生物学実験レポート

科目名：一歩進んだ生物学実験

実施日：2019年10月26日(土)

第1時限～第４時限

2019年10月27日(日)

第1時限～第4時限

実施場所：埼玉学習センター

学籍番号：1910097261

氏名：中川将幸(Ｂ-４)

共同研究者：井川陽次郎

内容

1. 作成済み標本の観察
2. 植物組織と動物細胞標本の作製と観察
3. クラミドモナスの光応答実験
4. クラミドモナスの遊泳実験
5. ニジマス精子の運動活性化実験
6. 作成済み標本の観察

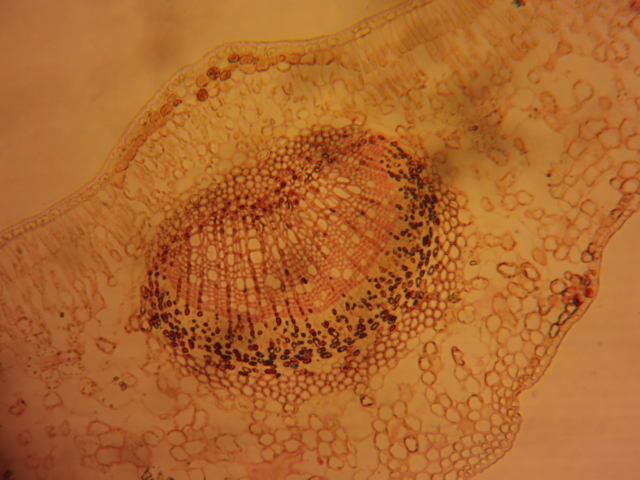
実験の目的

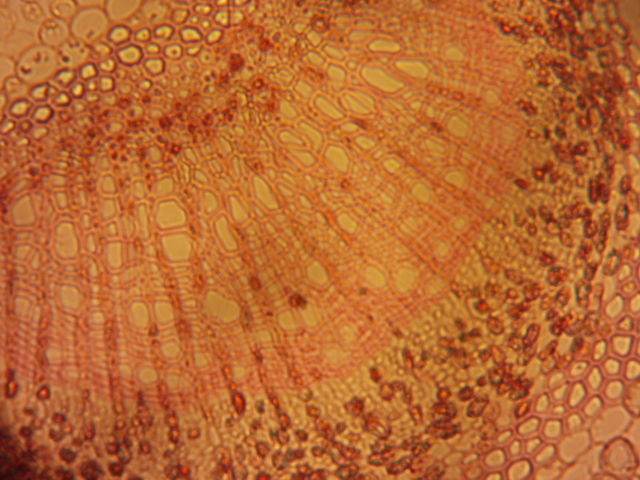
光学顕微鏡の取扱いおよび顕微鏡を通しての撮影・記録技術の習得

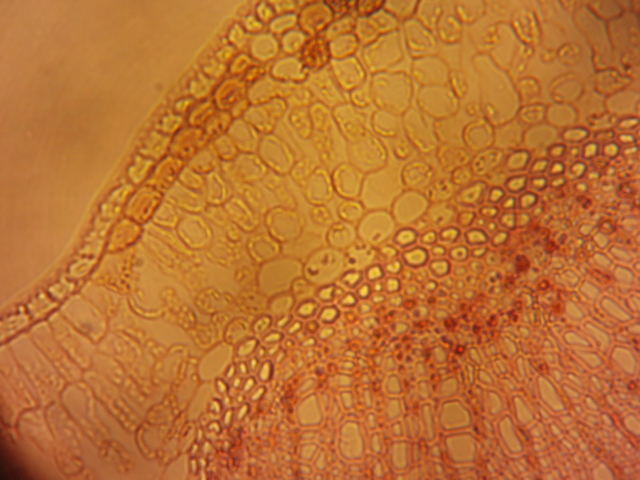
実験の方法

作成済みのツバキ(Camellia japonica)葉のプレパラートを標本とし、光学顕微鏡を通しデジタルカメラで4倍、10倍、20倍、40倍の像を撮影した。

実験の結果







考察

柵状組織と海綿状組織が容易に観察できた。柵状組織との境界面付近の海綿状組織に斑点様の濃い染色が見られる。

1. 植物組織と動物細胞標本の作製と観察

実験の目的

特徴の違う数種類の観察用標本を作製する技術の習得

実験の方法

植物組織

ツバキ(Camellia japonica)、ヤツデ(Fatsia japonica)を用いた。

