

抗生物質を含んだ LB Agar plate の作製

2013.8.25 Masafumi Katayama

1. LB 培地の調製 (1L)

記試薬を秤量し、混合後、オートクレーブを実施

トリプトン (ナカライ:35640-95) 10g

乾燥酵母エキス (ナカライ:15838-45) 5.0g

塩化ナトリウム (ナカライ:31320-05) 10g

1L の超純水で攪拌する

※調製は「やかん」で行なう

2. Agar の添加

2.0%になるように Agar Purified powder (ナカライ:01162-15) を加える (1L につき 20g)

※スターラーバーもやかんの中に入れておく

3. オートクレーブ

121℃、20min 実施。ゲルが固まらないように 80℃くらいで取り出す。

※取り出し時はやけどに注意。必ず耐熱グローブを使用する。

4. 攪拌

80℃くらいで取り出した後、スターラーに移して攪拌する

5. 抗生物質の添加

抗生物質(カナマイシン 20mg/mL やアンピシリン 200mg/mL のものを)各 1/1000 量を加える。

(最終濃度: カナマイシン 20μg/mL, アンピシリン 200μg/mL)

抗生物質添加後、再度スターラーで攪拌する。

6. Petri dish への分注

水平な場所で 10 cm sterile Petri dish に注ぎ入れる

※ここよりガスバーナーによる無菌状態での操作

1) プレーートを 5 枚ずつ用意し、培地を分注する（左図参照）

温度が下がると泡が入りやすくなるため、泡が入ったらバーナーで火を液面に当てる

2) 分注後、液面が一様になるようにプレートを動かす

3) プレート側面に抗生物質を示す縦線を入れる（赤：アンピシリン、青：カナマイシン、黒：クロラムフェニルコール等）

4) 通常、机の上で数日、乾燥させる。冷却乾燥（冷蔵庫）の場合は、水滴が付くため、上下逆にして CO₂ インキュベータで 30min ほど乾燥させる。

5) 保存（4℃）

