

培地等の調製

1. 培地

LB Broth (LB 培地)

NaCl	10 g
Bactotryptone	10 g
<u>Yeast extract</u>	<u>5 g</u>

800ml DWに溶解

5N NaOH を 0.2ml 加え、pH 7.0 に調製

DW で 1 L にメスアップ

オートクレーブ. 室温保存

LB Plates

NaCl	10 g
Bactotryptone	10 g
<u>Yeast extract</u>	<u>5 g</u>

800ml DWに溶解

5N NaOH を 0.2ml 加え、pH 7.0 に調製

DW で 1 L にメスアップ

20g Bactoagar を加える

オートクレーブ

60-70C に冷めたら抗生物質を添加

プレートに 20ml ずつ分注

残りは室温保存 (オートクレーブで溶解し、プレートを作製)

NZY Broth

MgSO ₄ · 7H ₂ O	2 g
Yeast extract	5 g
<u>NZ amine</u>	<u>10 g</u>

800ml DWに溶解

5N NaOH で pH 7.5 に調製

DW で 1 L にメスアップ

オートクレーブ. 室温保存

NZY Plates

NaCl	5 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	2 g
Yeast extract	5 g
NZ amine	10 g

800ml DW に溶解

5N NaOH で pH 7.5 に調製

15g Agar を加える

DW で 1 L にメスアップ

オートクレーブ

60-70C に冷めたら、プレートに 50ml ずつ分注

残りは室温保存

NZY Top Agar

NaCl	1 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.4 g
Yeast extract	1 g
NZ amine	2 g

160ml DW に溶解

5N NaOH で pH 7.5 に調製

1.4g agarose (電気泳動用) を加える

DW で 200ml にメスアップ

オートクレーブ

MgSO₄/マルトース含有 LB 培地

MgSO ₄	0.6 g
マルトース	1 g
LB 培地	500 ml

オートクレーブ. 室温保存

X-Gal 溶液

0.2g X-Gal を 10ml dimethylformamide に溶解 (凍結保存)

1M IPTG 溶液

2.38g IPTG を 10ml DDW に溶解、フィルター滅菌 (凍結保存)

SM buffer

NaCl	2.9 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	1 g
1M Tris/HCl (pH 7.5)	25 ml
2% gelatin	2.5 ml

DWで500mlにメスアップ
オートクレーブ. 室温保存

2. 抗生物質ストック溶液

(オートクレーブした培地が50-60Cに冷めてから加える)

Ampicilin (100mg/ml)

- 1) 1g ampicilin·NaClを10ml DWに溶かす
- 2) フィルター滅菌し、1ml (0.1g Amp) ずつ分注. -20Cで保存
- 3) 1/1,000容量を培地に添加する (培地中濃度100ug/ml)

Streptomycin (10mg/ml)

- 1) 100mg 硫酸ストレプトマイシンを10ml DWに溶かす
- 2) フィルター滅菌し、1ml ずつ分注. -20Cで保存
- 3) 1/1,000容量を培地に添加する

Kanamycin (100mg/ml)

- 1) 0.3g 硫酸カナマイシンを10ml DWに溶かす
- 2) フィルター滅菌し、1ml ずつ分注. -20Cで保存
- 3) 1/1,000容量を培地に添加する

Tetracyclin (20mg/ml)

- 1) 125mg テトラサイクリンを10ml EtOHに溶かす
- 2) 1ml ずつ分注. -20Cで保存 (濾過は不要)
- 3) 1/1,000容量を培地に添加する