
微生物の取り扱いと微生物管理に関わる試験法

SAMPLE

SAMPLE

目次

第1章 微生物の基礎と取り扱い	17	著：喜友名朝彦、立里 臨
1. 微生物とは	17	
1.1 微生物とは何か	17	
1.2 微生物の大きさ	19	
1.3 生物の分類と微生物	20	
1.4 微生物の種多様性	23	
1.5 微生物の学名：学名表記のルールと見方	26	
1.5.1 学名とは	26	
1.5.2 学名表記のルール	26	
1.5.3 学名の読み方、発音	26	
1.5.4 種の学名の構成	27	
1.5.5 学名の意味	27	
2. 微生物の種類と特徴——細菌、アーキア、菌類、原生生物、ウイルス	29	
2.1 微生物の種類と特徴	29	
2.1.1 細菌	29	
2.1.2 アーキア（古細菌）	30	
2.1.3 菌類	31	
2.1.4 原生生物（微細藻類、原生動物）	32	
2.1.5 ウイルス	32	
2.2 実験室における微生物（細菌、酵母、カビ）の識別	33	
3. バイオハザード、バイオセーフティ	36	
3.1 バイオハザードとは	36	
3.2 バイオセーフティとは	36	
3.3 感染とは	36	
3.3.1 微生物と感染	36	
3.3.2 感染の成立過程	36	
3.3.3 日和見感染	38	
3.3.4 実験室感染	38	
3.4 病原体（微生物）のリスク群分類とバイオセーフティレベル	38	
3.5 病原体（微生物）のリスク群分類と実験室のBSL	40	
3.6 日本細菌学会のバイオセーフティレベル（BSL）	41	
4. 微生物の増殖に必要な条件	43	
4.1 温度	43	

4.2	湿度	43	
4.3	浸透圧	43	
4.4	水素イオン濃度 (pH)	44	
4.5	酸素	44	
4.6	栄養素	48	
4.6.1	炭素源	48	
4.6.2	窒素源	48	
4.6.3	無機塩類 (ミネラル)	48	
4.6.4	ビタミン	49	
5.	生活環境や製品の製造現場において問題となりやすい要素	49	
5.1	生活環境や製造現場におけるカビの発生しやすい要素	49	
5.2	製造現場における微生物汚染問題の要素	50	
5.2.1	原材料	50	
5.2.2	製造環境	51	
5.2.3	製造設備	51	
5.3	自然環境中の微生物汚染の由来	52	
5.3.1	空気	52	
5.3.2	水	53	
5.3.3	土壌	53	
6.	微生物実験室使用および微生物実験の注意事項	53	
6.1	微生物実験の基本的な考え方	53	
6.2	実験室内での微生物の取り扱い	54	
6.3	微生物実験室における一般的な注意事項～実験室の日常安全管理	54	
6.3.1	正しい手技を身につける	54	
6.3.2	白衣の着用	56	
6.3.3	微生物実験室内の実験スペースと清潔区スペースの使い分け	56	
6.3.4	微生物実験室内での感染防止	57	
6.3.5	クリーンベンチと安全キャビネット	57	
6.3.6	微生物実験室におけるダニ汚染	58	
6.4	微生物実験における無菌操作	59	
6.4.1	無菌操作とは	59	
6.4.2	いつ無菌操作が必要なのか	59	
6.4.3	ガスバーナーの使用	60	
6.4.4	植菌操作時の注意点	60	

第2章 微生物試験の品質管理（精度管理） 65

著：諸藤 圭

1. 試験検査の信頼性の確保 65
 - 1.1 微生物試験の役割 65
 - 1.2 信頼性を確保するための要件 65
2. 各要件で求められる管理事項 66
 - 2.1 サンプルが適切であること 67
 - 2.2 試験方法が妥当であること 68
 - 2.3 施設、設備が適切であること 70
 - 2.4 機器が適切であること 71
 - 2.5 試薬（培地）が適切であること 72
 - 2.6 試験者が技能を有していること 72
 - 2.7 品質を保証する体制を有していること 73
3. 品質管理システム 73
 - 3.1 品質管理システムで管理する事項 73
 - 3.2 内部品質管理 75
 - 3.2.1 定量的な微生物試験 75
 - 3.2.2 定性的な微生物試験 78
 - 3.3 技能試験 79
4. まとめ 81

