

5. 時々、ホールグラスごと取り出して顕微鏡のステージに置き、培地の端からカバーグラス上に伸びた菌糸を検鏡する。

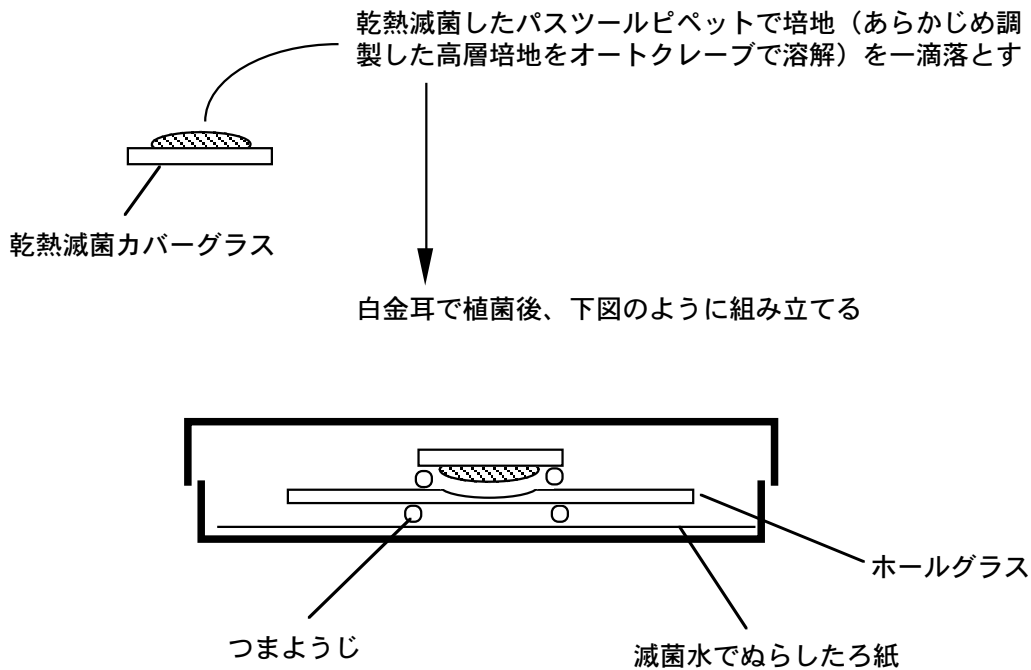


図13 かびのスライド培養

## 1.4. 自然界からの放線菌の単離

平地の土壌 1g 中には微生物が 1 千万から 1 億存在すると言われている。特に土壌中には放線菌と呼ばれる一群の微生物が多く生息している。放線菌はかびと細菌の中間的な性質を示す。すなわち、糸状の菌糸を放射状に作り、分生胞子を作る点ではかびに類似しているが、菌糸の幅は  $1\ \mu\text{m}$  以下であり、原核細胞であるところから、分類的には細菌に属する。抗生物質などの生産菌として応用微生物工業と密接に関係している。

ここでは、土壌中より放線菌を単離することを試みる。

### 【準備】

1. シャーレをアルミホイルに包んで乾熱殺菌する。
2. 土壌試料を採取する（畑の土等、5 サンプル）。

### 【操作】

1. オートクレーブした放線菌用の培地を乾熱殺菌したシャーレに注いで平板培地を作る。
2. 土壌等採取したサンプル約 1g を試験管にとる。
3. 蒸留水 5ml を加えて良く振る。
4. 上清液を火炎滅菌した白金耳で平板培地上に塗布する。
5. 図5に示したように、平板培地上で希釈画線する。
6. 画線した平板培地のシャーレを  $28\ ^\circ\text{C}$  で培養する。
8. 放線菌のコロニーを白金耳で釣り菌して斜面培地に植える。
9.  $28\ ^\circ\text{C}$  で培養する。
10. コロニーを検鏡する。

### 【放線菌の簡易スライド培養法】

放線菌培地で作製した平板培地に、図14のように、放線菌を画線してからカバーグラスをつきさして、培養後、カバーグラスに付着した放線菌を顕微鏡で観察する。

\*放線菌を生育させた平板培地は、後日、バイオアッセイに使用する（2.2.2. 参照）。

実験終了後、各自単離した放線菌は、名前を明記して提出する。

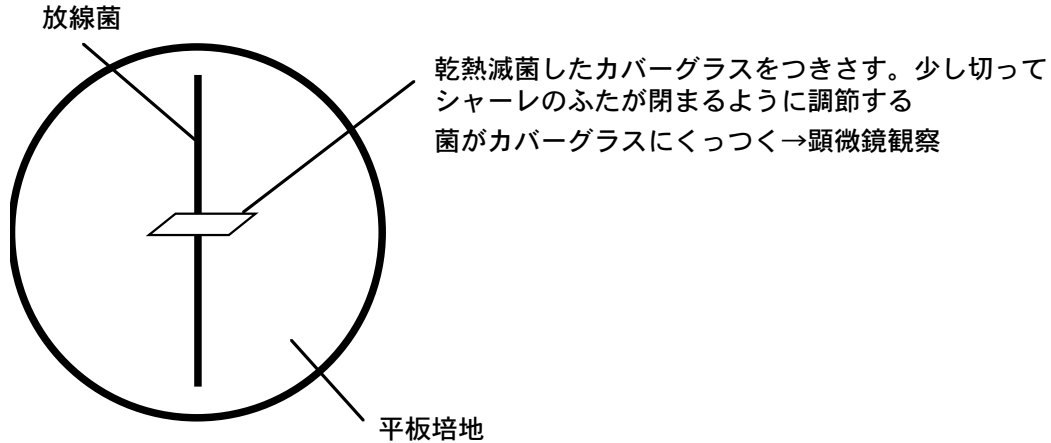


図14 放線菌の簡易スライド培養法

【放線菌の観察のポイント】

1. 集落の色（集落の裏側から見た基生菌糸の色）
2. 可溶性色素の色
3. におい
4. 菌糸の直径
5. 胞子



図15 放線菌 *Streptomyces* 属

## 1.5. 細菌のグラム染色

グラム染色は Gram が 1884 年に見出した染色法で、細菌を二種類に大別する方法として重要である。その原理は、塩基性色素が細菌の細胞表層で保持される能力の差を見ることにより細菌を区別するものであり、細菌の細胞表層構造の違いに起因するものである。すなわち、アルコールで脱水した（細菌細胞表層にある）ペプチドグリカン層に色素・ヨウ素複合体が捕捉されるか否かによる。

【試薬】（当番調製）

1. Gentian violet 溶液： Gentian violet 0.5 g、蒸留水 100 ml
2. Gram のヨード液： ヨード 0.5 g、ヨードカリ 1 g、蒸留水 150 ml
3. Carbol fuchsin 溶液： 塩基性 fuchsin 5 mg、エタノール 0.5 ml、フェノール 250 mg、蒸留水 80 ml