

## タイトル：タンパク質の凝固

### ◇対象

小学生～高校生

### ◇実験の概要

スキムミルクを加えた培地を使い、乳酸菌が生産する酸によるタンパク質の凝固を観察する。また乳酸菌の他にヨーグルトを加えて、同様に培地の変化を観察する。

### ◇所要時間

(前培養 2日間)

本実験：作業時間30分、本培養後1日目から3日目くらいまで毎日観察

### ◇使用する微生物 (NBRC 提供)

*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

※L-乾燥標品にて提供。L-乾燥標品からの復元方法等のご案内は微生物株に同封してお送りしております。

### ◇必要な機器

- ・オートクレーブ
- ・インキュベーター (37℃で使用)

### ◇準備するもの

- ・培地 (前培養用と本実験用)
- ・スポイトまたはパスツールピペット
- ・薬さじ
- ・pH 試験紙
- ・油性マジック
- ・市販のヨーグルト

### ◇使用する培地

【前培養用】MRS 培地 (液体)

市販のMRS 培地 (粉末) を溶解し、pH を 6.0-6.5 に調整する。

試験管に 10ml ずつ分注し、121℃、15 分間オートクレーブする。

または市販の調整済み液体培地をご使用下さい。

【参考】3M™社製 乳酸菌測定用 MRS ブロス (9mL)、Cat. No. MRS9

## 【本実験用】リトマスミルク培地（液体）

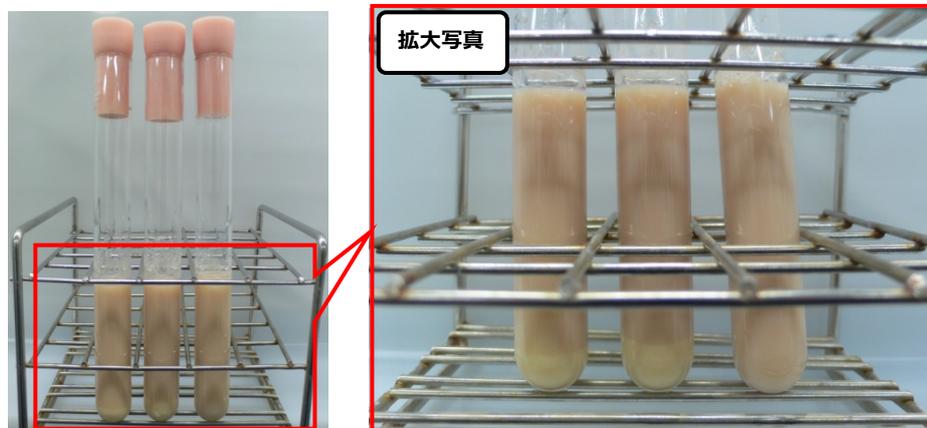
下記組成を溶解して pH を調整したあと、

試験管に 10ml ずつ分注し、110℃、10 分間オートクレーブする。

スキムミルク	100 g
リトマス溶液*	10 ml
水	1000 ml

pH 6.8-7.0

\*リトマス（粉末）5 g を熱水 100ml で溶かし、濾紙で濾したものを使用する。または市販のリトマス液を用いる。



☆オートクレーブ後しばらくするとスキムミルクが沈殿する（左側の 2 本）。  
使用時には良く懸濁する（右端）。

または市販の調整済み液体培地をご使用下さい。

【参考】BBL™ 社製、Litmus Milk, Pkg. of 10 size K tubes、Cat. No. 221657

## ◇実験の手順

※L-乾燥標品から復元培養した後の手順です。L-乾燥標品からの復元方法等は微生物株に同封してお送りするご案内をご参考ください。

### 【事前準備】

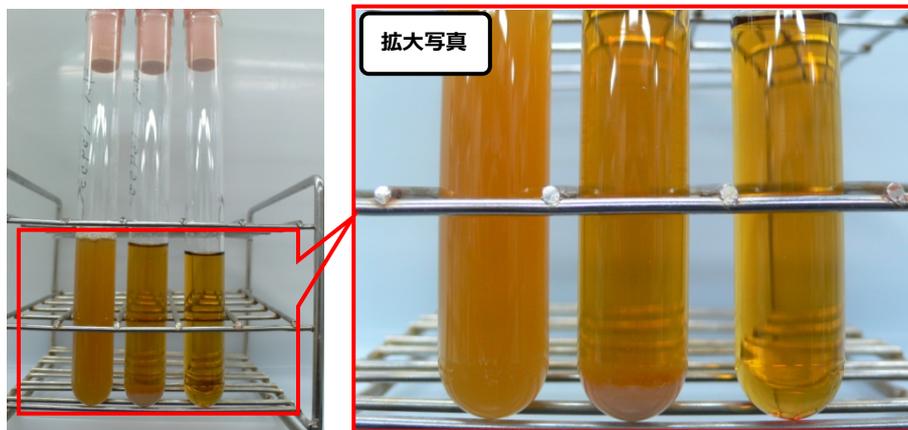
#### ①培地の調整

- ・MRS 培地の調整（前培養用）
- ・リトマスミルク培地の調整（タンパク質凝固の実験用）

#### ②使用菌株の前培養

### 【本実験】

1. 予め通常の液体培地（MRS, GAM 培地等）で静置培養（前培養）した菌を良く懸濁する。



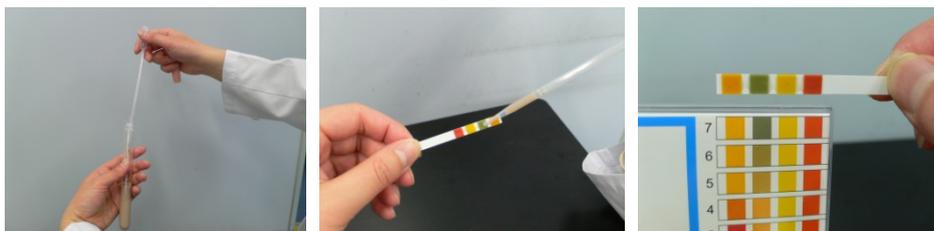
左：懸濁した培養液、中央：静置培養した状態、右：未接種の培地

☆菌体は試験管の底に沈むので、使用時には良く懸濁する。

2. リトマスミルク培地も良く懸濁する。



3. 少量をスポイトでとり、pH 試験紙で pH を確認しておく。



4. リトマスミルク培地の入った試験管に日付と、微生物とヨーグルトの名前をそれぞれ書く。



5. 前培養した菌の懸濁液を約 1ml スポイトで吸い取る。



6. 吸い取った菌の懸濁液をリトマスミルク培地に加え、よく懸濁する。



7. 少量のヨーグルトを薬さじですくい取り、リトマスミルク培地に加えて良く懸濁する。



8. 栓をして 37℃前後に保温して培養する。

9. 培地の色調と状態の変化を毎日観察する。

10. 数日後、培地が固まったら、蓋を開けてにおいを嗅いでみる。pH も確認し、未接種の培地の色と比べてみる。

## ◇実験結果

ヨーグルトまたは乳酸菌を接種したスキムミルク培地は、状態と色調に変化が起こる。

**色調**

接種前の紫（リトマスの青色）から、上層部がピンク色（酸性化）、深部が白色（脱色・還元）に変化する。

**写真**

左：ヨーグルトを接種

中央：*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* を接種

右：未接種

**状態**

全体がヨーグルト状に固まる（酸によるタンパク質の凝固）。

**写真**

逆さにしても落ちてこない。