

第1学年特別進学クラス 学校設定科目

# SS 工学技術基礎

3分野（バイオ系）

《前期》

2023年度版

	実習項目	実習日	レポート 提出日	検印	備考
C-1	微生物実験の基礎① 微生物の培養				
	微生物実験の基礎② 培養結果の分析				
C-2	DNAの抽出実験				

担当：佐藤龍平（理科・生物）



1年	組	番	氏名	
----	---	---	----	--



# C-1 微生物実験の基礎 身近な微生物実験

## 1. 目的

- (1) 微生物実験に必要な基礎的な知識・技能を身につける。
- (2) 微生物の培養実験を行い、結果について論理的に考察する力を養う。
- (3) 微生物実験に興味を持ち、幅広く情報を集めるなどして主体的に学習に取り組む態度を養う。

## 2. 実験に必要な基礎知識

### (1) 微生物の特徴と微生物実験の特色

微生物は「微小な生物全体」を指し、英語では( )という。大きさは( )～( )のものがほとんどで、微生物の多くは1個体を肉眼で観察できない。微生物は自然界のあらゆる環境に適応して生息し、一般に増殖速度が非常に早く、均一な培養が容易である。微生物実験では、予期しない微生物の混入により分離・培養の失敗が生じたり、病原菌などの感染の危険がある。そのため、このような雑菌の混入( )を防ぐために無菌操作が不可欠である。

—NOTE—

Q. 微生物とはどのような生物なのだろうか？

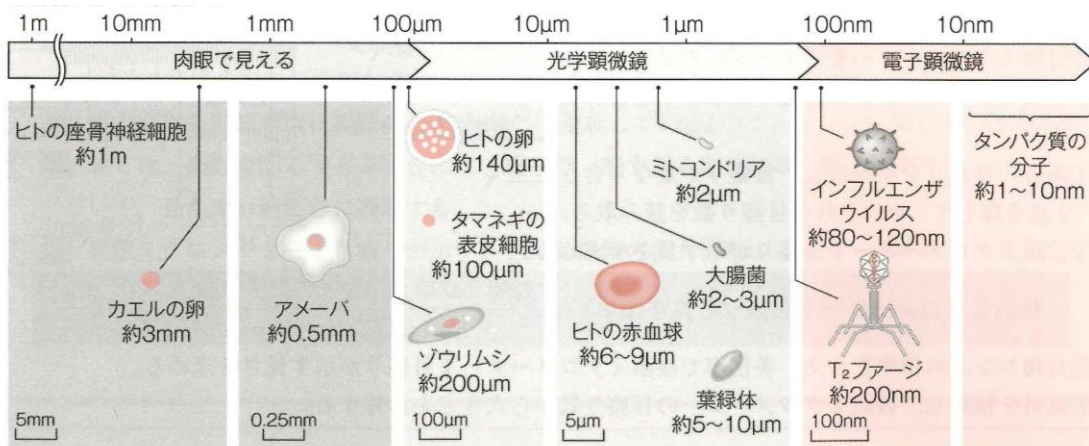
□生物の「五界説」 \_\_\_\_\_ (1969年)と \_\_\_\_\_ (1982)による 図説生物p.317

界	核の有無	各界に属する微生物の例
( )生物界		
( )生物界		
( )界		
( )界		
( )界		

※ウイルスは非生物と考えられているためどの界にも属さないが、便宜上、微生物として扱う場合がある。

Q. 微生物の大きさはどのくらいなのだろうか？ 図説生物p.36

- 分解能 ヒトの肉眼の分解能 ( )  
 光学顕微鏡の分解能 ( )  
 電子顕微鏡の分解能 ( )



Q. 微生物はどのような環境に“適応”しているのだろうか？

- 腐葉土(富栄養)1g中に、10億～100億匹程度
- やせた土地の土壌(貧栄養)1g中に、100万匹程度
- 砂漠の砂1g中に、10匹程度
- 温泉、南極、深海底などにも生息 ⇒ ( )微生物とよぶ。
- 動物や植物の体表や体内にも生息 ⇒ ヒト1人に100兆匹の微生物が共生。( )微生物とよぶ。

