**Protocole :** E3 medium

*E3 medium 1x (pour une utilisation standard)*

1. Mélanger, un soluté à la fois, 34.8g de NaCl, 1.6g de KCL, 5.8g de CaCl2\*2H20 et 9.78g de MgCl2\*6H2O) dans 2L d’eau distillée-déminéralisée (ddH2O). Ceci donne une solution concentrée 60x.
2. Filtrer la solution à l’aide d’un filtre conçu à cet effet sous une hotte biologique.
3. Diluer 16.6 ml de la solution 60x dans ddH2O afin de faire 1L de E3 1x.
4. Ajouter 100 ul de Bleu de Méthylène 0.05% (Sigma-Aldrich) à la solution de l’étape 2. Bleu de Méthylène a pour rôle d’agir comme antifongique.
5. Le milieu de culture E3 1X devrait être changé tous les 48h.

<http://cshprotocols.cshlp.org/content/2011/10/pdb.rec66449.full?text_only=true>