

## 共通培地、共通試薬

060314 改訂版

### 1. 培地

1. LB	/ L
Tryptone Peptone (DIFCO)	10 g
Yeast Extract (DIFCO)	5 g
NaCl	10 g
5N NaOH	to PH 7.2 (about 1.4 ml)
(for plate Agar	15 g)

オートクレーブ後、冷めてから必要に応じて以下の抗生物質を添加

Ampicillin final : 50 µg / ml (X 1000 stock solution (50 mg / ml)はフィルター滅菌後-30°Cで保存)

Kanamycine : final 30 µg / ml (X 1000 stock solution (30mg / ml)はフィルター滅菌後-30°Cで保存)

2-1. YES	/ L
Yeast Extract (DIFCO)	5 g
Glucose	30 g
50 X amino acids <sup>*1</sup>	20 ml
(for plate Agar	15 g)

オートクレーブ後、冷めてから必要に応じて以下の試薬を添加

G418 : final 100 µg / ml (X1000 stock solution (100 mg / ml)はフィルター滅菌後-30°C保存)

Phloxine B : final 20 µg / ml (X250 stock solution (5 mg / ml)はフィルター滅菌後4°C遮光保存)

2-2. YE (Oxoid)	/ L
Yeast Extract (Oxoid)	5 g
Glucose	30 g
50 X -ade amino acids <sup>*1</sup>	20 ml
(for plate Agar	15 g)

3. EMM2	/ L
Glucose	20 g
NH <sub>4</sub> Cl	5 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	2.2 g
Potassium hydrogen phthalate	3 g
50 X Salts <sup>*2</sup>	20 ml
1000 X Trace Element <sup>*3</sup>	1 ml
1000 X Vitamins <sup>*4</sup>	1 ml
50 X amino acids <sup>*1</sup>	20 ml
(for plate Agar	20 g)

EMM2-N では NH<sub>4</sub>Cl を入れずに作る

4. ME	/ L
Malt Extract (オリエンタル酵母)	30 g
50 X amino acids <sup>*1</sup>	20 ml
5N NaOH	to pH 5.5 (50~75 µl)
(for plate Agar	20 g)

5. TB+	
<Sol.1>	900 ml
Yeast Extract (DIFCO)	22 g
Bacto Tryptone (DIFCO)	11 g
Glycerol	3.6 ml
<Sol.2>	100 ml
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2.31 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	12.54 g

Sol.1 と Sol.2 をそれぞれオートクレーブし、十分に冷めてから混合する

<注釈>

*1	50 X amino acids	/ L
	leu (L-Leucine)	10 g
	ade (Adenine)	7.5 g
	ura (Uracil)	3.75 g
	his (L-Histidine hydrochloride monohydrate)	3.75 g
	lys (L(+)-Lysine hydrochloride)	3.75 g

YES、ME は上記全ての入った solution を、YE (Oxoid)は上記からアデニンを抜いたものを、EMM2 はそれぞれのマイナス solution を用いる  
オートクレーブ後、室温保存

*2	50 X Salts	/ L
	MgCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	52.5 g
	CaCl <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O	0.735 g
	KCl	50 g
	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2 g

オートクレーブ後 4 度保存

*3	1000 X Trace Element	/ L
	Boric acid	0.5 g
	MnSO <sub>4</sub> (4℃保存)	0.4 g
	ZnSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0.4 g
	FeCl <sub>3</sub> 6H <sub>2</sub> O	0.2 g
	Molybdic acid	0.04 g
	KI	0.1 g
	CuSO <sub>4</sub> 5H <sub>2</sub> O	0.04 g
	Citric acid	1 g

オートクレーブ後 4 度保存

*4	1000 X Vitamins	/ L
	Pantothenic acid	1 g
	Nicotinic acid	10 g
	myo-inositol	10 g
	biotin	10 mg

オートクレーブ後、50 ml ずつに小分けして-30℃に保存

## 2. 共通試薬

1. 5 X TBE	/ L
Tris base	54 g
Boric acid	27.5 g
0.5M EDTA (pH 8.0)	20 ml

### 2. X-gal (5-bromo-4-chloro-3-indolyl- $\beta$ -galactoside)

dimethylformamide に、20mg/ml になるように溶かす  
遮光チューブに 1ml ずつ分注後、-30°C保存

### 3. IPTG (isoprorylthio- $\beta$ -D-galactoside)

2 g を 10 ml のミリ Q 水にて溶解後、0.22  $\mu$ m フィルターにてろ過滅菌  
1 ml ずつ分注し、-30°C保存

### 4. RNase A (10 mg / ml)

10mM NaOAc (pH 5.2) 中、95°Cで 10 分間ボイルし、急冷。-30°C保存

for 9 ml

3M NaOAc (pH 5.2)	30 $\mu$ l
RNase A	90 mg
H <sub>2</sub> O	to 9 ml

### 5. SOC 培地

Tryptone Peptone	2 g
Yeast Extract	0.5 g
5M NaCl	0.2 ml
2M KCl	0.125 ml

オートクレーブ後、別滅菌しておいた 2M Mg<sup>2+</sup> 溶液 (1M MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O + 1M MgCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O) を 1 ml 、2M glucose を 1 ml 加える  
500  $\mu$ l ずつ分注し、-30°C保存

### 6. Agarose gel 用ローディングバッファー

bromophenol blue	0.125 g
Sucrose	20 g

フィルター滅菌後、分注して4度保存