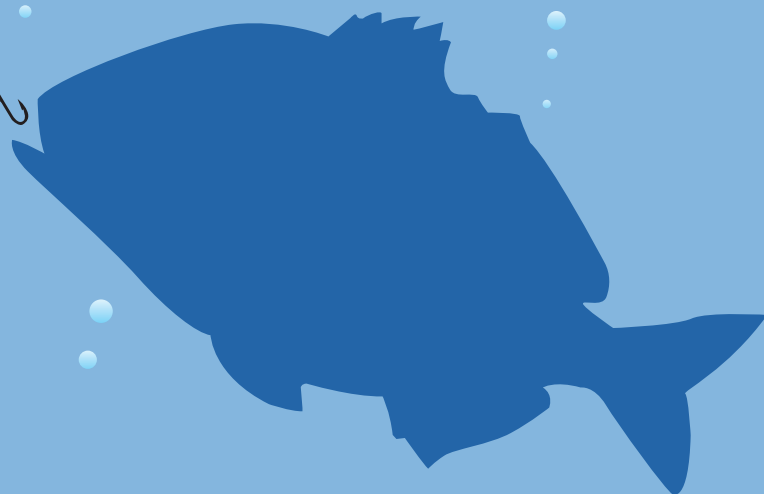


蛋白质相互作用研究指南



原理篇：三大原理轻松掌握

流程篇：酵母双杂交完整实验流程及相关制品简介

答疑篇：解密酵母双杂交实验常见问题及应对方法

案例分享篇：应用领域高分文章分享

酵母单杂交技术：酵母单杂交流程及相关制品简介

相关制品：Matchmaker Gold 制品介绍

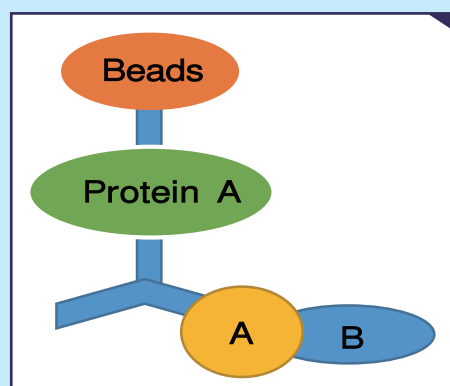


蛋白质互作原理简介

蛋白质是生命活动的主要承担者和执行者，细胞内的生理变化都是通过蛋白质来实现的。蛋白质-蛋白质相互作用（protein-protein interaction, PPI）是指两个或两个以上的蛋白质分子通过非共价键形成蛋白质复合体（protein complex）的过程。PPI构成了细胞生化反应网络的一个主要组成部分，在很多生命活动中发挥着重要作用。因此，PPI是理解生命活动的基础。

免疫共沉淀技术原理简介

免疫共沉淀（Co-Immunoprecipitation, Co-IP），是以抗体和抗原之间的专一性作用为基础，用于确定两种蛋白质在完整细胞内生理性相互作用的有效方法。当细胞在非变性条件下被裂解时，细胞内存在的许多蛋白质-蛋白质间的相互作用被保留了下来。传统的Co-IP方法通常是用能够与琼脂糖珠上偶联的protein A特异性结合的抗体免疫沉淀A蛋白质，那么与A蛋白质在体内结合的蛋白质B也能一起沉淀下来，以此来验证预测的蛋白质是否具有相互作用。



酵母杂交系统原理简介

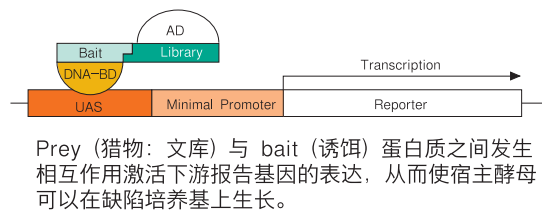
酵母杂交系统是利用酵母转录因子GAL4的特性来进行蛋白质相互作用分析的系统。

在酵母双杂交系统中，GAL4 DNA-BD（DNA结合域）与bait(诱饵)融合表达，GAL4 AD（转录激活域）与prey（猎物：文库）融合表达。

bait和prey之间的相互作用可以使GAL4重新具有转录活性，从而可以激活下游报告基因的表达。利用选择培养基进行筛选即可获得具有报告基因活性的克隆，从而分析蛋白质之间的相互作用。

在酵母单杂交系统中，GAL4 AD与prey蛋白质融合表达，prey与bait DNA序列（目的DNA序列）之间的相互作用可以激活下游报告基因的表达，从而使宿主酵母可以在缺陷培养基上生长。

□ Two-Hybrid 相互作用分析简介



Prey (猎物：文库) 与 bait (诱饵) 蛋白质之间发生相互作用激活下游报告基因的表达，从而使宿主酵母可以在缺陷培养基上生长。

Step1

文库构建

A. Normalized Mate & Plate Library 预制文库

Code No. 630480/83/85-87

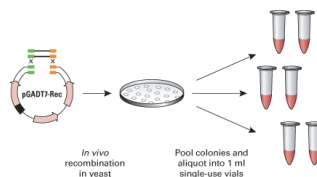
- 为蛋白质互作中的文库筛选提供简便方法
- 筛选更少的克隆，检测更多的互作
- 通用型文库——更高的基因代表性
- 筛选不再大海捞针

该系列产品构建在酵母菌株Y187中的cDNA文库，可以直接用于双杂筛选实验，所以使用时更加省时省力。均一化处理降低了文库中高丰度的转录本，低丰度及稀少的cDNA得以富集，这样的文库更加具有基因代表性，也使筛选操作更加简单，并大大降低了在筛选文库时获得假阳性的可能性。

B. Make Your Own “Mate & Plate” Library System

Code No. 630490

- 利用SMART技术在酵母中直接构建文库
- 无需繁琐的克隆或文库扩增
- 足够用于数百次的双杂交筛选



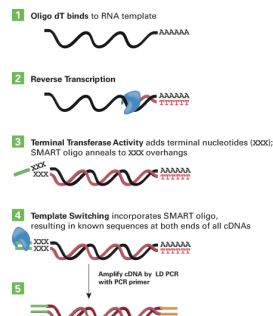
用于酵母菌株Y187中构建cDNA文库。利用SMART技术合成cDNA，在酵母菌株Y187中通过同源重组短时间内即可构建高质量的prey文库。

