

1. 細菌の増殖の定義

通常用語では growth（発育）とは個体のサイズが大きくなることを意味します。私たちは子供やいろいろな動物、植物の発育を目にします。単細胞生物もまた発育しますが、母細胞 mother cell 親細胞 parent cell と呼ばれる細胞が、ほぼ2倍の細胞になりその内容物が複製されるやいなや細胞は2つの娘細胞 daughter cell へと分裂します。ついで娘細胞は増殖し、引き続いてそれらもまた分裂します。個々の細胞は単に2つの個体に分裂するために増殖するので、微生物の増殖 microbial growth というのは細胞の大きさに関してではなく、細胞の数の増加（つまり分裂増殖）として定義することができます。そして、微生物の増殖は細胞分裂によって起こります。

2. 細胞分裂

細菌における細胞分裂は真核細胞における細胞分裂とは異なり、一般的に2分裂又は発芽によって起こります。2分裂 binary fission において、細胞はその構成成分を複製し2つの細胞へと分裂します。隔壁（仕切り）が形成され、それが分離して2個の娘細胞になります。真核細胞と異なり、原核細胞はDNA合成のための特定の分裂周期を

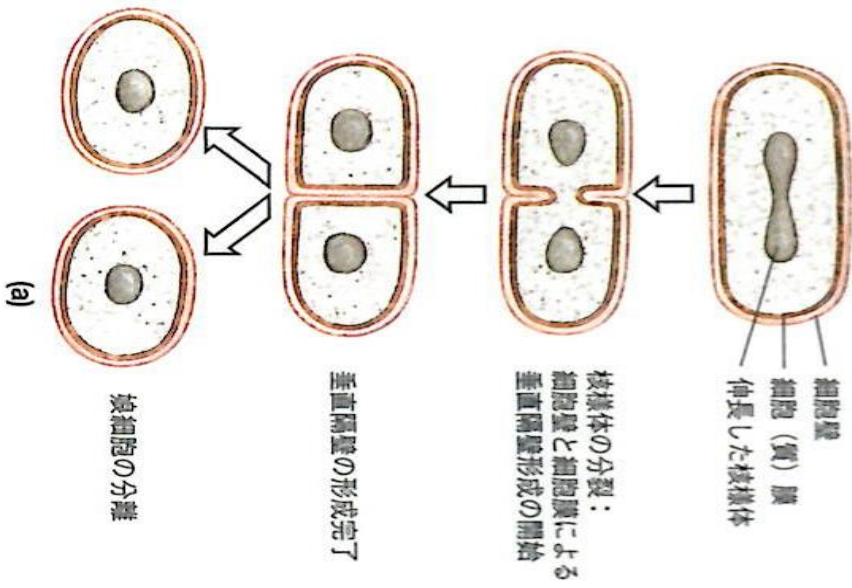
持ちません。そのかわり、連続して分裂する細胞では DNA 合成もまた連続して起こり、細胞が分裂する少し前に単一の細菌染色体を解離します。染色体の複製は細胞分裂の前に完了します。細胞分裂の前には一時的ですが2つもしくはそれ以上の核様体を有することもあります。ある種においては、不完全な分離のために細胞は直線的な鎖のような形（つながった菌）になることがあります。または四連球菌体 tetrads（四つの球菌から成る立方塊）や八連球菌体 sarcinae（8つの球菌から成る立方塊）、またはブドウの房状の集合体（ブドウ球菌）になるある種の菌は常に連鎖状になったり、繊維状になったりします。その他のものは望ましくない発育条件においてのみ、そのような形態をとることがあります。連鎖球菌は人工培地で発育した時に連鎖状になりますが、盛んに分裂している感染宿主から分離した場合には、単一菌体かせいぜい双球菌の形です。