第3章 微生物の培養 分離・同定 83

著：古畑勝則

1. 細菌の培養 83
 - 1.1 細菌培養法 83
 - 1.1.1 細菌の発育条件 83
 - 1.1.2 培地 84
 - 1.1.3 培養法 88
 - 1.1.4 菌数測定法 91
 - 1.1.5 菌株保存法 92
2. 細菌の純粋培養 93
 - 2.1 分離培養法 93
 - 2.1.1 分離培地 93
 - 2.1.2 分離培養 93
 - 2.1.3 純粋培養 94
3. 細菌の同定試験 94
 - 3.1 形態学的性状 95

3.1.1	細胞形態 (ミクロ)	95
3.1.2	集落形態 (マクロ)	99
3.2	生理学的性状	100
3.2.1	発育条件	100
3.2.2	好塩性と食塩抵抗性	101
3.2.3	色素産生性	101
3.2.4	運動性	101
3.2.5	溶血性	102
3.3	生化学的性状	103
3.4	細菌の同定	111
3.4.1	簡易同定キット	111
3.4.2	遺伝子検査	112
3.4.3	マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析法 (MALDI-TOF MS)	112
4	細菌の染色標本の観察	113
4.1	抗酸菌染色	113
4.2	特殊染色	114
5	真菌の培養	116
5.1	培養法	116
5.1.1	培地	116
5.1.2	培養	117
5.1.3	培養検査による菌種同定	117
5.2	染色法	121

第4章 迅速検出法 124

第1節 微生物迅速検出法の現状と将来展望 124

著：田村弘志、菊池 賢

はじめに	124
1. 薬局方における微生物迅速試験法	124
2. 広がる応用分野	125
3. 製薬用水における適用	127
4. 無菌試験法への適用	127
5. 環境モニタリングへの適用	129
6. 再生医療等製品の微生物管理試験	129
7. 感染症における迅速診断	130
8. 食品微生物分野における簡便・迅速検査のトレンド	131
9. バリデーション	131

10. その他の応用事例	132
おわりに	133

第2節 リアルタイムPCRによる細菌および真菌の迅速検出 136

著：長島茂幸

1. 背景	136
2. 細菌・真菌検出キット	137
2.1 検出可能な微生物種	137
2.2 迅速法と培養法の同等性の検証	137
2.3 真核生物細胞共存下での検出	139
3. まとめ	141

第3節 食品微生物の簡易・迅速検査

(特に培養法を中心とした検査について) 143

著：水落慎吾

1. はじめに	143
2. 食品衛生における食品検査の種類	144
2.1 行政検査と自主検査について	144
2.2 行政検査	144
2.3 自主検査	144
3. 第三者認証機関による妥当性確認	145
4. 簡易・迅速検査の種類と活用	145
4.1 食品検体の処理	146
4.2 簡易培地	147
4.2.1 コンパクトドライ™のメリット	147
4.2.2 コンパクトドライ™の種類と国際認証	148
4.2.3 コンパクトドライ™の使用上の注意点	150
4.3 コロニーカウント	151
4.4 菌種同定	152
4.5 自動化	152
4.6 非培養技術	153
5. さいごに	154

第4節 高速PCR検査装置を用いた感染症遺伝子検査 156

著：藤本聖人

1. はじめに	156
2. GENECUBE® 機器によるPCRとQProbe® 検出	156

3. ジーンキューブ測定試薬	157
3.1 新型コロナウイルス測定試薬	157
3.2 抗酸菌測定試薬	159
3.3 マイコプラズマ・ニューモニエ測定試薬	159
3.4 MRSA (Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>) 検出試薬	159
3.5 クロストリジオイデス・ディフィシル毒素遺伝子検出試薬	160
4. さいごに	160

第5節 製品におけるウイルス感染力新評価法

162

著：兼松秀行

1. はじめに	162
2. ウイルスとは	162
3. 従来のウイルス評価法	165
4. 製品（材料）上のウイルス感染価の評価	172

第5章 洗浄、消毒、滅菌法

175

著：猪野 毅

1. 概説	175
2. 洗浄法	175
2.1 洗浄とは	175
2.2 洗浄の考え方	176
2.3 洗浄の目的	176
2.4 洗浄要素	177
2.5 洗浄のメカニズム（パターン）	177
2.6 洗浄剤	178
2.7 洗浄操作	179
2.7.1 洗浄操作の基本	179
2.7.2 洗浄用具	180
2.8 バイオフィルム	181
2.8.1 バイオフィルムとは	181
2.8.2 バイオフィルムの洗浄殺菌	182
2.9 洗浄殺菌の評価方法	183
2.10 食品工場における洗浄殺菌	185
3. 消毒法	186
3.1 消毒とは	186
3.2 消毒の基本	186
3.3 消毒の目的	186

