放送大学面接授業H３１年度第２学期

一歩進んだ生物学実験

実験場所：　東京文京学習センター

実験日：２０１９年１０月２６日（土）

グループA－３　　　小野　教幸

共同実験者　　　大久保　恭子

1．固定標本の観察と撮影

1-1　目的

植物の固定標本を使用して、顕微鏡を使用した観察手法と写真撮影の手法を習得する。

1-2　実験方法

1-2-1　スケールの取得

最小目盛0.01ｍｍの対物マイクロメータを顕微鏡のステージに置き、搭載されている4倍、10倍、20倍、40倍の各対物レンズで焦点が合った状態を写真撮影する。

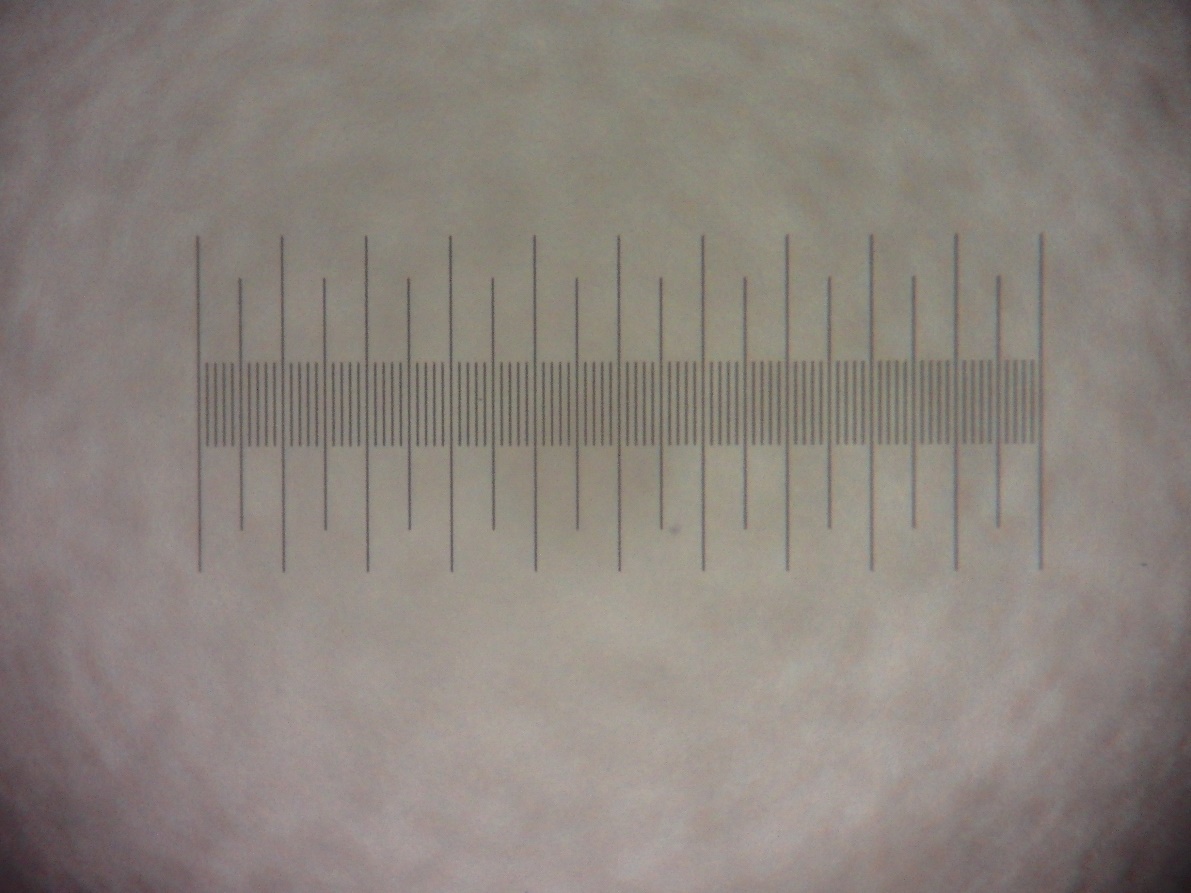
1-2-2　植物標本の撮影