細菌の二分裂による増殖

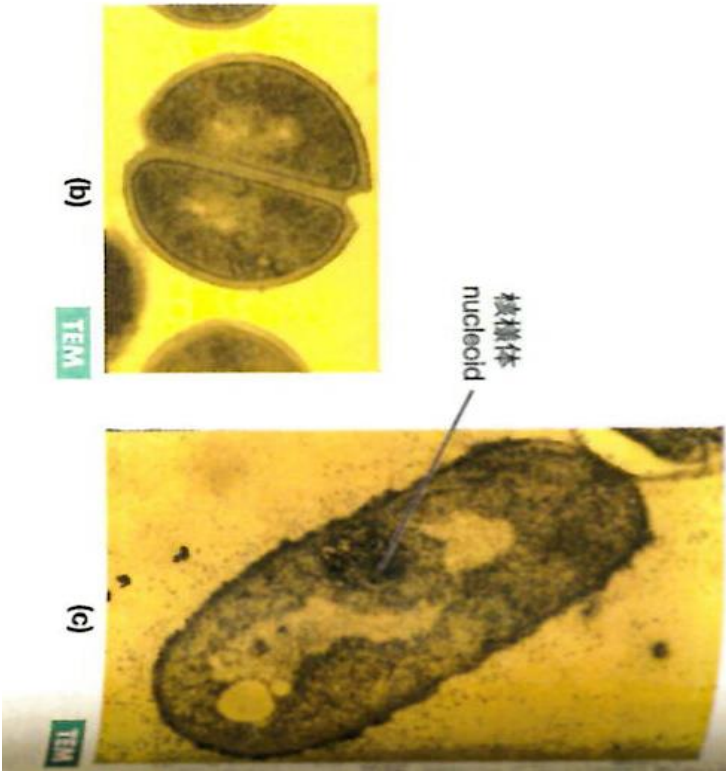


細菌の出芽による増殖





6.1 2分裂。(a) 細菌における2分裂の過程の各時期。(b) 分裂の途中にあるゾウ球菌の超薄切片電子顕微鏡像 (X43,800)。(c) 細菌の核様体 (X66,484)。



引用：ブラック 微生物学 丸善株式会社

酵母やある種の細菌における細胞分裂は発芽 budding によって起こります。この過程においては新たな細胞がすでに存在する細胞の表面に現れ、引き続いて親細胞から分離します。



酵母の発芽

3. 発育増殖相

一定数の微生物を新鮮な栄養に富む培地 medium (複数形は Media) 接種したとしよう。ここでいう培地とは、微生物が発育増殖する色々な物質の混合物です。

二分裂で増殖する一種類の細菌を、栄養が十分入った液体培地に接種したのち、算術目盛りで横軸に培養時間を取り、対数目盛で縦軸に細胞数をとってグラフを描きます。そうしますと、図のような増殖曲線 (growth curve) が得られます。接種された細菌はすぐには増殖

を開始せず、新しい環境での増殖に必要な各種酵素遺伝子の発現を行います。この時期を誘導期 (inducible phase) といいます。

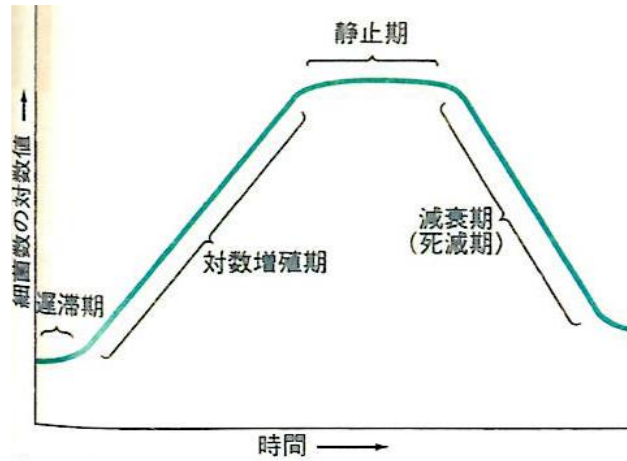
新しい環境に必要な酵素が生合成されると、細胞は急速に増殖します。細胞数が指数関数的に増加するこの時期を、指数増殖期 (exponential growth phase) といいます。さらに増殖が進むと、栄養分が不足してくるとともに、細菌自身の生産する有害な代謝産物が培地中に蓄積します。このため増殖速度が低下して死滅速度と同じになり、見かけ上の細胞数の変化がなくなります。この時期を定常期 (stationary phase) といいます。なお、孢子形成菌はこの定常期に孢子を形成します。やがて、栄養細胞や孢子は時間とともに次第に死滅します。その時期を死滅期 (death phase) といいます。