Q. 微生物はどのように利用されているのだろうか？

- 発酵食品： 例. **味噌**(麹菌、酵母、乳酸菌)、**醤油**(麹菌、酵母、乳酸菌)、**納豆**(納豆菌)  
**ビール**(酵母)、**パン**(酵母)、**チーズ**(乳酸菌、アオカビ) 等
- 化学物質の生成： 例. 遺伝子組換え大腸菌を用いて**インスリン**を大量生産 等
- 抗生物質：・1929年に細菌学者の( )が( )から**ペニシリン**を発見  
・1944年にワックスマンらが放線菌から( )を発見  
・1974年に日本の( )らが放線菌から抗寄生虫薬の**イベルメクチン**を発見 等
- 農業： 土壌の肥沃化・窒素固定 等

(2)微生物実験を行う上での注意

- ① 実験の前には手指をよく洗浄する。
- ② 清潔な実験着を着用する。
- ③ 実験室内を清潔に保つ。
- ④ 実験中は窓や扉は閉じる。
- ⑤ 原則として、実験室内では飲食をしない。
- ⑥ 実験後の微生物や培地は滅菌処理をしてから廃棄する。

(3)微生物実験における基本技術

1つ1つの微生物は小さすぎて取り扱いが不便なので、大量に増やして集団( )として扱う。微生物を増やすことを「培養」という。このとき最も重要なのは「目的の微生物だけを培養する」ことで、これを( )という。

しかし、私たちのまわり(手や皮膚、机、床、空気、培地など)にはたくさんの微生物が存在しているので、目的の微生物だけを培養するときには、器具などに付着している微生物を除去する必要がある。これを( )といい、外部からの雑菌の侵入を防ぎながら操作することを「無菌操作」という。

微生物の培養にあたっては( )の作成、( )、無菌操作、植菌、( )での培養等が必要になる。基本的に、微生物の培養実験を行う場合にはコンタミネーションを防止するために( )内にて操作する。

(4)培地 (medium)

微生物が生きていくために必要となる栄養源を基質という。培地の基本成分は基本的無機成分(Na、K、Ca、Mg、P、Clなど)、炭素源、窒素源、アミノ酸、ビタミン、などである。培養に使用する際にはpHの調整も必要となる。

表1 形状による分類

培地の種類・形態		培養法の名称	目的
( )培地	斜面培地	斜面培養法	菌株保存・形態観察
	高層培地	穿刺培養法	通性嫌気性菌の保存・形態観察
	平板培地	平板培養法	菌株保存・形態観察・分離
液体培地	—	静置培養法 振とう培養法	空気の利用性の観察 好気性菌の大量培養

(5) 消毒と殺菌と滅菌

消毒 (disinfection) とは一般的に微生物の数や病原性を低下させることであり、医療分野において使用されることの多い言語である。殺菌 (pasteurization) は病原性や有害性のある微生物を対象として死滅あるいは除去することである。滅菌 (sterilization) は病原性や非病原性を区別せずに、全微生物を死滅または除去することをいう。微生物実験の分野においては、コンタミネーションさせないように培養をしなくてはならないため、「滅菌」が重要なものとなる。しかし、これらの言葉にはあまり明確な区別をして使用されていない。

～滅菌の方法～

微生物の培養実験に使用する器具や培地などは基本的にすべて滅菌をしてから使用する。この滅菌には様々な方法がある。主な滅菌法を以下の表にあげる。

表2 主な滅菌法

名称	用途	使用器具など	方法
火炎滅菌法	白金耳、ピンセットなど、操作時の綿栓	ガスバーナー、アルコールランプ等	直接炎の中に入れて焼く方法。最初は内炎で焼き、後に外炎で焼き込む。
薬剤・ガスによる滅菌・消毒法	薬剤: 手指、無菌箱、各種器具など ガス: プラスチック器具など	70%エタノール、逆性セッケン(塩化ベンザルコニウム)、EOGガス等	加熱殺菌ができない器具や机、手指の殺菌に用いる。
高圧蒸気滅菌法	培地や水など	( ) (高圧蒸気滅菌器)	一般に( )℃で15～20分間加熱。高温と高圧蒸気で短時間に耐熱性胞子まで死滅できる。

