

細菌の培養

実験室で細菌を培養する場合、2つのことが問題となります。まず第一に、ある微生物の特性を調べようとするれば単一菌種の純粋培養が必要です。第二に、調べようとする微生物の増殖に適した培地がなければなりません。どのようにしてこれらの問題に対処するかをみていきましょう。

純培養を得る方法

実験室で細菌を調べるためには、単一菌種だけの培養、すなわち**純培養 pure culture**を得ることが重要です。純培養の技術が発達する前には、種々の異なる菌種が含まれる**混合培養 mixed cultures**が調べられ、異なった形態や大きさの微生物が観察できましたが、個々の菌種それぞれの栄養要求性や増殖特性についてあまりわかりませんでした。今日では、おおもととなる単一細胞を分離することにより純培養を得ることができます。

今では簡単にみえる純培養を得る技術も、なかなか容易には見出せませんでした。段階希釈によって単一の（細菌）細胞を分離しようとする試みはなかなかうまくいきませんでした。その理由は、最大希

釈のなかにはときに2種以上の異なった菌種が存在することが多かったからです。固形培地の表面に細菌を薄く塗り拡げるという Koch が用いた手法は、単一細菌細胞がいろいろな場所におさまるので、より有効でした。しかし、彼はいろいろと異なった固型剤を試さなければなりません。助手の妻であった Angelina Hesse のおかげで見つけた寒天 agar が最終的には最も理想的な固型剤であるということがわかりました。寒天を消化してしまう菌種は極めて限られており、1.5%濃度の寒天は95℃以下では溶解しません。また、加熱して溶解すると40℃くらいに冷えるまでは液体のままなので、熱で失活する栄養分や微生物を加えることができます。

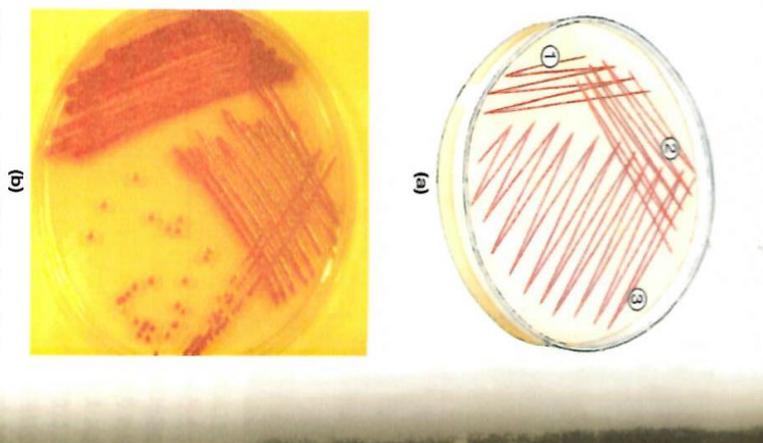
平板画線法

今日最もよく用いられる純粋培養法は、寒天培地を用いた平板画線法 streak plate method です。滅菌した白金耳 (wire loop, 日本ではエーゼとも呼ぶ、白金製よりもニクロム線が多い) で菌を釣り上げ、白金耳を寒天平板の表面上を軽く移動させて菌を画線状に塗布していく。ここで白金耳を火炎滅菌し、すでに塗布した画線から少数となった細菌を再度釣り上げ、同じ寒天平板の菌を植えていない場

所に塗り拡げます（図）。画線塗布を続けていくと、次第に接種される菌数は減っていき、接種のたびに白金耳は火炎滅菌を行うので、画線の最後には単個細胞となった菌が接種されることとなります。

その菌の至適発育温度で培養すると、寒天平板上には単一細胞に由来する小さなコロニーが出現します。白金耳を用いて独立したコロニーの一部を釣り上げ（釣菌）、適切な新しい培地に移す（移植する）ことにより、次の実験に用います。無菌操作 sterile or aseptic technique を用いることで、新たな培地に単一種の細菌だけを得ることが可能となっています。

図 6-19 継培養を得るための画線培養法。(a) 白金耳にとった培養菌を①の部分に軽く画線状に塗布する。白金耳を火炎滅菌し、①の部分からわずかの菌を釣り上げて②の部分に画線塗布する。再度火炎滅菌し、同じ操作を③の部分で行う。その後で培養する。(b) セラチン *Serratia marcescens* を画線培養した平板培地。各区画では著明にコロニー数が減少していることに注意。



混釈法

純培養を得る別の方法として、段階希釈を使った混釈法 pour plate method(上図)があります。最終希釈には数千個の細菌が含まれるように連続した段階希釈系列をつくります。最終希釈の1mLを溶けた寒天培地(45°C) 9 mLに加え、すばやく無菌シャーレに注ぎこみます。ここに含まれる細菌数は少ないので、どれかは寒天平板培地上に独立したコロニーを形成することになります。この方法では一部の菌を培地の内部に埋め込んだことになりまますので、培地表面にある空気中の酸素に耐性のない微好気性菌の培養にはとくに有用です。

引用文献：ブラック 微生物学 林 英生・岩本愛吉・神谷 茂・高橋秀実 監
訳 丸善株式会社