ツバキ（Camellia japonica）の葉の横断面切片中にある特徴的な部位を、4倍、10倍、20倍、40倍の各対物レンズで観察し、写真撮影する。

1-3　実験結果

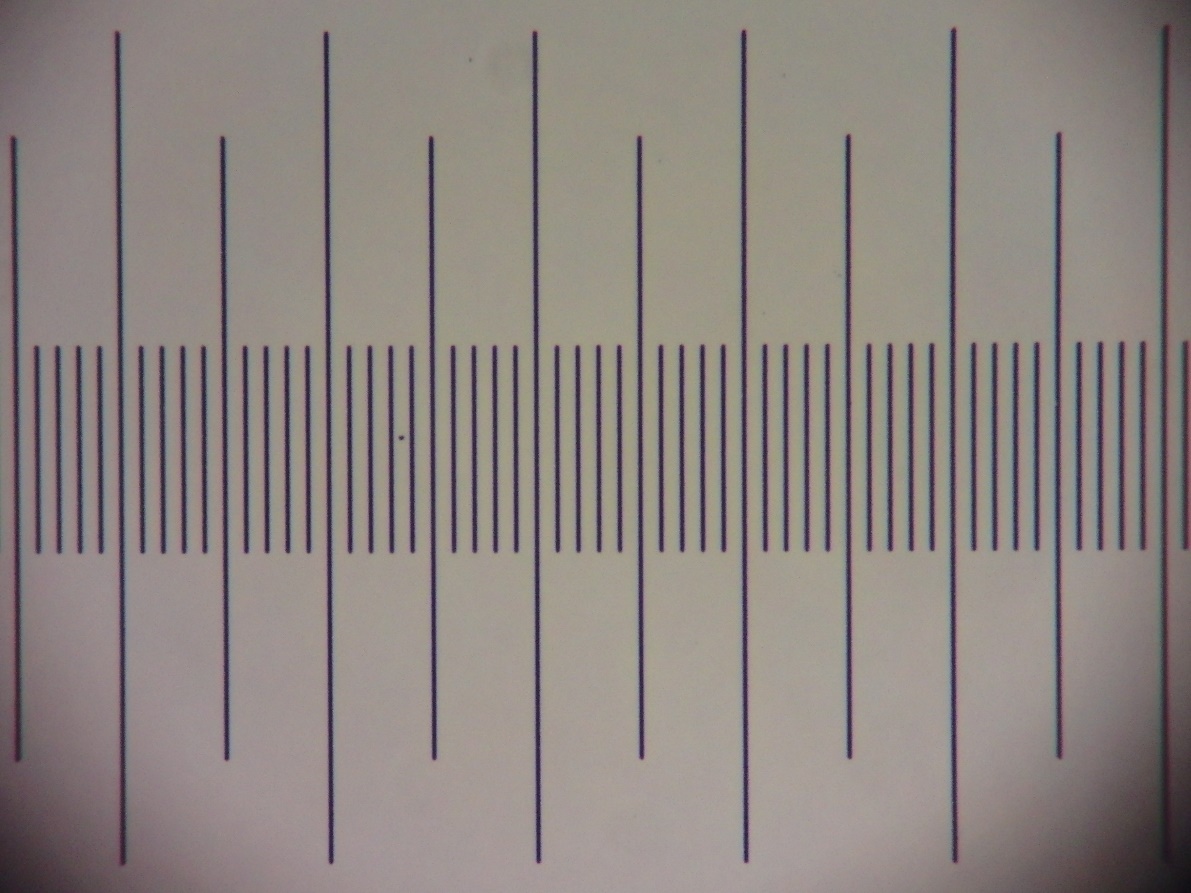
1-3-1　スケールの取得結果

各対物レンズで、次のようにスケールを取得できた（写真1,2,3,4）。



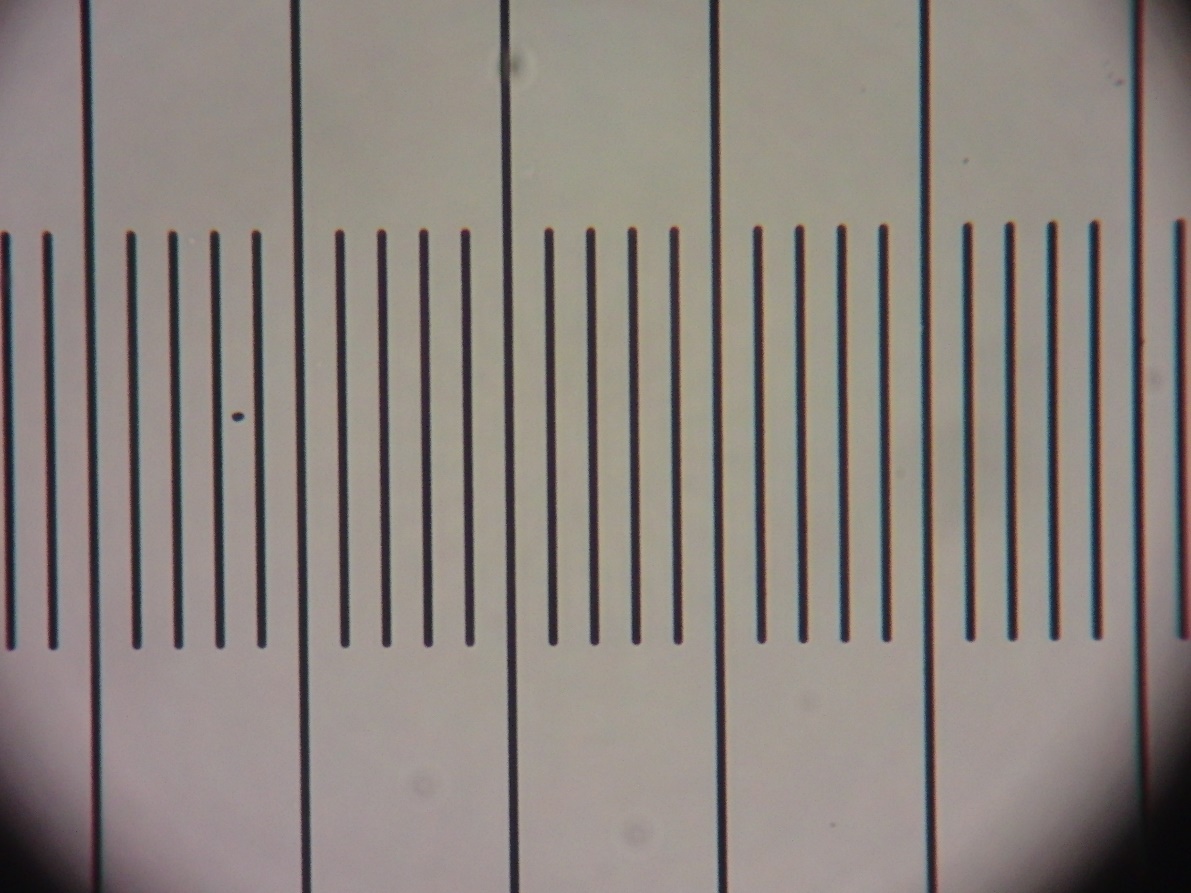
0.05ｍｍ

写真1　4倍の対物レンズにおけるスケール



0.05ｍｍ

写真2　10倍の対物レンズにおけるスケール



0.05ｍｍ

写真3　20倍の対物レンズにおけるスケール



0.05ｍｍ

写真4　40倍の対物レンズにおけるスケール