DIY文库步骤：

通过SMART技术合成cDNA，合成的cDNA两端带有与线性化载体末端同源的序列，将cDNA与线性化载体共转化到酵母菌株Y187中，菌株自身通过同源重组的能力将cDNA与载体连接起来，接下来在缺少亮氨酸的培养基上进行筛选。最后用含有25%甘油的YPDA液体培养基对平板上生长的菌落进行收集和分装，分装成1 ml每管的菌液，-80℃保存。

SMART技术小课堂

SMART技术利用了MMLV 酶(Moloney murine leukemia virus) 的末端转移酶活性和模板转换机制，合成的一链cDNA序列末端含有已知的通用引物结合位点。因此，SMART一链cDNA可以通过PCR进行扩增，然后与具有末端同源序列的Matchmaker Gold猎物载体pGADT7-Rec进行重组。



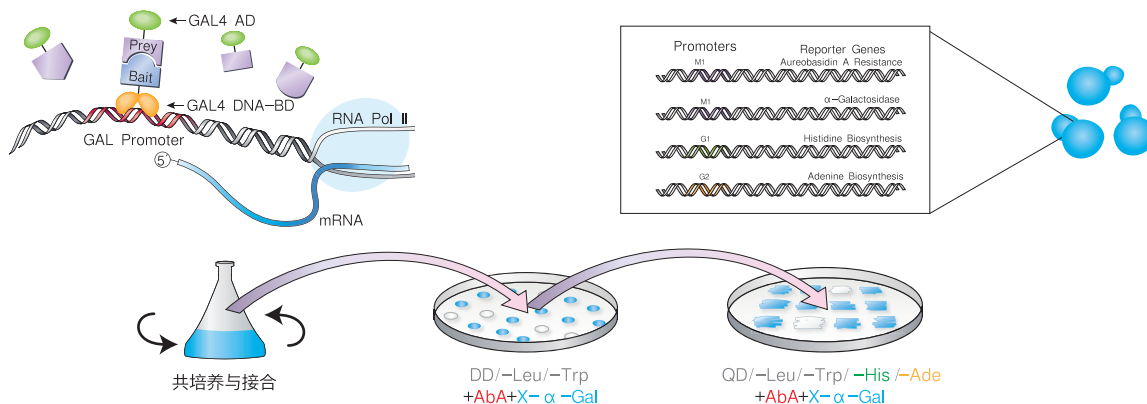
Step2 高效筛选

Matchmaker® Gold Yeast Two-Hybrid System

Code No. 630489

- 为蛋白质互作中的文库筛选提供简便方法

- 筛选更少的克隆，检测更多的互作



文库筛选步骤

1. 构建诱饵蛋白质 (bait) 载体

将已知蛋白质序列克隆到BD载体上，之后将克隆好的载体转化到Y2HGold菌株中，菌液涂布到单缺色氨基酸的培养基上进行筛选。

2. 诱饵蛋白质的自激活和毒性检测

自激活：如果诱饵载体 (bait) 是真核转录因子，有可能在不需要与猎物蛋白 (prey) 互作的情况下就可以激活酵母报告基因的表达，这就是自激活。

自激活检测：

初步自激活检测需要使用两个报告基因，AbA抗生素抗性筛选基因和以X-α-Gal为底物的蓝白斑筛选报告基因，可以直接通过菌落生长不生长、变不变蓝来判断诱饵蛋白质是否有自激活现象。如果转化后的Y2H Gold菌株在含有AbA和X-α-gal并单缺色氨基酸的培养基上可以生长且变成蓝色，需要对这种现象进行进一步的分析。一方面可以将变蓝的克隆挑起重新划线获得单克隆，如果单克隆依旧变蓝，且蓝色和阳性对照一样为深蓝色（菌株铺板过密时也会有蓝色现象产生），说明诱饵蛋白质具有自激活活性；另一方面调整AbA的浓度，如果含有高浓度AbA的培养基中菌株不再生长，说明诱饵蛋白质没有自激活活性。如果您的诱饵蛋白质有自激活活性，您依然可以进行酵母双杂交，不过首先需要去除转录激活域。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。但是要注意重组也有可能破坏蛋白之间的互作。

温馨提示：自激活检测是一定要做的，如果没有进行自激活检测，而诱饵蛋白质恰巧有自激活活性，那么在筛选之后获得的变蓝的阳性克隆子就无法判定是否由于蛋白质互作启动的报告基因表达，从而影响实验结果！

蛋白质-蛋白质相互作用：酵母双杂交技术

毒性检测（可选做）：

如果诱饵蛋白质在酵母中表达时对酵母细胞有毒性作用，酵母菌在培养基中生长将变得缓慢（与pGBKT7空载体相比）。这样可能需要将pGBKT7更换为表达水平较低的载体（例如pGBT9）。

3. 文库筛选

确认诱饵蛋白质没有自激活活性和毒性后就可以进行文库筛选了，将Y2H Gold bait菌株与prey文库（Mate & Plate Library或在Y187中自制的文库）接合共培养后，首先使用两种报告基因进行第一次筛选（表达AUR1-C基因可以在含有AbA的培养基上生长，表达MEL1基因可以分解X- α -Gal使克隆显蓝色）。接下来通过4个报告基因进行筛选，可以获得可靠性更高的阳性克隆。在第一次筛选过程中，利用AbA的AUR1-C基因，可以大大减少阳性克隆的出现几率。

Tips: 酵母转化试剂盒

Yeastmaker™ Yeast Transformation System 2（文库级别）

Code No. 630439

- YPD Plus培养基采用特别配方，有助于酵母细胞从热击中复苏。
- 优化的Carrier DNA可以保护转化的目的质粒和DNA不受到降解。

Quick & Easy Yeast Transformation Mix（小规模转化）

Code No. 631851

- 简便快速的操作方法：*S. cerevisiae* 的转化只需1.5 h；*P. pastoris* 的转化只需30 min
- 无需制备感受态酵母细胞

Step3

PCR初步验证阳性克隆子(可选做)

