

Culture Medium

◆YES	/L
Yeast Extract(DIFCO)	5g
Glucose	30g
*Uracil	0.225g
*L-Leucine	0.225g
*L-Histidine hydrochloride	0.225g
*L(+)-Lysine hydrochloride	0.225g
*Adenin	0.225g
(for plate Agar	15g)

*アミノ酸は溶けにくいので 1/10 量程度の D.W.をビーカーで温めたものに溶かしてから培地に添加する
オートクレーブ後、冷めてから必要に応じて抗生物質などの試薬を添加

◆YE(Oxoid)	/L
Yeast Extract(Oxoid)	5g
Glucose	30g
*Uracil	0.225g
*L-Leucine	0.225g
*L-Histidine hydrochloride	0.225g
*L(+)-Lysine hydrochloride	0.225g
(for plate Agar	15g)

*アミノ酸は溶けにくいので 1/10 量程度の D.W.をビーカーで温めたものに溶かしてから培地に添加する

◆EMM ₂	/L
Glucose	20g
NH ₄ Cl	5g
Na ₂ HPO ₄ (12H ₂ O)	2.2g(5.5g)
Potassium hydrogen phthalate	3g
50×Salt ¹⁾	20ml
1000×Trace Element ²⁾	1ml
1000×Vitamins ³⁾	1ml
*Uracil	0.225g
*L-Leucine	0.225g
*L-Histidine hydrochloride	0.225g
*L(+)-Lysine hydrochloride	0.225g
*Adenin	0.225g
(for plate Agar	20g)

*アミノ酸は溶けにくいので 1/10 量程度の D.W.をビーカーで温めたものに溶かしてから培地に添加する

EMM₂-N では NH₄Cl を入れずに作る

EMM₂-Ade では Ade を入れずに作る (他同様)

◆EMMG	/L
EMM ₂ -N の組成に以下の試薬を加える	
Sodium glutamate	1g

◆ME	/L
Malt Extract(オリエンタル酵母)	30g
*Uracil	0.225g
*L-Leucine	0.225g
*L-Histidine hydrochloride	0.225g
*L(+)-Lysine hydrochloride	0.225g
*Adenin	0.225g
5N NaOH	to pH5.5(50~75ul)
(for plate Agar	20g)

◆YPD	/L
Glucose	10g
Yeast Extract	10g
Polypeptone*	20g
(for plate Agar	20g)

*nda3 株の生育には大日本製薬の Polypeptone を用いる

1)50×Salt	/L
MgCl ₂ · 6H ₂ O	52.5g
CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.735g
KCl	50g
Na ₂ SO ₄	2g

オートクレーブ後 4℃保存

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

オートクレーブ後 4℃保存

3)1000×Vitamins	/L
Pantothenic acid	1g
Nicotinic acid	10g
Myo-inositol	10g
Biotin	10mg

オートクレーブ後、50ml に小分けして-30℃保存

◆培地に添加する抗生物質など

○G418 (GIBCO(invitrogen)/11811)

final 0.1mg/ml

(×1000 stock solution (0.1g/ml) D.W.に溶かしてフィルター滅菌後-30℃保存)

○Hygromycine B (Wako/089-06151)

final 0.2mg/ml

(×1000stock solution (0.2g/ml) D.W.に溶かしてフィルター滅菌後-30℃保存)

○clon NAT (Wernor Bio Agents(重松貿易)/5.0000)

final 0.1mg/ml

(×1000stock solution (0.1g/ml) D.W.に溶かしてフィルター滅菌後-30℃保存)

○Aureobasidin A (TaKaRa/9000)

final 0.5ug/ml

(×1000stock solution (0.5mg/ml) エタノールに溶かしてフィルター滅菌後 4℃保存)

○Camptothecin (LKT Laboratories, Inc.(ナカライ)/LKT 59613-02)

final 6~24uM

(60mM stock solution(20.9mg/ml) DMSO(-30℃分注済み)に溶かして-30℃保存)

○Phloxine B (SIGMA/P4030)

final 20ug/ml

(×250 stock solution (5mg/ml) D.W.に溶かしてフィルター滅菌後 4℃遮光保存)

○5-FOA(Wako/060-03661)

Final 1mg/ml

オートクレーブ後の培地に直接添加する

○Thiamine

Plate に塗る場合は 10mM stock 30ul を液体培地で~100ul に希釈して全体に塗り広げる

(×1000 stock solution (10mM) D.W.に溶かしてフィルター滅菌)

○Tryptophan

用時調整 (10mg/ml になるよう D.W.に溶かしてフィルター滅菌、100ul/1plate 使用)