1-3-2　植物標本の撮影結果

標本の横断面切片中にある特徴的な部位として、図1に示す箇所を観察し、写真撮影した。

なお、写真中にあるスケールは1-3-1で得られたものである。

写真5

写真6

写真7

図1　観察した標本の模式図



4倍

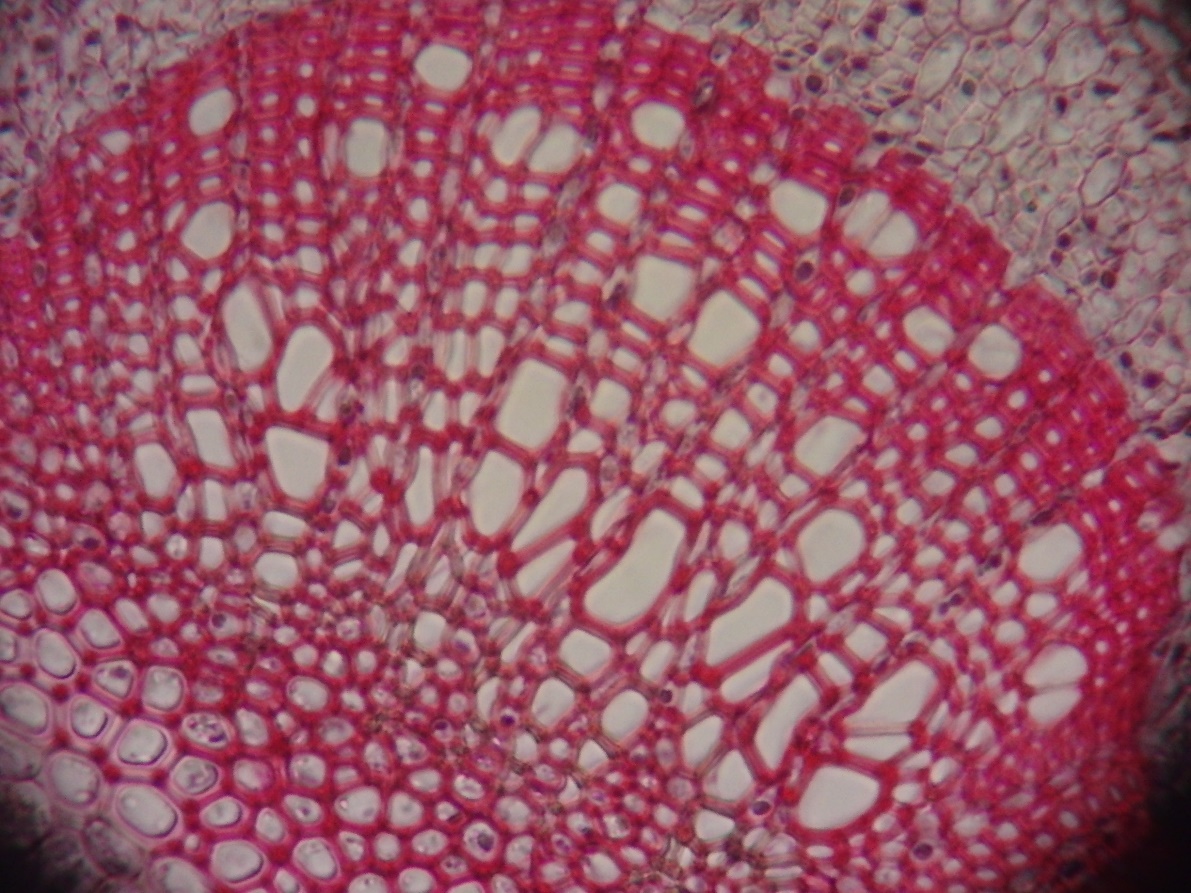
下面

A

維管束横断面

上面

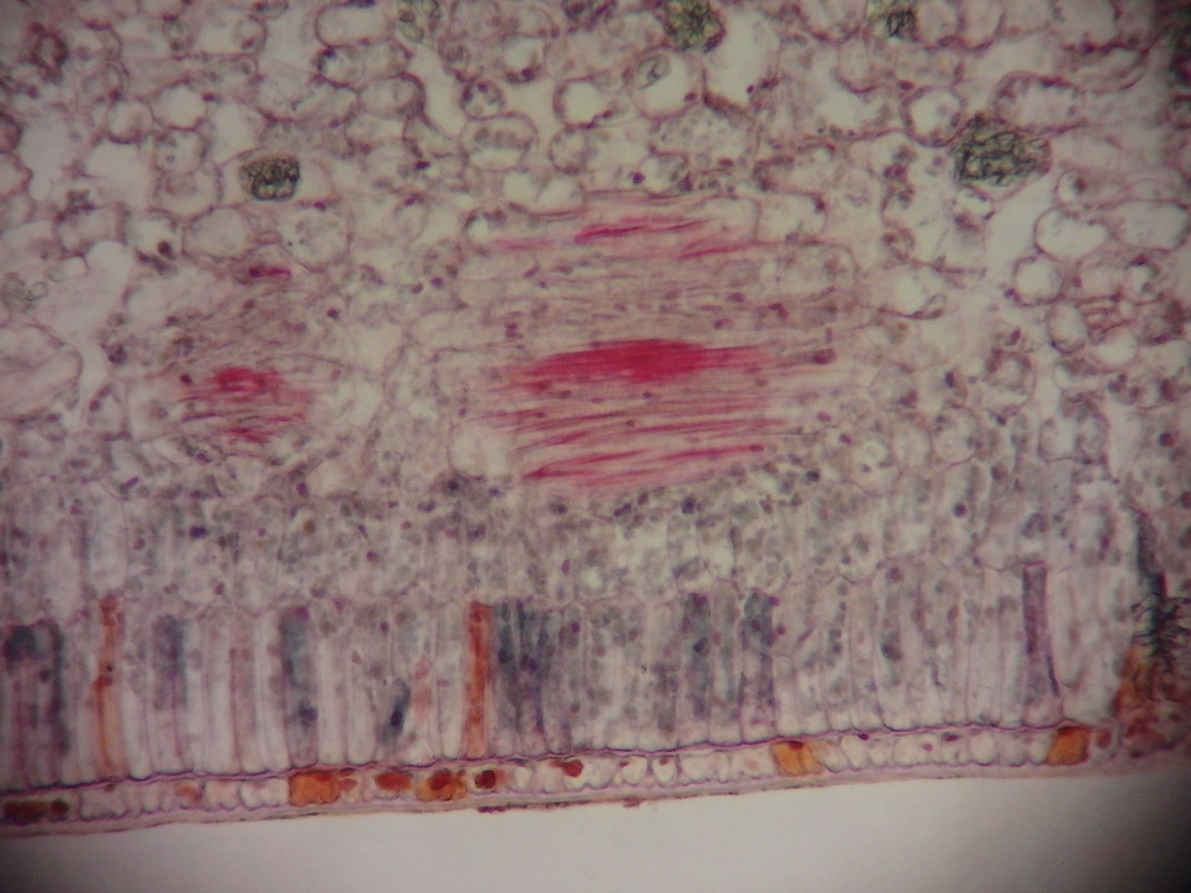
0.05ｍｍ



0.05ｍｍ

A部　20倍

写真5　葉脈の維管束横断面

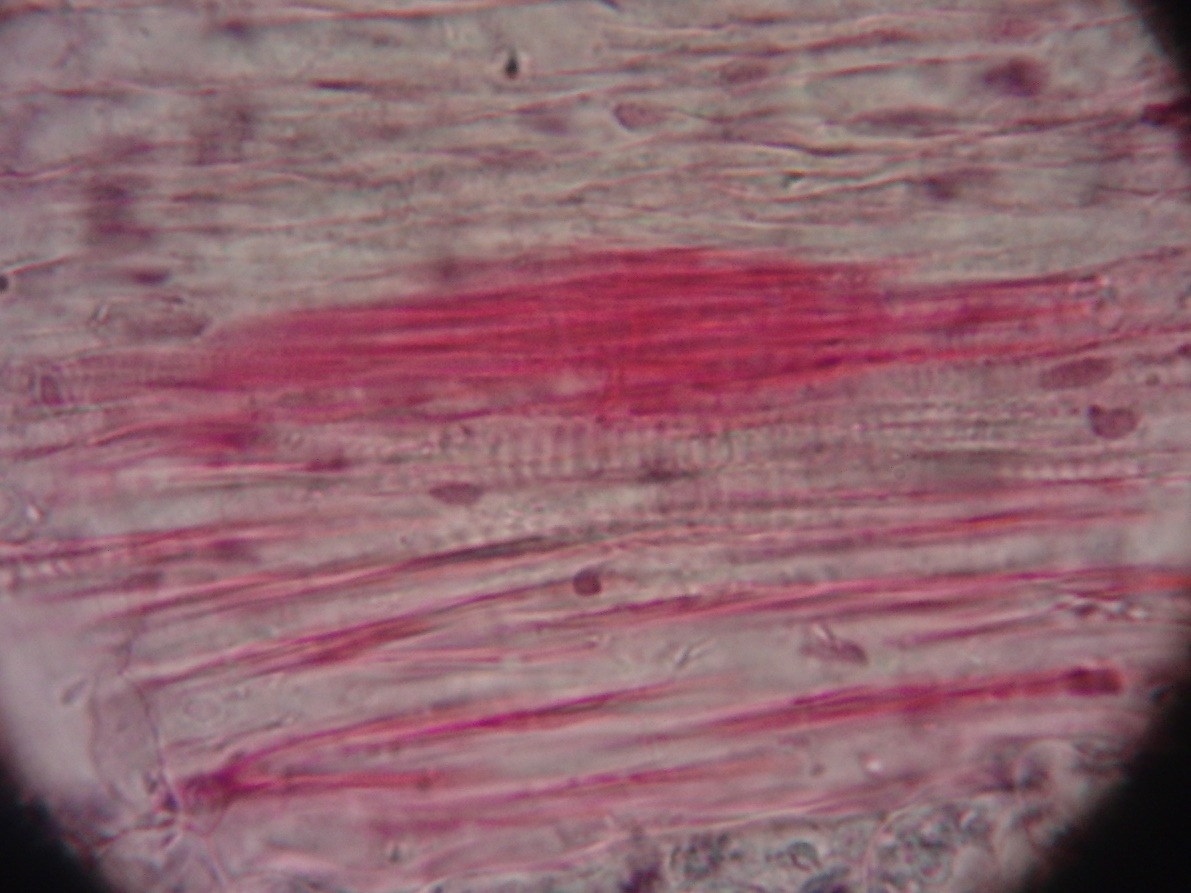


10倍

B

維管束分枝縦断面