Matchmaker® Insert Check PCR Mix 2

Code No. 630497

- 简便快速——直接以酵母菌落为模板进行PCR扩增
- 完整的预混液——包含引物，dNTPs和缓冲液，只需要加入细胞即可
- 引物也可以单独购买

Matchmaker Insert Check PCR Mix 2是2X预混液，可以简便快速地直接以酵母菌落为模板进行PCR扩增。这种完整的混合液专用于Matchmaker Gold 酵母单杂交和双杂交筛选系统，可以快速地扩增、分选并分析文库筛选所获得的阳性克隆中prey/文库质粒的cDNA插入片段。Matchmaker Insert Check PCR Mix 2包含PCR聚合酶、引物、dNTPs和缓冲液，仅仅需要将细胞添加到混合液中，然后进行30个循环PCR操作。

Step4

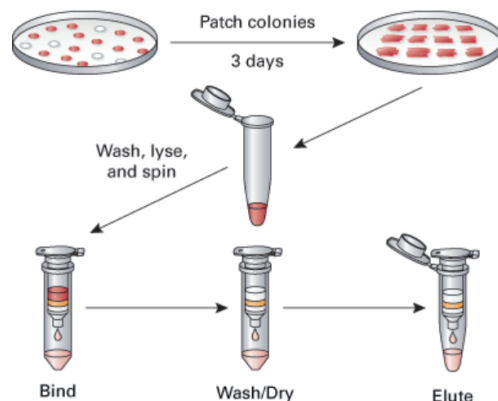
酵母质粒提取

Easy Yeast Plasmid Isolation Kit

Code No. 630467

- 用纯化柱法提取酵母质粒
- 包含高效的裂解酶
- 用较少的时间纯化DNA

Easy Yeast Plasmid Isolation Kit为 *S. cerevisiae* 质粒DNA的提取提供了简单高效的方法。利用细胞裂解酶破碎酵母细胞壁，并用SDS/碱裂解法获得酵母原生质体。采用Yeast Plasmid SPIN纯化柱纯化质粒DNA，然后转化大肠杆菌进行扩繁，或作为模板用于PCR分析。

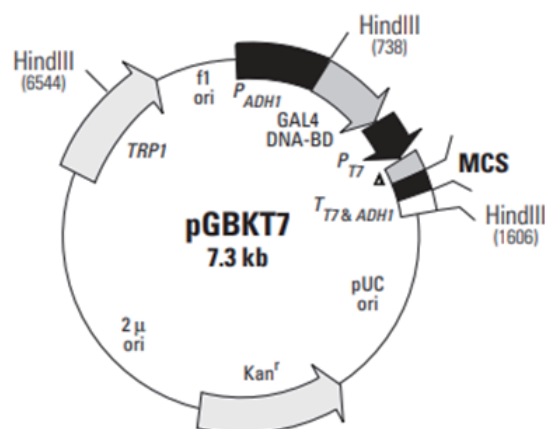
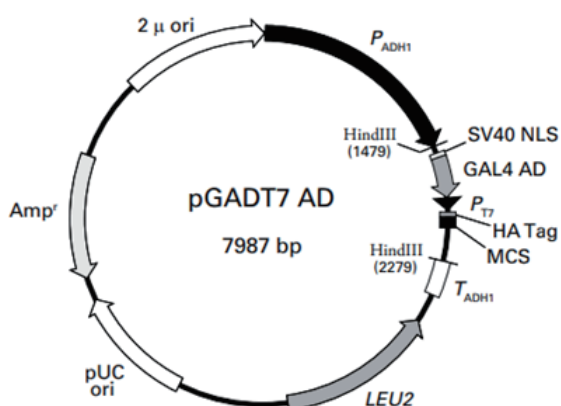


Step5

质粒分离、筛选、测序

LB/AMP+

Matchmaker Gold酵母双杂交系统的BD载体带有卡那抗性，而AD载体带有氨苄抗性，利用这两个载体的抗生素抗性不同可以实现质粒的分离，将提取的质粒转化到大肠杆菌DH5 α中，之后涂布在加了氨苄的LB平板上进行筛选，对生长出的大肠杆菌直接送出测序，通过检索Genbank确定哪一段蛋白质和已知蛋白质发生了相互作用。



Step6

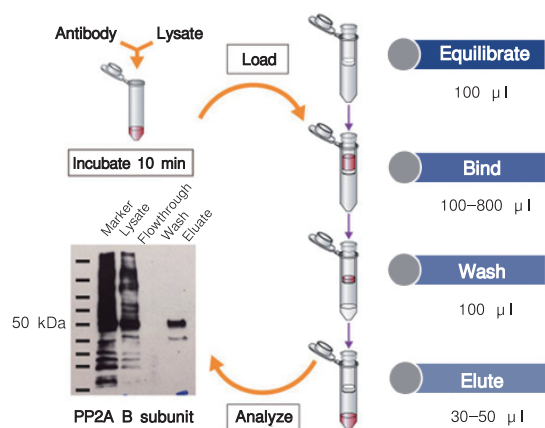
互作验证

A. Capturem™ IP & Co-IP Kit

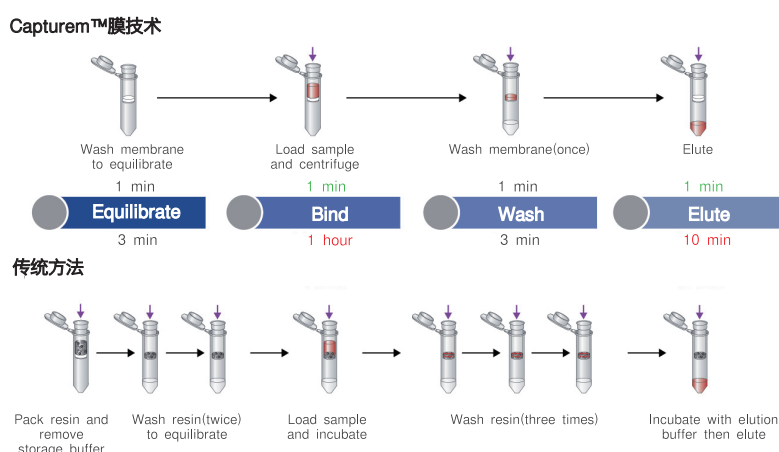
Code No. 635721

- 简单和快速的实验流程：抗体与样品孵育，之后在室温下进行的纯化仅需5 min
- 完整的解决方案：kit中包含用于IP和Co-IP实验的Capturem Protein A纯化柱和buffer，且均经过优化
- 高浓度：洗脱液体积小，产物浓度高
- 高质量：样品在膜上停留时间短，避免复合物的凝集、解体或失活
- 通用性强：兼容宽泛的IP buffer和实验条件
- 一次性使用：基于新型膜技术的一次性离心柱，能避免污染

