## YPD liquide

Peptone (1%) 10 g

Extrait de levure (1%) 10 g

Glucose (2%) 20 g

H2O qsp 1 litre

----> Autoclaver 20 min à 110°C (0,5 bars)

## YPG liquide

Peptone (1%) 10 g

Extrait de levure (1%) 10 g

Glycérol (2%) 20 ml

H2O qsp 1 litre

----> Autoclaver 20 min à 110°C (0,5 bars)

## YPGal liquide

Peptone (1%) 10 g

Extrait de levure (1%) 10 g

Galactose (2%) 20g

H2O qsp 1 litre

----> Autoclaver 20 min à 110°C (0,5 bars)

## YPGal/raff liquide

Peptone (1%) 10 g

Extrait de levure (1%) 10 g

Galactose (2%) 20 g

Raffinose (1%) 10 g

H2O qsp 1 litre

----> Autoclaver 20 min à 110°C (0,5 bars)

## SD-X liquide

Base de levures nitrogénée w/o AA (0,67%) 6,7 g

Glucose (2%) 20 g

DO – X (0,2%) 2 g

H2O qsp 1 litre ----> Autoclaver 20 min à 110°C (0,5 bars)

## SD-N liquid (starvation media)

Base de levures nitrogénée **w/o AA w/o AS** 1,7 g

Glucose 20 g

H2O qsp 1 litre

Mélanger avec agitation jusqu’à complète dissolution ----> Autoclaver 20 min à 110°C (0,5 bars)

## Sgal-X liquide

Base de levures nitrogénée w/o AA (0,67%) 6,7 g

Galactose (2%) 20 g

DO – X (0,2%) 2 g

H2O qsp 1 litre

----> Autoclaver 20 min à 110°C (0,5 bars)

## SR-X liquide

Base de levures nitrogénée w/o AA (0,67%) 6,7 g

Raffinose (2%) 20 g

DO – X (0,2%) 2 g

H2O qsp 1 litre

----> Autoclaver 20 min à 110°C (0,5 bars)

## Milieu de stockage pour les levures (liquide)

Peptone (1%) 10 g

Extrait de levure (1%) 10 g

Glucose (2%) 20 g

Glycérol (25%) 250 mL

H2O qsp 1 litre

----> Autoclaver 20 min à 110°C (0,5 bars)

## Bouteilles YP 1,1X

Bacto peptone (2,2%) 22g

Yeast Extract Extract (1,1%) 11g

H2O qsp 1L

Après dissolution complete, répartir 4x250 ml dans 4 bouteilles de 500 ml.

Ajouter 5g d’agar par bouteille + 1 pastille de soude.-🡪 Autoclaver 20 min à 120°C.

## Bouteilles YNB 1,25X

Base de levures nitrogénée w/o AA 8,37g

H2O qsp 1L

Après dissolution complète, répartir 4x250 ml dans 4 bouteilles de 500 ml

Ajouter 5g d’agar par bouteille + 1 pastille de soude

Autoclaver 20 min à 120°C.

## boites YPD

Peptone (1%) 10 g

Extrait de levure (1%) 10 g

Glucose (2%) 20 g

Agar (2%) 20 g

H2O qsp 1 litre

----> Autoclaver 20 min à 110°C (0,5 bars)

## boites YPD + G418

Après autoclavage et refroidissement à 60°C, on ajoute à 1 litre de milieu **YPD** (agar)

1 ml de G418 à 200 mg/ml.

*Remarque: préparation du G418: dissoudre 1 g de G418 dans 5 ml H2O et filtrer avec un filtre 0,2 microns à la seringue pour faire du 200 mg/ml*

*Remarque: le G418 est dangereux*

## boites YPD + Nat

Après autoclavage et refroidissement à 60°C, on ajoute à 1 litre de milieu **YPD** (agar)

0,3 ml de Nat (Clonat) à 200 mg/ml.

*Remarque: préparation du Nat: dissoudre 1 g de Clonat dans 5 ml H2O et filtrer avec un filter 0,2 microns à la seringue pour faire du 200 mg/ml*

*Remarque: le CloNat est dangereux*

## boites YPD + G418 + Nat

Après autoclavage et refroidissement à 60°C, on ajoute à 1 litre de milieu **YPD** (agar)

1 ml de G418 à 200 mg/ml

0,3 ml de Nat (Clonat) à 200 mg/ml.

*Remarque:*

*1-Préparation du G418: dissoudre 1 g de G418 dans 5 ml H2O et filtrer avec un filtre 0,2 microns à la seringue pour faire du 200 mg/ml*

*Le G418 est dangereux*

*Remarque:*

*2-Préparation du Nat: dissoudre 1 g de Clonat dans 5 ml H2O et filtrer avec un filtre 0,2 microns à la seringue pour faire du 200 mg/ml*

*Le CloNat est dangereux*

## boites YPD + Dox

Après autoclavage et refroidissement à 60°C, on ajoute à 1 litre de milieu **YPD** (agar) 2 ml de Dox à 5 mg/ml.

