

## 平成20年度 微生物学実習日程 (2009年1/21～2/6)

### 第1週 (担当) 竹之内、田中 [HSV, PCR]

- 1月21日(水) 実習講義 (13:00-14:30) 実習の一般注意 / 藤澤、実習説明 / 竹之内 ---- p.1
1. 赤血球凝集抑制反応(HI)用ヒト血液の採血 -----p.65
  2. 培養 Vero 細胞への HSV 接種-----p.56, 62
- 1月22日(木) 実習講義 (9:00-10:30) ウイルスの定量と CPE / 竹之内, PCR / 田中 ---p.44, 62
1. PCR 法による Vero 毒素の検出と同定 (PCR 反応) -----p.44
  2. ヒト採血検体からの血清分離・非働化-----p.65
  3. HSV 感染 Vero 細胞の観察-----p.64
- 1月23日(金) 実習講義 (13:00-14:00) ギムザ染色/竹之内、電気泳動/田中 ----- p.44,62
1. PCR 産物の電気泳動と判定-----p.44  
(注意) 電気泳動パターンの撮影像をレポートに添付する。
  2. 感染価 TCID50 の算定・ギムザ染色-----p.62  
(注意) ギムザ染色像 (CPE像) を顕微鏡カメラで撮影し、レポートに添付する。

### 第2週 (担当) 西川 (細菌学実習)

- 1月26日(月) 実習講義(9:00-10:30): 培地作製 / 西川 ----- p.7
1. 引き続き、培地作製実施、オートクレーブ開始、その後昼食
  2. 培地作製  
a. 液体・半流動・斜面・平板培地の作製-----p.7～11  
b. マンニット食塩寒天平板培地(分離培養用)の作製-----p.3 (参考 p.9)  
c. 口腔内細菌分離培養用血液寒天培地の作製-----p.3 (参考 p.9)  
d. *Salmonella shigella* (SS) 寒天平板培地 (分離培養用) の作製-----p.3 (参考 p.9)  
e. TSI 寒天半斜面培地 (確認培養用) の作製-----p.3 (参考 p.9)  
f. オートクレーブによる各培地の高圧蒸気滅菌-----p.6
  3. 実習講義 (昼食後): グラム染色 / 西川
  4. グラム染色; *S. aureus*, *E. coli* の混合塗沫標本作製および染色-----p.26  
(注意) 染色の当日もしくは翌日、染色像を顕微鏡カメラで撮影、レポートに添付する。
- 1月27日(火) 実習講義 (13:00-14:00) 各種培地の説明および接種法 / 西川-----p.44,62
1. グラム染色; 配布菌 (a, b, c, d, e) のグラム染色-----p.26
    - a. *Staphylococcus aureus*
    - b. *Staphylococcus epidermidis*
    - c. *Bacillus subtilis*
    - d. *Pseudomonas aeruginosa*
    - e. *Escherichia coli*

(注意) a～e の菌体の中からいずれかの 1 菌体が各自に与えられる。形態・染色性・運動性・酵素反応からそれぞれの菌体名を同定し、レポートとして提出する。
  2. 純培養; 前日作製した培地への配布菌の接種-----p.12～15  
液体・半流動・斜面・平板培地に接種する。  
(注意) 上記グラム染色像より判断し、マンニット食塩寒天平板培地へは a, b を、HI寒天平板培地へは c～e を画線塗沫する。
  3. 腸内細菌 (糞便材料) の分離培養 [好気培養]  
各自糞便の SS 寒天平板培地への接種、培養----- p.31
  4. 口腔内細菌 (咽頭拭い材料) の分離培養 [血液寒天培地] ----- p.32

### 1月28日(水) 実習講義 (13:00-14:00) 酵素反応 / 西川

1. SS 寒天平板培地上腸内細菌のグラム染色および確認培養  
TSI 寒天半斜面培地への接種、培養-----p.36
2. 血液 寒天平板培地上 口腔内細菌の観察 及びグラム染色 -----p.36  
(注意) 1.腸内細菌及び2.口腔内細菌のグラム染色像を顕微鏡カメラで撮影しレポートに添付する。  
供覧: 溶血環の観察 (*S. pneumoniae*, *S. pyogenes*)-----p.29
3. 純培養した配布菌の発育性状の観察  
混濁、菌膜の有無、増殖性、運動性、コロニーの色調等----- p.16
4. 酵素反応  
a. コアグラ-ゼテスト-----p.18  
b. オキシダーゼテスト-----p.18  
c. カタラーゼテスト-----p.19

### 1月29日(木) 実習講義 (9:00-10:30) TSI 培地の原理、抗酸性染色法 / 西川

1. TSI 寒天半斜面培地上腸内細菌の観察 ----- p.26, 37  
(注意) 培地上での性状並びに染色像から、菌体名を同定 (推定) する。  
TSI培地の変化をカメラで撮影し、レポートに添付する。
2. 抗酸性染色 (Ziehl-Neelsen の方法); *M. tuberculosis* の染色-----p.30  
(注意) 抗酸性染色像を顕微鏡カメラで撮影し、レポートに添付する。  
供覧 1: 結核菌培養:小川培地上の *M. tuberculosis* の発育観察  
供覧 2: 荚膜染色 (Hiss の方法):*S. pneumoniae* の染色像の観察-----p.33  
供覧 3: 芽胞染色 (Möller の方法):*B. subtilis* の染色像の観察-----p.27  
供覧 4: 鞭毛染色 (西沢・菅原の方法):*P. vulgaris* の染色像の観察  
供覧 5: 異染小体小体染色 (Neisser の方法):*C. diphtheriae* の染色像の観察----p.34

### 1月30日(金) 実習講義 (13:00-14:00) 孵化鶏卵でのウイルス増殖 / 藤澤

1. 孵化鶏卵漿尿膜腔への Influenza virus の接種-----p.66

### 第3週 (担当) 西川 (Influenza virus) 藤澤 (口頭試問)

### 2月2日(月) 実習講義(9:00-10:30): 赤血球凝集反応 / 西川

1. Influenza virus 感染孵化鶏卵漿尿膜腔液 (漿尿液) の採取 (午前中)-----p.68
2. Influenza virus による赤血球凝集反応 (HA)-----p.69  
赤血球凝集抑制反応 (HI)-----p.70  
(注意) 赤血球凝集反応および凝集抑制反応の撮影像をレポートに添付する。

### 2月3日(火) ～ 2月6日(金) 再実験 / 後かたづけ / レポート作成・提出

### 2月9日(月) 9:00-17:00 口頭試問