

培養抽出物の調製法

2 倍希釈した ISP 2 液体培地* (0.2% yeast extract, 0.5% malt extract, 0.2% glucose、5ml/試験管) で各菌株を 28℃、5 日間 (生育が遅い場合は 5 日間以上) 振とう培養した。そこから菌体を含む約 0.2ml を主に 3 種類の寒天平板** (約 15~20ml/直径 8.5cm の丸形シャーレ) に接種し、一面に広げた。28℃で 7 日間 (生育が遅い場合は 7 日間以上) 培養後、菌の生えた寒天を回収し、約 40ml のアセトンを加え、4℃で 3 日以上静置した。デカントでアセトン抽出液を回収し、減圧下で約 5ml に濃縮した。濃縮液を 0.5ml ずつクラスタチューブに分注して、凍結した。

*生育に塩が必要な株の場合、2 倍希釈した ISP 2 液体培地に終濃度が 50%となるよう人工海水を添加した

**主に使用した 3 種類の寒天平板培地の組成を以下に 1 ℓ あたりの重量で示した

- CMC : 10g carboxymethyl cellulose (low), 1g L-asparagine monohydrate, 1g K_2HPO_4 , pH 7.0-7.4, 19g agar
 - YMG : 2g yeast extract, 5g malt extract, 2g glucose, 20g agar
 - WP : 10g L-proline, 18g agar
- 以上が主に使用した 3 種類の培地であるが、菌株によっては以下の培地を使用している
- CZ : 30g glucose (別滅菌), 1g K_2HPO_4 , 0.01g $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.5g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.5g KCl, 2g $NaNO_3$, 2g $(NH_4)_2SO_4$, 19g agar
 - GA : 10g glucose, 1g L-asparagine monohydrate, 1g malt extract, pH 7, 18g agar
 - SC : 10g starch, 0.3g casein, 2g KNO_3 , 0.01g $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.5g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 2g $CaCO_3$, pH 7.3±0.2, 17g agar
 - TSA : 20g Bacto Tryptic Soy Agar, 7.5g agar

生育に塩が必要な株の場合、各培地に終濃度が 50%となるよう人工海水を添加した