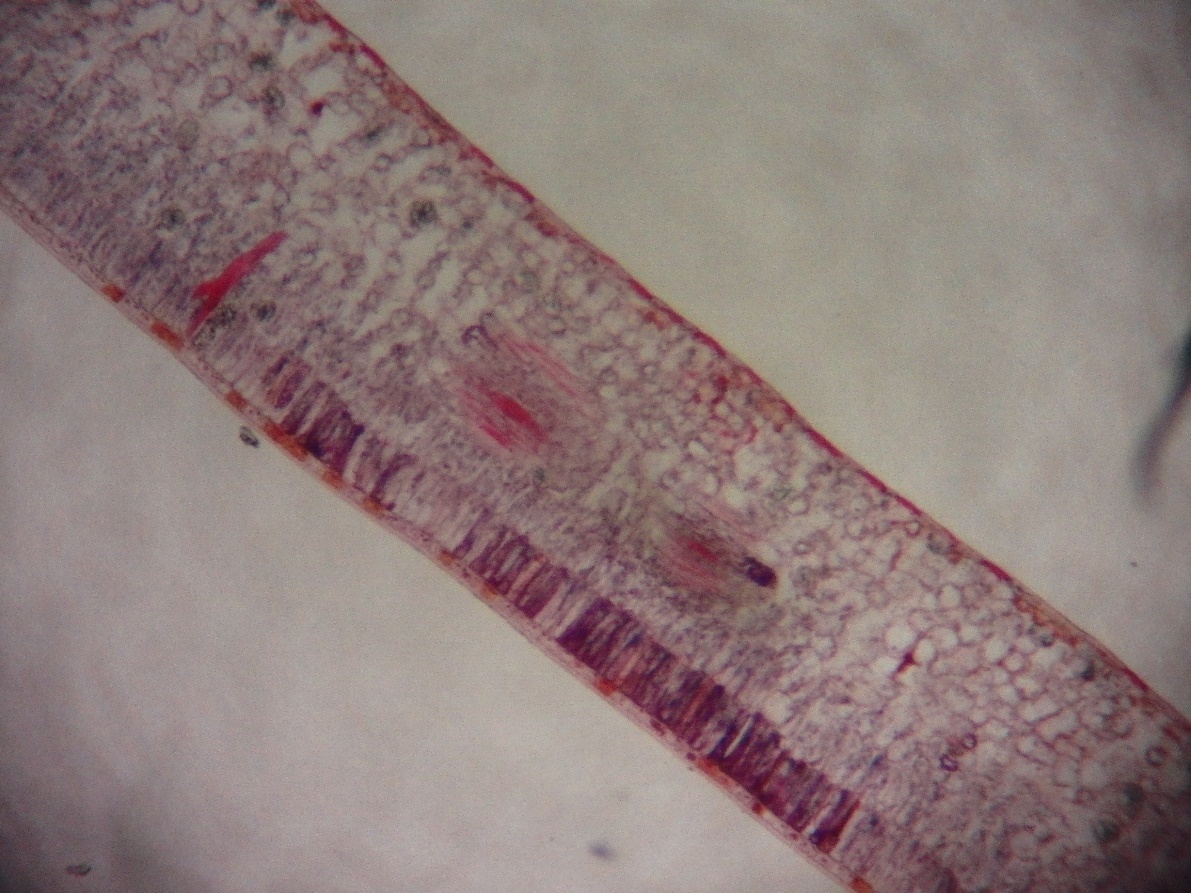
0.05ｍｍ



0.05ｍｍ

B部　40倍

写真6　維管束分枝縦断面



4倍

下面の表皮

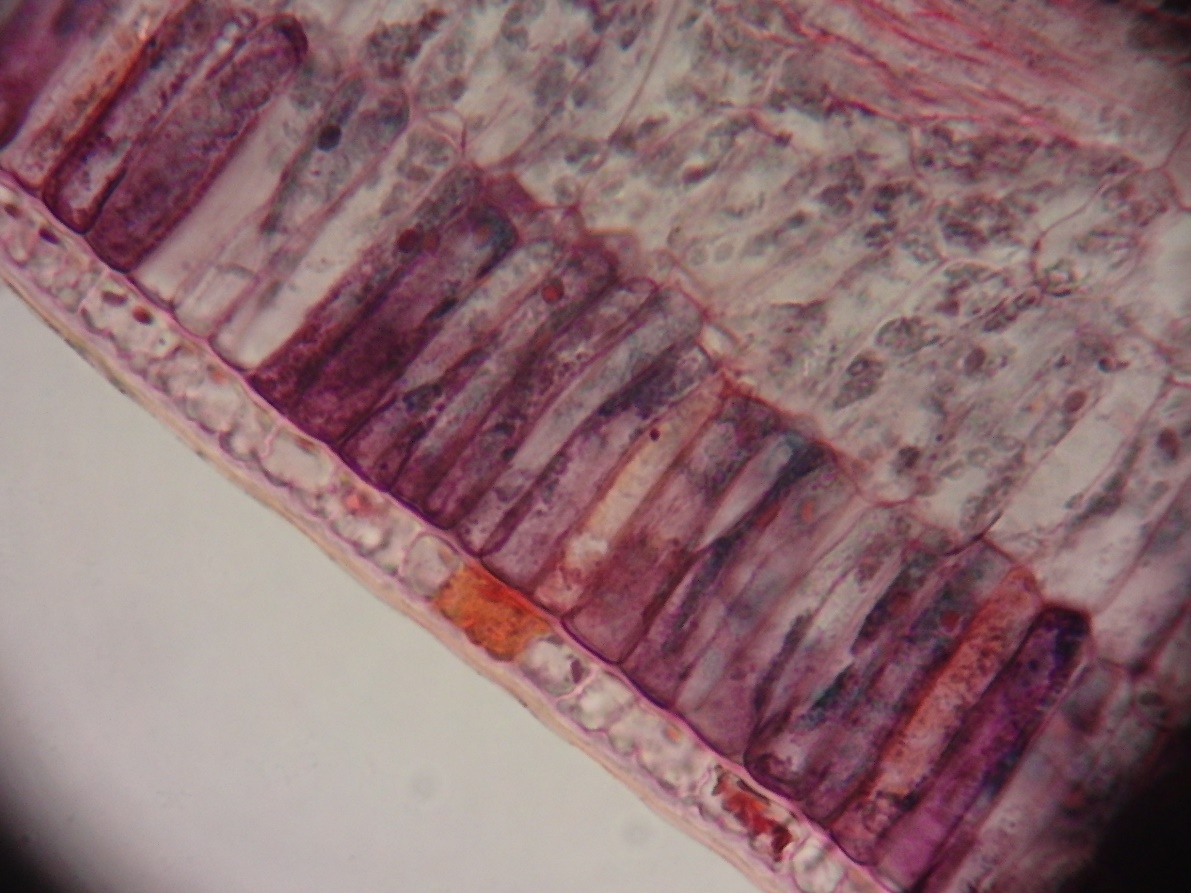
表皮柵状組織

海綿状組織

上面の表皮

C

0.05ｍｍ



C部　20倍

0.05ｍｍ

写真7　表皮の柵状組織及び内部の海綿状組織

1-4　標本観察結果の考察

本標本は赤色の染色がなされていたが、維管束など色が鮮明である部分と、海綿状組織など色が鮮明でない部分とが見られた。

これは、植物細胞の特徴である細胞壁の厚さや密度によるものと推定される。

その理由は、生葉の葉脈や表皮といった徒手で折り曲げを行うなどすると抵抗を感じる固い部分が、染色の色が鮮やかになっていたためである。

2.　薄切標本の作製と観察、撮影

2-1　目的

生葉の徒手切片を作成し、１.で使用した固定標本との違いを観察し撮影する。

　なお、生葉はヤツデ（Fatsia japonica）を使用している。

2-2　実験方法

2-2-1　断面の徒手切片撮影

ヤツデの葉を、カバーガラスの幅よりも小さい大きさで切断し、剃刀の刃を用いて薄い切片にして、顕微鏡で観察、写真撮影する。

　　薄い切片を作成する際は、2枚のスライドグラスを短辺の片端でメンディングテープを使ってつなぎ合わせて蝶番状にし、その間に切り出した葉を、2枚のガラスの長辺からわずかにはみ出すように挟み込んで指で固定し、はみ出た部分を剃刀の刃で削り取る方法を用いている。