◆ 快速纯化流程



◆ 与传统方法纯化流程对比



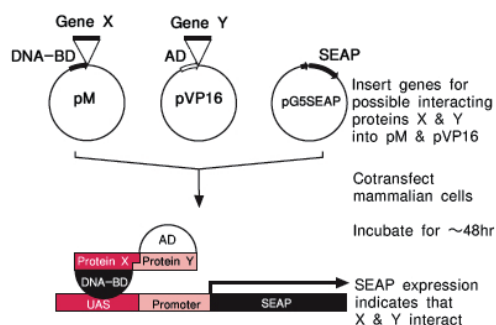
Takara的两款技术先进型产品Matchmaker® Gold酵母双杂交系统和Capturem™ IP & Co-IP kit，在发挥各自优势的同时又协同互补，为研究蛋白质相互作用提供了文库级别的筛选和快速验证的可靠解决方案。其中Matchmaker® Gold酵母双杂交系统，可以初步筛选出互作蛋白质候选目标；另一款Co-IP产品采用了特别的Capturem™ 技术，区别于传统的Co-IP方法，将protein A作为配基固定在膜上，仅通过简单的离心操作就可以在室温条件下获得抗体-互作蛋白质复合物，从而使免疫共沉淀实验纯化部分的操作时间从传统的数小时减少到5分钟左右，使互作蛋白质验证试验的效率显著提高。

B. Matchmaker® Mammalian Assay Kit 2

Code No. 630305

- 在哺乳动物细胞内简便迅速地分析蛋白质之间的互作
- 分泌型的SEAP报告子避免了细胞裂解的繁琐操作
- 分析结果更加真实

Matchmaker Mammalian Two-Hybrid Assay Kit 2 可以快速简便的分析在哺乳动物细胞内表达的蛋白质之间的相互作用，试剂盒采用分泌型的报告子SEAP检测感兴趣的两个蛋白质之间的互作，避免了裂解细胞的操作。



问题 1 为什么要使用酵母表达系统来进行蛋白质互作研究？

答： 酵母可以提供一个体内真核系统，同时又兼具原核细菌系统的可操作性强、简单易用的优点。在酵母体内表达的蛋白质可以正确的折叠；提供中性pH内部环境；可以形成二硫键和其他真核系统共有的翻译后修饰。这些特点对于维持天然蛋白结构获得真实的蛋白质互作关系至关重要。同时，酵母可操作性强，并且已进行全基因组测序。利用同源重组可以很方便地直接在酵母中构建文库。

问题 2 用于酵母双杂交筛选的bait蛋白质有什么要求？

答： Bait蛋白质应该是核蛋白质或胞浆蛋白质；分泌型蛋白质不能用作bait；通常来讲，bait不能带有跨膜结构域；bait和prey的互作不能依赖于糖基化，这是由于酵母翻译后修饰不包括糖基化；bait与GAL4 BD域融合表达后可以正确的折叠；bait不能激活酵母中转录报告基因的表达（即不能有自激活活性）。

问题 3 可以用于酵母双杂交实验的bait多大比较合适？

答： 以经验来看，bait不宜过大，过大的外源性融合蛋白在酵母中不稳定，我们推荐bait不超过100 kD，或bait载体的DNA插入片段不超过3 kb。大多数情况下，bait的设计依赖于经验，很难确定bait的效果会如何。酵母杂交中插入片段的N端与147个氨基酸的GAL4 BD融合表达，这可能会影响蛋白折叠，以及插入的结构域能否进行蛋白质互作。比较大的bait可能会引起非特异性互作而提高背景，推荐使用较小的、特异的bait进行酵母双杂交实验。小至8个氨基酸，大至750个氨基酸的蛋白都已经被成功用于酵母双杂交研究。

问题 4 做酵母mating实验的最佳时间是多久？需要注意什么？

答： 酵母mating实验一般需要20–24小时。我们推荐通过检测到显微镜下的三叶草结构作为酵母接合反应成功的根据，一般的酵母接合效率为2–5%左右。
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，提高杂交效率。进行mating实验时，需要低速摇菌30–50 rpm条件下培养，20 h后显微镜下观察是否有接合反应发生，若没有继续培养4 h。

问题 5 酵母双杂交可以用两种质粒共转化一个菌株进行蛋白相互作用的筛选吗，与接合反应相比较哪个效果好？

答： 可以将两种质粒共转化Y2H Gold菌株进行蛋白相互作用的筛选，但这种方式的实验操作转化效率不好控制，稳定性不好。利用酵母菌有性生殖的过程，采用两种不同类型的菌株（Y187和Y2H Gold），通过它们之间的有性接合反应进行筛选，筛选方式很科学，假阳性率低。

问题 6 使用Matchmaker系统做酵母双杂交，转化效率很低（没有做对照实验），这是什么原因？

答： 建议先做对照实验；DNA质量一定要高，可以用乙醇再次纯化；DMSO和Carrier DNA质量要高，最好是新鲜的，Carrier DNA在转化之前最好用沸水变性；SD培养基pH值应调为5.8，YPDA应调为6.5。重新配制培养基，检测对照的转化效率；可能是BD载体翻译出来的融合蛋白质对酵母菌有毒性。