指数増殖期では、細胞の増殖速度はその時間に存在している細胞数 (細胞重量、濁度などでもよい) に比例します。

皮膚の 1 cm^2 には平均して 10 万個の微生物が生息しています。

細菌の増殖は速く、洗い流しても数時間後にはその数は元に戻ります。

標準的な細菌の増殖曲線



遅滞期

遅滞期 lag phase においては菌数の増加はあまり著明ではありません。しかしながら代謝的には非常に活発で、サイズが大きくなり酵素を合成し培地から様々な分子を取り込んでいます。遅滞期においては、個々の細菌はそのサイズが増加し ATP の形でのエネルギーを大量に産生します。

遅滞期の長さは一部にはその細菌の種の特性により、また、一部には培地の条件—その微生物が採取された培地、および、その後その微生物が移植される培地の両方—によって決定されます。いくつかの菌種では1~2時間のうちに新しい培地に適応しますが、その他の菌種では何日も

かかることもあります。古い培養から得られた微生物の場合には、限られた栄養物や極めて大量の老廃物に適応しているため、比較的新鮮で栄養に富む培地から新たな培地へ移された菌に比べると、適応にはより長い時間がかかります。

対数増殖期

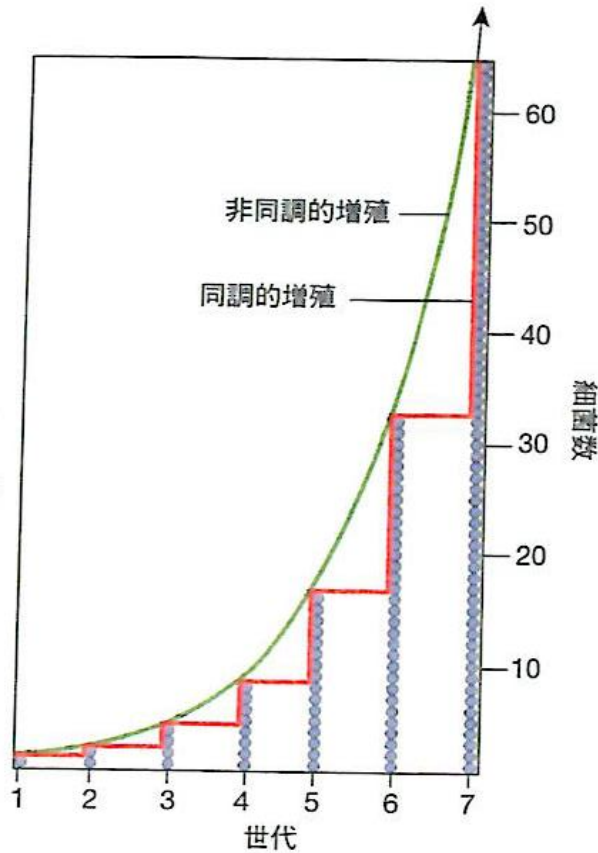
いったん細菌が培地に適応すると、数的な増加が指数関数的 exponential または対数的 logarithmic に起こります。理想条件下では 1 個のバクテリアでは 7 時間で 2,097,152 個まで増殖することができます。

縦軸を対数で表すと対数増殖期 log phase における細菌の増殖は斜線のグラフを示し、これが細菌の数を表すこととなります（10 を底とする対数でとった場合に連続した単位は細菌が 10 倍ずつ増えることを意味します。対数増殖期に微生物は最も速い速度で分裂をしています。遺伝学的に決定されたその一定の分裂時間は、世代時間 generation time と呼ばれます。細菌の数はそれぞれの世代時間の間に 2 倍となります。例えば、1 mL に 1,000 個含むような培養で世代時間が 20 分とすると、20 分後には 1 mL あたり 2,000 の細菌を含

おことになります。40 分後には 4,000 1 時間後には 8,000 2 時間後には 64,000、3 時間後には 512,000 となります。このような増殖は指数関数的もしくは対数増殖的と呼ばれます。

多くの細菌についての世代時間は 20 分~20 時間の間であり、大半は 1 時間以内です。結核やハンセン病を引き起こす原因菌のような細菌はより長い世代時間を示します。個々の細胞としてみると、遅滞期から対数増殖期へ移行するのに他の細胞に比べてより多くの時間を要する個体もあるので、その細胞群は厳密に同調して同じように分裂するわけではない。もしも細胞が完全に同時に分裂をし、世代時間が正確に 20 分であれば、ある培養における細胞数は階段状の増殖を示すこととなります。つまり 20 分ごとに 2 倍になるということです。このような仮想された分裂条件は同調増殖 *synchronous growth* と呼ばれます。実際の培養においては個々の細胞は 20 分の世代時間のどこかで分裂する、すなわち 20 分の 1 分おきに分裂している、という状態になります。このような自然におこる分裂増殖の過程は、非同調増殖 *nonsynchronous growth* といわれます。非同調的な増殖は 1 本の線として表され、階段状を呈することはありません。

図 6.4 同調(的)増殖と非同調(的)増殖。同調して増殖する菌(赤)と非同調的に増殖する菌(緑)の対数増殖期の菌数をプロットした増殖曲線。青円は単一の菌から始めてそれぞれの世代に存在する菌数を表す。



培地の入った試験管の中の細菌はある限られた時間だけ対数増殖を示します。細菌数が増加すると栄養分は消費されてしまい、代謝産物が蓄積することになります。また、増殖空間も限られてきます。さらに好気性の菌は酸素の減少にも遭遇することになります。一般的に対数増殖を規定する因子は、ATPの形でエネルギーが産生される速度です。利用可能な栄養分が減少すると細胞のATP合成が減少することになり、その結果増殖率も低下することになります。増殖率の減少は、増殖曲線が次第に水平になっていくことで示すことがで

きます。

新たな培地が添加されない、または新鮮な培地に移されない場合には増殖の減弱に続いて静止期になります。対数増殖は、サーモスタットのようにケモスタット chemostat と呼ばれる特殊な装置によって維持することができます。ケモスタットには増殖槽と貯蔵部分があり、古くなった培地が常に一定量取り除かれると同時に新鮮な培地が供給されるようになっています。または、静止期に至った細菌を新鮮な培地に移し替えることにより持続的な増殖を得ることができます。このような場合、短い遅滞期に続いて速やかに対数増殖期に入ります。



静止期

細胞分裂が減少し、新たな細胞が作られると同時に同じ割合で古い細胞が死滅するような条件になると、生きた細胞は一定になります。

このような時、培養は静止期 stationary phase に入ったといい、増殖曲線では水平の直線で示されます。培地にはごく限られた量の栄養分しか存在せず、かなり毒性を示す老廃物を含むことになります。さらには、好気的な細菌には酸素の供給も不十分となり、有害な pH の変化も起こります。

減衰期

培地の条件がもはや分裂増殖を十分に支持できなくなってくると、多くの細胞は分裂する能力を失い、死んでしまいます。このような減衰期 decline phase または死滅期 death phase と呼ばれる時期においては、生細胞の数は指数関数的に減少し、下向きに下降する直線として表されます。減衰期においては多くの細胞は異常な形態を呈し、同定が困難となるような大きな変化を示します。芽胞形成菌の培養においては、栄養型の菌（活発に代謝する）よりも芽胞が生存しやすい。減衰期の長さは対数増殖期と同じくらい変動しやすい。いずれの

増殖段階も、第 1 義的にはその細菌の遺伝的な特性によって規定されます。多くの細菌種の培養においては、すべての増殖段階を終えて数日のうちに死滅してしまうが、一部の菌種では何ヵ月や何年後にも限られた数ではあるが生きて菌が残る場合もあります。

コロニーとしての増殖

固形培地上で増殖する細菌集団では、増殖段階の現れ方は様々です。典型的な場合、細胞は指数関数的に増殖し小さなコロニー-colony を形成します。コロニーというのは培養開始の最初の細胞の子孫の集まりで、コロニーはその周辺部で急速に増殖します。一方、中心部に近いところにある細胞は、利用可能な栄養分が限られていることや毒性のある代謝産物に曝されることなどにより、その増殖は遅く死滅し始めます。増殖曲線のすべての段階がコロニーでは同時に起こっています。すなわち増殖は非同調的です。