3. 実験方法

(1) 平板培地(標準寒天培地)の作製

- ① 標準寒天培地2.35gを三角フラスコにとり、100mLの蒸留水を加えてアルミホイルでふたをする。その後、オートクレーブで滅菌する。
- ② クリーンベンチ (clean bench) の準備をして、必要な器具等を70%エタノールまたは逆性セッケンで殺菌してからクリーンベンチ内に入れる。また、操作をする者も手指と腕をセッケンでよく洗浄して流水でよくすすぎ、70%エタノールまたは逆性セッケンで殺菌する。
- ③ クリーンベンチ内で培地が入った三角フラスコのアルミホイルをとり、口の部分をガスバーナーであぶって滅菌する。
- ④ 滅菌シャーレに培地を適量流し込む。
- ⑤ 静かにシャーレを傾けて、培地をまんべんなく広げ、平板になるようにして自然冷却し、固める。このとき、フタに水滴がつかないようにシャーレのフタは少し開けておく。
- ⑥ 培地が完全に凝固し、表面が乾燥したら完成。シャーレにフタをしてクリーンベンチから取り出す。

(2) 身近な衛生実験

- ① A.....<手指の微生物の培養> 標準寒天培地の平板培地の中心に手指をつける。
- ② B.....<空中落下菌の培養> 実験場所で5分間シャーレのふたを開ける。
- ③ 図1のように、平板培地底の上部に小さく「AまたはB、日付、クラス番号氏名」を書く。
- ④ シャーレはフタ側を下にした状態で倒置し、培養器(インキュベータ incubator)にて、37℃で7日間培養する。



図1 シャーレの準備

#### 4. 結果の記録

##### ■自分が行った衛生実験の条件

A 手指の微生物の培養
B 空中落下菌の培養

##### ■培養結果

A 手指の微生物の培養	B 空中落下菌の培養
観察結果	観察結果
撮影画像を添付	撮影画像を添付

#### 5. 培養結果の分析 【A 手指の微生物の培養】について、実験結果を分析する。

・分析方法 ※10ページの資料を参照

--

・分析結果

1班	2班	3班	4班	5班	6班	平均

(単位:           )

**6. グループワーク(研究への応用)**

今回学んだ面積検出プログラムを研究に利用する場合、どのような研究プランが考えられるか。  
各班でまとめ、1分程度で発表する。

•調べたいこと

具体的な研究方法の案

## 7. 考察

(1) 分析結果から判断できることは何か。 ※個人の名前は書かないこと。

---

---

---

---

---

---

---

---

(2) 今回の分析結果だけでは判断できないことは何か。

---

---

---

---

---

---

---

---

## 8. 事後課題

(1) 100℃で煮沸すればたいていの微生物は死滅する。しかし、実験に用いる培地等を滅菌するには100℃で継続して煮沸するだけでは不十分である。その理由を答えよ。

---

---

---

---

---

---

---

---

(2) 面積検出プログラムを用いないで細菌の培養面積を比較するにはどのような方法があるか。考えなさい。

---

---

---

---

---

---

---

---

(3) 講義や実験結果から分かった微生物の特徴について3つ挙げ、英語の文章で説明しなさい。

①

---

---

---

---

---

---

---

---

②

---

---

---

---

---

---

---

---

③

---

---

---

---

---

---

---

---



## 9. 参考文献

上記課題に取り組むうえで、図書室等で必ず1つ以上の書籍や論文等を参照すること。

参考にした文献は以下のルールに従って記載すること。

(本の場合の書き方) 著者名、タイトル、出版社、出版年

(論文の場合の書き方) 著者名、タイトル、誌名、出版年、巻数、号数、ページ

---

---

---

---

## 10. 感想

---

---

---

---

---

---

## 11. 自己評価（微生物の培養実験）

	←高い				低い→
実習テーマに関する基礎的な知識・技能を身につけることができた。	5	4	3	2	1
操作方法を間違えずに実験を行うことができた。	5	4	3	2	1
微生物の培養に興味を持って取り組めた。	5	4	3	2	1
クリーンベンチでの操作を適切に行うことができた。	5	4	3	2	1
班員と協力することができた。	5	4	3	2	1
プログラムを用いて適切に細菌面積を検出できた。	5	4	3	2	1
分析、考察、発表に主体的に取り組むことができた。	5	4	3	2	1
実験結果を科学的に考察し、学んだ知識を活用してレポートを作成することができた。	5	4	3	2	1