问题 7 酵母文库可以反复冻融使用吗？

答： 一般来说，保存于25%甘油的酵母菌株在每次解冻后会丢失10%的活力细胞。因此，大多数冻存的酵母在融化温度不超过室温而且操作小心的条件下，最多可容忍10次冻融。有两个例外情况请注意：预制的酵母文库和酵母感受态细胞。为筛选到基因覆盖度最广的文库，预制的酵母文库一旦解冻，就必须立即使用且不要重新冻存。同样，为得到最高转化效率，酵母感受态细胞应该立即使用且避免冻存。

问题 8 什么是均一化处理，为什么要进行均一化处理？

答： 均一化文库是指某一特定组织或细胞的所有表达基因均包含其中,且在cDNA文库中表达基因对应的cDNA的拷贝数相等或接近。

在均一化cDNA文库中，高丰度基因与低丰度基因均衡，这就避免了在筛选的过程中由于基因组本身基因丰度的高低而影响到筛选概率的问题，因此这样的文库具有更高的基因代表性。使用双链特异性核酸酶 (Duplex-Specific Nuclease, DSN)，降解杂交过程中形成的双链DNA。高丰度的基因形成双链的速度较快，所以降解也比较多，从而达到均一化的目的。

问题 9 可以采用X-Gal而不是X-Alpha-Gal进行Matchmaker Gold系统蓝白斑筛选吗？

答： 不可以，X-Gal与X-Alpha-Gal不同。X-Gal是 *E.coli* β -半乳糖苷酶 (LacZ) 的反应底物，而X-Alpha-Gal是酵母 α -半乳糖苷酶 (Mel1p) 的反应底物。X-Alpha-Gal在Matchmaker Gold系统中用作蓝白斑筛选的底物，在蛋白质互作激活mel1基因表达后，酵母细胞可以分泌表达Mel1p。

问题10 在两缺培养基上长出墨绿色的菌落，是否正常？

答：

正常情况下在添加了X- α -gal的双缺平板上如果有蓝色的菌落长出，说明研究的两个蛋白间有阳性的相互作用，如果菌落是白色的说明研究的两个蛋白没有相互作用。出现墨绿色的菌落是一种比较少见的现象，也认为是阳性作用，出现这种颜色上的差异，可能是受酵母代谢产物的影响。对于这种情况，建议在双缺的平板上挑取单菌落，在四缺平板上划线，通过多次划线的方式进一步确定蛋白间的阳性相互作用。

问题11 培养基颜色发黑，是什么原因造成的？

答：

灭菌时温度过高，培养基碳化会导致颜色发黑，需要保证在121℃，15 min高压条件下灭菌。

问题12 为什么酵母菌在培养基上培养有时会变成粉红色或红色？

答：

ADE2或ADE1菌株在低含量腺嘌呤培养基上生长时，嘌呤前体积累造成菌株变红。Takara的YPDA培养基采用优化后的培养基配方，可以在很大程度上避免色素的积累。

问题13 固体培养基不凝固，是什么原因造成的？

答：

琼脂添加量正确的情况下，培养基不凝固可能是由于灭菌时间过长和pH值偏低造成的。部分地区的水质偏酸，这种情况下，建议调整SD基本培养基的pH值至5.8，YPDA培养基的pH值至6.5，在121℃的条件下，15 min高压灭菌。

问题14 用酵母双杂交系统验证有明确报道的有相互作用的蛋白间的作用，结果出现假阴性，一个星期之后还是看不到蓝色菌落，原因是什么？

答：

检测不到阳性结果可能存在以下原因：一、研究的存在相互作用的蛋白是跨膜蛋白或分泌到胞外的蛋白，如果存在这种情况，需要将跨膜区或者信号肽序列都去除，因为酵母双杂交系统验证蛋白相互作用是在核内进行的；二、杂交的蛋白在宿主细胞中表达不稳定，GAL4融合区域堵塞了相互作用的位点，杂交蛋白在酵母体内进行了不正确的折叠都会影响到两个蛋白相互作用的验证；三、有研究表明，有些存在弱相互作用的蛋白最长半个月以后才可以看到阳性结果。建议在进行酵母双杂交实验之前对相关的蛋白特性进行分析，或者重复实验进行试验结果的验证。

植物篇

A fungal effector targets a heat shock–dynamin protein complex to modulate mitochondrial dynamics and reduce plant immunity.

期刊名称: Science advances

影响因子: 14.13

为了更好地理解OsDjA9在水稻抗性中的作用，寻找与OsDjA9相互作用的水稻蛋白质。本篇文章的作者使用**Matchmaker gold Y2H system (Takara)**进行酵母双杂交研究，发现OsDjA9与OsDRP1E之间具有相互作用。并且通过体内免疫共沉淀（Co-IP）和LCI分析证实了该结论。最终得出结论：DnaJ蛋白OsDjA9与动力蛋白相关蛋白OsDRP1E相互作用，促进在线粒体分裂中起作用的OsDRP1E的降解。真菌病原体稻瘟病菌的效应子MoCDIP4以线粒体相关的OsDjA9–OsDRP1E蛋白复合物为靶点，以降低水稻免疫力。

动物篇

Necdin regulates BMAL1 stability and circadian clock through SGT1–HSP90 chaperone machinery.

期刊名称: Nucleic acids research

影响因子: 16.97

哺乳动物生物钟蛋白成熟的机制尚不清楚，为了研究导致Prader–Willi syndrome (PWS) 的基因之一necdin影响昼夜节律的潜在机制，本文作者以小鼠necdin为诱饵蛋白质，在**a mouse embryo 11–day library (Takara)**文库进行酵母双杂交筛选，从而确定了生物钟的核心成分BMAL1和辅助伴侣SGT1与necdin蛋白具有相互作用。BMAL1和SGT1分别与necdin蛋白的N端和C端片段相关。并最终确定PWS相关蛋白necdin是一种新的昼夜节律调节器，进一步强调了伴侣机制在昼夜节律调节中的关键作用。

微生物篇

DNA polymerase D temporarily connects primase to the CMG–like helicase before interacting with proliferating cell nuclear antigen.

