

# Yeast Media 使用说明书

## (第二版)

储存条件: 2-8℃

运输温度: 常温运输

产品内容:

产品组成	产品编号
对应下表 Yeast Media 品名	对应下表产品编号
说明书	1 份

酵母培养基的配制:

### (1) Rich Liquid Media (Broth)

1. 取50克 YPD 或者 YPDA (添加了硫酸腺嘌呤) 加1升去离子水, 溶解。
2. 调 pH 至6.5。121℃高压灭菌十五分钟。
3. 避光、室温条件下储存灭菌培养基。

### (2) Rich Plating Media with Agar

1. 取70克 YPD Agar 或者 YPDA Agar (添加了硫酸腺嘌呤) 加1升去离子水, 溶解 (琼脂在高压灭菌过程中溶解)。
2. 调 pH 至6.5。121℃高压灭菌15分钟。
3. 冷却到50℃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℃冰箱。

### (3) Minimal Liquid Media with Glucose (Broth)

1. 根据下表, 在 1 L 去离子水中加入相应量的 Minimal SD Base Medium (SD 培养基) 和 Dropout Supplements (缺陷型氨基酸混合物), 搅拌溶解。
2. 用氢氧化钠溶液调 pH 至5.8。121℃高压灭菌15分钟。
3. 4℃冰箱避光储存已经灭菌的液体培养基。

### (4) Minimal Liquid Media without Glucose (Broth)

1. 根据下表在900 ml 去离子水中加入相应量的 YNB (SC 培养基) 和 Dropout Supplements (缺陷型氨基酸混合物), 搅拌溶解。
2. 用氢氧化钠溶液调 pH 至5.8。121℃高压灭菌15分钟。
3. 4℃冰箱避光储存已经灭菌的液体培养基。
4. 使用前加入100 ml 已过滤除菌的20%葡萄糖溶液, 混匀。

注：SC 培养基是不含葡萄糖的 Minimal Media，亦即 YNB。葡萄糖高温灭菌会有碳化现象，控制好灭菌温度和时间，葡萄糖的微量碳化对实验影响并不大。没有特别要求一般建议用 Minimal SD + Dropout Supplements。

#### (5) Minimal Plating Media with Glucose and Agar

1. 根据下表，在500 ml 去离子水中加入相应量 Minimal SD Base Medium (SD 培养基) 和 Dropout Supplements (缺陷型氨基酸混合物) 及琼脂粉 (20g/L)，搅拌溶解 (琼脂在高温灭菌过程中溶解)。
2. 用氢氧化钠溶液调 pH 至5.8。121℃高压灭菌15分钟。
3. 冷却到50℃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℃冰箱。

#### 注意事项：

1. Minimal Media 灭菌前务必调 pH 至5.8。
2. GAL1启动子诱导表达要选用 Minimal SD Agar Base Gal/Raf 培养基。
3. 在配制酵母缺陷培养基时，建议 Minimal SD + Dropout Supplements (缺陷型氨基酸混合物) (做平板时需加 Agar) 同时灭菌，虽然 Minimal SD 中的葡萄糖在灭菌时会有炭化变色现象，培养基变为浅黄到深褐色不等，对酵母的生长不会产生严重影响。
4. 若实验要求不能出现糖的炭化现象，也可选择 SC Media + Dropout Supplements (缺陷型氨基酸混合物)，在灭菌后加入过滤除菌的葡萄糖 (货号 SL6450)
5. Minimal SD Agar Base Gal/Raf 培养基高温高压下可能对诱导效果产生抑止，尤其是在做表达调节介导的功能互补实验需特别注意！

#### 常见问题：

##### 1. 如果诱饵蛋白对酵母细胞是有毒的，该怎么办？

在某些情况下，在液体培养基中培养不好的菌珠可以在固体培养基上生长得很好。首先重悬克隆于1ml 的 SD/ - Trp，接着将重悬液平铺于5 个100mm 的 SD/ - Trp 平板，在30℃下温浴，直至平板上的克隆相互粘在一起。用5ml 0.5 × YPDA 刮下每块板上的克隆，并收集到一管中，这样就可以使用这个细胞重悬液进行正常的杂交反应。

