

## Preparare il terreno di coltura per i lieviti

a cura di V. Soglio adattato da Sambrook and Russel, *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*

*Il lievito è un organismo unicellulare eterotrofo, in grado di crescere solo se nel terreno di coltura trova una fonte di carbonio. Il terreno descritto in questo protocollo è il mezzo classicamente usato per una crescita rapida e ottimale del lievito *Saccharomyces cerevisiae*. Si tratta di un terreno ricco, contenente anche quei nutrienti, come per esempio gli aminoacidi, che altrimenti la cellula dovrebbe sintetizzare ex novo attivando le specifiche vie metaboliche e consumando tempo ed energia. Anche nei laboratori scolastici, almeno in quelli dotati di strumenti come l'autoclave, è possibile preparare questo terreno.*

### Obiettivo

Preparare un terreno liquido o solido per la crescita dei lieviti.

### Procedimento

1. Pesare 10 g di estratto di lievito, 20 g di peptone e 20 g di D-glucosio.
2. Mettere l'estratto di lievito in un becker contenente 500 ml di acqua deionizzata e mescolare fino a quando la polvere si è sciolta.
3. Aggiungere il peptone e il destrosio e mescolare fino a quando le polveri si sono sciolte.
4. Portare il volume a 1 L aggiungendo acqua deionizzata e trasferire in una bottiglia. Per preparare un terreno liquido procedere seguendo il punto 5, per un terreno solido il punto 6.
5. Sterilizzare in autoclave per 10 minuti a 121°C e conservare il terreno liquido così preparato a temperatura ambiente.
6. Aggiungere 20 g di bacto-agar per ogni litro di terreno.
7. Sterilizzare in autoclave per 10 minuti a 121°C.
8. Lasciare raffreddare il terreno e versarne 25 ml circa in ogni piastra.
9. Quando il terreno si è solidificato, conservare le piastre in frigorifero.

### Osservazioni

- L'estratto di lievito è ottenuto dalla idrolisi di cellule di lievito ed è fonte di precursori di nucleotidi e vitamine. Il peptone è una fonte di aminoacidi in quanto è ottenuto dalla digestione parziale di proteine contenute nel latte o nella carne animale. Il D-glucosio o destrosio è la fonte di carbonio.
- Nei laboratori di ricerca il terreno di coltura per i lieviti descritto in questo protocollo è comunemente chiamato YPD dalle iniziali dei nomi inglesi che indicano le sue componenti: Y = yeast extract (estratto di lievito), P = peptone (peptone) e D = dextrose (destrosio).

### Referenze

Sambrook and Russel. "Molecular Cloning: a Laboratory Manual" CSHL Press



### Tempo previsto

40 minuti

### Materiali e reagenti

- ✓ Estratto di lievito
- ✓ Peptone
- ✓ D-glucosio (destrosio)
- ✓ Bacto-agar
- ✓ Acqua deionizzata
- ✓ Becker
- ✓ Bottiglia
- ✓ Piastre petri

### Strumentazione

- ✓ Bilancia
- ✓ Autoclave