期刊名称: Nucleic acids research

影响因子: 16.97

本文作者使用**Matchmaker gold Y2H system (Takara)**分析嗜热古菌 (*Thermococcus kodakarensis*) PolD蛋白质和primase蛋白质的每个亚单位是如何相互作用的。作者清晰地观察到了DP1–DP2对PolD的相互作用；但未检测到PriS–PriL与primase的相互作用。为了绘制DP2–PriL相互作用的位置，作者根据结构将DP2蛋白质片段化，并将每个片段用作诱饵来分析相互作用。只有DP2（1000–1324）的C末端结构域与PriL相互作用，表明相互作用位点位于DP2的残基1206–1324之间。最终阐明了D家族DNA聚合酶（PolD）如何单独进行大部分DNA合成的机制。

更多文献：

1. Wang, P. *et al.* (2021). A nuclear–targeted effector of *Rhizophagus irregularis* interferes with histone 2B mono–ubiquitination to promote arbuscular mycorrhisation. *The New phytologist*, 230(3), 1142–1155.
2. Reddy, M. *et al.* (2020). PAP90, a novel rice protein plays a critical role in regulation of D1 protein stability of PSII. *Journal of advanced research*, 30, 197–211.
3. Yang, C., *et al.* (2020). State changes of the HORMA protein ASY1 are mediated by an interplay between its closure motif and PCH2. *Nucleic acids research*, 48(20), 11521–11535.
4. Wang, J., *et al.* (2021). The osa–miR164 target OsCUC1 functions redundantly with OsCUC3 in controlling rice meristem/organ boundary specification. *The New phytologist*, 229(3), 1566–1581.
5. Shi, W., *et al.* (2021). Hyperactivation of HER2–SHCBP1–PLK1 axis promotes tumor cell mitosis and impairs trastuzumab sensitivity to gastric cancer. *Nature communications*, 12(1), 2812.

蛋白质与DNA之间相互作用分析及筛选试剂盒

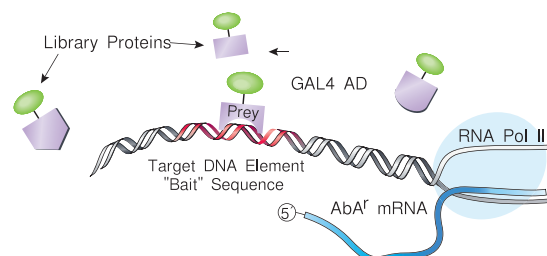
Code No. 630491

Matchmaker® Gold Yeast One-Hybrid Library Screening System

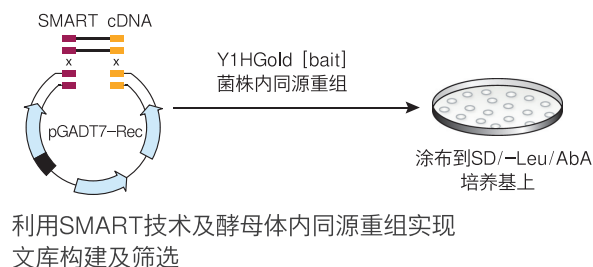
● 一步即可完成文库构建和筛选

- ① 将1-3个bait DNA (目标DNA) 序列重复串联后克隆到pAbAi中。
- ② 利用URA3基因序列, 将线性化的上述载体整合到酵母菌株Y1HGold的基因组中。
- ③ 利用Insert Check PCR Mix 1, 通过PCR对整合到酵母基因组中的bait DNA序列进行验证分析。
- ④ 合成与线性化的pGADT7-Rec末端具有相同序列的cDNA。
- ⑤ 将合成的cDNA和线性化的pGADT7-Rec共转化到②中构建的Y1HGold bait菌株中构建文库, 同时利用AbA选择培养基进行筛选。

在本系统中, 利用SMART技术合成的cDNA具有与pGADT7-Rec (用于表达prey) 相同的末端序列, 线性化的 pGADT7-Rec 与 cDNA 共转到酵母Y1HGold [bait] 菌株后, 在酵母体内利用同源重组一步即可实现文库构建和筛选。



One-Hybrid 蛋白质-DNA相互作用分析

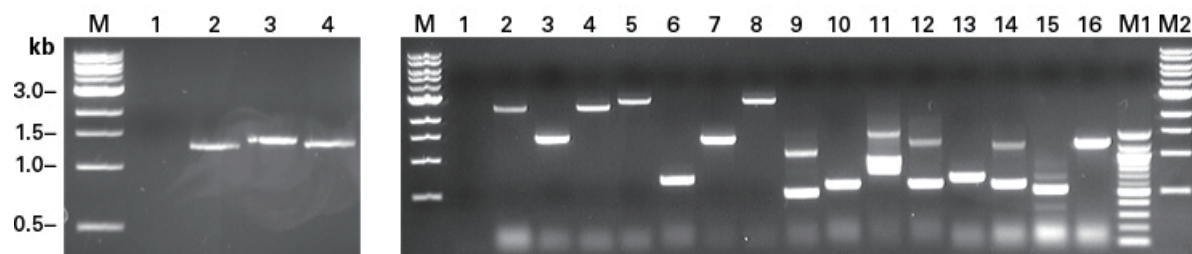


菌落PCR分析试剂盒

Code No. 630496

Matchmaker Insert Check PCR Mix 1

在Y1H筛选中, 菌落PCR是分析bait菌株并对阳性克隆进行分类的简便、快速的方法。用Matchmaker Insert Check PCR Mix 1可以验证整合到Y1H酵母基因组的bait DNA序列。



Tips: 酵母单杂交bait在设计上有什么要求?

