

好圧性・絶対嫌気性・超好熱性アーキアの培養

Pyrococcus yayanosii JCM 16557^T*は絶対好圧性・超好熱性・絶対嫌気性のアーキアです*。JCMでは高圧容器を用いて本アーキア株の培養を行っています。

1. JCM Medium No. 811をレシピにある通りに調製し、硫黄・還元剤を除いた培地をオートクレーブ滅菌します。
2. 滅菌した10~20 ml容培養瓶に硫黄を入れ、ブチル栓をしてアルミシールで固定します。その後、バイアル瓶内を窒素置換します。
3. (1)で調製した培地をシリンジを用いて気相が残らないように注入します（若干の気相が残る分には支障はありません）。
4. 還元剤を加えて培地を還元し、その後菌株を接種します。この後に0.5 ml程度の培地を針付きシリンジに取り、針先が接種済みの培養液中に届くようにブチルゴム栓に穿刺します。この後、バイアル瓶及び培地を含むシリンジを高圧容器シリンダー内に収められるように、必要に応じてシリンジの余分部分を切り取り、針先を曲げたりします（図(a)参照）。
5. 接種した培養瓶を常温の水を満した高圧容器シリンダーに入れ、蓋を取り付けます。
6. 高圧容器が密栓されたことを確認した上で、本装置を90-98°C恒温インキュベーター内におきます。品温が上昇するにつれ加圧されるので通常は事前の加圧は必要がありません（図(b)参照）。圧力が必要以上に増加する場合はバルブをやや緩めて除圧します（98°Cにおける生育至適圧力58M Pa, 最大圧力120M Pa）。
7. 一定時間培養したら、高圧容器をゆっくりと常温に戻します。その後、蓋を取り培養物を取り出します。



絶対好圧性・超好熱性・嫌気性アーキア (*Pyrococcus yayanosii* JCM 16557^T) の培養例。(a)はシリンダー中に置いた培養瓶。シリンジは瓶内の高圧を維持するために穿刺しているが、シリンダー内の容積は小さいため針を曲げて入れている。(b)は培養に使用する高圧容器を培養器に置いた様子。圧力ゲージは耐熱性が弱いため培養器の外側に設置。

*Birrien et al. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **61**: 2827-2831, 2011.