2-2-2　裏面表皮の徒手切片撮影

ヤツデの葉の裏面を、実態顕微鏡を用いながら剃刀の刃で薄くそぎ落とし、顕微鏡で観察、写真撮影する。

2-2-1で切り出しを行ったためにできている切断面を利用して、海綿状組織と下面の表皮との間を剃刀の刃でそいでいく手法を用いている。

2-3　実験結果

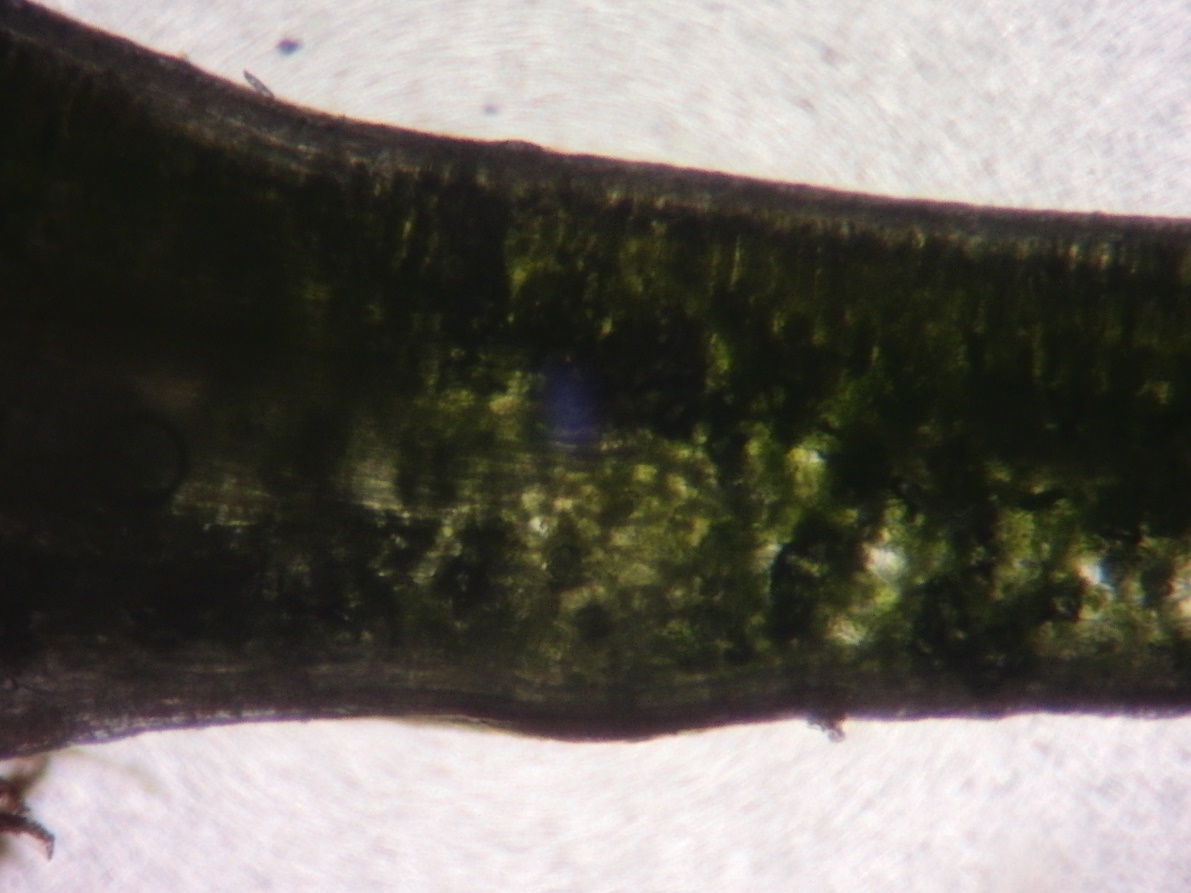
2-3-1　断面の徒手切片撮影結果

作成した切片は光の透過が悪く、1-3-2で観察した標本のように細胞が作る微細な構造を確認することは困難であった。

しかしながら、切片中でも光の透過が良い場所を拡大してみると、葉の中にある微細構造を確認することができた。

1-3-2で観察結果と照らし合わせて、維管束分枝の縦断面と判断した（写真8）。

　　なお、写真中にあるスケールは1-3-1で得られたものである。



4倍

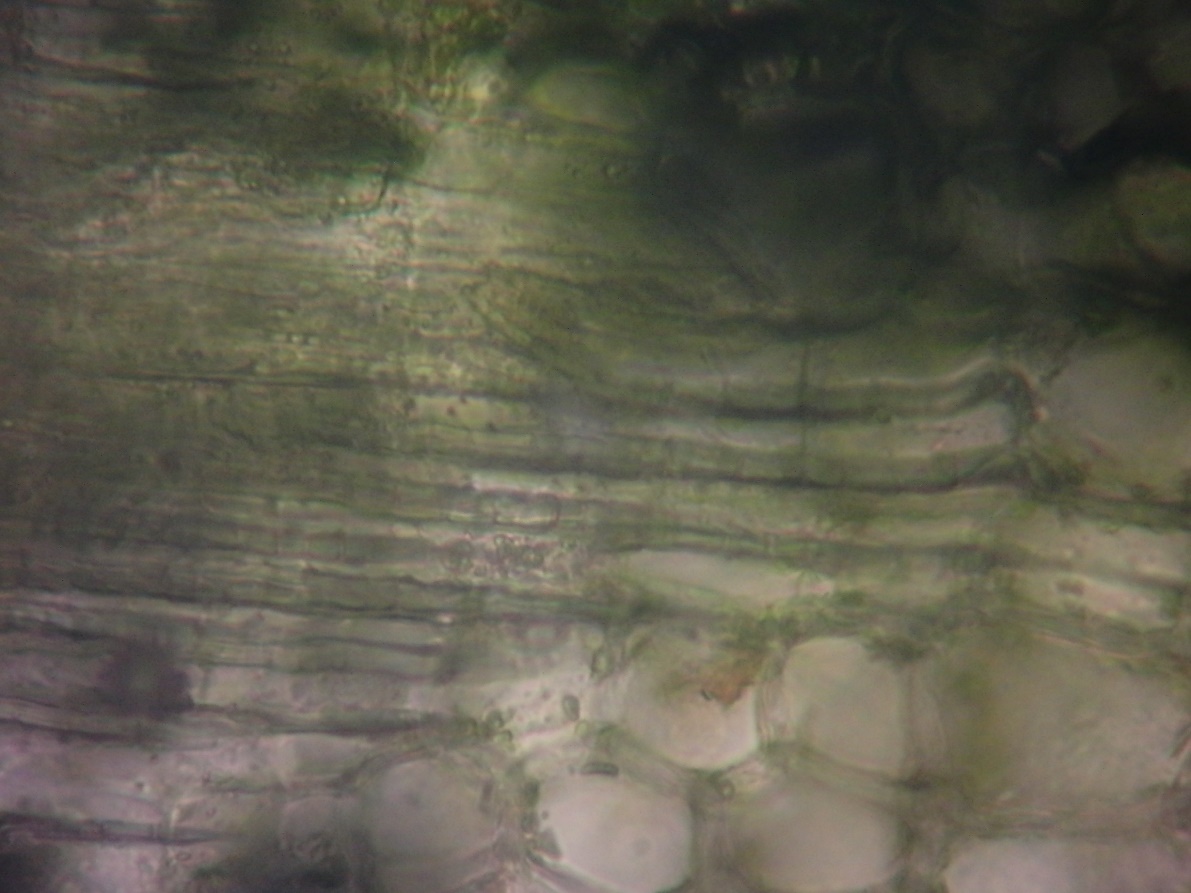
上面

D

下面

0.05ｍｍ

葉の中央方向



0.05ｍｍ

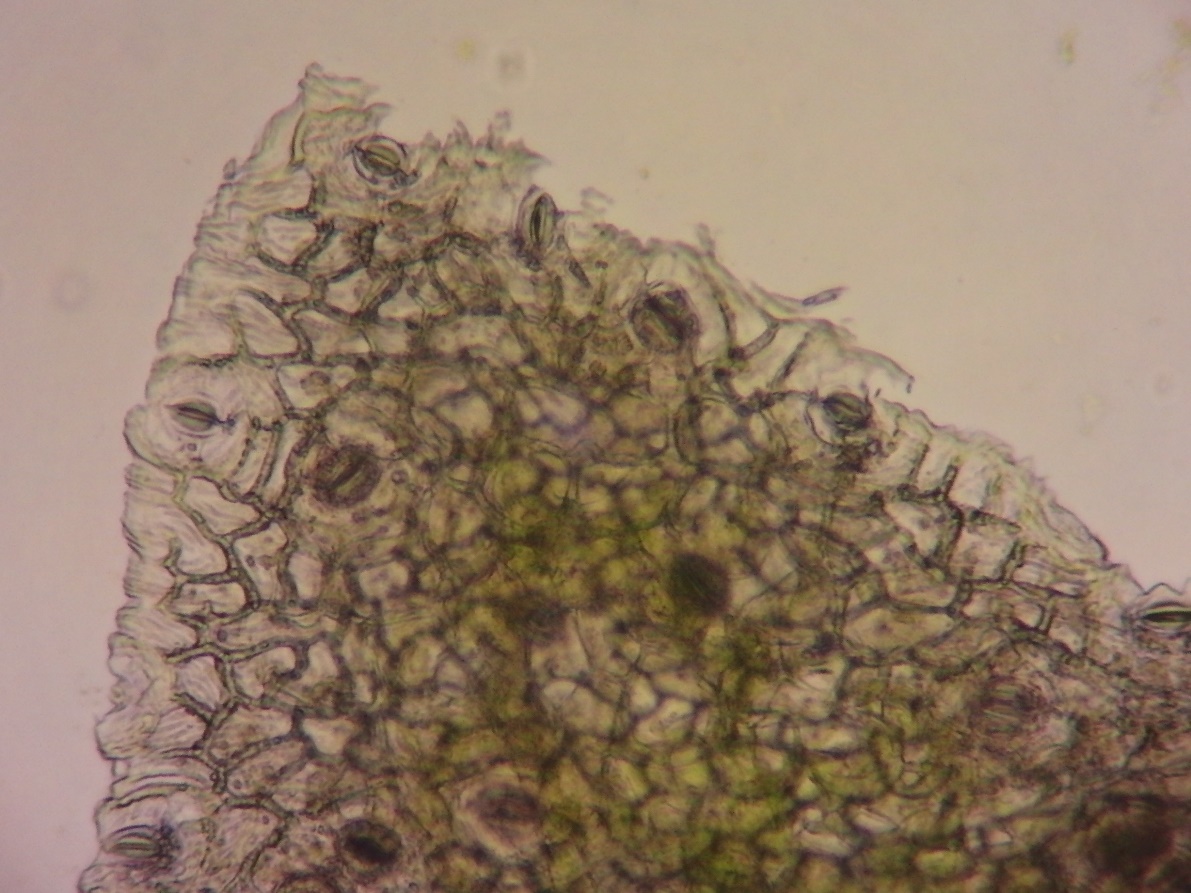
D部　20倍

