

Yeast Three-Hybrid Media Kit(点对点验证) 使用说明书

产品编号: YM3000 (序号 1-6), YM3001 (序号 1-8)

储存温度: 序号 1-6 常温保存, 序号 7-8 需-20℃储存, 蓝冰运输。

产品组分说明:

- 1: 产品组分设计针对于已知蛋白验证性实验, 如需要筛库, 部分筛选培养基需求量大, 可单独购买。
- 2: 产品组分设计转化方案是共转, 简化培养基使用种类和操作流程。
- 3: 如需要分步转化, 单独检测自激活, 培养基略有不同, 可在购买前跟本公司协商调换试剂盒培养基成分。
- 4: 酵母三杂针对于 Bridge 蛋白互作, 实验一般很顺畅, 对于 Inhibitor/blocker 蛋白互作, 实验常常会遇到问题。

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	1 pouch
2	PM2322	SD/-Met with Agar	1 pouch
3	PM2212	SD/-Leu/-Met/-Trp with Agar	2 pouches
4	PM2142	SD/-His/-Leu/-Met/-Trp with Agar	1 pouch
5	PM2352	SD/-Ade/-His/-Leu/-Met/-Trp with Agar	2 pouches
6	PM2112	SD/-Ade/-His/-Leu/-Trp with Agar	1 pouch
7	SL0930	2.5M 3-AT 溶液(过滤除菌)	5mL
8	SL0940	X- α -gal 溶液 (20mg/ml, 过滤除菌)	1mL
-	-	说明书	1 份

使用说明:

Yeast Three-Hybrid Media Kit (YM3000 酵母三杂培养基套装) 包含酵母三杂验证性实验所需要的全部培养基。整套销售, 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 ddH₂O, 然后 121℃灭

菌 15 分钟即可。无需称量和调整 pH 值。

Yeast Three-Hybrid Media Kit Plus (YM3001) 在 Yeast Three-Hybrid Media Kit (YM3000) 基础上增加了 3-AT (用于自激活抑制) 和 X- α -gal (互作蓝白斑显色验证)。

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。

Minimal Plating Media with Agar

1. 序号2-6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。

3-AT 的使用方法:

1. 计算所需平板的数量, 计算配置培养基体积;
2. 设置3-AT 的浓度梯度(建议设置10-50mM 的浓度梯度, 常见浓度约30mM);
3. 灭菌筛选培养基, 待培养基冷却到55°C左右, 加入3-AT 母液, 摇匀后倒板;
4. 标记每个平板的3-AT 浓度, 超净台冷却凝固后, 将转化或培养物涂板;
5. 28-30°C培养 3-5天。

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- α -gal 于6 mL DMF, 终浓度为4 mg/mL。
2. 涂布200 μ l (15 cm) 或者100 μ l (10 cm) X- α -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- α -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- α -Gal 储存液, 混匀, 快速倒平板。

酵母三杂筛库流程参考:

