



## TERRENI DI COLTURA

### 9 - Modified version of ATCC 197 medium (TN)

Componenti	Concentrazione (g/L)
NaCl	10
KCl	0.1
MgCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0.2
NH <sub>4</sub> Cl <sub>2</sub>	1
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.3
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.3
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.1
Cisteina-HCl	1
Estratto di lievito	2
Tryptone	2
Glucosio (soluzione stock)	5
Resazurina (soluzione stock)	0.001
Soluzione di vitamine * (soluzione stock)	
Soluzione di elementi in traccia** (soluzione stock)	

#### PROCEDURA:

Preparare le seguenti soluzioni stock in H<sub>2</sub>O distillata:

- Glucosio 50%
- Resazurina 0.2%
- Soluzione di vitamine \*

- Soluzione di elementi in traccia \*\*

\* Per preparare la soluzione di vitamine, sciogliere i seguenti componenti: acido p-aminobenzoico 5mg/L; acido nicotinico 5mg/L; D-Ca-pantenato 5mg/L; piridossina-HCl 10mg/L; riboflavina 5mg/L; tiamina-HCl · 2H<sub>2</sub>O 5mg/L; biotina 2mg/L; acido folico 2mg/L; acido lipoico 5mg/L; vitamina B<sub>12</sub> 0.10mg/L. Portare a volume (1L) e sterilizzare per filtrazione (pori 0,22 µM).

\*\* Per preparare la soluzione di elementi in traccia, sciogliere prima l'acido nitrotriacetico (1,5 g/L), regolare il pH a 6,5 con KOH, quindi aggiungere i seguenti componenti: MgSO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0,5 g/L, NaCl 1 g/L, FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0,10 g/L, CoSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0,18 g/L, CaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0,10 g/L, ZnSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0,18 g/L, CuSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0,010 g/L, KAl(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · 12H<sub>2</sub>O 0,020 g/L, H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub> 0,010 g/L, Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O 0,010 g/L, NiCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O 0,025 g/L, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> · 5H<sub>2</sub>O 0,010 g/L. Portare a volume (1L), regolare il pH finale a 7,0 con NaOH e autoclavare a 121 °C per 20 minuti.

Sciogliere le quantità di ciascun componente elencato nella tabella, ad eccezione del glucosio, della resazurina e delle soluzioni di vitamine e di elementi in traccia, nel volume appropriato di H<sub>2</sub>O distillata, tenendo conto del volume degli altri componenti, preparati come soluzioni stock, che devono essere aggiunti dopo la sterilizzazione. Prima della sterilizzazione, regolare il pH a 7,0 con NaOH 1M. Autoclavare la miscela sciolta a 121 °C per 20 minuti. Dopo la sterilizzazione, aggiungere il glucosio, la resazurina e le soluzioni di vitamine (10 ml/L) e di elementi in traccia (10 ml/L).