

JCM における微好気性磁性細菌の培地調整 (培地番号 915)

https://www.jcm.riken.jp/cgi-bin/jcm/jcm_grmd?GRMD=915

JCM では、様々な微好気性細菌を取り扱っています。本ページでは、特に磁性細菌と呼ばれる走磁性を示す微好気性細菌を培養する際に用いる培地の作成方法を以下に示します。

該当する磁性細菌は以下のとおりです。

- ・ JCM 17883 *Magnetococcus marinus*
- ・ JCM 17960 *Magnetospira thiophila*
- ・ JCM 17961 *Endothiovibrio diazotrophicus* (非磁性細菌)

(注) 培養に使用する容器、培地の容量、気相のガス置換方法などに関しては、適宜作成者の設備環境に合わせて変更してください。オートクレーブ後に使用する窒素ガスおよび空気は滅菌フィルターを通した無菌ガスを使用してください。

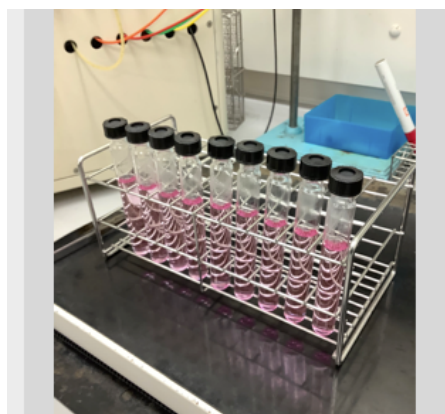
1. ビーカーに 100 mL の超純水をいれ、そこに培地成分 (NaCl から Resazurin まで) を溶かします。pH を 0.5N NaOH で pH7.0 に合わせます。溶液をガラスバイアル瓶に移して、アガロースを加えます。ブチルゴム栓をして、アルミキャップでシールして、気相を N₂ ガスに置換します (写真)。



2. 培地が入ったバイアル瓶をオートクレーブします (写真: オートクレーブ後、酸化還元指示薬 Resazurin の色がピンクになります)。50°C 程度になるまで冷まします。嫌気的かつ無菌的に、残りの培地成分 (リン酸バッファー他) を加えます。すべての培地成分を加えた後で、pH をチェックします。必要であれば適宜滅菌した HCl もしくは NaOH を滴下して pH 7.0-7.2 に調整します。



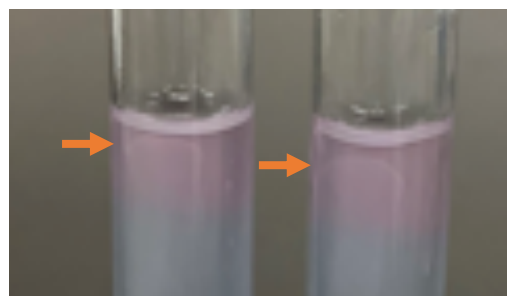
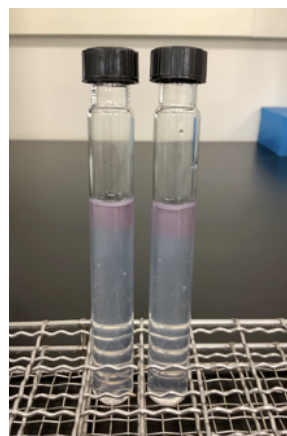
3. クリーンベンチ内でバイアル瓶を開けて (大気下で OK)、滅菌済みのガラス管に分注して (ϕ 16 x 125 mm サイズの Hungate 管の場合は、11 mL ずつ分注)、ブチルゴム栓をして、キャップを取り付けます。



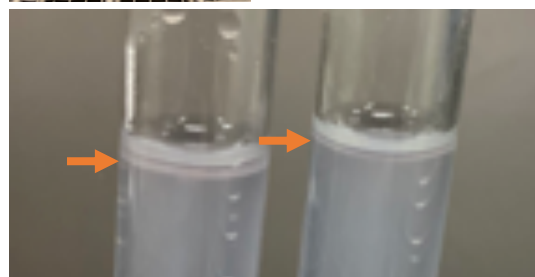
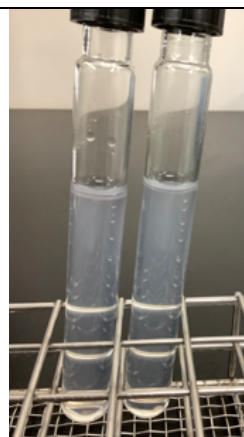
4. 気相を N₂ ガスに置換します。しばらく静置すると、アガロースが固まります。また、酸素が除去されて、Resazurin の色が透明になります(写真)。この状態の培地は、4°C で一ヶ月程度保存できます。



5. 植菌する際は、シリンジと長めの注射針 (22Gx70mm 等) を使用します。クリーンベンチ内で、針をつけたシリンジで植菌元の菌液を採取します。ブチルゴム栓の上部表面を適宜滅菌します。キャップは閉めたまま、針を固化した培地に突き刺します (届くところまで)。菌液を培地中に押し出しながら、針を引き抜いていきます。
6. 空気をシリンジで取り、0.2 μm 孔径フィルターを通して、気相部分に加えます (同 Hungate 管の場合、2 mL)。
7. 培養温度に設定したインキュベーターに、植菌済みの培養管を静置します。
8. 数日後、酸素が培地中に溶け込むため、培地上部の Resazurin の色がピンク色に変化します。また、酸素が溶け込んだ部分に、微生物細胞が濃集する層 (上に凸のドーム状) がうっすらと目視で確認できます (矢印)。



9. 1週間程度で、培地表面直下付近に微生物細胞の層 (矢印) が移動します。
10. シリンジと長めの注射針 (22Gx70mm 等) を使用して細胞濃集層を採取することで、顕微鏡観察や植え継ぎ培養が可能です。



以上