

## 原子吸光orICP-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で前培養を行う。
2. 9mlのSD-glc-Ura液体培地を予め加えた50mlチューブに、前培養液を1ml植菌し、30°C、130rpmで3時間本培養する。
3. この間に、10mMのCaCl<sub>2</sub>溶液と滅菌蒸留水があることを確認（CaCl<sub>2</sub>溶液はビュレットに入れて、4°Cで冷却）。5. で使う培養液を30°Cに移し、温めておく。15mlのファルコンチューブにサンプルナンバーを書く（それぞれ2本ずつ）。1.5mlのマイクロチューブにもサンプルナンバーを書く（それぞれ二本ずつ）。
4. 3000rpm、室温、3分間遠心し、上清をデカンテーションで捨てる。
5. ここに、基質（例えばAs, Ni, Cs）を含むSG-ura培地を加えVortexする。
6. 30°C、130rpmで1時間培養する。実習室の遠心機を4°Cに設定。
7. チューブを氷上に移し培養を止める。デカンテーションで15mlのファルコンチューブに移す。
8. 3000rpm、4°C、3分間遠心し、上清をデカンテーションで捨てる。
9. 10mM CaCl<sub>2</sub>を5ml加え、ボルテックスで良く攪拌する。
10. 3000rpm、4°C、3分間遠心し、上清をデカンテーションで捨てる。
11. リンスを合計3回行う。
12. 3回目のリンスの後、軽く遠心する。
13. 沈殿をピペットマンで懸濁して1.5 mlチューブに全量を移す。
14. 10,000rpmで1分間遠心した後、上清を完全に除き、滅菌水を1ml加える。
15. 各チューブから10 μlを新しいチューブに分注し、これを数えやすい細胞数になるまで滅菌水で薄める。
16. 顕微鏡で9分画それぞれの酵母の数をカウントする。
17. 残りのチューブは、10,000rpmで1分間遠心した後、上清を少しだけ残すようにデカンテーションで取り除く。その後、沈殿を上清で懸濁し、テフロンチューブ（フロン工業、FW12113）に全量移し、4,000rpm、15秒間遠心して菌液を落とし、これをヒートブロック（TAITEC社）で水分がなくなるまで80°Cにて乾燥させる。
18. ペレットに硝酸を125 μl加え、ヒートブロックで80°C、水分がなくなるまで酸分解する。（この際、室温が低いと水分がチューブの壁に残ってしまうことがあったため、室温を30°Cに設定する（冬季のみ））。
19. 酸分解後、過酸化水素水(Wako)を50 μl加え、穏やかに混和した後10分間室温で静置する。
20. そこに滅菌水を2950 μl加え、チューブラックに置き、ラックごと10分間超音波洗浄機にかける。
21. これをテフロンチューブから15 mlチューブに全量移し、測定まで室温で保存した。