ーデータサイエンス入門ー

## プログラミング技術を利用した細菌コロニーの面積検出法

### 目的:

- ・実験で得た“結果”をプログラミング技術を用いて“分析”し、論理的に“考察”する。

### 方法:

- ・Google Colaboratory を用いて培地上の細菌コロニーの画像を二値化し、コロニー面積を数値化する。

#### 1. Googleドライブの準備

- ①Googleドライブのアプリをダウンロードする。
- ②Google アカウントを作成し、Googleドライブにログインする。

#### 2. 細菌コロニーの撮影

- ①写真の拡張子を jpg にする。  
iPad の「設定」→「カメラ」→「フォーマット」→「互換性優先」を選択
- ②シャーレのフタ側を上にして置き、iPad の「カメラ」アプリで撮影する。  
※ライトの反射や写り込みが少なくなるよう、角度を調節する。真上からでなくてもよい。
- ③「写真」アプリを起動し、「編集」で撮影した画像の不要な部分をトリミングする。
- ④「写真」アプリで共有ボタンから「ドライブ (Google ドライブ)」アプリを選択し、Google ドライブに画像を「アップロード」する。  
※画像の名称を簡単なもの(アルファベット)にしておくが良い。例、「aaa.JPG」

#### 3. Google Colaboratory の起動・二値化プログラムの実行

- ①QRコードを読み取り、ブラウザ上で「細菌の面積算出プログラム」を起動させる。
- ②「Google Drive のマウント」から順次プログラムを実行する。
- ③「メインプログラム」の「元画像の名前」に自分の画像の名称を入力し、プログラムを実行する。
- ④ヒストグラムを見ながら適宜「閾値」を調整する。

#### 4. 分析

- ①シャーレ上のコロニーの面積を他班と比較する。

## C-2 微生物の観察と DNA の抽出

### 1. 目的

- (1) DNA抽出実験に関する基礎的な知識・技能を身に付ける。
- (2) DNA抽出実験を行い、結果について論理的に考察する力を養う。
- (3) DNAのはたらきに興味を持ち、幅広く情報を集めるなどして主体的に学習に取り組む態度を養う。

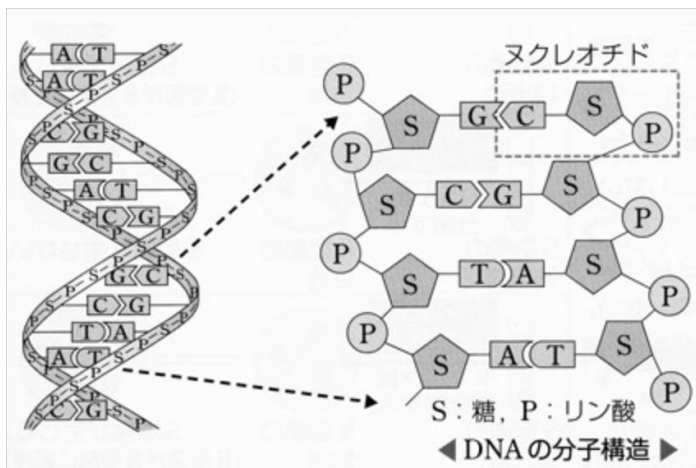
### 2. 実験に必要な基礎知識

#### (1) DNA デオキシリボ核酸(Deoxyribo Nucleic Acid)

真核細胞の核内に存在する染色体は、おもに DNA という核酸とヒストンというタンパク質からなる。DNA は通常肉眼では確認できないが、細胞の構造を理解することで、DNA を析出させることができる。今回の実験では、ブロッコリーから DNA を析出させ観察する。

DNA は、「遺伝情報をコーディングする生体物質」である。その構造は、ヌクレオチド鎖2本からなり、その2本鎖がハシゴ状につながって、更に全体がねじれて二重らせん構造になる。このヌクレオチド鎖は、デオキシリボース、リン酸、塩基から構成され、リン酸は水に溶かすと弱い酸性を示す。よって、DNAもまた水溶液中でマイナスの電荷を帯びることとなる。

