

培地のレシピ：ジャーフェンター用

用いる培地が天然培地か合成培地かでレシピが異なります。しかし、どちらも培地の一部を先に作っておきフェンターと一緒にオートクレーヴした後、残りの成分を加えるという手順をとります。

i. 天然培地 (BMGY)

天然培地 (約 1L)	ペプトン	20g
	イーストエキストラクト	10g
	グリセロール	50g
	硫安	20g (or 8g ☆1)
	1M KPi buffer pH 6.0	120mL
	水	~800mL
上記のものを混ぜてからフェンターに移してオートクレーヴ その後下記のを混ぜる		
	10XYNB ☆1	240mL
	0.02%Biotin	4mL

ii. 合成培地 (BSM)

合成培地 ☆2		1L	800mL
	85%リン酸	26.7mL	21.7mL
	硫酸カルシウム 2水和物	0.93g	0.74g
	硫酸カリウム	18.2g	14.6g
	硫酸マグネシウム 7水和物	14.9g	11.9g
	水酸化カリウム	4.13g	3.30g
	グリセロール	40g	32g
	水	~0.9L	~0.7L
	14.8N(28%)アンモニア水 (pH5.0に合わせる)	約 24mL	約 19mL
	[5.2N <sup>15</sup> NH <sub>4</sub> OH の場合	約 69mL	約 55mL]
水 (最終量)	~1.0L	~0.8L	
上記のものを混ぜてからフェンターに移してオートクレーヴ その後下記のを混ぜる			
	P T M 1	2mL	1.6mL
	0.02%Biotin	3mL	2.4mL

☆1 もしオートクレーヴ後に用いる 10XYNBが硫安入りならその中に既に 12gの硫安が入っているので、ここでは 8gだけ入れておく。

☆2 <sup>13</sup>Cラベルの蛋白質を作成したい時は、グリセロールやメタノールを <sup>13</sup>C化されたものを用いる  
<sup>15</sup>Nラベルをしたい時も同様 <sup>15</sup>N化されたアンモニア水を用いるが、普通のアンモニア水と濃度が違うので注意。

培地のレシピ：プレミックス

	内容	滅菌法
10%G Y (100mL)	グリセロール 10g 水 ~100mL	オートクレーヴ
70%G Y (100mL)	グリセロール 70g 水 ~100mL	オートクレーヴ
10XYNB <u>硫安なし</u> (1L) ※1	YNB 17g 水 ~1L	フィルター滅菌
10XYNB <u>硫安入り</u> (1L) ※1	YNB 67g 水 ~1L	フィルター滅菌
0.02%Biotin (100mL)	D-Biotin 20mg 水 ~100mL	フィルター滅菌
1M KPi buffer pH 6.0 (1L)	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ※2 43.5g KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 102.1g 水 ~1L KOH で pH 6.0 に合わせる	オートクレーヴ
20%グルコース (500mL)	グルコース 100g 水 ~500mL	オートクレーヴ もしくは フィルター滅菌
100XA A (100mL)	グルタミン酸 メチオニン リジン ロイシン イソロイシン 水 500mgずつ ~100mL	フィルター滅菌

※1 YNBには硫安なしと硫安入りと2種類ある。前者の方が安価なので購入の際はそちらがおすすめ  
10XYNBのビンには“10XYNB 硫安なし 17g/L”もしくは“10XYNB 硫安あり 67g/L”とラベルに書いておきどちらか分かるようにしておくこと。

※2 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>は粉に水を注ぐと固まってしまうので、水を攪拌しながら粉を少しずつ加えていった方がいいです。念のため。

P T M 1 (200mL)	硫酸銅(II) 5 水和物	(CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O)	1.2g	フィルタ ー滅菌
	ヨウ化ナトリウム	(NaI)	0.016g	
	硫酸マンガン(II) 5 水和物	(MnSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O)	0.6g	
	[塩化マンガン(II) 4 水和物	(MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O)	0.5g]	
	モリブデン酸ナトリウム 2 水和物	(Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O)	0.04g	
	ホウ酸	(H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> )	0.004g	
	塩化コバルト(II) 6 水和物	(CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O)	0.1g	
	塩化亜鉛	(ZnCl <sub>2</sub> )	4g	
	硫酸鉄(I) 7 水和物	(FeSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O)	13g	
	硫酸	(H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	1mL	
	水		~200mL	

培地じゃないけど

アンチフォーム (適当量)	アンチフォーム 水	25~50% 100~300mL	オートクレーヴ
------------------	--------------	---------------------	---------

培地：プレート、試験管、バツフルフラスコ用

LB (1L)	ペプトン 10g イーストエキストラクト 5g NaCl 10g 水 ~1L
	上記のものを混ぜてから NaOH で pH を 7.0~7.2 に合わせたあと、オートクレーヴ アンピシリンを用いる時は、その都度使用する LB の 1/1000 量の 100mg/mL Amp を加える

Amp- LB プレート (1L)	ペプトン 10g イーストエキストラクト 5g NaCl 10g Agar 12~15g 水 ~1L
	上記のものを混ぜてから NaOH で pH を 7.0~7.2 に合わせたあと、オートクレーヴ その後メジウム瓶の温度が触られるくらいまで下がったら 100mg/mL Amp を 1mL 加える。分注はすばやく！

BMのもと ※3 (900mL)	ペプトン 20g イーストエキストラクト 10g 硫安 ※4 5g 水 ~700mL
	上記のものを混ぜてからオートクレーヴ その後下記のを混ぜる
	1M KPi buffer pH 6.0 100mL 10XYNB ※4 100mL 0.02%Biotin 2mL

BMGY (100mL)	BMのもと 90mL 10%GY 10mL (もしくは 70%GY 1.5mL)
-----------------	--

BMMY (100mL)	BMのもと 100mL メタノール 500μL
-----------------	----------------------------

※3 BMのもとというのは、当研究室での呼び名。BMGYとBMMYは中身がほとんど一緒なので。

※4 もしオートクレーヴ後に用いる 10XYNBが硫安入りならオートクレーヴ前に硫安を加えなくてよい。

YPD (1L)  もしくは YPDプレート (1L)	ペプトン	20g
	イーストエキストラクト (Agar)	10g (20g)
	水	~900mL
上記のものを混ぜてからオートクレーヴ その後下記のを混ぜる		
20%グルコース	100mL	

RDBプレート (1L)	ソルビトール	186g
	硫安 ※4	5g
	Agar	20g
水	~788mL	
上記のものを混ぜてからオートクレーヴ その後下記のを混ぜる		
20%グルコース	100mL	
10XYNB ※4	100mL	
0.02%Biotin	2mL	
100XA A	10mL	

合成培地 ☆2		1L	800mL
	85%リン酸	26.7mL	21.7mL
	硫酸カルシウム2水和物	0.93g	0.74g
	硫酸カリウム	18.2g	14.6g
	硫酸マグネシウム7水和物	14.9g	11.9g
	水酸化カリウム	4.13g	3.30g
	グリセロール	40g	32g
	水	~0.9L	~0.7L
	14.8N(28%)アンモニア水 (pH5.0に合わせる)	約 24mL	約 19mL
	[5.2N <sup>15</sup> NH <sub>4</sub> OHの場合	約 69mL	約 55mL]
水(最終量)	~1.0L	~0.8L	
上記のものを混ぜてからオートクレーヴ その後下記のを混ぜる			
PTM 1	2mL	1.6mL	
0.02%Biotin	3mL	2.4mL	