

## ICP-MS 前処理

1. 3ml の SD-glc-Ura 液体培地に酵母を植菌して、30°C、150rpm で前培養を行った。
2. 新しい 15ml チューブ 2 本にそれぞれ 3ml の SD-glc-Ura 液体培地と、SD-gal-Ura 液体培地を加た。それぞれに前培養液を 500  $\mu$ l 植菌し、30°C、150rpm で 12 時間本培養した。
3. 500ml の SD-gal-Ura 培地に 10mM の CdCl<sub>2</sub> を 500ul 加えよく混ぜた。この培地を 50ml のファルコンチューブに 9ml 分注した。
4. 2 本のチューブに、OD<sub>600</sub> が 0.5 となるように本培養液を 1.5ml 植菌し、30°C、150rpm で 60 分振盪培養した。振盪中、20mM CaCl<sub>2</sub> を氷上に静置して冷やした。
5. スイングローターで 3500rpm、4°C、5min 遠心し、上清をデカンテーションで除いた。
6. 氷冷した 20mM CaCl<sub>2</sub> を 5ml 加えてボルテックスで懸濁し、スイングローターで 3500rpm、4°C、5min 遠心してリンスした。リンスは 3 回行った。
7. 最後のリンスの後、上清を少量だけ残し、ピペッティングでペレットを懸濁し、1.5ml チューブに移した。10000rpm、4°C、1min 遠心し、上清をピペットマンでぎりぎりまで除き、1.5ml チューブのふたを開けたまま恒温機(TAITEC)にセットして 80°C、30min でペレットを乾燥させた。
8. 乾燥後 1.5ml チューブの重量をマイクロ天秤(ザルトリウス社)で 3 回測定し、測定後にペレットをテフロンチューブ(サンブラテック)に移して、空の 1.5ml チューブの重量を 3 回測り、3 回の平均を求めてペレット移動前後の差からペレットの重量を計測した。
9. テフロンチューブに硝酸 125  $\mu$ l を加えて 120°C で 2 時間静置して酵母を酸分解した。
10. 分解後、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を 50ul 加え、遠心機でスピンドウンして 10 分間室温で静置した。
11. 静置後、MQ を 2950ul 加え、3ml にメスアップした。
12. テフロンチューブをチューブラックに置き、チューブラックごと超音波洗浄機に 10 分間つけて、乾燥酵母を完全に水に溶かした。
13. 酵母溶液を新しい 15ml チューブに残さず集め、4°C で保存した。