

Lyticase basierender Yeast Estrogen Screen (L-YES) mit *Saccharomyces cerevisiae*

Biotest mit genetisch veränderten Hefezellen für den Nachweise östrogenen Wirkungen von natürlichen und synthetischen Substanzen.

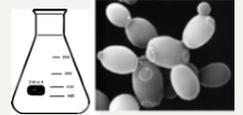
Lagerung der Hefezellen als Glycerolstock

- Max. 3 Monate bei -20°C ,
- Langzeit, max. 12 Monate bei -80°C



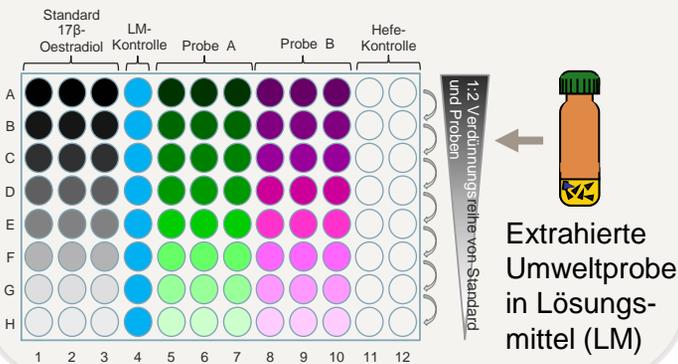
Wachstumskultur

- Wachstumsmedium + Hefe-Glycerolstock



Belegung der Testplatte

- Proben und Kontrollen auf Testplatte pipettieren
- Lösungsmittel abdampfen, mit Wasser rücklösen



Kultur zum Beimpfen der Testplatten

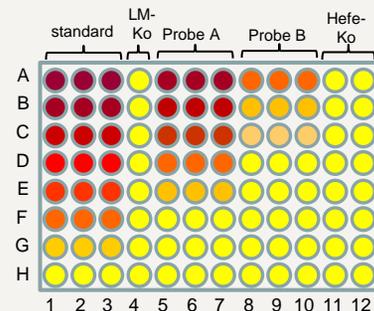
- Wachstumskultur mit Exposure-Medium auf bestimmte Dichte einstellen

Hefen auf Testplatte pipettieren

- Hefen auf Testplatte pipettieren
- Inkubation 18h

Lyse der Zellen und Messung der Absorption

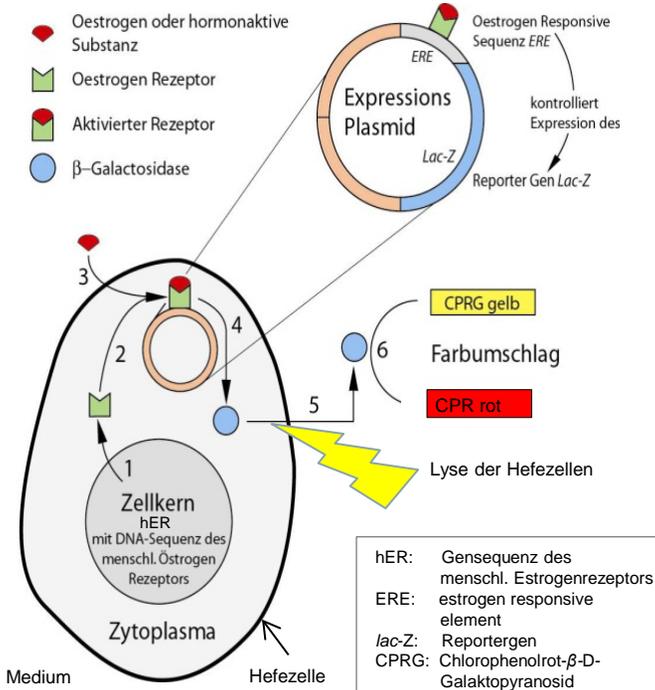
- Messung der Zelldichte ($\text{OD}_{600\text{nm}}$)
- Zugabe von Lyticase-Puffer und CPRG
- Inkubation 1h
- Messung der Farbinduktion ($\text{OD}_{580\text{nm}}$)



Testprinzip

Bei Anwesenheit östrogen wirkender Substanz:

- Expression des menschlichen Östrogenrezeptors
- Aktivierung des Reportergens
- Bildung des Enzyms β -Galactosidase
- Lyse der Hefezellen nach 18h Inkubation
- Nachweis über Farbumschlag



Auswertung

Berechnung der Östradiol-Äquivalenz-Konzentration der Umweltproben anhand der Standardkurve 17 β -Oestradiol.