それぞれ実体顕微鏡下で安全カミソリの歯を用い、下面の表皮を薄く剥ぎ取った。また、ツバキは葉を2枚のスライドガラスで挟みガラスに沿って切った後、ごくわずかにずらし再度同様に切断した横断切片も作製した。数回試行した中で一番薄いものを標本とし、光学顕微鏡で観察・記録した。

動物細胞

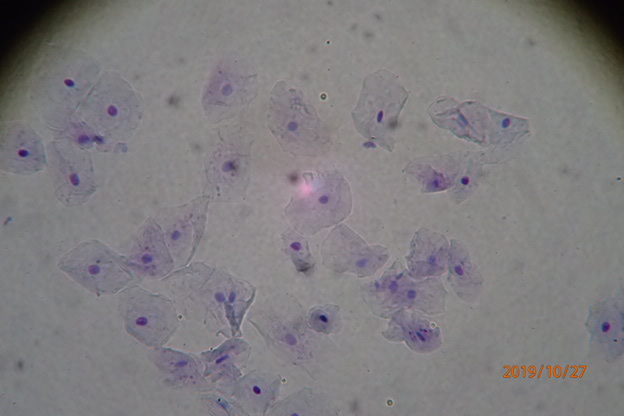
口腔粘膜上皮細胞を用いた。

綿棒で口腔粘膜を軽く擦りそれをスライドガラスに塗布した後、ギムザ液で着色、光学顕微鏡で観察・記録した。

実験の結果

植物細胞

動物細胞



考察

　細胞壁をもたない動物細胞のため植物細胞に比べ細胞内外の境界が曖昧に見える

1. クラミドモナスの光応答実験

実験の目的

モデル生物であるクラミドモナス(Chlamydomonas reinhardtii)の性質を知る。

実験方法

1. クラミドモナスを試験管からシャーレに移した。
2. 緑色の濃度(＝クラミドモナスの分布)が一様になるようにした。
3. 4辺のうち1辺の一部だけに窓のある暗箱でシャーレを囲い、その窓からLEDライトを照射した。(本実験では左側から照射)
4. 5分ほどそのままにし、暗箱を開けて中を確認した。
5. 暗箱を開けたままにし、分布がどのように変わるかを観察した。

実験結果

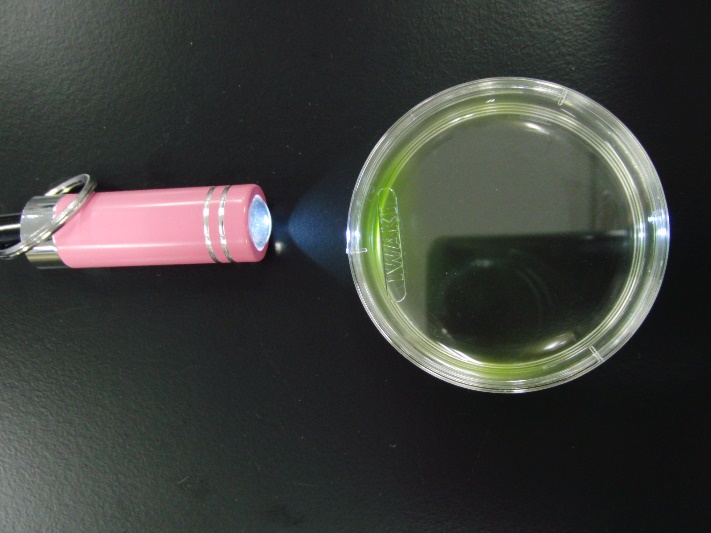


Fig3-1 実験手順Ⅳ

考察

クラミドモナスには強い正の光応答があることがわかった。

LEDを９時の方向と定義したとき、シャーレの１２時と６時の方向にも一部のクラミドモナスが集積している。シャーレの反射の影響の可能性がある故反射を抑え再度実験したい。

