

K-69

微生物培養における塗布方法の機械化と定量化を満たす機器の設計開発

○武田瑞樹¹, 赤坂拓海¹, 金子美泉², 岩淵範之³内木場文男⁴*Mizuki Takeda¹, Takumi Akasaka¹, Minami Kaneko², Noriyuki-Iwabuchi³, Humio Uchikoba⁴

In bacterial culture, when a bacterial solution is smeared onto a medium, it has been conventionally performed manually. However, it has been found a change occurs in microorganisms that propagate due to a difference in coating pressure. This makes the experiment less reproducible, so the purpose of this paper is to develop a device to quantify and mechanize it.

1. はじめに

昔から微生物やウイルスは風邪、感染症など多くの形となって害を及ぼしてきた。そんな微生物を人類が利用し始めたのは古く紀元前まで遡る。古代エジプトで偶然発見されたパンの醗酵に端を発し、現在に至るまで食、薬の開発などの分野で多岐にわたり利用されている。その一方で微生物は非常に小さく観測が難しい。そのため微生物学の研究は歴史が浅く、19世紀初頭までは発酵は自然発生的なものであるという考えが信じられていたほどである。微生物学の転機は1860年にパスツールによる発酵は微生物によるものだという発表、その後世界初のワクチンを開発したことだといえる^[1]。これ以降微生物学は目覚ましい発展を遂げ、医学という分野を語るにおいて微生物学は欠かせない存在へと成長していった。微生物培養の技術は微生物学の研究の効率化を図るために開発された技術である。微生物培養とは、入手困難な微生物を実験に使う際に再度入手する手間を省くためや、特定の組織や微生物を取り出すため、食品を大量生産し工業への転用を可能にするなどの目的のために行われる培養作業は培養する微生物の入った菌液を寒天などで形成した培地の上に滴下し、塗り広げることで行う。しかしこの塗布工程は手作業であるため個人差が大きく生じてしまう。日本大学生物資源科学部の岩淵准教授らの研究において、この菌液を塗り込む力の違いによって繁殖する微生物が変わることが報告されている^[2]。例えば海水のように多くの微生物が含まれた培養液から特定の微生物を繁殖させようとした時、培地に菌液を塗りつける力が強い場合と弱い場合で別の微生物がコロニーと呼ばれる集合体を形成することが発見された。手作業による培養では実験者によって別々の微生物が繁殖するため、実験の再現性が乏しくなる。そのため本来の目的であった、

特定の微生物の取り出しや大量生産が困難となる。

これは塗布の際の塗布圧や塗り方、塗布角を機械化し定量化することで解決できると考えられる。そこで、本研究では微生物培養実験の機械化をするための実験装置の設計を目的とした。

2. 解決すべき課題

微生物培養の主な工程を Figure1 に示す。

まず、シャーレに菌液を垂らし、それをスプレッダーで塗りつける。その後、それを一定時間寝かせることで微生物を繁殖させる。

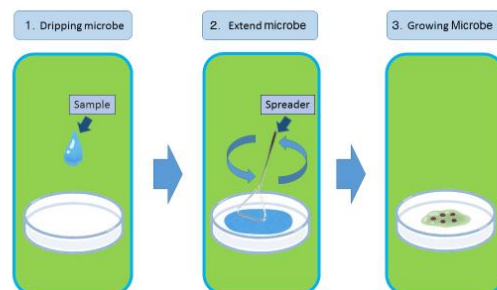


Figure 1. Microbe culture

本実験において解決すべき課題を下記にまとめる。

- ・菌液を寒天に塗りつける道具である Figure2 のようなスプレッダーと呼ばれるガラス棒を加工した道具に加える荷重を 0~200g で調整できるようにすること。
- ・菌液を均一に塗布するためにシャーレ自体をターンテーブルにより回転させスプレッダーを垂直固定する。この時、遠心力によって塗布膜の厚みが不均一にならないようにする。
- ・スプレッダーを寒天上に設置するとき、寒天が破損しないようにする。
- ・荷重をかけすぎてしまうとガラス棒であるスプレッ

1 : 日本大学・理工学部・精密 2 : 日大理工・教員・精密 3 : 日大生物資源学部・教員

ダーは破損してしまう恐れがあること。

- ・スプレッダーはひとつひとつが手作りであるため形が不統一であり、色々な形のスプレッダーへの応用を可能にする必要がある。

- ・装置の滅菌は 120℃の熱湯で行うことや、水気の多い場所での実験になることを想定して高温や錆に強い材料を選定する必要がある。

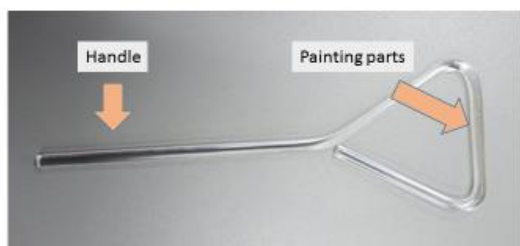


Figure 2. Spreader

3. 設計と実験方法

実験装置の設計において、負荷の調整、スプレッダーの破損、材料に必要な性質の3点を考慮した

- ・負荷の調整を行うため、ボルトとナットを使用した高さ調整を行い、ボルトの先に付けたスプレッダーにかかる荷重を調整する機構を考えた。
- ・ターンテーブルにかかる遠心力や手作りによるスプレッダーごとの誤差による菌液の塗りムラを解決するためにスプレッダーとそれを支える軸の間にゴムで出来た緩衝材を取り付ける事にした。
- ・高温滅菌や水気による錆の問題を解決するため、試作機の材料にステンレス鋼を選択した。

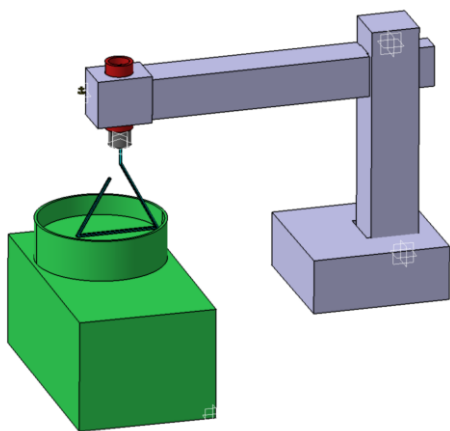


Figure 3. Prototype

4. まとめ

今回の設計では、材料をステンレス製にすることで、錆の防止や熱湯消毒にも耐えると考えた。スプレッダーとターンテーブルを用いて塗布した際の問題について、菌液の膜厚がテーブルの内側と外側で均等にならない点は、スプレッダーの角度やターンテーブル回転数を調整することで解決出来ると考えられる。これと同一にスプレッダーによる寒天の破損については

現在の試作機はまだいくつかの問題点があるため、から実験する上で検討していく。その改善を行う必要がある。

改善を終えた後、実際に作製と動作確認を行い本研究の目標である。微生物と塗布に掛ける荷重の定量化を進めていこうと考える。

5. 参考文献

- [1] 下坂誠:「バスターールへの想い」, 繊維学会誌, Vol.72, No.3, 2016.
- [2] 岩淵範之:「海洋性多環芳香族炭化水素 (PAHs) 分解菌 *Cycloclasticus* の複合微生物群集中での優占化に対する *Rhodococcus* 属細菌由来の細胞外多糖 (EPS) の影響」, 用水と廃水, No.369, pp. 359-364, 2010.