

培地のレシピ: ジャーファーメンター用

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つておきファーメンターと一緒にオートクレーブした後、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 (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ァーメンターに移してオートクレーブ その後下記のものを混ぜる		
	10x YNB ☆1	240mL
	0.02% Biotin	4mL

ii. 合成培地(BMG/BMM)

合成培地 (BMG/BMM) ☆2	1M KPi buffer pH6.0	100mL
	炭素源 (グリセロール (メタノール	20~40g) 5~10mL)
	水	~0.8L
上記のものを混ぜてからファーメンターやメジウム瓶に移してオートクレーブ その後下記のものを混ぜる		
	10x YNB ☆1	200mL
	PTM1	2mL
	0.02% Biotin	3mL
	0.2 g/L 塩安	15mL

☆1 もしオートクレーブ後に用いる 10x YNB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 ^{13}C ラベルのタンパク質を発現したい時は、グリセロールやメタノールを ^{13}C 化されたものを用いる
 ^{15}N ラベルをしたい時も同様 ^{15}N 化された塩化アンモニウムを用いる。

培地のレシピ：プレミックス

	内容	滅菌法
10% GY (100mL)	グリセロール 10g 水 ~100mL	オートクレーブ
70% GY (100mL)	グリセロール 70g 水 ~100mL	オートクレーブ
10x YNB <u>硫安なし</u> (1L) ※1	YNB 17g 水 ~1L	フィルター滅菌
10x YNB <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 KP _i buffer pH 6.0 (1L)	K ₂ HPO ₄ ※2 43.5g KH ₂ PO ₄ 102.1g 水 ~1L KOH で pH 6.0 に合わせる	オートクレーブ
20% グルコース (500mL)	グルコース 100g 水 ~500mL	オートクレーブ もしくは フィルター滅菌
0.2 g/L 塩安(塩化アンモニウム) (15mL)	塩化アンモニウム 3g 水 15mL	フィルター滅菌
100x AA (100mL)	グルタミン酸 メチオニン リジン 500mg ずつ ロイシン イソロイシン 水 ~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
10x YNB の瓶には “10x YNB 硫安なし 17g/L” もしくは “10x YNB 硫安あり 67g/L” とラベルに書き
どちらか分かるようにしておくこと。

※2 K₂HPO₄ 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づつ加えていった方がいいです。念のため。

PTM1 (200mL)	硫酸銅(II) 5水和物	(CuSO ₄ ·5H ₂ 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 ₄ ·5H ₂ O)	0.6g	
	[塩化マンガン(II) 4水和物	(MnCl ₂ ·4H ₂ O)	0.5g]	
	モリブデン酸ナトリウム2水和物	(Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O)	0.04g	
	ホウ酸	(H ₃ BO ₃)	0.004g	
	塩化コバルト(II) 6水和物	(CoCl ₂ ·6H ₂ O)	0.1g	
	塩化亜鉛	(ZnCl ₂)	4g	
	硫酸鉄(I)7水和物	(FeSO ₄ ·5H ₂ O)	13g	
	硫酸	(H ₂ SO ₄)	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	オートクレーブ
------------------	--------------	---------------------	---------

培地: プレート、試験管、バッフルフラスコ用

LB (1L)	ペプトン イーストエキストラクト NaCl 水	10g 5g 10g ~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、 オートクレーブ 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		

LB+Amp プレート (1L)	ペプトン イーストエキストラクト NaCl Agar 水	10g 5g 10g 12~15g ~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、 オートクレーブ その後メジウム瓶の温度が触わ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 イーストエキストラクト 硫安 ※4 水	20g 10g 5g ~700mL
上記のものを混ぜてからオートクレーブ その後下記のものを混ぜる		
	1M KP _i buffer pH 6.0 10x YNB ※4 0.02% Biotin	100mL 100mL 2mL

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

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

※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 もしオートクレーブ後に用いる 10x YNB が硫安入りならオートクレーブ前に硫安を加えなくてよい。

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

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

2008年4月29日作成
 2025年9月17日改訂
 近畿大学先端技術総合研究所
 櫻井 一正