##### 2. 如果诱饵蛋白能直接激活报告基因的表达，该如何处理？

该蛋白很可能有转录激活域，是个转录因子。可以通过基因重组切掉转录激活域，然后重新检测其是否自激活，但要注意重组也有可能破坏蛋白之间的互作。

##### 3. 转化效率太低怎么办？

- 1) 检测一下 DNA 的纯度，如果可以的话，重新用乙醇纯化。
- 2) DNA-BD/诱饵蛋白很可能是有毒的。
- 3) 不适当的培养基，重新配制培养基，并做对照转化。
- 4) 检测 pGBT9对照载体的转化效率，放置于 SD/ - Trp 平板上，转化效率应该在  $1 \times 10^5$  colonies/mg DNA 以上。

##### 4. 杂交效率不高，该如何处理？

在杂交中，预转化的诱饵细胞的数量可能不够。当对诱饵菌株进行液体培养过夜时，应挑选大的、新鲜的克隆进行培养，经过离心和重悬后，再使用血球计对细胞进行计数。密度应该在  $1 \times 10^9$ /ml。

一个甚至两个融合蛋白对酵母细胞有毒。你可以通过重组方法来减轻毒性，同时又能保证蛋白的相互作用。或者使用表达水平较低的载体。也可以在琼脂平板或滤膜上进行杂交。但同时必须作杂交对照实验。

Type	Yeast Media	Cat. No.	g/L	Application
Rich Media	YPD Medium	MF2010-250g/500g	50	菌种活化 扩增 Mating
	YPDA Medium	MF2011-250g/500g	50	
	YPD Agar Medium	MF2020-350g/700g	70	
	YPDA Agar Medium	MF2021-350g/700g	70	
SC Media	Yeast Nitrogen Base/ YNB (without AA)	MF2070-100g/ 500g/5kg	6.7	无氨基酵母 氮源
SC + Glucose	Minimal SD Base	MF2030-267g	26.7	配制缺陷培 养基的基础 成分(碳源、 氮源及微量 元素)
SC+Glucose with Agar	Minimal SD Agar Base	MF2040-467g	46.7	
SC + Gal/Raf	Minimal SD Base Gal/Raf	MF2050-185g	37	
SC+Gal/Raf with Agar	Minimal SD Agar Base Gal/Raf	MF2060-270g	54	
Total Supplements	Total Yeast Culture AA Premixed Powder	MF2100-10g/100g	1.31	全组分补充 氨基酸
Single Dropout Supplements (SDO/单缺)	DO Supplement -His	MF2120-10g	1.29	单质粒酵母 转化筛选, 外源基因表 达、异源基 因功能互 补、酵母单 杂交系统和 双杂交系统 初始质粒转 化。
	DO Supplement -Leu	MF2200-10g	1.29	
	DO Supplement -Trp	MF2250-10g	1.29	
	DO Supplement -Ura	MF2270-10g	1.29	
SC + SDO	SC/-His Broth	MF2123-5L	8	单质粒酵母 转化筛选, 外源基因表 达、异源基 因功能互 补、酵母单 杂交系统和 双杂交系统 初始质粒转 化。
	SC/-Leu Broth	MF2203-5L	8	
	SC/-Trp Broth	MF2253-5L	8	
	SC/-Ura Broth	MF2273-5L	8	
Minimal SD+ SDO	SD/-His Broth	MF2121-5L	28	单质粒酵母 转化筛选, 外源基因表 达、异源基 因功能互 补、酵母单 杂交系统和 双杂交系统 初始质粒转 化。
	SD/-Leu Broth	MF2201-5L	28	
	SD/-Trp Broth	MF2251-5L	28	
	SD/-Ura Broth	MF2271-5L	28	
Minimal SD + SDO with Agar	SD/-His with Agar	MF2122-10×0.5L	-	单质粒酵母 转化筛选, 外源基因表 达、异源基 因功能互 补、酵母单 杂交系统和 双杂交系统 初始质粒转 化。
	SD/-Leu with Agar	MF2202-10×0.5L	-	