3.4	消毒の分類	187	
3.4.1	物理的消毒法	187	
3.4.2	化学的消毒法	187	
3.5	消毒剤	190	
3.5.1	消毒剤の適用対象と適応菌種	190	
3.5.2	消毒剤抵抗性菌	192	
3.5.3	消毒剤の副作用	193	
3.5.4	消毒剤の使用上の注意	193	
4.	滅菌法	195	
4.1	滅菌とは	195	
4.2	滅菌法	195	
4.2.1	湿熱滅菌法（高圧蒸気滅菌法）	195	
4.2.2	乾熱滅菌法	196	
4.2.3	酸化エチレンガス（EOG）滅菌法	196	
4.2.4	放射線法	196	
4.2.5	ろ過法	197	
第6章	微生物検査員教育のポイント	198	
1.	目的	198	
2.	範囲	198	
3.	教育	198	
3.1	目的	198	
3.2	検査員のやる気の向上	198	
3.3	滅菌の重要性と微生物検査の危険性	198	
3.4	科学実験の基礎	199	
3.5	質の良い微生物検査結果	199	
4.	微生物検査室管理者	199	
5.	微生物検査の一般的注意事項	199	
5.1	必要な設備を用意すること	199	
5.2	正しい手技を身に付けること	200	
5.3	検査室の作法を守ること	200	
5.3.1	検査室の作法	200	
5.3.2	検査室内全般	201	
6.	微生物検査室内感染の原因	201	
6.1	不注意と無関心	201	
6.2	不適当な手技	201	

著：小高秀正

6.3 設備の不備	201
7. 微生物検査の各操作の注意事項	201
7.1 白金耳、白金線	201
7.2 ピペット	201
7.3 スライドガラス	202
7.4 その他のガラス器具	202
8. チェックリスト	202

第7章 輸送段階での繁殖事例とその対策 207

著：兼松秀行

1. はじめに	207
2. 輸送時の問題となる感染性物質と微生物	207
3. 医療廃棄物について	210
4. 食品輸送時の問題（特に食中毒に関して）	211
5. 輸送時の問題と対策	214
6. 終わりに	215

第8章 化粧品の微生物試験法 217

第1節 化粧品分野における微生物汚染の実態・管理 217

著：岡崎 渉

1. はじめに	217
2. 微生物汚染の発生	217
2.1 微生物の生育特性	217
2.2 微生物の発生と汚染源	218
2.2.1 原料	218
2.2.2 製品	218
2.2.3 容器	218
2.2.4 製造環境（製造ラインなど）	219
3. 微生物試験	219
4. 製品の物性と微生物安定性	220
5. 製品汚染の分類と汚染源	221
5.1 一次汚染	221
5.2 二次汚染	221
5.3 一次汚染と二次汚染の区別	222
6. 微生物コレクション	222
7. 微生物汚染防管理	222

第2節 市場菌トラブル 224

著：鈴木としひこ

1. 微生物とは 224
2. 微生物学歴史 224
3. 汚染の種類 227
4. 化粧品微生物試験と対象菌説明 228
 - 4.1 細菌（バクテリア：Bacteria） 229
 - 4.2 真菌（ファンガイ：Fungi） 229
 - 4.3 余談 生物とは 230
 - 4.4 分類学 命名と学名 232
5. 日本国内微生物法規制 232
6. 微生物部門の仕事 233
7. 化粧品市場情報 234
8. 化粧品関係市場菌トラブル 238

第3節 日用品関係説明、容器の工夫 243

著：鈴木としひこ

1. 化粧品の種類、効果効能訴求点および用語説明 243
2. 用語説明 247
3. 医薬品とは 249
4. 医薬部外品とは 250
5. 雑貨とは 256
6. 微生物対策容器の工夫 256

第4節 微生物試験法 262

著：鈴木としひこ

1. 環境管理 262
2. 実験機器、器具 263
 - 2.1 クリーンベンチ、生物学用安全キャビネット 263
 - 2.2 恒温器（インキュベーター） 264
 - 2.3 オートクレーブ 264
 - 2.4 精製水装置 264
 - 2.5 電子天秤 265
 - 2.6 顕微鏡 265
 - 2.7 pHメーター 265
 - 2.8 器具 265
3. 微生物限度試験 266

