**培养基名称：YTG培养基（/升）**

**1、成分：**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **试剂名称** | **质量/体积** | **备注** |
| 酵母粉（Yeast extract） | 0.5 g |  |
| 蛋白胨（Trytone） | 1.0 g |  |
| 葡萄糖（Glucose） | 2.5 g |  |
| Sigma海盐（Sea salt） | 30.0 g |  |
| 4-羟乙基哌嗪乙烷磺酸（HEPES） | 5.67 g |  |
| 维生素储液（Vitamin Solution） | 10.0 ml | 灭菌后补加 |
| 沃夫微量元素储液（Wolfe’s Trace-element Solution） | 1.0 ml |  |
| L-半胱氨酸（L-Cys） | 0.2 g |  |
| 刃天青溶液（Resazurin, 1g/L） | 1.0 ml |  |
| pH8.0 |

\* 气相应替换成氮气，一般抽换气6次，边抽气边震荡

\* 灭菌条件：121℃ 20min

**沃夫微量元素储液（每升）**

**（Wolfe’s trace minerals, stock solution, per liter)**

|  |  |
| --- | --- |
| **试剂名称** | **质量/体积** |
| 氨三乙酸（Nitrilotriacetic acid） | 1.5g  |
| 七水硫酸镁MgSO4.7H2O | 3.0g  |
| 二水硫酸锰MnSO4.2H2O | 0.5g  |
| 氯化钠NaCl | 1.0g  |
| 七水硫酸亚铁FeSO4.7H2O | 0.1g  |
| 六水氯化钴CoCl2.6H2O | 0.1g  |
| 二水氯化钙CaCl2.2H2O | 0.1g  |
| 七水硫酸锌ZnSO4.7H2O | 0.1g  |
| 五水硫酸铜CuSO4.5H2O | 0.01g  |
| 硫酸铝钾AlK(SO4)2.12H2O | 0.01g  |
| 硼酸H3BO3 | 0.01g  |
| 二水钼酸钠Na2MoO4.2H2O | 0.01g  |
| 亚硒酸钠Na2SeO3 | 1.0 mg |
| 先将氨三乙酸溶解到800ml超纯水中，用KOH调节pH值到6.5，随后逐一加入其他试剂，注意加入前需前一种试剂已完全溶解，待所有试剂全部溶解后，补加超纯水至1000ml。121℃，20min高压灭菌或无菌过滤，保存于4℃避光条件。 |

**维生素储液（Vitamin Solution）**(mg/l)

|  |  |
| --- | --- |
| **试剂名称** |  |
| 生物素（Biotin） | 2.0 |
| 叶酸（Folic acid ） | 2.0 |
| 盐酸吡哆辛（Pyridoxine HCl / Vb6） | 10.0 |
| 核黄素（Riboflavin / Vb2） | 5.0 |
| 硫胺素（Thiamin / Vb1） | 5.0 |
| 烟酸（Nicotinic acid） | 5.0 |
| 泛酸（Pantothenic acid / Vb5） | 5.0 |
| 维生素B-12（Vb12） | 0.1 |
| 对氨基苯甲酸P（P-aminobenzoic acid P） | 5.0 |
| 硫辛酸（Thioctic acid） | 5.0 |
| L-半胱氨酸盐酸盐（L-Cys-HCl） | 2000 |
| pH 值自然 |

\*无菌过滤，保存于4℃避光条件

\*气相应替换成氮气（注意使用疏水系的滤器），一般抽换气6次，边抽气边震荡