

培地の選び方と注意

培地添加物について

基本的には同じ名称の培地の組成は同一です。しかし、各メーカーの中でも炭酸水素ナトリウム含・不含、L-glutamine 含・不含の製品があったり、HEPES 含有、あるいは L-glutamine に代えて glutamax という仕様にした製品 (GIBCO)があります。この場合、次のような点に注意してください。

炭酸水素ナトリウム

各種培地の必須成分です。ただし、pH の調整が利用者ができるようにするために、製品には含まれない場合があります。また、加熱に弱い (炭酸ガスとして出てしまう) ため、オートクレーブ可能製品には含まれていません。いずれにしても最終的には、炭酸水素ナトリウムが含まれている必要があり、不含の製品の場合には、利用者が無菌的に加える必要があります。

L-glutamine

各種培地の必須成分です。しかし、液体状態で分解されやすいため、市販製品では含まれていないものがあり、その場合には利用者が添加して用いなければなりません。L-glutamine も加熱に弱いため、オートクレーブ可能製品には含まれていません。不含の製品の場合には、最終的に利用者が無菌的に加える必要があります。

HEPES

MEM, DMEM, F12, RPMI1640 などの培地では原報では含まれない成分です。しかし、pH を強く安定化するために HEPES をオプションで加える場合があります、市販品はそれに対応したものです。

Gltamax

上記のように、L-glutamine は液体状態で不安定なため、安定な代替物として GIBCO の培地には GLUTAMAX ブランドの製品があります。本来の組成ではありませんが、そのまま使えます。

Phenol red

pH 指示薬で、ほとんどの培地に含まれます(規定の成分です)が、一部製品には含まれていません。これはフェノールレッドに弱いエストロゲン活性があり、ホルモンのアッセイなどに影響を与えることがあるためです。通常はフェノールレッドは入っていて問題ありません。

抗生物質

バンクでは抗生物質を添加していませんが、市販品では最初から kanamycin などを含む製品があります。抗生物質は基礎培地の規定の成分ではありません。オプションで利用者の判断で添加してください。

100 units/ml penicillin + 100 ug/ml streptomycin の組合せはよく用いられています。また 50 ug/ml kanamycin も使われます。gentamycin は細胞毒性を示す濃度と、培養に入れる濃度が比較的近く、個人的にはあまりお勧めしません。

抗真菌剤の Fungizon (amphotericin B)は、細胞によっては増殖等に影響を与える場合があります。

非必須アミノ酸

non-essential amino acids (非必須アミノ酸)

非必須アミノ酸溶液は、例えば下記のような 100X 溶液が GIBCO から販売されています。

MEM non-essential amino acids solution 10 mM (100X): 11140-050

DMEM の high glucose と low glucose

DMEM には high glucose と low glucose の処方が販売されていますが、通常の DMEM は low glucose 組成 (1 g/L)を指します。high glucose は変法ですので、いずれの細胞においても、特に high glucose または 4.5 g/L glucose と記載していないかぎり low glucose の DMEM をご使用ください。

High glucose の DMEM との使い分けですが、耳学問では、がん細胞ではワールブルグ効果で解糖系の代謝が昂進しており、解糖系の出発物質である glucose の濃度を高めるとヒトがん細胞株で増殖などが良くなることがあるようです。ヒトがん細胞株では high glucose の DMEM を使うケースはよくあります。

DMEM のピルビン酸ナトリウム

DMEM にはピルビン酸ナトリウム含・不含の製品がありますが、原処方ではピルビン酸ナトリウムは規定の成分です。

Eagle's MEM はどれを選べばよいのか？

Eagle's MEM は非常に多くのメーカーから発売されており、同じメーカーでもカタログにいろいろな種類のを記載しているので、最近の研究者は非常に混乱していると思います。

Eagle's MEM はベースとなる平衡塩が [Earle 処方](#)、[Hanks 処方](#)の二種類があり、前者は 5% CO₂ インキュベーターで培養する際の処方、後者は大気組成のインキュベーターで培養する際の処方です。一般的な培養で Eagle's MEM とされていれば、通常は前者を指します。

[グルタミン](#)含・不含、[炭酸水素ナトリウム](#)含・不含との記載が多くのメーカーのカタログにみられますが、これらは Eagle's MEM の必須成分であり、最終的には必ず加えなければなりません。オートクレーブ可能製品ではこれらの成分が必ず不含となっています。これは高温でこれらの成分が分解、あるいは一部が失われてしまうため、ユーザーがオートクレーブ後に加える必要があります。

また、炭酸水素ナトリウムの場合はユーザーが pH を調整するために、グルタミンは水溶液中でやや不安定な（長期保存に向かない）ため、後から加えるように指定される場合が多いです。

[メチオニン](#)不含、[リン酸](#)不含と記載されているものは、蛋白、核酸を放射性同位体で標識する際に、放射性同位元素で標識されたメチオニン、リン酸などに置換してユーザーが加

えるためです。通常の MEM の基本組成ではどちらも必須成分です。

非必須アミノ酸は通常の MEM の組成ではありません。非必須アミノ酸が必要な細胞はデータシートにそのように記載しております。

GIBCO と Sigma の MEM with NEAA に関する注意

注意すべき点として、GIBCO や Sigma で非必須アミノ酸含有の液体培地として販売されている、MEM with non-essential amino acids の GIBCO 品番 10370-021 と Sigma 品番 M5650 には、なぜか MEM の必須成分である L-glutamine が含まれていません。

L-glutamine が製品に含有されているかどうかご確認され、もし含まれていなかった場合には、2 mM の濃度になるよう添加してください。

(GIBCO 品番 25030-081 など 100X L-glutamine が販売されています)