

細胞培養用培地

クラシカル培地：技術情報

粉末培地の調製

濾過操作前の培地調製

粉末培地や塩混合物はきわめて吸湿性が高いため、空気中の水分に触れさせないでください。開封後は、各製品を速やかに使い切るようにしてください。沈殿を生じるおそれがありますので、濃縮培地で調製を行なうことは避けてください。

添加物は、濾過操作前に加えるか、または滅菌培地に無菌的に加えることができます。添加物の性質によって、培地の保存条件および保存寿命が変化することがあります。

手順

- 最終体積の90%の組織培養用水を量り取ります。水は必ず室温に保ってください。
- 穏やかに攪拌しながら、粉末培地または塩混合物を加えます。溶解するまで攪拌します。加熱はしないでください。
- 製品の容器を少量の水ですすぎ、残った粉末をすべて洗い出します。洗液を溶液に加えます。

- 調製する培地の最終体積に必要な重炭酸ナトリウムの量を下表から求め、溶液に加えます。溶解するまで攪拌します。
- 培地のpHは減圧濾過中に上昇するため、攪拌中は目的のpHよりも0.1~0.3低いpHに調節します。1 N HClまたは1 N NaOHを用いるようにしてください。
- 組織培養用水をさらに加え、最終体積に調節します。
- 0.2 μm以下の孔径をもつメンブランフィルターでただちに滅菌濾過します。
- 滅菌容器に無菌的に分注します。液体培地は2~8°Cの暗所に保存します。
- オスモル濃度は塩化ナトリウムまたは塩化カリウムの添加によって変化し、NaCl濃度300 mg/LまたはKCl濃度400 mg/Lで約10 mMになります。

粉末培地や塩混合物の詳細については、各製品に付属の説明書をご覧ください。

10倍濃縮液体培地

10倍濃縮培地の成分の一部はpH 7.0で沈殿するため、シグマ・アルドリッチでは必要に応じてpHの調節を行ない、成分の溶解性を保っています。このため、1倍に希釈した培地のpHは、滅菌した1 N NaOHまたは1 N HClで調節する必要がある場合があります。

1倍液体培地（1 L）への希釈

（注：10倍濃縮培地の希釈には、滅菌容器、滅菌成分および滅菌器具を用いてください）

- 約850 mlの組織培養用水を無菌的に量り取り、適切な容量の容器に入れます。

- 穏やかに攪拌しながら、10倍濃縮培地100 mlを加えます。
- 必要量の重炭酸ナトリウムを培地に加えます（下表参照）。
- 培地に添加物（L-グルタミン、抗生物質、血清など）を無菌的に加えることができます。添加物の性質によって、培地の保存条件および保存寿命が変化します。
- 攪拌しながら1 N NaOHまたは1 N HClを加え、培地を目的のpHに調節します。
- 組織培養用水をさらに加え、最終体積に調節します。
- 無菌容器に無菌的に分注します。2~8°Cで冷蔵保存します。

重炭酸ナトリウムおよびL-グルタミン添加量表

7.5% Sodium Bicarbonate Solution（製品番号S 8761）、200 mM L-Glutamine Solution（製品番号G 7513）またはL-Glutamine Powder（製品番号G 5763、G 6392）を使用する場合、1倍（等倍濃度）液体培地に適した重炭酸ナトリウムお

よびL-グルタミンの濃度は、下表のようになります。G 5763は滅菌済み試薬ではないため、使用前に溶解して滅菌濾過する必要がありますのでご注意ください。

| 10倍液体培地 | 製品番号 | 7.5% NaHCO ₃ Solution (ml/L) | L-Glutamine 200 mM (ml/L) | L-Glutamine Powder (g/L) |
|--|--------|---|---------------------------------|--------------------------------|
| MED 199 HBSS | M 9163 | 04.7 | 03.40 | 0.100 |
| MEM HBSS | M 9288 | 04.7 | 10.00 | 0.292 |
| MEM EBSS | M 0275 | 29.3 | 10.00 | 0.292 |
| MED 199 EBSS | M 0650 | 29.3 | 03.40 | 0.100 |
| DPBS | D 1283 | — | — | — |
| DPBS w/o Ca ²⁺ and Mg ²⁺ | D 1408 | — | — | — |
| EBSS | E 7510 | 29.3 | — | — |
| HBSS | H 1641 | 84.7 | — | — |
| HBSS w/o Ca ²⁺ and Mg ²⁺ | H 4641 | 84.7 | — | — |

