

YAC の取り方

Hiroshi Qadota <qadota@zoology.ubc.ca> 2002/10/10

1 Alan Coulson からスタップが届いたら

1-1 Immediate stock をつくる

作り方：SD+CA+Glycerol (SD : 50% Glycerol = 2:1) 100 mL にスタップからかきとった酵母をまぜ、マイナス 80 度にしまう。*

1-2 プレートに起こす

やり方：SD+CA のプレートにスタップからかきとった酵母を塗る。25 度で一晩培養する。

1-3 ストックをつくる

2 mL SD+CA にうえて、30 度で培養する。Saturate したら、1 / 2 Vol の 50% Glycerol を加え、よく混ぜて、マイナス 80 度に入れる。

2 YAC の単離方法

2-1 前培養

コロニーをつついて、2 mL の SD+CA にうえる。30 度で培養する (2 ~ 3 日間)。

2-2 本培養

50 mL SD+CA に前培養を加える。30 度で 2 ~ 3 日間培養する。

2-3 精製方法

キアゲン、Genome Tip で行う。チェックは、YAC 内にある遺伝子の PCR などで行う。

* SD+CA の作成法

Yeast Nitrogen Base w/o amino acid	3.5 g
Casamino Acid	2.5 g
Water	450 ml

オートクレーブ後、20% グルコースを 50 ml、100x アデニン (200mg/100ml) を 5 ml 加える。