Type	Yeast Media	Cat. No.	g/L	Application
Minimal SD + SDO with Agar	SD/-Trp with Agar	MF2252-10×0.5L	-	同上
	SD/-Ura with Agar	MF2272-10×0.5L	-	
Double Dropout Supplements (DDO/二缺)	DO Supplement -His/-Leu	MF2130-10g	1.19	双质粒酵母转 化筛选, 外源基 因表达、异源基 因功能互补、酵 母单杂交系统 和双杂交系统 初始质粒转化 免疫共沉淀, Y187 和 AH109 酵母交配实验, 接合型二倍体 筛选。
	DO Supplement -His/-Ura	MF2190-10g	1.27	
	DO Supplement -Leu/-Trp	MF2220-10g	1.19	
	DO Supplement -Met/-Trp	MF2240-10g	1.27	
	DO Supplement -Trp/-Ura	MF2260-10g	1.27	
	DO Supplement -Trp/-His	MF2280-10g	1.27	
	DO Supplement -Ura/-Leu	MF2290-10g	1.19	
	DO Supplement -Trp/-Ade	MF2310-10g	1.28	
SC + DDO	SC/-His/-Leu Broth	MF2133-5L	8	双质粒酵母转 化筛选, 外源基 因表达、异源基 因功能互补、酵 母单杂交系统 和双杂交系统 初始质粒转化 免疫共沉淀, Y187 和 AH109 酵母交配实验, 接合型二倍体 筛选。
	SC/-His/-Ura Broth	MF2193-5L	8	
	SC/-Leu/-Trp Broth	MF2223-5L	8	
	SC/-Met/-Trp Broth	MF2243-5L	8	
	SC/-Trp/-Ade Broth	MF2313-5L	8	
	SC/-Trp/-His Broth	MF2283-5L	8	
	SC/-Trp/-Ura Broth	MF2263-5L	8	
	SC/-Ura/-Leu Broth	MF2293-5L	8	
Minimal SD + DDO	SD/-His/-Leu Broth	MF2131-5L	28	双质粒酵母转 化筛选, 外源基 因表达、异源基 因功能互补、酵 母单杂交系统 和双杂交系统 初始质粒转化 免疫共沉淀, Y187 和 AH109 酵母交配实验, 接合型二倍体 筛选。
	SD/-His/-Ura Broth	MF2191-5L	28	
	SD/-Leu/-Trp Broth	MF2221-5L	28	
	SD/-Met/-Trp Broth	MF2241-5L	28	
	SD/-Trp/-Ade Broth	MF2311-5L	28	
	SD/-Trp/-His Broth	MF2281-5L	28	
	SD/-Trp/-Ura Broth	MF2261-5L	28	
	SD/-Ura/-Leu Broth	MF2291-5L	28	