3.1	生菌数試験	266
3.2	特定微生物試験	272
4.	保存効力試験（チャレンジ試験）	277

第5節 計算による防腐効果予測 287

著：鈴木としひこ

1.	化粧品関係の防腐剤	287
2.	防腐剤強さの指標	288
3.	計算による防腐効果の予測	289
4.	防腐剤と刺激	292
5.	有機概念図による防腐成分の予測	292

第6節 化粧品の微生物試験法 299

著：園田拓三

1.	保存効力試験の進め方	299
1.1	化粧品における保存効力試験の必要性	299
1.2	保存効力試験法	299
1.3	保存効力試験法の留意点	301
1.3.1	試験菌株の選択	301
1.3.2	接種菌液の調製	302
1.3.3	接種菌液の接種方法	303
1.3.4	接種した試験菌の生菌数測定	304
1.3.5	判定	304
2.	化粧品製造に関わる各種微生物試験	306
2.1	化粧品に求められる微生物学的品質	306
2.2	各種微生物試験法	306
2.2.1	生菌数試験の種類と特徴	308
2.2.2	生菌数試験に使用する培地／希釈液	308
2.3	試験試料の調製法	311
2.3.1	水溶性製品、水に懸濁可能な製品、液体製品	311
2.3.2	油中水（W/O）型製品、油性液状製品、疎水性固形物製品	311
2.3.3	水に分散する粉体製品、固形粉体製品	311
2.3.4	エアゾール製品	312
2.3.5	貼付剤、シート製品	312
2.4	試験の適合性確認試験	312
2.4.1	生菌数試験の適合性確認試験	312
2.4.2	特定微生物試験の適合性確認試験	314

2.5	生菌数試験法	314
2.5.1	寒天平板混釈法	315
2.5.2	寒天平板塗抹法	315
2.6	特定微生物試験法	315
2.6.1	前培養	315
2.6.2	特定微生物の検出および判定	316
2.7	微生物同定法	317
2.7.1	微生物同定の意義	317
2.7.2	質量分析による同定	318
3.	微生物学的に低リスクの製品	319

第9章 食品における微生物の検査と制御 322

著：朝田 仁

はじめに	322	
1. 食品における微生物の危害	322	
1.1 食品中の腐敗、変敗と微生物の種類	322	
1.2 食品における微生物の危害リスクのランク	323	
1.3 食品の危害リスクと対象微生物	324	
1.4 食品中の微生物の制御法	327	
1.5 食品中の微生物の制御法（ハードル理論）	328	
2. 食品の微生物検査の基本的な事項	330	
2.1 食品の微生物の海外と国内の規格と試験法	330	
2.2 食品の微生物検査の目的と考え方	331	
2.3 食品の微生物検査の検討ポイント	333	
3. 食品における微生物の試験方法（設備と操作）	334	
3.1 一般的な食品の微生物試験法	334	
3.2 微生物試験に必要な設備、器具	334	
3.3 微生物試験の操作（細菌数）	336	
3.4 微生物のコロニー（集落）の算定	339	
3.5 その他の微生物試験の操作	340	
3.6 食品別の微生物の規格基準の実際	341	
4. 食品の製造過程における微生物の検査	343	
4.1 食品の製造過程での微生物の検査の目的	343	
4.2 加工食品の原材料における微生物の試験法（受け入れ検査）	345	
4.3 加工食品の製造環境における微生物の試験法	347	
4.4 空中微生物の試験法（落下菌測定法）	348	
4.5 空中微生物の試験法（空中浮遊菌測定法）	349	

4.6 食品の製造機器、設備における微生物の試験法	351
5. 食品の微生物検査の課題	353
おわりに	354

第10章 環境中の浮遊微生物の測定法 356

著：久米田裕子

1. はじめに	356
2. 空中浮遊微生物の測定法	356
2.1 空中浮遊微生物の捕集原理	356
2.1.1 空気力学的粒子径 (aerodynamic diameter)	356
2.1.2 捕集効率とカットオフ直径	357
2.1.3 空中浮遊微生物の空気力学的粒子径による選別捕集	357
2.2 空中浮遊微生物測定法	358
2.2.1 浮遊菌測定法 (エアロゾルサンプラー捕集法)	358
2.2.2 落下菌測定法	361
2.2.3 表面付着菌測定法	362
3. 空中浮遊微生物の種類別サンプリング法	365
3.1 真菌	365
3.1.1 空気力学的粒子径	365
3.1.2 サンプリング法	365
3.1.3 培養法と非培養法	367
3.1.4 その他	368
3.2 細菌	369
3.2.1 空気力学的粒子径	369
3.2.2 サンプリング法	369
3.2.3 培養法と非培養法	370
3.2.4 その他	371
3.3 ウイルス	371
3.3.1 空気力学的粒子径	371
3.3.2 サンプリング法	371
3.3.3 培養法と非培養法	372
3.3.4 その他	372
4. おわりに	372
著者紹介	378

