不能激活转录，但当二者接近时，则呈现完整的 GAL4 活性，使含有 UAS 的启动子下游基因转录表达。正常条件下，BD 不与 AD 结合，将要检测的蛋白质分别与 BD 和 AD 融合，形成 bait 融合蛋白(bait -BD)和 prey 融合蛋白(prey-AD)，如果 bait 和 prey 发生相互作用，就会促使 BD 和 AD 的相互接近，形成完整的 GAL4，从而激活报告基因的转录。AH109 有四个报告基因：lacZ，HIS3，ADE2，MEL1，分别由三种不同的启动子(GAL1，GAL2，MEL1)启动，这三种启动子只有 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。

成分规格

产品组成	GZ080386-10
酿酒酵母 AH109 化学感受态细胞	10×100μl

pGADT7 (control vector,10 ng/ul)	10μl
Carrier DNA (10 μg/ul)	100μl
PEG/LiAC	5ml

注:pGADT7 非空载，仅用于质量控制。

保存条件

酿酒酵母 AH109 化学感受态细胞-80℃可保存 3 个月，pGADT7 -80℃可保存 12 个月，Carrier DNA 和 PEG/LiAC -20℃可保存 12 个月。

使用方法

1.取 100μl 冰上融化的 AH109 感受态细胞，依次加入预冷的目的质粒 2-5μg，Carrier DNA(95-100℃ 5 min，快速冰浴，重复一次)10μl，PEG/LiAc 500μl 并吸打几次混匀，30℃水浴 30min(15min 时翻转 6-8 次混匀)。

备注：Carrier DNA 加入请提前变性处理：95-100℃ 5min，快速冰浴，重复一次。置于冰浴 5min 之内使用。

2.将管放 42℃水浴 15min(7.5min 时翻转 6-8 次混匀)。

3.5000rpm 离心 40s 弃上清，ddH_2O 400μl 重悬，离心 30s 弃上清。

4.ddH_2O 50μl 重悬，涂板，29℃培养 48-96h。

注意事项

- 感受态细胞最好在冰上融化。
- 转化高浓度的质粒可相应减少最终用于涂板的菌量。
- 同时转化 2-3 种质粒时可增加质粒的用量。
- AH109 酵母菌株对高温敏感最适生长温度为 27-30C；高于 31℃生长速度和转化效率呈指数下降。
- 菌落变粉不是污染，是酵母细胞生长中一个常见现象。当细胞在平板培养几天后，平板上的 Adenine 被酵母消耗完毕，酵母试图通过自身代谢途径合成 Adenine 以供利用，然而，有些菌株的 ADE2 基因被破坏，Adenine 合成途径受阻;又由于其 ADE4，5，6，7，8 基因均正常，所以造成中间产物 P-ribosylamino imidazole(AIR)在细胞中积累而使菌落变为粉红色。
- 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 29C，60-80h 培养可见真径 1mm 克降，涂 SD 三缺或四缺平板平板 29℃，80-90h 培养可见直径 1mm 克隆。

关联产品：

产品编号	产品名称
GZ010107-50	MaxEndoFree 无内毒素质粒小提试剂盒
GZ040601-50	核蛋白和胞浆蛋白提取试剂盒
GZ070104	6×Loading Buffer
GZ070105	50×TAE
GZ070106	10×TBE
GZ070101-500	GeneRed 核酸染料
GZ070102-500	Geneblue 核酸染料
GZ040701	5×变性蛋白上样缓冲液

关注京泽微信公众号
了解更多产品资讯