

Mikrobiologische Medien

Rezepte für häufig verwendete bakterielle Medien

Bereiten Sie Flüssigmedien nachfolgenden Rezepten zu.

Die angegebenen Mengen der Zutaten beziehen sich auf ein Endvolumen von 1 L.

LB Medium (Luria-Bertani Medium)

Zu 950 mL entionisiertem Wasser hinzufügen:

10 g	Pepton aus Casein	Art.-Nr. 48600
5 g	Hefeextrakt	Art.-Nr. 24540
10 g	NaCl	Art.-Nr. 30183

- Lösen Sie die Reagenzien durch Rühren auf einem Magnetrührer auf.
- Stellen Sie den pH-Wert mit ca. 0,2 mL 5 N NaOH Lösung auf 7,0 ein.
- Füllen Sie mit entionisiertem Wasser auf 1 L auf.
- Durch Autoklavieren können Sie die Lösung sterilisieren.

2 x YT Medium

Zu 900 mL entionisiertem Wasser hinzufügen:

6 g	Pepton aus Casein	Art.-Nr. 48600
10 g	Hefeextrakt	Art.-Nr. 24540
5 g	NaCl	Art.-Nr. 30183

- Lösen Sie die Reagenzien durch Rühren auf einem Magnetrührer auf.
- Stellen Sie den pH-Wert mit ca. 0,2 mL 5 N NaOH Lösung auf 7,0 ein.
- Füllen Sie mit entionisiertem Wasser auf 1 L auf.
- Durch Autoklavieren können Sie die Lösung sterilisieren.

SOB Medium

(für die Produktion von kompetenten Bakterien, Ref. 1)

Zu 950 mL entionisiertem Wasser hinzufügen:

20 g	Pepton aus Casein	Art.-Nr. 48600
5 g	Hefeextrakt	Art.-Nr. 24540
0,5 g	NaCl	Art.-Nr. 30183

- Lösen Sie die Reagenzien durch Rühren auf einem Magnetrührer auf.
- Stellen Sie den pH-Wert mit ca. 0,2 mL 5 N NaOH Lösung auf 7,0 ein.
- Füllen Sie mit entionisiertem Wasser auf 1 L auf.
- Durch Autoklavieren können Sie die Lösung sterilisieren.
- Direkt vor der Benutzung fügen Sie hinzu:

2,5 mM KCl	2,5 mL von einer 1 M Stammlösung
10 mM MgCl ₂	10 mL von einer 1 M Stammlösung
10 mM MgSO ₄	10 mL von einer 1 M Stammlösung

Mikrobiologische Medien

Rezepte für häufig verwendete bakterielle Medien

Rezept für die Herstellung von Agarplatten

1. Agarplatten werden durch die Zugabe von 15 g Agar-Agar pro 1 L flüssigem Medium hergestellt.
2. Die Mischung wird durch Autoklavieren sterilisiert.
3. Den geschmolzenen Agar durch leichtes Schütteln auflösen, um Luftblasen zu vermeiden.
4. Fügen Sie thermolabile Substanzen wie Antibiotika (z. B. Ampicillin bis zu einer Endkonzentration von 50 mg/mL) erst nachdem Sie das Medium auf 45 – 60 °C abgekühlt haben hinzu.
5. Gießen Sie 25 bis 30 mL des Mediums in eine 90 mm Platte.
6. Flammen Sie das Medium vor dem Aushärten mit einem Bunsenbrenner ab, um Luftblasen an der Oberfläche zu entfernen.
7. Die ausgehärteten Platten werden kopfüber bei 4 °C gelagert; die Haltbarkeit hängt von den hinzugefügten Antibiotika ab.
8. Erwärmen Sie die Platten 1 bis 2 Stunden bei Raumtemperatur bevor sie mit den Bakterien angeimpft werden
9. Entfernen Sie Kondensationsflüssigkeit von dem Deckel der Platte.
10. Impfen Sie die Platte mit 0,1 mL Bakterienlösung an und warten Sie für 30 Minuten bis die Flüssigkeit verschwunden ist.
11. Inkubieren Sie die Platten kopfüber für 12 bis 16 Stunden bei 37 °C.

Rezept für die Herstellung von Topagar

1. Topagar wird mit 7 g Agar-Agar pro 1 L Flüssigmedium hergestellt, wie in dem Rezept zur Herstellung von Agarplatten beschrieben.
2. Für 90 mm Platten werden 3 mL Topagar benötigt.
3. Der sterilisierte, heiße Topagar wird vor der Benutzung bei 47 °C im Wasserbad inkubiert.
4. Wenn die Temperatur erreicht ist, plattieren Sie die Bakterien- oder Phagen-Lösung aus.
5. Gießen Sie den Topagar vorsichtig auf eine vorbereitete Agarplatte bis der Topagar vollständig auf der Oberfläche verteilt ist.
6. Lassen Sie den Topagar für 5 min bei Raumtemperatur aushärten.
7. Inkubieren Sie die Platten kopfüber für 12 bis 16 Stunden bei 37 °C.

Rezepte für die Herstellung von Puffern

1 M MgCl₂ (Art.-Nr. 39771)

- Lösen Sie 203.3 g MgCl₂ in 800 mL H₂O
- Füllen Sie auf 1 L H₂O auf und sterilisieren Sie den Puffer durch autoklavieren

1 M MgSO₄ (Art.-Nr. 39773)

- Lösen Sie 120.4 g MgSO₄ in 800 mL H₂O
- Füllen Sie auf 1 L H₂O auf und sterilisieren Sie den Puffer durch autoklavieren

1 M KCl (Art.-Nr. 26868)

- Lösen Sie 74.6 g KCl in 800 mL H₂O
- Füllen Sie auf 1 L H₂O auf und sterilisieren Sie den Puffer durch autoklavieren

Referenz:

- 1) D. Hanahan (1985) Techniques for transformation of E.coli. DNA cloning, Col I. A practical approach. Glover, D.M. (ed.), IRL Press, Washington D.C., 109 – 12

Version 10/23