

技術研修報告「微生物の同定と観察」

著者	上田 瑞恵
雑誌名	技術報告
巻	25
ページ	21-22
発行年	2020-03-01
出版者	静岡大学技術部
URL	http://doi.org/10.14945/00027077

技術研修報告「微生物の同定と観察」

上田 瑞恵

(静岡大学 技術部 教育研究第一部門)

1. はじめに

本研修は一般的な微生物を用いた同定実験を通して、微生物の基本的な器具の操作及び菌体の取り扱い方法を習得することを目的として行った。内容は本学3年次の化学バイオ応用工学実験で行われている「微生物の観察、培養と同定」^[1]の一部を実施した。(図1)

2. 研修内容

2.1 グラム染色による微生物細胞の観察

グラム染色とは、細胞膜の構造の違いにより起こる染色性の違いを利用して菌体をグラム陽性菌とグラム陰性菌に分ける方法である。^[2]

本研修では、4種類の未知試料と陽性と陰性の指標となる菌体を各1種類の計6種類のグラム染色を行った。また、グラム染色を行ったサンプルをそれぞれ顕微鏡で観察した。(図2)

2.2 PCRによる16s rRNA遺伝子の増幅

あらかじめ抽出しておいた4種類の未知試料DNAをテンプレートとして研修参加者にPCR試料の調製を行ってもらった。PCR後に、電気泳動を行いDNAが増幅されていることを確認した。(図3)

2.3 16s rRNA遺伝子配列に基づく相同性検索

あらかじめ準備した4種類の未知試料の16S rRNA遺伝子の部分配列のクロマトグラムファイルをChromasで開き、波形データを確認した。(図4)次に、米国国立生物工学情報センター(NCBI)の管理するBLAST(basic local alignment search tool)^[3]のサイトにアクセスし、塩基配列を入力した。(図5)データベースより最も相同性の高い微生物の検索を行った。

3. まとめ

微生物の基礎的な操作方法を体験してもらった。また、グラム染色では染まり方に個人差がある原因について議論ができた。また、PCR後の電気泳動の結果についても予想された結果が出なかった原因についても活発な意見交換がされた。最後に行ったChromasでのデータ解析及びBLASTでの相同検索では塩基配列の相同性検索に興味を持って取り組んでもらえた。

4. 謝辞

本研修に参加していただきました草薙弘樹氏、大石武則氏、竹内 州氏及び研修をサポートいただきました大橋和義氏に厚く御礼申し上げます。また、学生実習の内容についてご指導いただきました 静岡大学 新谷政己准教授、静岡大学 田代陽介講師に厚く御礼申し上げます。

参考文献・引用文献

- [1] 静岡大学工学部化学バイオ工学科 学生実験テキスト 「微生物の観察、培養と同定」
- [2] 鈴木統一ら訳：「ホートン 生化学」東京化学同人（2013），p.205.
- [3] 米国国立生物工学情報センター（NCBI）：「BLAST（basic local alignment search tool）」， <<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>>（2019年11月29日データ取得）



図1 研修中の様子



図2 グラム染色した菌体

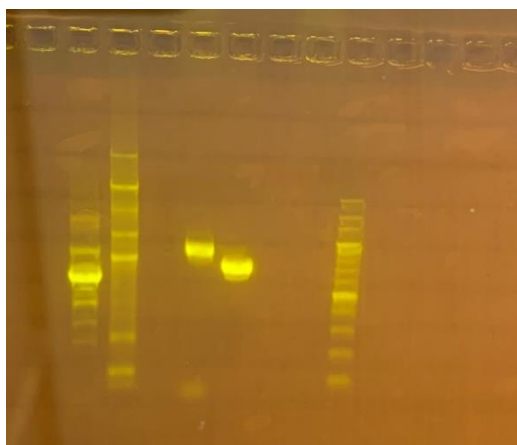


図3 電気泳動結果

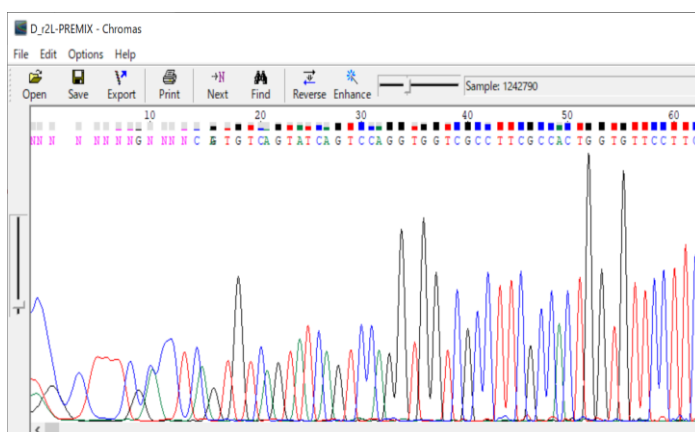


図4 フリーソフト Chromas データ解析画面

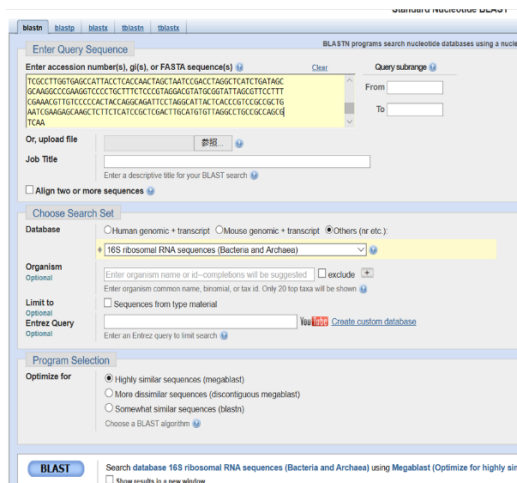


図5 BLAST 検索画面