1. クラミドモナスの遊泳実験

実験の目的

暗視野照明を得るための簡易的な装置の作製方法および暗視野照明下での観察技術の習得

実験の方法

セロハンテープ等を用いて簡易暗視照明用コンデンサーを作製した。

スライドガラスの上下端にビニールテープで数ミリの高さを出し、先の実験で使用したクラミドモナスをその間に滴下、カバーガラスで蓋をした(ビニールテープ分の高さがあるため密着はしない)。先に標準的な明視野照明下で観察した後、暗視野照明用コンデンサーを顕微鏡にセットし、暗視野照明下でも観察した。

暗視野照明下でも鞭毛の動きが観測できない場合は遊泳状態ではなく、カバーガラスを密着させ過剰な水分を除去した後、再度暗視野照明下で観察した。

実験の結果

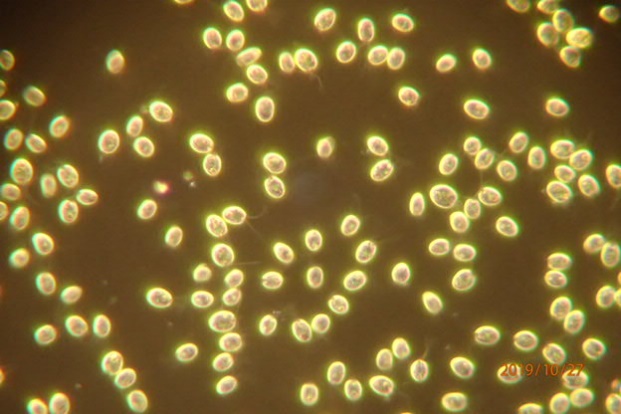
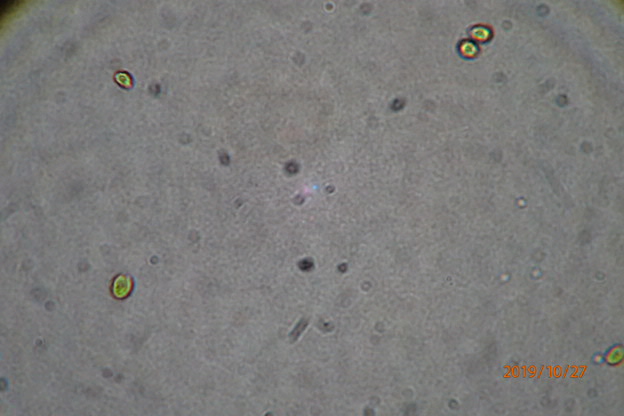


Fig4-1 明視野照明下でのクラミドモナス　 Fig4-2 暗視野照明下でのクラミドモナス

1. ニジマス精子の運動活性化実験

実験の目的

ニジマス(Oncorhynchus mykiss) 精子の運動を調節している環境因子の特定および、運動活性化した精子の遊泳運動の観察

実験の方法

1. 数種類の浸透圧及びK⁺濃度の溶液を準備した(下表)。浸透圧の調整にはNaClを、カリウムイオン濃度の調整にはKClを用いた。
2. ニジマスの総排出腔にスポイトを挿入し採精した。
3. スライドガラスに各浸透圧(濃度)の溶液を滴下し、そこに少量のニジマス精子を移した後、動きを観察、記録した。↓

動きのないものは－、動きの確認のできたものは＋

観察結果

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| KCl(mOsm) | 0 | 4 | 6 |
| 遊泳運動 | + | + | - |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Nacl(mOsm) | 0 | 100 | 200 | 250 |
| 遊泳運動 | + | + |  | - |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| マニトール | 0 | 200 | 400 | 600 |
| 遊泳運動 | + | + | + | - |

考察

Kイオンに対してはごく小濃度のみ遊泳運動が観察された。産卵場所の環境は静止した水よりも拡散が起こりやすい場所と考えられる。

マニトールにおいては比較的高濃度でも遊泳運動が確認されたことから浸透圧が遊泳運動に寄与するものはイオン濃度に比べ少ないことが推測される。