

## 枯草菌の芽胞形成培地

### Difco Sporulation Medium (DSM) の組成

	Bacto nutrient broth	8 g
10% (w/v)	KCl	10 ml
1.2% (w/v)	MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	10 ml
1 M	NaOH	~1.5 ml (pH to 7.6)

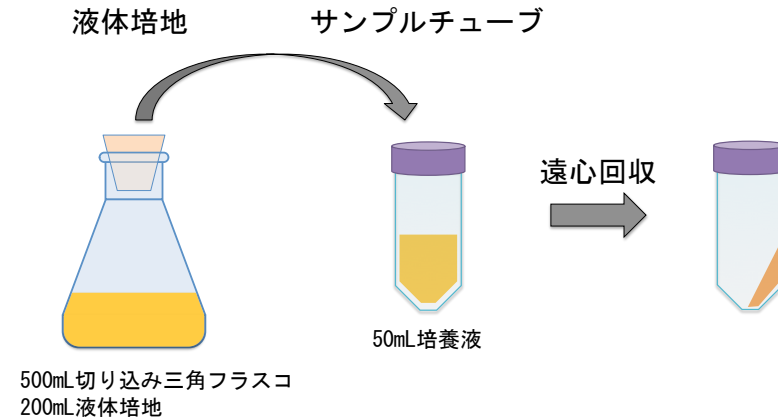
精製水を加えて1Lにした後、NaOHを加えてpH7.6にする。オートクレーブ滅菌後、以下の試薬を加える。

1 M	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	1 ml
0.01 M	MnCl <sub>2</sub>	1 ml
1 M	FeSO <sub>4</sub>	1 ml

Ref.: W. Nicholson & P. Setlow, in *Molecular Biological Methods for Bacillus*, eds. C. Harwood & S. Cutting, New York: John Wiley, pp. 391-450, 1990.

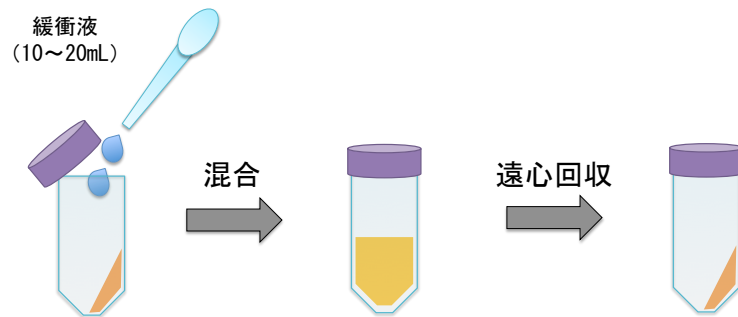
## 枯草菌の芽胞調整-1

### 芽胞を含む培養液を遠心回収する。



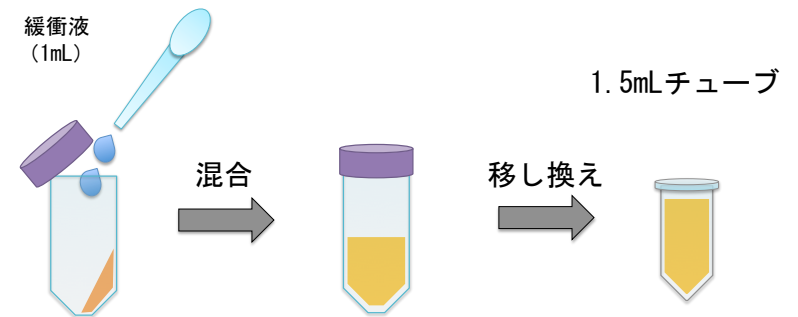
## 枯草菌の芽胞調整-2

細胞洗浄のため、ペレットに緩衝液 (10mM Tris HCl pH7.2など) を加えて攪拌し、再度遠心回収する。



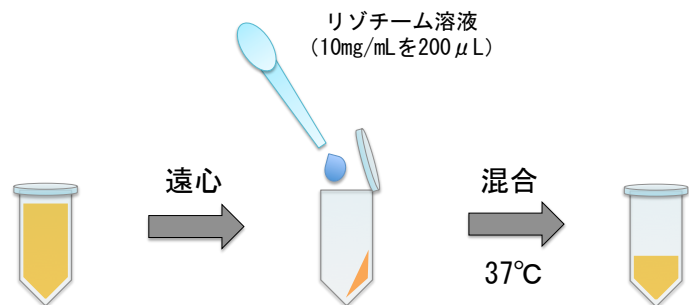
## 枯草菌の芽胞調整-3

ペレットに緩衝液 (10mM Tris HCl pH7.2など) を加えて攪拌し、エッペンチューブに移す。



### 枯草菌の芽胞調整-4

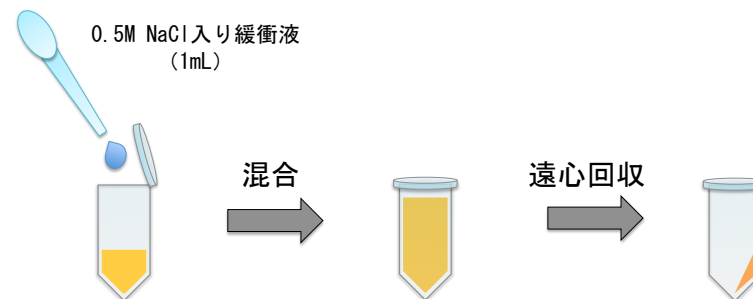
エッペンチューブを遠心機にかけて、細胞を沈殿させる。リゾチーム溶液を加えて混合し保温する。



栄養細胞と母細胞が破壊される

### 枯草菌の芽胞調整-5

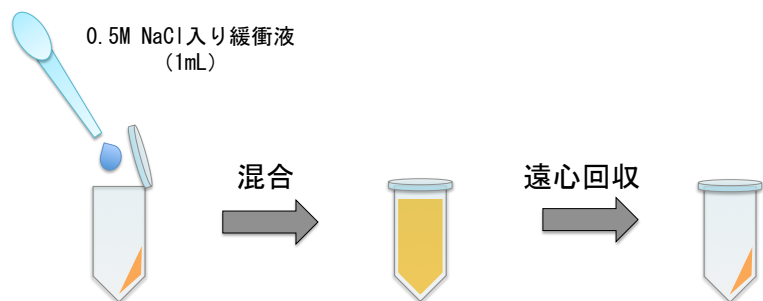
エッペンチューブに1mLの0.5M NaCl入り緩衝液を加えて混合し、細胞を遠心回収する。



破壊された細胞を除去する

### 枯草菌の芽胞調整-6

エッペンチューブに1mLの0.5M NaCl入り緩衝液を加えて混合し、細胞を遠心回収する（3～5回繰り返し）。



破壊された細胞を除去する

### 枯草菌の芽胞調整-7

エッペンチューブに100μLの緩衝液を加えて混合し、位相差顕微鏡で検鏡する。

