

「微生物学」練習問題解答 2 章

1. ガラス器具，綿栓など固体の実験器具：乾熱滅菌（150～160℃，30～60 分）
 - ・培養基や生理食塩水などの液体：オートクレーブ（121℃，15～20 分）
 - ・熱に不安定な液体：ろ過除菌
 - ・白金耳：ブンゼンバーナーなどを用いた火炎滅菌
 - ・実験台，実験者の手指：70%エタノールなどの薬剤
2. 好気培養法：振とう培養法，攪拌培養法，通気培養法，またはこれらを組み合わせた培養法
 - ・嫌気培養法：静置培養法，窒素（N₂）や二酸化炭素で置換した容器内で培養する方法
3. 培地組成：アミラーゼ生産菌はデンプンを利用して増殖することが予想されるので，培地（固体）には炭素およびエネルギー源としてデンプンを入れる．また，窒素源として硝酸アンモニウム，さらに無機塩類も加える．
 - ・培地上で識別する方法：ヨード（ヨウ素）-デンプン反応を利用する．アミラーゼはデンプンを分解するから，もし，培地上に増殖したある微生物がアミラーゼを生産していれば，その微生物のコロニー周辺はデンプンが消失し，デンプンの分解産物が蓄積しているはずである．したがって，ヨード溶液を散布すると，そのコロニー周辺は赤色または無色になるが，アミラーゼを生産していないコロニーの周辺は青色である．このように周辺が赤色や無色になったコロニーがアミラーゼ生産菌である．
4. 生物顕微鏡：一般の生物実験
 - ・実体顕微鏡：野外で，採取した昆虫や植物を立体的に観察する場合
 - ・位相差顕微鏡：生きた状態の生物細胞を染色せずにそのまま観察する場合
 - ・微分干涉顕微鏡：微生物細胞の運動や構造を連続的に，また，立体的に観察する場合
 - ・蛍光顕微鏡：試料中の蛍光物質の存在場所や存在状態を観察する場合
 - ・透過型電子顕微鏡：光学顕微鏡では見えない微細構造を観察する場合
 - ・走査型顕微鏡：試料の微細な立体構造を観察する場合
5. 染色法の概略：細菌を染色剤（クリスタルバイオレット）で染色し，ヨード（ヨウ素）処理したのち，エタノールで洗浄したとき，クリスタルバイオレットが脱色されるか否かを判定する．脱色されない細菌をグラム陽性菌，脱色される細菌をグラム陰性菌とする．
 - ・注意する点：微生物は植菌後 24 時間以内の若い菌体を使う．対照菌を使用して，エタノールによる脱色時間を適正に設定する．
 - ・分類・同定において重要な位置を占めている理由：グラム染色性は細菌の分類・同定において基本的な指標になっており，グラム染色性の判定を誤ると以後の試験法が無駄になる場合が

あるため.

- [6] 微生物菌体（細胞）を緩衝液に懸濁し，超音波破碎装置などを使用して細胞壁を破碎したのち，遠心分離により未破碎の細胞や不溶性画分を沈殿させ，上清を細胞抽出液として得る．なお，リゾチームなどの細胞壁溶解酵素を用いて細胞壁を溶解（破碎）する方法もある．
- [7] ・保存法：常温保存，低温保存，凍結保存，凍結乾燥保存
・正しく保存する目的：微生物は常に実験材料として使用されるので，一定の品質が保たれるように保存される必要がある．また，実験結果を追試するためにも正しく保存される必要がある．