酵母单杂交在设计bait时需要考虑两点: 顺式作用元件 (cis-acting element) 和启动子序列。

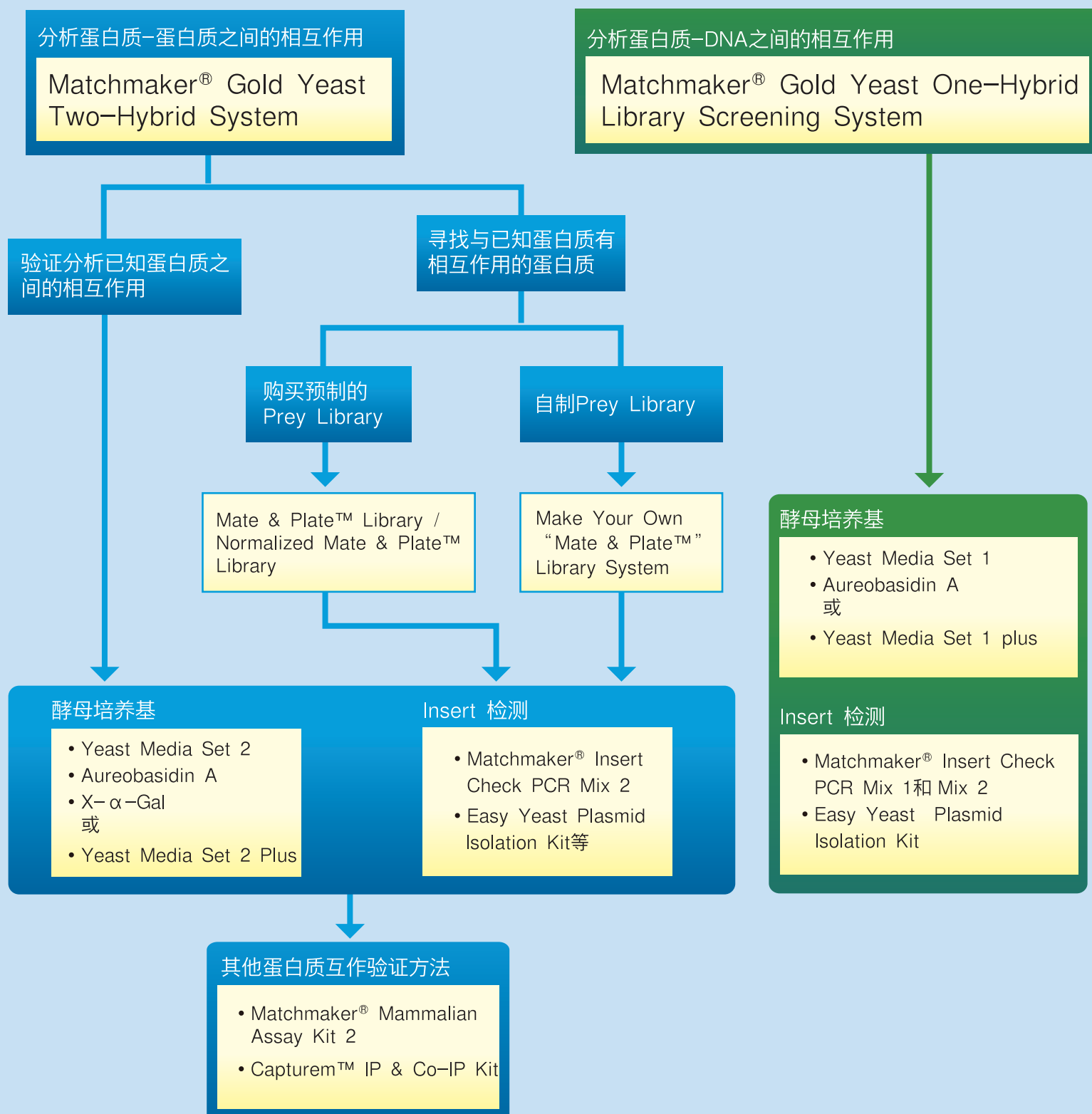
使用Cis-acting元件时, 需要考虑使用最少数量的cis-acting元件, Cis-acting元件超过20 bp时会增加非特异性结合。Clontech检测的最长的单拷贝cis-acting元件为20 bp。如果cis-acting元件超过100 bp, 可以使用1个或2个拷贝。需要注意的是过长的片段会提高假阳性发生的几率。

使用启动子序列时, 应注意bait中不要包含TATA box; 如果启动子序列小于100 bp, 使用2个拷贝作为bait。如果超过100 bp, 使用1个拷贝作为bait。

Matchmaker® Gold System分析蛋白质-蛋白质、蛋白质-DNA之间相互作用的理想选择！

Matchmaker® Gold 系统引入了真菌抗生素Aureobasidin A (AbA) 抗性基因，利用AbA筛选阳性克隆，大幅度降低了假阳性率，提高了获得阳性克隆的几率。

Matchmaker® Gold Yeast Two-Hybrid/One-Hybrid 相关产品简介



相关制品：

Matchmaker® Gold系列培养基

产品名称	规格	产品编号
■ Two-Hybrid 酵母培养基方便套装 ●		
Yeast Media Set 2	1 Set	630494
Yeast Media Set 2 Plus	1 Set	630495
■ One-Hybrid 酵母培养基方便套装 ●		
Yeast Media Set 1	1 Set	630492
Yeast Media Set 1 Plus	1 Set	630493
■ 单缺氨基酸混合物		
DO Supplement -Trp	10 g	630413
DO Supplement -Ura	10 g	630416
DO Supplement -Leu	10 g	630414
■ 双缺氨基酸混合物		
DO Supplement -Leu/ -Trp	10 g	630417
■ 三缺氨基酸混合物		
DO Supplement -His/ -Leu/ -Trp	10 g	630419
■ 四缺氨基酸混合物		
DO Supplement -Ade/ -His/ -Leu/ -Trp	10 g	630428
■ 酵母基本培养基		
Minimal SD Base	267 g	630411
Minimal SD Agar Base	467 g	630412

注意：

- 1. 氨基酸缺失混合物可以添加到Minimal SD Base中，配制成缺少特定氨基酸的组分确定的培养基。
- 2. 培养基方便装，只需加水（ddH₂O）溶解即可。无需繁琐的称量和混合，如果水质没有明显的酸性，无需调节PH值。