写真8　ヤツデ徒手切片の4倍での観察結果と維管束分枝縦断面

2-3-2　裏面表皮の徒手切片撮影結果

裏面表皮には気孔が多数あることを観察することができた（写真9）。

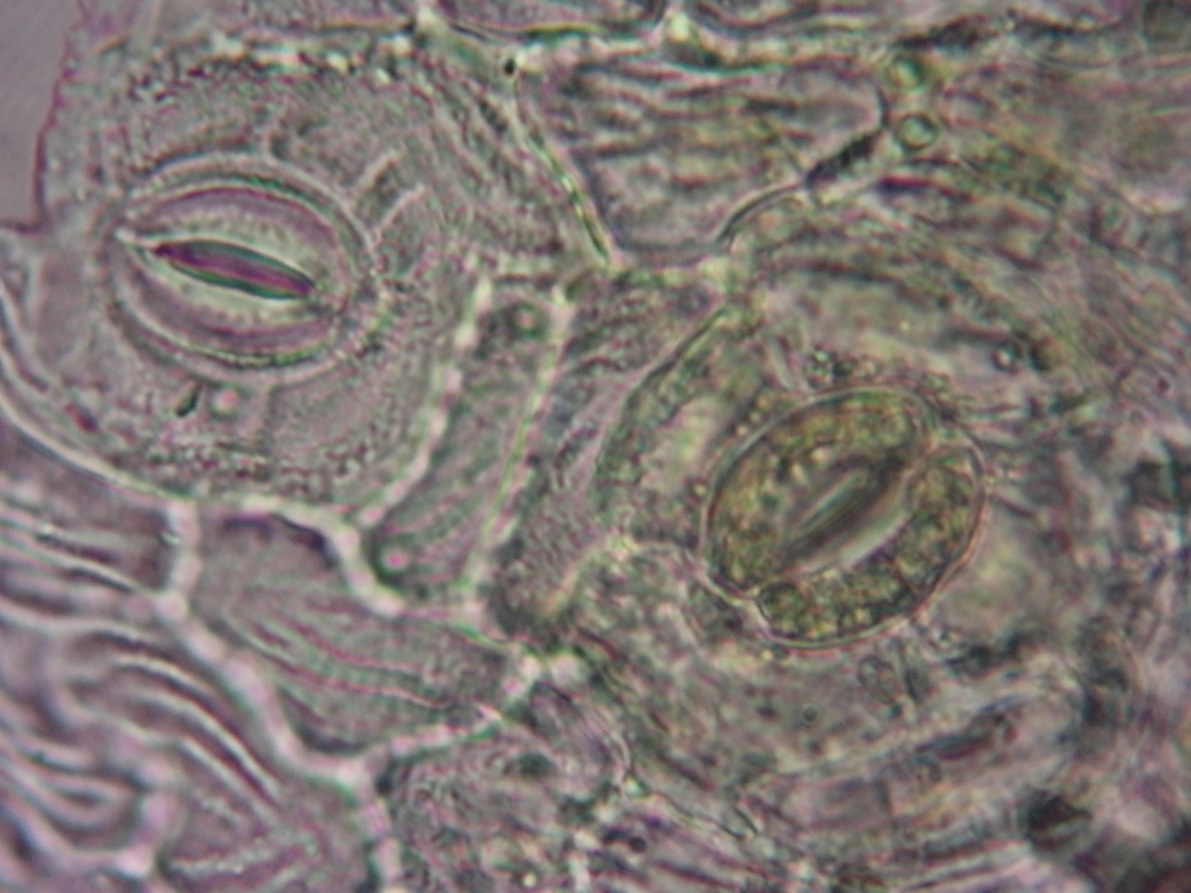
　　なお、写真中にあるスケールは1-3-1で得られたものである。



E

10倍

0.05ｍｍ



E部　40倍

0.05ｍｍ

孔辺細胞

気孔

写真9　裏面表皮にある気孔

2-4　徒手切片観察結果の考察

横断面の切片にカバーガラスをかぶせてプレパラートを作成した場合と、裏面表皮の切片にカバーガラスをかぶせてプレパラートを作成した場合とを比べると、カバーガラスをかぶせた後気泡を押し出すためにカバーガラスを押さえたときの感触が、横断面の切片では表本部が盛り上がっているように感じられた。

これは切片に相当量の厚みがあったためと推察されるが、このように細胞が非常に多く重なっているような切片でも光学式顕微鏡で微細構造を観察できる、つまり光が透過できる程度に透明である部分があることも分かった。

これより、2-3-1の観察結果より判断した維管束を形成する細胞には、表皮部分や海綿状組織の部分の細胞のように、重なると緑色が濃くなり不透明さを増す効果を生み出している、植物細胞に特有の葉緑体が、ほとんど含まれていないと推定される。