複製・再配布などの二次利用はご遠慮ください

微生物の取り扱いと微生物管理に関わる試験法

SAMPLE

SAMPLE

第1章 微生物の基礎と取り扱い

株式会社テクノスルガ・ラボ
喜友名朝彦、立里 臨

1. 微生物とは

1.1 微生物とは何か

「微生物 (microbe、microorganism)」とは、微小で、肉眼では観察できないような（顕微鏡による観察が必要となる）生物に対する“便宜的”な総称であり、全ての原核生物（細菌、藍色細菌、古細菌）と真核生物の一部（菌類、微細藻類、原生生物）が含まれ、ウイルスも微生物として扱われることがある¹⁾。現在、藍色細菌はシアノバクテリア、古細菌はアーキアと称される。

微生物は肉眼で見ることができないような非常に小さい生き物であるが、その形態的特徴は多種多様である（図1）。

ウイルスを除く微生物の仲間は、細胞から構成されており、エネルギーを利用し、DNAを持ち、自己増殖能力を持つなど、「生物」の特徴を有する。一方、ウイルスは非細胞性で自己増殖能力を欠き、他の生物の細胞内に自分自身の核酸を侵入させて、その生物の細胞内で増殖する点で、「生物」と異なり、「非生物」として取り扱われることが多いが、実験法上の共通性から便宜的に微生物に含める場合もあり、「広義」の微生物として扱われている²⁾。

微生物は地球上のあらゆる環境（土壌、海洋・河川、深海、植物、空気中、火山や氷河などの極限環境）に生息するとともに、ヒトの体内（口腔や消化管など）や皮膚にも多く生息している^{3,4)}。また、医学的、農学的に人間生活と深い関わりを持つものが多く知られており、食品、調味料・色素、医薬品・農薬、洗剤、排水処理や浄水槽、バイオ燃料ガス、生分解性プラスチックなどの材料などさまざまな面で利用されている。また、成長が速い、代謝活性が高い、定量的な操作がしやすいなどの点で、実験材料としても広く利用される。

例えば、菌類（カビ、酵母、きのこ）の仲間は、人間生活において深い関わりを持っている⁵⁾。菌類の産生する酵素の利用、菌体そのものの食料などへの利用、ペニシリンなどの抗生物質、酵母の発酵能、線虫捕捉菌や昆虫病原菌の生物防除への応用利用、森林環境における菌根形成などの有益な面（友好関係）が多く知られている（図2）。一方で、ヒトや動物への真菌症の原因、農作物などの植物の病原菌、カビが産生する毒素（カビ毒）による害、アレルギー、食品腐敗、製品や文化財などの生物劣化などを引き起こすなどの有害な面（敵対関係）も多く知られている（図2）。

