

アプリケーションデータシート #025

恒温振とう培養機 **Bio-Shaker BR** シリーズ No.4

容器形状や振とうの速度・振幅と培養効率について



慣習や感覚で済まされがちな振とう培養のファクターを実験により改めて考察する

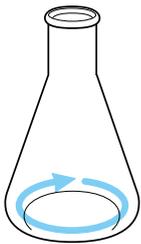
概要

微生物の振とう培養法には様々なファクターがある。培地の成分や培養対象となる微生物の性質(至適培養温度等)については割愛するが、特に好気条件を必要とする時に重要となる『エアレーション』の効率、培養の速度や収量を左右すると言っても過言ではない。この『エアレーション』を考える時、関係するファクターが即ち培養容器の形状(種類)・容器容量・液量・振とう方式・振とう速度・振幅である。これらのうち振とう方式は容器形状で決まり、液量にはセオリーがあるため容器容量も自ずと決まる。従って、容器形状・振とう速度・振幅が主な変数となる。本紙ではこの3つのファクターについて、実験を踏まえた考察を紹介する。

培養容器について

本考察では、振とう培養でよく用いられる以下の3種類のガラス製容器と振とう速度および振幅による培養効率の違いを検証した。

三角フラスコ



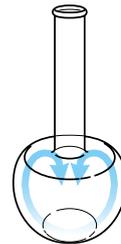
- 市販されている容量
50～5000ml
- 振とう培養時の推奨液量
容量の1/5～1/3
- 振とう培養時の振とう方式
旋回振とう
- 主な別名
エルレンマイヤー
三角コルベン

バッフル付き三角フラスコ



- 市販されている容量
50～2000ml
- 振とう培養時の推奨液量
容量の1/5～1/3
- 振とう培養時の振とう方式
旋回振とう
- 主な別名
振盪三角フラスコ
羽根付き三角フラスコ

振とうフラスコ



- 市販されている容量
100～2000ml
- 振とう培養時の推奨液量
容量の1/5～1/2
- 振とう培養時の振とう方式
往復振とう
- 主な別名
坂口フラスコ

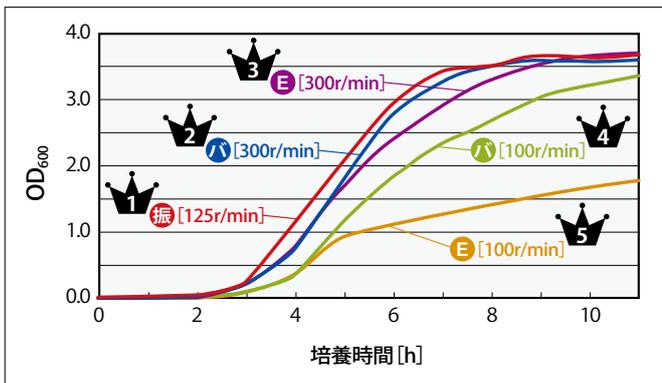
振とう培養で頻用されるガラス製容器。旋回で振とうする。プラスチック製のディスポーザブルタイプも市販されている。大腸菌のようによく増える細菌の場合や培養効率に特にこだわりがなければ、これで済ませることも多い。振とう培養以外の用途では往復振とうで激しく振ることもあるが、振とう培養では泡立つため一般的ではない。

内側にバッフル(邪魔板)と呼ばれる出っ張りが設けられた三角フラスコ。旋回振とうにより回転した培養液がこのバッフルに当たることで、エアレーション効率が増す。ただし培養液が激しく泡立つので、不都合な場合は使用しないほうがよい。酵母の振とう培養では、右記の振とうフラスコと共に推奨されている場合も多い。

往復振とうで図のように培養液が動くよう振とう速度と振幅を調節することで、高いエアレーション効率を得られる日本独特の容器。三角フラスコ系よりも多く培養液を入れることができる。容量に比べて背が高いことと中をよく洗い難いのが欠点。カビの培養では首の根元に付着することがあるので、詰まらないよう時々落としてやる必要がある。

実験による検証結果と考察

① 容器形状による培養効率の違い(振幅25mm、大腸菌)



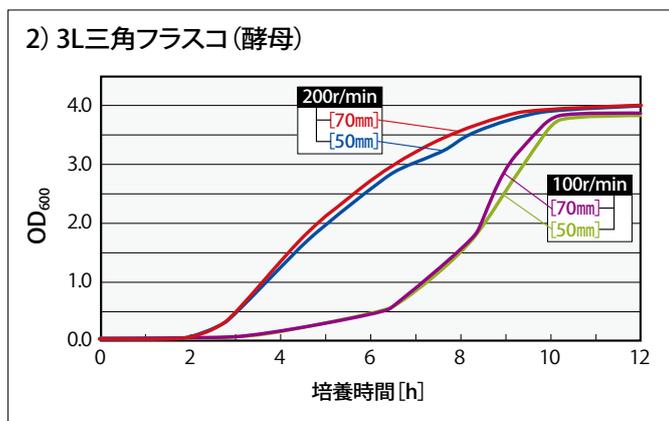
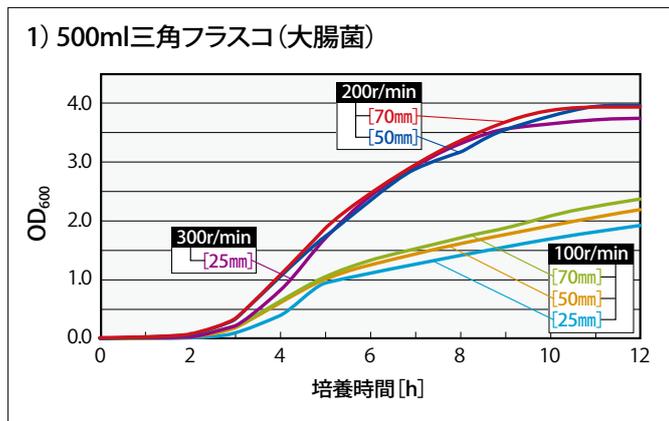
E = 三角フラスコ、バ = バッフル付き三角フラスコ、振 = 振とうフラスコ

