

Agarplatten für Versuche mit Hefe herstellen

Ziel:

Mittels Dampfsterilisation wird **Nährmedium für Hefen (YPD-Agar)** hergestellt und in sterile Einweg-Petrischalen gegossen.

Materialien:

- Einweg **Petrischalen** (steril) zu beziehen z.B. bei der Firma Roth www.carlroth.ch (Rotilabo Petrischalen, mit Nocken, Durchmesser 90 mm, Höhe 14 mm, Best. Nr. N221.1, Preis für 600 Platten = ca. SFr. 140.-)
- Standardisiertes Hefe-Nährmedium (z.B. YPD-Agar für die Mikrobiologie, Molekularbiologie, Roth Best. Nr. X971.1, 500 g = ca. SFr. 101.35, reicht für ca. 250 Agarplatten). Das YPD-Agar enthält: Trypton, Hefeextrakt, Glucose und Agar¹ unter gepufferten Bedingungen (pH ca. 6.5)
- Sterilisierbare **Gewindflaschen** 100 ml (Roth Best. Nr. X712.1, 10 Stück = SFr. 32.50). Alternativ: kleine **Konfitüregläser**
- Dampfkochtopf (z.B. aus der Physiksammlung)
- Heizplatte, Wecker, Waage
- Fakultativ: Sterilindikatorband für die Dampfsterilisation (Roth Best. Nr. 8221.1, 1 Rolle = SFr. 23.25)



Geeignete Gläser für die Dampfsterilisation (links: Gewindflasche, rechts: Konfitüreglas)



Ein gehäufter Kaffeelöffel YPD-Agar entspricht 4 g (das reicht für zwei Platten)



YPD-Agar

¹ **Agar:** (Agar-Agar) Galactose-Polymer, Gelmittel, wird aus den Zellwänden einiger asiatischer Algenarten hergestellt. Zusatzstoffnummer E 406

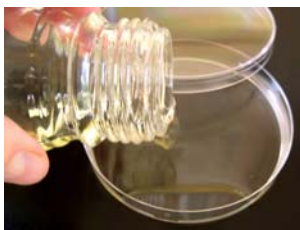
Durchführung:

1. Die entsprechende Menge des Nährmediums wägst du direkt in die sterilisierbare Gewindeflasche (oder in das Konfitüreglas). Vom Vollmedium (Roth) benötigst du pro Petrischale 2 g. Löse das Medium in entsprechendem Volumen entmineralisiertem Wasser (eine Petrischale benötigt ca. 30 ml; Vorsicht: in einer 100 ml Gewindeflasche können maximal 60 ml Flüssigkeit sterilisiert werden). Den Deckel der Flasche nicht fest verschliessen. Fakultativ: klebe auf den Deckel ein Stück Sterilindikatorband.
2. Den Dampfkochtopf füllen, Wasser nicht vergessen und Sterilisation starten: **120°C, 20 Minuten** (Wecker stellen).



Sterilindikatorband vor und nach dem Sterilisieren

3. Nach der Sterilisation lässt du die Flaschen etwa 15 Minuten bei Raumtemperatur auf ca. 50-60°C abkühlen, mischst vorsichtig und giesst dann das Medium bei dieser Temperatur zügig in die Petrischalen. Zu diesem Zweck die Deckel der Platten nur kurz heben. Im gegossenen Agar sollten keine Luftblasen vorhanden sein, diese können allenfalls mit einer Bunsenbrennerflamme eliminiert werden (vor dem Aushärten).



4. Das Aushärten dauert ca. 30 – 45 Minuten, die Platten können etwa nach 2 Stunden für Versuche benutzt werden. Falls die Platten nicht sofort benötigt werden, kannst du diese trocken in einem verschlossenen Plastiksack aufbewahren. Alternativ kannst du die einzelnen Platten auch mit Parafilm verschliessen.