*Remarque: la Doxycycline est dangereuse*

## boites YPG

Peptone (1%) 10 g

Extrait de levure (1%) 10 g

Glycerol (2%) 20 ml

Agar (2%) 20 g

H2O qsp 1 litre

----> Autoclaver 20 min à 110°C (0,5 bars)

## boites SD-X

Base de levures nitrogénée w/o AA 6,7 g

Glucose 20 g

DO - X 2 g

Agar 20 g

H2O qsp 1 litre

----> Autoclaver 20 min à 110°C (0,5 bars)

## boites SG-X

Base de levures nitrogénée w/o AA 6,7 g

Glycérol (100 %) 20 ml

DO - X 2 g

Agar 20 g

H2O qsp 1 litre

----> autoclaver à 110°C, 20 min (0,5 bars)

## boites Kac

Acetate de Potassium 20 g

Agar 20 g

H2O qsp 1 litre

ajuster à pH7

----> Autoclaver 20 min à 110°C (0,5 bars)

## boites 5’-FoA

- D'une part, dissoudre à 65°C:

Base de levures nitrogénée w/o AA 6,7 g

Glucose 20 g

DO-URA 2 g

Uracile 50 mg

5'FOA 1 g

H2O qsp 500 ml

Filtrer cette solution dans une unité de filtration 0,22 microns

- D'autre part, autoclaver à 110°C pendant 20 min (0,5 bars)

Agar 20 g

H2O qsp 500 ml

refroidir 1 h à 65°C

- Mélanger stérilement les 2 solutions et couler les boites

*Remarque: le 5-FOA est dangereux*

## Medium for MG132

0.17% yeast nitrogen base without ammonium sulfate and without amino acids

0.1% proline

DO-X

2% glucose

**Pour 500 ml (en bouteilles de 100 ml)**

0,85 g yeast nitrogen base without ammonium sulfate and without amino acids

0,5 g proline

1 g DO-uracil

10 g glucose

500 ml H2O

*Liu, C., Apodaca, J., Davis, L., & Rao, H. (2007). Proteasome inhibition in wild-type yeast Saccharomyces cerevisiae cells. BioTechniques, 42(2), 158–162. doi:10.2144/000112389*

## Annexe: recette des DO - X

*Pour le mélange d’acides aminés et de bases, peser les produits suivant les quantités indiquées et mélanger le tout à l'aide de billes. Pour chaque dropout (DO), enlever l'acide aminé ou base (X) du mélange.*

*Adénine (AD) 1 g Isoleucine (I) 2 g*

*Uracile (UR) 2 g Leucine (L) 4 g*

*Alanine (A) 2 g Lysine (K) 2 g*

*Arginine (R) 2 g Méthionine (M) 2 g*

*Aspartate (D) 2 g Phénylalanine (F) 2 g*

*Asparagine (N) 2 g Proline (P) 2 g*

*Cystéine (C) 2 g Sérine (S) 2 g*

*Glutamate (E) 2 g Thréonine (T) 2 g*

*Glutamine (Q) 2 g Tryptophane (W) 2 g*

*Glycine (G) 2 g Tyrosine (Y) 2 g*

*Histidine (H) 2 g Valine (V) 2 g*

45g dans un drop out

si on prend 2g, on mets 1/25 ème de chaque Aa par litre soit ura: 80 mg/l

## SOC liquide

Bacto tryptone 16 g

Extrait de levure 5 g

NaCl (1M) 10 ml

KCl (2,5 M) 10 ml

H2O qsp 1 litre

----> Autoclaver 20 min à 110°C (0,5 bars)

Après autoclavage, les solutions suivantes sont ajoutées stérilement

MgCl2 (1M) 10ml

MgSO4 (1M) 10 ml

Glucose (20%) 100 ml

# SOLUTIONS STOCK

**Stérilisation par autoclavage (20 min à 110°C (0,5 bars))**

MgCl2 (1M): 20,33 g dans 100 ml H2O final

MgSO4 (1M): 24.65 dans 100 ml H2O final

Glucose 20%: 20 g dans 100 ml H2O final

Galactose 20%: 20 g dans 100 ml H2O final

Raffinose 20%: 20 g dans 100 ml H2O final

**Stérilisation par filtration sur membrane 0,2 microns**

Ampicilline (1000X): 100 mg/ml dans H2O stocker à -20°C.

Kanamycine (1000X): 50 mg/ml dans H2O stocker à -20°C.

Paromycine (1000X): 15mg/ml

Doxycycline (5000X) : 5 mg/ml dans H2O stocker à -20°C

Hygromycine (1000X): 330 mg/ml **stocker à 4°C**

*Aliquoter les antibiotiques et les congeler (sauf l’hygromycine). Ne pas recongeler un aliquot utilisé (les antibiotiques se dégradent à la chaleur)*

***Pour la toolbox utiliser :***

*-kanMX4*, geneticin (G418, GibcoBRL), 200 mg/l

*-hphNT1*, hygromycin B (Cayla, Toulouse, France; **www.cayla.com**), 300 mg/l

*-natNT2*, nourseothricin (ClonNAT, Werner BioAgents, Jena-Cospeda, Germany; **www. webioage.com**), 100 mg/l