产品名称	规格	产品编号
■ 酵母培养基方便装		
YPDA Broth	10 packs	630306
YPDA with Agar	10 packs	630307
■ 酵母单缺培养基方便装		
SD/-Trp Broth	10 packs	630308
SD/-Trp with Agar	10 packs	630309
SD/-Leu Broth	10 packs	630310
SD/-Leu with Agar	10 packs	630311
SD/-Ura Broth	10 packs	630314
SD/-Ura with Agar	10 packs	630315
■ 酵母双缺培养基方便装		
SD/-Leu/-Trp Broth	10 packs	630316
SD/-Leu/-Trp with Agar	10 packs	630317
■ 酵母三缺培养基方便装		
SD/-His/-Leu/-Trp Broth	10 packs	630318
SD/-His/-Leu/-Trp with Agar	10 packs	630319
■ 酵母四缺培养基方便装		
SD/-Ade/-His/-Leu/-Trp Broth	10 packs	630322
SD/-Ade/-His/-Leu/-Trp with Agar	10 packs	630323

Matchmaker® Gold系统关联产品

产品名称	简介	规格	产品编号
■ 相互作用验证分析			
Matchmaker® Mammalian Assay Kit 2 ●	在哺乳动物细胞中验证蛋白质与蛋白质之间的相互作用	1 Set	630305
Capture™ IP & Co-IP Kit ●	快速免疫共沉淀方法验证蛋白质相互作用	1 Set	635721
■ 酵母质粒提取、转化及Colony PCR			
Easy Yeast Plasmid Isolation Kit ●●	酵母质粒提取	50 次	630467
Yeastmaker™ Yeast Transformation System 2	酵母质粒转化及文库规模转化	1 Set	630439
Yeastmaker™ Carrier DNA		1 ml × 5	630440
Quick & Easy Yeast Transformation Mix	酵母质粒快速转化，无需制备感受态细胞	20 次	631851
Matchmaker® Insert Check PCR Mix 1 ●	用于Colony PCR验证One-Hybrid中插入基因组中的bait DNA序列	100 次	630496
Matchmaker® Insert Check PCR Mix 2 ●●	用于Colony PCR验证阳性克隆中的AD载体	100 次	630497

相关制品：

Matchmaker® Gold系统关联产品

产品名称	简介	规格	产品编号
■ 抗生素、显色底物、抗体			
Aureobasidin A ●●	抗真菌抗生素	1 mg	630466
		10 mg	630499
X-α-Gal ●	显色底物	250 mg	630463
GAL4 AD Monoclonal Antibody	Matchmaker单克隆抗体	25 μg	630402
GAL4 DNA-BD Monoclonal Antibody		25 μg	630403

Matchmaker® Gold 酵母杂交系统

产品名称	简介	规格	产品编号
Matchmaker® Gold Yeast Two-Hybrid ●	蛋白质-蛋白质之间相互作用分析试剂盒。可以采用预制的Mate & Plate™ 文库进行筛选。如果没有合适的文库，可以采用Make Your Own "Mate & Plate™" Library System构建文库	1 Set	630489
Matchmaker® Gold Yeast One-Hybrid Library Screening System ●	蛋白质-DNA相互作用分析试剂盒。与酵母Two-Hybrid一样，利用抗AbA基因进行筛选，假阳性率大幅下降	1 Set	630491

Matchmaker® Gold酵母杂交预制文库

预转到酵母中的Matchmaker cDNA文库 ●

产品名称	规格	产品编号
■ Mate & Plate™ 预制文库系列		
Mate & Plate™ Library-Human Testis	1 ml × 5	630470
Mate & Plate™ Library-Human Heart	1 ml × 5	630471
Mate & Plate™ Library-Mouse Embryo 17-day	1 ml × 5	630476
■ Mate & Plate™ 预制文库系列 (Normalized)		
Mate & Plate™ Library-Human Brain (Normalized)	1 ml × 5	630486
Mate & Plate™ Library-Universal Human (Normalized)	1 ml × 5	630480
Mate & Plate™ Library-Universal Mouse (Normalized)	1 ml × 5	630483
Mate & Plate™ Library-Universal Drosophila (Normalized)	1 ml × 5	630485
Mate & Plate™ Library-Universal Arabidopsis (Normalized)	1 ml × 5	630487

注意：如果采用转入到大肠杆菌中的旧的Matchmaker cDNA 文库，需要将文库扩增、转化酵母之后才能与Matchmaker® Gold Yeast Two-Hybrid System配合使用。

在酵母菌株Y187中构建Matchmaker cDNA文库 ●

产品名称	简介	规格	产品编号
Make Your Own "Mate & Plate™" Library System	SMART技术合成cDNA，在酵母菌株Y187中利用同源重组构建文库	5 次	630490

产品列表中含有 ● 的产品推荐与Matchmaker® Gold Yeast Two-Hybrid System 配合使用或用于后续检测；含有 ● 的产品推荐与Matchmaker® Gold Yeast One-Hybrid Library Screening System配合使用或用于后续检测。



Takara微信



Takara微博



Takara官网



Clontech Takara cellartis

销售商

宝日医生物技术（北京）有限公司

地址：北京市昌平区科学园路 22 号

（中关村生命科学园内）

电话：010-80720985, 80720986

制造商

宝生物工程（大连）有限公司

地址：辽宁省大连市经济技术开发区东北二街 19 号

电话：0411-87621671

官 网 地 址：<https://www.takarabiomed.com.cn>

技术咨询热线：4006518761, 4006518769

技术咨询邮箱：service@takarabiomed.com.cn

- 本宣传页上登载的制品，都是以科研为目的。请不要用于其它方面，如：不要用于人、动物的临床诊断和治疗。也不能用于食品、化妆品及家庭用品等方面。
- 未经本公司许可，严禁产品的转售·转让、以转售·转让为目的的产品更改、以及用于商品的制造。
- 专利许可信息请在本公司网站上确认：<https://www.takarabiomed.com.cn>。
- 本宣传页上登载的公司名称及制品名称即使没有特殊标注，使用的也是各公司的商标或注册商标。
- 本宣传页仅限于中国大陆地区客户使用，其他地区客户请咨询当地代理商。
- 本宣传页上记载的产品信息是 2022 年 8 月 1 日的信息，最新信息请参考公司官网。