第1章 微生物の基礎と取り扱い

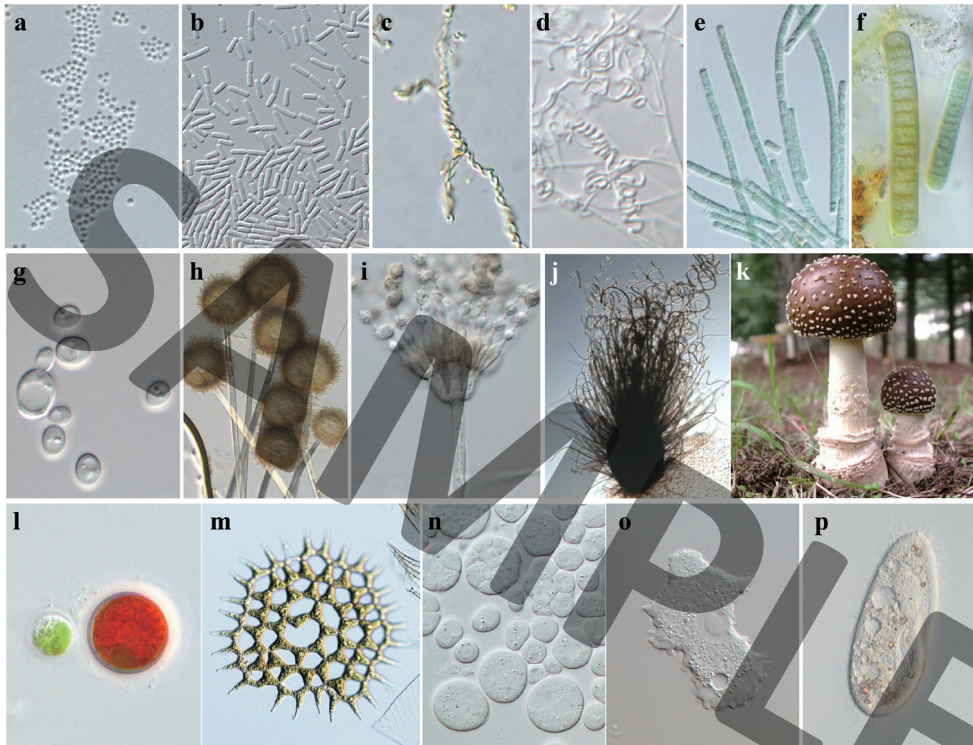
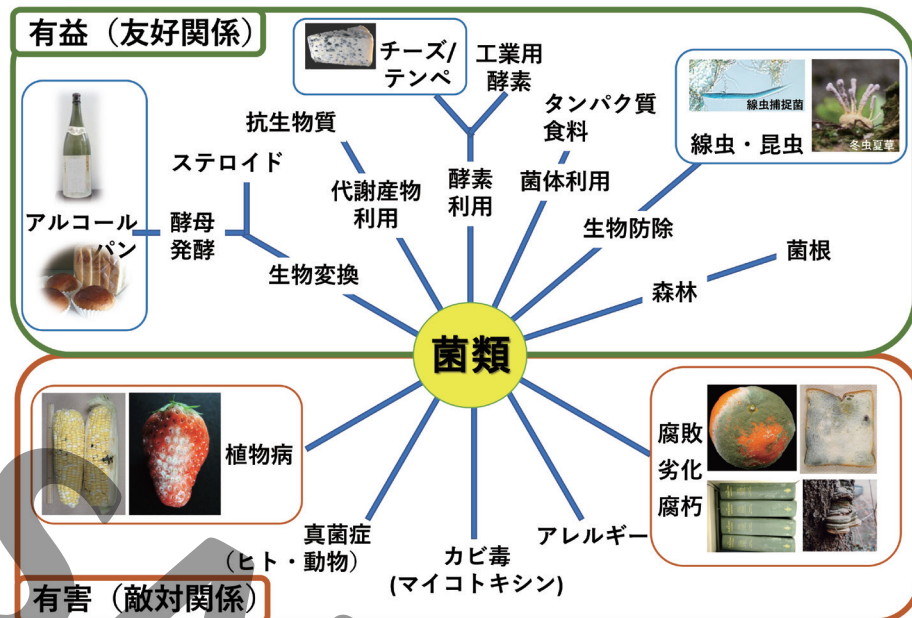


図1 微生物の多様性 (a-f. 原核生物、g-p. 真核生物：a-b. 細菌、c. 鉄細菌、d. 放線菌、e-f. シアノバクテリア、g-k. 菌類<g. 酵母、h-j. カビ、k. きのこ>、l-m. 微細藻類、n. ラビリンチュラ類、o. アメーバ類、p. ゾウリムシ類)：a. *Staphylococcus aureus*、b. *Bacillus subtilis*、c. *Gallionella ferruginea*、d. *Streptomyces* sp.、e-f. *Oscillatoria* spp.、g. *Saccharomyces cerevisiae*、h. *Aspergillus niger*、i. *Penicillium* sp.、j. *Chaetomium* sp.、k. *Amanita* sp.、l. *Haematococcus* sp.、m. *Pediastrum* sp.、n. *Aurantiochytrium* sp.、o. *Acanthamoeba*-like sp.、p. *Paramecium* sp.



