

## Yeast Two-Hybrid Media Kit 使用说明书

**产品编号:** YM2000 (序号 1-8), YM2001 (序号 1-10)

**储存温度:** 序号 1-8 常温保存, 序号 9 需-20°C储存, 蓝冰运输;

序号 10 需 2-8°C储存。

**产品组成:** (0.5 L/pouch)

序号	组分编号	产品组成	规格 (1 Set)
1	PM2011	YPDA Broth	2 pouches
2	PM2021	YPDA with Agar	1 pouch
3	PM2201	SD/-Leu Broth	1 pouch
4	PM2202	SD/-Leu with Agar	1 pouch
5	PM2251	SD/-Trp Broth	1 pouch
6	PM2252	SD/-Trp with Agar	1 pouch
7	PM2222	SD/-Leu/-Trp with Agar	10 pouches
8	PM2112	SD/-Ade/-His/-Leu/-Trp with Agar	1 pouch
<b>9</b>	<b>CX11922</b>	<b>X-<math>\alpha</math>-gal</b>	<b>250mg</b>
<b>10</b>	<b>CA2332</b>	<b>Aureobasidin A</b>	<b>1mg</b>
-	-	说明书	1 份

### 产品说明:

Yeast Two-Hybrid Media Kit (YM2000 酵母双杂培养基套装试剂盒) 包含酵母双杂交文库筛选中所需要的全部培养基。整套购买, 性价比更高。培养基以非常方便使用的铝箔袋形式包装, 每个独立包装可以配制 0.5 L 的培养基。使用时仅需要将袋中的所有干粉倒入三角瓶或培养瓶中, 加入 0.5 L 的 ddH<sub>2</sub>O, 然后 121°C 灭菌 15 分钟即可。无需称量和调整 pH 值。

Yeast Media Set 2 Plus Kit (YM2001) 在 Yeast Two-Hybrid Media Kit (YM2000) 基础上增加了 1 mg Aureobasidin A (1 mg/ml, 甲醇溶液) 和 250 mg 的 X- $\alpha$ -Gal。

## 使用方法:

### Rich Liquid Media (Broth)

1. 序号1产品 YPDA 每袋干粉倒入三角瓶或培养瓶中，加0.5 L 的去离子水中溶解。
2. 如有必要，调 pH 至6.5。121°C高压灭菌十五分钟。
3. 避光、室温条件下储存灭菌培养基备用。

### Rich Plating Media with Agar

1. 序号2产品 YPDA with Agar 每袋干粉倒入三角瓶中，加0.5 L 的去离子水中溶解（琼脂高压灭菌后溶解）。
2. 如有必要，调 pH 至6.5。121°C高压灭菌15分钟。
3. 冷却到50°C把培养基倒入平板中，室温使其凝固。封口膜封好后倒置保存在4°C冰箱备用。

### Minimal Liquid Media

1. 序号 3、序号 5 产品，每袋干粉倒入三角瓶或培养瓶中，加 0.5 L 的去离子水，搅拌溶解。
2. 如有必要，调节 pH 至5.8。121°C高压灭菌15分钟。
3. 4°C冰箱避光储存已经灭菌的液体培养基。

### Minimal Plating Media with Agar

1. 序号4、6、7、8产品，每袋干粉倒入三角瓶中，加0.5 L 的去离子水，搅拌溶解（琼脂高温灭菌后溶解）。
2. 如有必要，调节 pH 至5.8。121°C高压灭菌15分钟。
3. 冷却到50°C把培养基倒入平板中，室温使其凝固。封口膜封好后倒置保存在4°C冰箱。

## X-a-gal 的使用方法:

### （一）涂布于预制平板:

1. 储存液配制：溶解24 mg X- $\alpha$ -gal 于6 mL DMF，终浓度为4 mg/mL。
2. 涂布200  $\mu$ l（15 cm） 或者100  $\mu$ l（10 cm） X- $\alpha$ -gal 储存液于预制平板上。
3. 置于37 °C培养箱至液体被吸收（DMF 挥发性低，最长可放4小时）。
4. 将转化细菌或酵母涂于平板上，于37 °C或30 °C培养直至蓝色菌斑出现。

### （二）直接加入培养基中:

1. 储存液配制：溶解60 mg X- $\alpha$ -gal 于3 mL DMF，终浓度为20 mg/mL。
2. 将已灭菌固体培养基冷却至50-55 °C。
3. 加入 2-10 ml X- $\alpha$ -Gal 储存液，混匀，快速倒平板。

## AbA 的使用方法:

1. 本品为 AbA 的甲醇溶液，浓度为 1 mg/ml，直接用作储存液。

2. 灭菌后 YPDA Agar 培养基 (PM2021) 冷却至 50-55 °C, 加入适量的 AbA 储液, 倒板备用。(AbA 工作浓度取决于宿主细胞的敏感度, 见下表)
3. 制备酵母感受态细胞并完成转化, 参考 SK2400, SK2401。
4. 把 100  $\mu$ l 完成转化酵母细胞悬液涂到含有适量 AbA 的 YPDA Agar 培养基平板上, 30°C 培养 2-4 天。
5. 挑取克隆鉴定, 或统计转化效率。

菌株		MIC ( $\mu$ g/ml)
<i>S.cerevisiae</i>	ATCC9763 (diploid)	0.2-0.4
	Baker's yeast (diploid)	0.2-0.4
	Beer yeast (triploid or tetraploid)	0.1
	SH3328 (haploid)	0.1
	Shochu yeast (diploid)	0.1
	Sake yeast (diploid)	0.1-0.2
<i>C.albicans</i>	TIMM-0136 (diploid)	0.04
<i>C.tropicalis</i>	TIMM-0324 (diploid)	0.08
<i>Schizo.pombe</i>	JY-745 (monoploid)	0.1