(—) = 使用不可

細胞培養用培地

クラシカル培地：技術情報

重炭酸ナトリウム添加量表

7.5% Sodium Bicarbonate Solution (製品番号S 8761) または細胞培養試験済みSodium Bicarbonate Powder (製品番号S 5761) を使用する場合、1倍(等濃度)粉末培地に適した重炭酸ナトリウム濃度は、下表のようになります。

| 粉末培地 | 製品番号 | 7.5% NaHCO ₃ Solution (ml/L) | NaHCO ₃ Powder (g/L) |
|-------------------------------|--------|---|---------------------------------------|
| AMES' MEDIUM | A 1420 | 25.7 | 1.932 |
| BME EBSS | B 9638 | 29.3 | 2.2 |
| DME/F-12 w/o phenol red | D 2906 | 16.0 | 1.2 |
| DME/F-12 | D 9785 | 16.0 | 1.2 |
| DME/F-12 | D 8900 | 16.0 | 1.2 |
| DME/F-12 | D 0547 | 16.0 | 1.2 |
| DME HEPES | D 1152 | 49.3 | 3.7 |
| DME w/o phenol red | D 2902 | 49.3 | 3.7 |
| DME Deficient | D 5030 | 49.3 | 3.7 |
| DME | D 5523 | 49.3 | 3.7 |
| DME | D 5648 | 49.3 | 3.7 |
| DME | D 7777 | 49.3 | 3.7 |
| F-12 (Coon's Modification) | F 6636 | 35.7 | 2.676 |
| Glasgow MEM | G 6148 | 36.7 | 2.75 |
| HBSS w/o phenol red | H 1387 | 84.7 | 0.35 |
| HBSS | H 2387 | 84.7 | 0.35 |
| HBSS w/o phenol red | H 4891 | 84.7 | 0.35 |
| HBSS | H 6136 | 84.7 | 0.35 |
| IMDM | I 7633 | 40.3 | 3.024 |
| KREBS-HENSELEIT | K 3753 | 28.0 | 2.1 |
| KREBS-RINGER | K 4002 | 16.8 | 1.26 |
| McCOY'S 5A | M 4892 | 29.3 | 2.2 |
| MCDB-131 | M 8537 | 15.7 | 1.176 |
| MCDB-153 | M 7403 | 15.7 | 1.176 |
| M-199 EBSS HEPES | M 2520 | 29.3 | 2.2 |
| M-199 EBSS w/o phenol red | M 3769 | 29.3 | 2.2 |
| M-199 EBSS | M 5017 | 29.3 | 2.2 |
| MEM EBSS | M 0268 | 29.3 | 2.2 |
| MEM JOKLIK | M 0518 | 26.7 | 2.0 |
| MEM EBSS NEAA | M 0643 | 29.3 | 2.2 |
| MEM Alpha | M 0644 | 29.3 | 2.2 |
| MEM EBSS AUTO-MOD™ | M 0769 | 29.3 | 2.2 |
| MEM Alpha | M 0894 | 29.3 | 2.2 |
| MEM HBSS NEAA | M 1018 | 84.7 | 0.35 |
| MEM EBSS HEPES | M 2645 | 29.3 | 2.2 |
| MEM EBSS NEAA, w/o phenol red | M 3024 | 29.3 | 2.2 |
| MEM HBSS | M 4642 | 84.7 | 0.35 |
| NCTC 135 | N 3262 | 29.3 | 2.2 |