Alexopoulos et al.⁹⁾加工、作図

図2 菌類と人間生活との関係

1.2 微生物の大きさ

微生物は単細胞または多細胞生物で、目に見えない大きさの生き物である。細菌は通常、単細胞で、直径 $0.1\ \mu\text{m}$ の球形のものから、長さ $10\ \mu\text{m}$ 、幅 $2\ \mu\text{m}$ の棒状のものまでさまざまである。菌類の仲間である酵母も、細菌同様に単細胞性であるが、直径 $5\ \mu\text{m}\sim 10\ \mu\text{m}$ の大きさになる。カビは菌糸と呼ばれる糸状の細胞から構成されており、菌糸細胞の長さは不定であるが、その幅は比較的一定で、約 $2\ \mu\text{m}\sim 30\ \mu\text{m}$ の大きさである。きのこは肉眼で見える大きさの子実体を形成するが、その本体はカビと同じく菌糸体から構成されている。また、微細藻類は $1\ \mu\text{m}\sim$ 数十 μm 、原生動物は $2\ \mu\text{m}\sim 1,000\ \mu\text{m}$ である。ウイルスは一般的に細菌の10分の1ほどの大きさで、普通 $0.01\ \mu\text{m}\sim 0.25\ \mu\text{m}$ ($10\ \text{nm}\sim 250\ \text{nm}$)の大きさで光学顕微鏡では観察できず、その観察には電子顕微鏡が必要になる(図3)。

しかし、近年、光学顕微鏡で観察できる大きさの巨大ウイルスの存在が明らかになってきている。1992年、イギリスのブラッドフォードで流行した肺炎の原因菌として発見され、光学顕微鏡で見える大きさ(直径 $0.45\ \mu\text{m}\sim 0.50\ \mu\text{m}$)であったことから細菌として保存されていたアカントアメーバ寄生性の「ブラッドフォード細菌」が、その後、顕微鏡観察で正20面体の粒子が観察できたことから、ウイルスであることが判明し、2003年にミミウイルスとして、初めて巨大ウイルスの仲間が報告されている⁶⁾。その後、

第1章 微生物の基礎と取り扱い

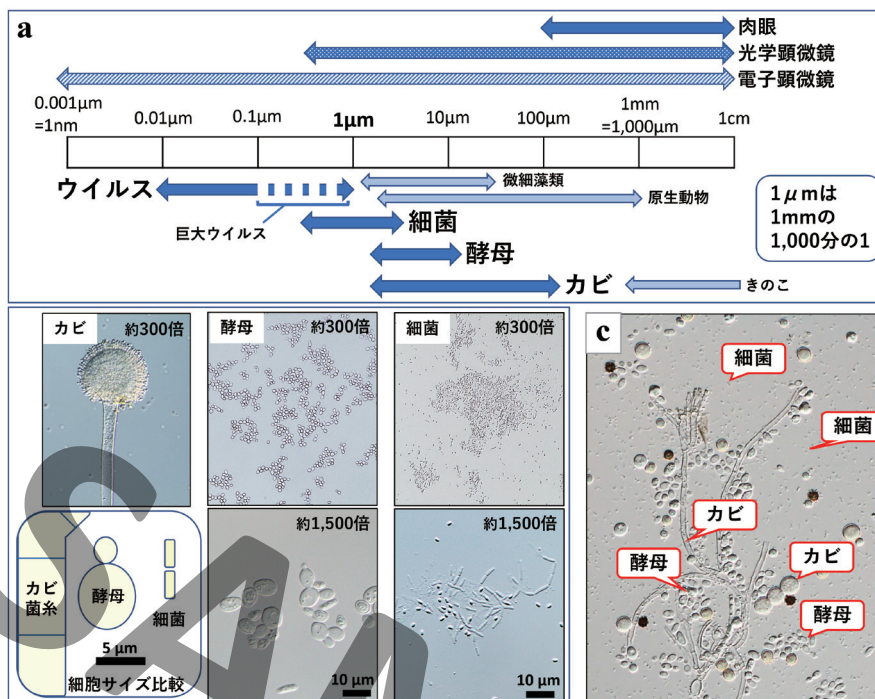


図3 微生物の大きさ比較：a. 顕微鏡の解像力と微生物の大きさ、b. カビ・酵母・細菌の細胞サイズの比較、c. 複数の微生物が混在している顕微鏡観察像

2013年にオーストラリアとチリでパンドラウイルス（直径約 $1\ \mu\text{m}$ ）、2014年に3万年前のシベリア永久凍土からピソウイルス（直径約 $1.5\ \mu\text{m}$ ）が発見されるなど、これまでのウイルスの常識を覆すような巨大ウイルスの存在が相次いで報告され、生物進化を考えるうえで新たな議論が展開されている^{7,8)}。