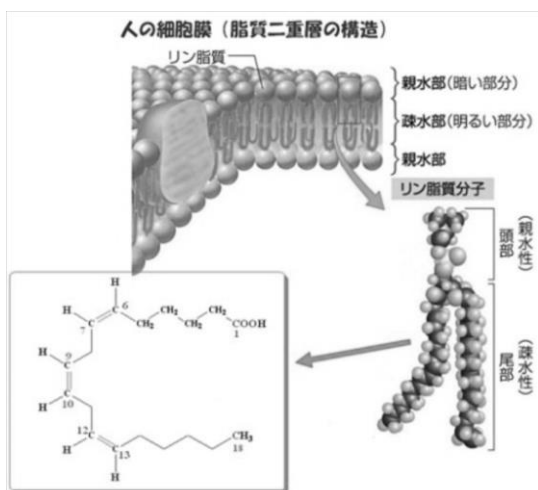
Q. DNA はどのような物質なのだろうか？



DNAの分子構造

#### (2) 細胞膜

細胞膜は、細胞の内側と外側を隔てる役割をしている。主成分はリン脂質であり、流動性がある。



脂質の二重膜構造

### (3) 界面活性剤

界面活性剤は、界面(物質の境の面)に作用して、性質を変化させる物質の総称。例えば、脂質などは1つの分子の中に、親水性と疎水性の2つの特性をもっている。このような物質に対して水と油を混じりやすくする物質が界面活性剤である。

## 3 実験方法

DNAの抽出 試料:ブロッコリーの花芽

### 【実験方法】

#### ■ビーカー

↓←NaCl 2.5g

↓←D.W. 50mL

↓←中性洗剤 3mL

混合(泡立たないように注意)→(ひたる程度)→

#### ■乳鉢

↓←ブロッコリー10g

乳棒でつぶす

↓

↓

混合(静かに)

↓

静置(10分間)

↓

濾過(ナイロンメッシュ使用)

#### ■試験管

↓←濾液

↓←冷エタノール 5mL

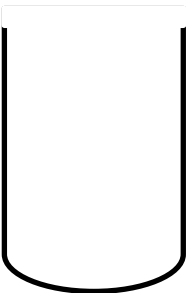
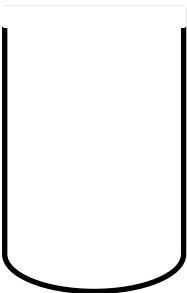
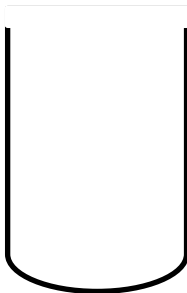
↓静置

(観察)

エタノールを加えた直後、  
3分後、10分後

## 4 結果の記録

### ■ DNAの観察記録

エタノール添加直後	3分後	10分後
		
気づいたこと	気づいたこと	気づいたこと

## 5 課題

(1)DNAの抽出実験において、塩化ナトリウムを加える理由を「ヒストン」という語句を使って説明しなさい。

---

---

---

(2)DNAの抽出実験において、界面活性剤を加える理由を「リン脂質」という語句を使って説明しなさい。

---

---

---

(3)DNAの抽出実験において、エタノールを加える理由を「析出」という語句を使って説明しなさい。

---

---

---

(4)講義や実験結果から分かったDNAの特徴について2つ挙げ、英語の文章で説明しなさい。

①

---

---

---

②

---

---

---

## 6 参考文献等

---

---

---

---

## 7 感想

---

---

---

---

---

---

---

## 8 自己評価 (DNAの抽出実験)

	←高い		低い→		
実習テーマに関する基礎的な知識・技能を身につけることができた。	5	4	3	2	1
操作方法を間違えずに実験を行うことができた。	5	4	3	2	1
細胞にはDNAが含まれていることを理解することができた。	5	4	3	2	1

—メモ欄—





SS 工学技術基礎

東京都立科学技術高等学校

Tokyo Metropolitan High School of Science and Technology