No. = 培養効率の順位

恒温振とう培養機…バイオシェーカー® G-BR-300
 大腸菌……………HB101株、前培養液を1/1000量、+37°Cで培養
 培地/容器容量……LB培地100ml in 500ml各容器
 培養効率の指標……OD₆₀₀の経時変化をプロットした増殖曲線の高低

まずは容器容量・液量・振幅を固定し、容器形状による増殖曲線の違いを検証した。容器容量は振とう培養で一般的な500ml、液量はセオリー通り容量の1/5量、振幅は市販されている恒温振とう培養機でもっとも多い25mmとした。振とう速度は、三角フラスコ系は100r/minと300r/min(一般的な恒温振とう培養機の限界速度)の旋回、振とうフラスコは125r/min(前述の液の動きをさせるためこの速度のみ)の往復で振とうした。結果は左図の通りであった。もっとも効率が良いのは振とうフラスコ、次点はバッフル付き三角フラスコであった。使用可能ならば、いずれも高い効率を得られるだろう。通常の三角フラスコの場合、振とう速度を上げることができれば、他二者に近い効率を得られることも分かった。

②振幅による培養効率の違い



恒温振とう培養機…バイオシェーカー®G・BR-300 (振幅25/50mm)
 バイオシェーカー®BR-180LF-70RT (振幅70mm)
 大腸菌……………HB101株、前培養液を1/1000量、+37℃で培養
 酵母……………S288C株、前培養液を1/100量、+30℃で培養
 培地……………LB培地100ml (大腸菌)、YPD培地100ml (酵母)
 容器/振とう方式…三角フラスコ(500mlおよび3L)、巡回振とう
 培養効率の指標…OD₆₀₀の経時変化をプロットした増殖曲線の高低
 続いて、しばしば議論される振幅について検証した。

1) 巡回振とうの振幅25mm・50mm・70mmにおける増殖曲線を比較した。500ml三角フラスコでは、いずれの振幅においても著しい差は見られず、振とう速度の影響のほうが大きいことが分かった(25mmは他二者よりも低めの培養効率であったが、振とう速度を上げることで補えることが分かった)。
 2) 25mmよりも大きい振幅は大容量の容器や粒子が大きい微生物の場合に特に効果的との仮説を立て、大腸菌よりも粒子が大きいため沈みやすい酵母を3L三角フラスコで培養し、振幅50mmと70mmを比較した。結果、振幅の違いによる差はほとんど見られず、振とう速度の違いで立ち上がりに差が見られた程度であった(100r/minと200r/minで初期の増殖曲線の差が大きい、12時間後はほぼ同じであった)。
 50mmや70mmといった大振幅は、必然的に高速振とうできない大容量の容器で振とう速度を補うために用いられると考えられるが、今回は50mmと70mmで優位差が認められなかった。今後は、今回網羅できなかった5L三角フラスコや振とうフラスコ(往復振とう)における25mm・50mm・70mmの比較を行ってみる。古くから放線菌の振とう培養では振とうフラスコを70mm振幅で往復振とうしていることから、50mmと70mmで差があるとすれば容器形状や微生物の特性も関係するのかもしれない。

好評発売中

タイテックの恒温振とう培養機は、小・中型に25mm、大型に25mmに加えて50mmや70mmが可能な機種をラインナップ。振とう方式は、巡回に加えて、日本独特の振とうフラスコや、試験管、ディスポ遠沈管の振とうに有効な往復(レシプロ)タイプもあり、目的や実験スケールに応じて選びやすいように豊富なバリエーションを取り揃えています。詳しくは、タイテック・オンラインをご参照ください。



恒温振とう培養機(中型)
 バイオシェーカー®BR-41/42/43FL
価格: ¥940,000 ~ ¥980,000
 (スプリングネット振とう台が付属)
 500ml三角フラスコなら6個収納
 機種により往復、巡回、切換式
 振幅25mm、振とう速度は20 ~ 300r/min
 使用温度範囲は+4℃ ~ +70℃



恒温振とう培養機(大型)
 バイオシェーカー®G・BR-300
価格: ¥2,200,000
 (ツメクランプは別売)
 500ml三角フラスコなら24個収納
 往復巡回切換、振幅25/50mm切換
 振とう速度は25 ~ 300r/min
 使用温度範囲は+4℃ ~ +80℃



恒温振とう培養機(大型)
 バイオシェーカー®BR-180LF-70RT
価格: ¥1,650,000
 (ツメクランプは別売)
 500ml三角フラスコなら24個収納
 巡回専用、振幅70mm
 振とう速度は25 ~ 250r/min
 使用温度範囲は+4℃ ~ +70℃

著者・編集

タイテック株式会社
 企画開発部 宣伝企画グループ
 〒343-0822 埼玉県越谷市西方2693-1
 TEL: 048-988-8341 FAX: 048-988-8346 E-mail: senden@taitec.org
 Web: http://taitec.net/

2017年1月発行、同年3月改訂
 各製品や本紙の内容に関するお問い合わせは、左記までお願い致します。
 ●『バイオシェーカー』『BioShaker』は、タイテック株式会社の登録商標です。