細菌や酵母のひとつひとつの細胞を見るためには、顕微鏡（1,000倍程度の倍率が必要）が必要であるが、寒天培地で培養すると数mmの大きさのコロニー（colony、集落）となり、肉眼で見ることができる。一方、カビやきのこは菌糸が集合したものであれば肉眼で見ることができるが、ひとつひとつの菌糸や胞子を見るためには顕微鏡が必要である。

コロニーとは、「集落」「細胞集落」ともいい、個々のコロニーは、1つの細胞が分裂を繰り返し、目に見える大きさまで増殖したものである。コロニー内の細胞はクローンである。個々のコロニーは独立した集団と見なせる（図4）。

1.3 生物の分類と微生物

生物の世界は昔から動物界と植物界に分ける二界説が使われてきたが、19世紀の終

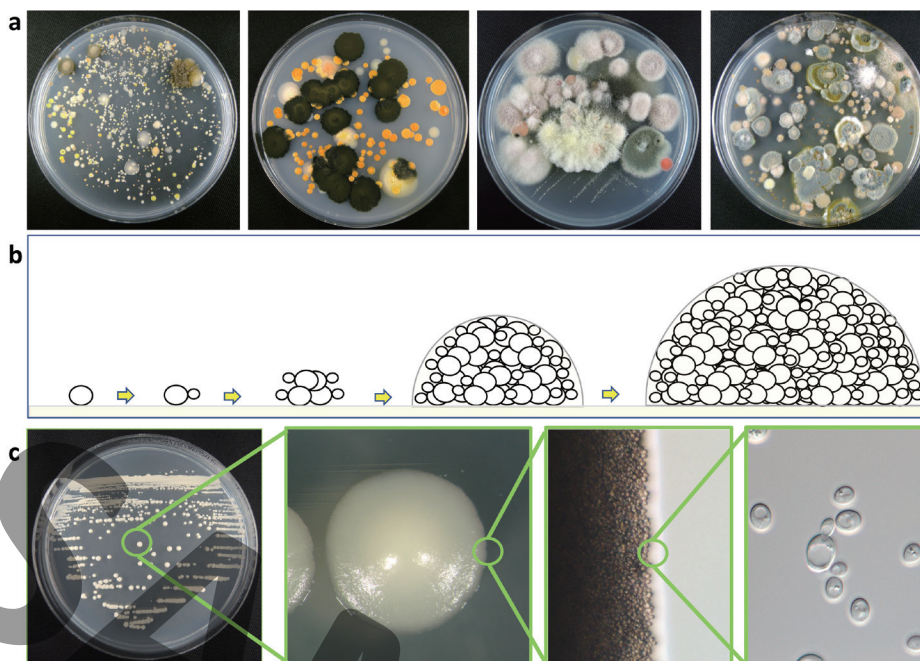


図4 微生物のコロニー：a. 寒天培地上に形成された多種多様な微生物コロニー、b. 酵母コロニーの寒天培地表面の発達段階模式図（側面図）、c. 酵母の寒天培地上のコロニーおよび部分拡大像、顕微鏡観察像

わりから20世紀の中頃にかけて、動物と植物に加えてプロティスタ界（原生生物。今でいう微生物全体を指す）を認めるErnst Haeckelによる三界説が提唱された。その後、1969年にRobert Harding Whittakerによる五界説が提唱された⁹⁾（図5）。五界説では、生物をモネラ界、原生生物界（プロティスタ界）、菌類界、動物界、植物界の5つの界に大別している。しかし、Whittakerの五界説では、特に原生生物界の分類に問題があった。その後、分子系統解析手法の発達に伴って、新たに判明した系統関係を反映するために、Lynn Margulisら¹⁰⁻¹²⁾は植物界を陸上植物に限定し、藻類を原生生物に含める、修正版五界説を提唱し、現在、広く受け入れられている。

五界説では、まず細胞構造を基準として、生物を原核生物と真核生物に分けている。細胞内に明瞭な核を持たないためDNAが細胞質に浮遊している原核生物はモネラ界（原核生物界）を構成している。一方で、細胞内に核、ミトコンドリアなどの細胞内小器官を有する真核生物は4つの界、原生生物界（プロティスタ界）、動物界、植物界、菌類界で構成されている。このモネラ界、菌類界、原生生物界に含まれる生物が「微生物」に相当する。

例外はあるが、原生生物界は主に単細胞生物からなる生物群で、真核生物の他の3界は主に多細胞生物からなる生物群である。多細胞生物の3界（動物界、植物界、菌類界）