細胞培養用培地

クラシカル培地：技術情報

| 粉末培地 | 製品番号 | 7.5% NaHCO ₃ Solution (ml/L) | NaHCO ₃ Powder (g/L) |
|--------------------------|--------|---|---------------------------------------|
| Nut Mix F-10 | N 6635 | 16.0 | 1.2 |
| Nut Mix F-12 | N 6760 | 15.7 | 1.176 |
| Nut Mix F-12K | N 3520 | 33.3 | 2.5 |
| RPMI-1640 Deficient | R 1383 | 26.7 | 2.0 |
| RPMI-1640 HEPES | R 4130 | 26.7 | 2.0 |
| RPMI-1640 | R 6504 | 26.7 | 2.0 |
| RPMI-1640 w/o phenol red | R 8755 | 26.7 | 2.0 |
| TYRODE'S SALTS | T 2145 | 13.3 | 1.0 |
| WAYMOUTH MB752/1 | W 1625 | 29.9 | 2.24 |
| WILLIAMS' MEDIUM E | W 4125 | 29.3 | 2.2 |

AUTO-MOD™ 粉末培地の調製

製品番号M 0769、R 7755

シグマ・アルドリッチのAUTO-MOD™粉末培地は、オートクレーブに必要な温度や環境に耐えられるように特別に調製した培地です。AUTO-MOD™粉末培地は、すべての粉末培地と同じく、空気中の水分に触れさせないでください。また、濃縮培地で調製を行なうことも避けてください。

手順

培地の添加物は、その物質の熱安定性に応じて加えます。すなわち、耐熱性添加物はオートクレーブ前に加えることができますが、非耐熱性添加物はオートクレーブ後に無菌的に加える必要があります。培地の保存条件および保存寿命は、加えた添加物の種類によって決定されます。

- 最終体積の90%の組織培養用水を量り取ります。
- 穏やかに攪拌しながらAUTO-MOD™粉末培地を加えます。溶解するまで攪拌します。
- 製品の容器を少量の水ですすぎ、残った粉末をすべて洗い出します。洗液を溶液に加えます。
- RPMI-1640（製品番号R 7755）は、オートクレーブ前にpH 4.0に調節する必要があります。

- 組織培養用水をさらに加え、体積を調節します。このとき、オートクレーブ後に加える重炭酸ナトリウム溶液とL-グルタミン溶液の体積を差し引いた体積に調節してください。
- 121°C、15 psiで15分間オートクレーブを行ないます。
注：オートクレーブの性能にはばらつきがあります。各装置をご確認ください。
- 長時間の加熱および蒸発を避けるため、ただちに培地を取り出します。
- 培地を15～20°Cに冷却した後、調製する培地の最終体積に必要な滅菌済み7.5% Sodium Bicarbonate Solution（製品番号S 8761）と、滅菌済み200 mM L-Glutamine Solution（製品番号G 7513）またはγ線滅菌済み L-Glutamine（製品番号G 6392）を加えます。適切な量については下表をご覧ください。
- 必要に応じて、無菌1 N NaOHまたは1 N HClでpHを調節します。
- 液体培地は2～8°Cの暗所に保存します。

重炭酸ナトリウムおよびL-グルタミンの添加量表

7.5% Sodium Bicarbonate Solution（製品番号S 8761）、滅菌済み200 mM L-Glutamine Solution（製品番号G 7513）を使用する場合、1倍（等倍濃度）AUTO-MOD™粉末培地に適

した重炭酸ナトリウムおよびL-グルタミンの濃度は、下表のようになります。

| Auto-Mod™培地 | 製品番号 | 7.5% NaHCO ₃ Solution (ml/L) | L-Glutamine 200 mM (ml/L) | γ線滅菌済み L-Glutamine (g/L) |
|-------------|--------|---|---------------------------------|--------------------------------|
| MEM | M 0769 | 29.3 | 10.00 | 0.292 |
| RPMI-1640 | R 7755 | 26.7 | 10.25 | 0.3 |