Type	Yeast Media	Cat. No.	g/L	Application
Minimal SD + DDO with Agar	SD/-His/-Leu with Agar	MF2132-10×0.5L	-	同上
	SD/-His/-Ura with Agar	MF2192-10×0.5L	-	
	SD/-Leu/-Trp with Agar	MF2222-10×0.5L	-	
	SD/-Met/-Trp with Agar	MF2242-10×0.5L	-	
	SD/-Trp/-Ade with Agar	MF2312-10×0.5L	-	
	SD/-Trp/-His with Agar	MF2282-10×0.5L	-	
	SD/-Trp/-Ura with Agar	MF2262-10×0.5L	-	
	SD/-Ura/-Leu with Agar	MF2292-10×0.5L	-	
Triple Dropout Supplements (TDO/三缺)	DO Supplement -His/-Leu/-Trp	MF2150-10g	1.17	双质粒酵母转化筛选和报告基因检测, 外源基因表达、异源基因功能互补、酵母单杂交系统和双杂交系统报告基因检测 Y187 和 AH109 酵母交配实验后报告基因分析 (His3,Ade2)。
	DO Supplement -His/-Leu/-Ura	MF2170-10g	1.17	
	DO Supplement -His/-Trp/-Ura	MF2180-10g	1.25	
	DO Supplement -Leu/-Met/-Trp	MF2210-10g	1.17	
	DO Supplement -Leu/-Trp/-Ura	MF2230-10g	1.17	
	DO Supplement -Trp/-His/-Ade	MF2300-10g	1.25	
SC + TDO	SC/-His/-Leu/-Trp Broth	MF2153-5L	8	
	SC/-His/-Leu/-Ura Broth	MF2173-5L	8	
	SC/-His/-Trp/-Ura Broth	MF2183-5L	8	
	SC/-Leu/-Met/-Trp Broth	MF2213-5L	8	
	SC/-Leu/-Trp/-Ura Broth	MF2233-5L	8	
	SC/-Trp/-His/-Ade Broth	MF2303-5L	8	
Minimal SD + TDO	SD/-His/-Leu/-Trp Broth	MF2151-5L	28	
	SD/-His/-Leu/-Ura Broth	MF2171-5L	28	
	SD/-His/-Trp/-Ura Broth	MF2181-5L	28	
	SD/-Leu/-Met/-Trp Broth	MF2211-5L	28	
	SD/-Leu/-Trp/-Ura Broth	MF2231-5L	28	
	SD/-Trp/-His/-Ade Broth	MF2301-5L	28	

Type	Yeast Media	Cat. No.	g/L	Application
Minimal SD + TDO with Agar	SD/-His/-Leu/-Trp with Agar	MF2152-10×0.5L	-	同上
	SD/-His/-Leu/-Ura with Agar	MF2172-10×0.5L	-	
	SD/-His/-Trp/-Ura with Agar	MF2182-10×0.5L	-	
	SD/-Leu/-Met/-Trp with Agar	MF2212-10×0.5L	-	
	SD/-Leu/-Trp/-Ura with Agar	MF2232-10×0.5L	-	
	SD/-Trp/-His/-Ade with Agar	MF2302-10×0.5L	-	
Quadruple Dropout Supplements (QDO/四缺)	DO Supplement -Ade/-His/-Leu/-Trp	MF2110-10g	1.15	报告基因分析, 酵母双杂交系统和酵母三杂交系统报告基因检测、Y187 和 AH10。
	DO Supplement -His/-Leu/-Met/-Trp	MF2140-10g	1.15	
	DO Supplement -His/-Leu/-Trp/-Ura	MF2160-10g	1.15	
SC + QDO	SC/-Ade/-His/-Leu/-Trp Broth	MF2113-5L	8	
	SC/-His/-Leu/-Met/-Trp Broth	MF2143-5L	8	
	SC/-His/-Leu/-Trp/-Ura Broth	MF2163-5L	8	
Minimal SD + QDO	SD/-Ade/-His/-Leu/-Trp Broth	MF2111-5L	28	
	SD/-His/-Leu/-Met/-Trp Broth	MF2141-5L	28	
	SD/-His/-Leu/-Trp/-Ura Broth	MF2161-5L	28	
Minimal SD + QDO with Agar	SD/-Ade/-His/-Leu/-Trp with Agar	MF2112-10×0.5L	-	
	SD/-His/-Leu/-Met/-Trp with Agar	MF2142-10×0.5L	-	
	SD/-His/-Leu/-Trp/-Ura with Agar	MF2162-10×0.5L	-	
Other Reagents	新型快速酵母转化试剂盒	MF2390-20T	-	转化
	酵母转化试剂盒	MF2400-200T	-	
	酵母质粒提取试剂盒	MF2410-50T	-	酵母质粒提取
	酵母阳性克隆快速检测试剂盒	MF2420-20T/200T	-	鉴定阳性克隆
	硫酸腺嘌呤/Adenine Sulfate	MF1231-10g/100g	-	补充 Ade
	3-AT(3-氨基-1,2,4-三唑)	MF2316-5g/25g	-	抑制假阳性克隆
	X-α-gal	MF2315-25mg/100mg	-	酵母显色反应
	金担子素 A/AbA/Aureobasidin A	MF2314-1mg/5×1mg	-	阳性克隆筛选