3.　動物細胞の観察、撮影

3-1　目的

動物細胞を生体から取得して観察し撮影する。

3-2　実験方法

口腔内の粘膜を綿棒でこすり取り、それをスライドガラス上にこすりつけて付着させ、ギムザ液を用いて染色した後、顕微鏡で観察、写真撮影する。

3-3　実験結果

口腔内の細胞を取得し観察することができた（次頁の写真10）。

　　なお、写真中にあるスケールは1-3-1で得られたものである。

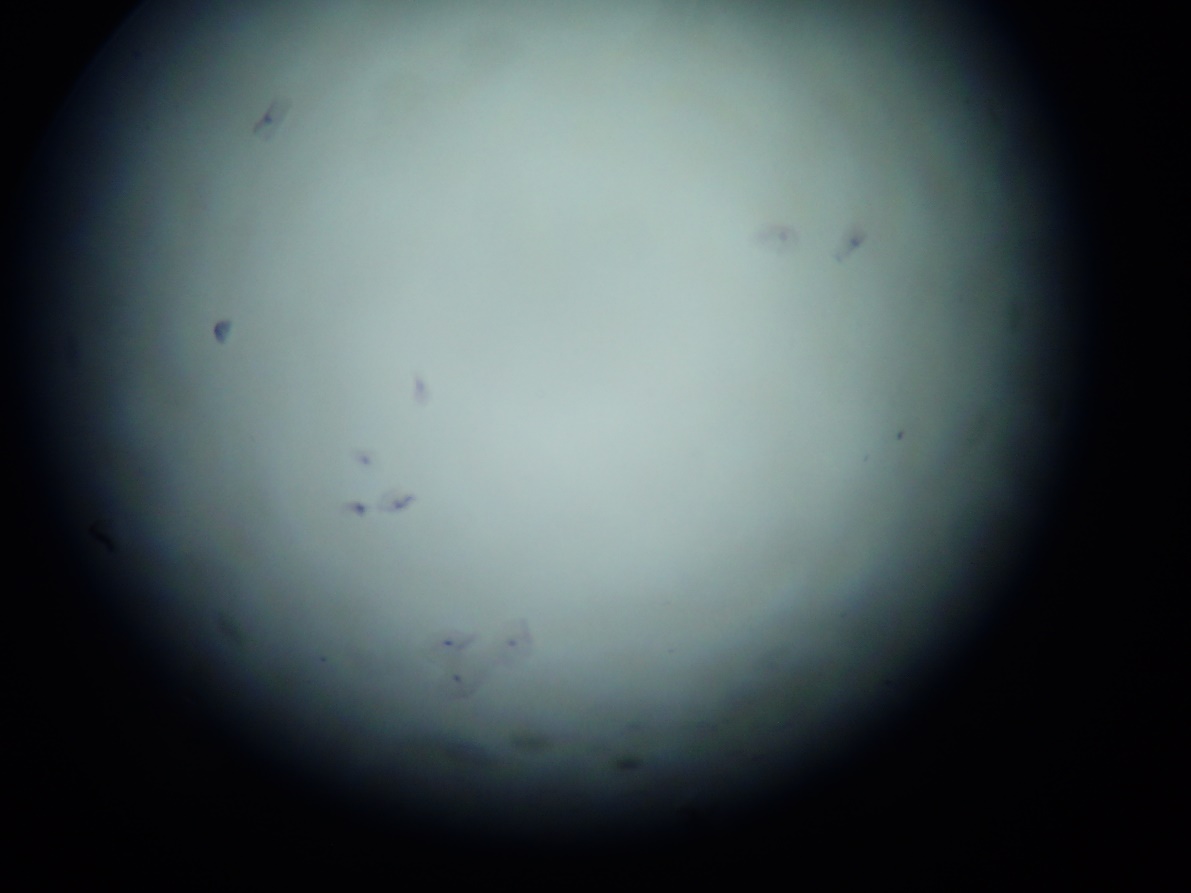
3-4　動物細胞観察結果の考察

3-2に示す手法で口腔内より粘膜中に含まれる細胞を取得しようとしたが、一度の操作では細胞の存在を確認することができず、複数回の試行が必要であった。

一度の操作で取得できなかった理由としては、次のようなものを考えることができる。

一つは、操作を行った時間が食事をした時間より1時間程度しか経過しておらず、新陳代謝によりはく離した口腔内の細胞が唾液とともに消化管内へ洗い流されており、最も結果を得にくい時間帯であった、というものである。

もう一つは、その日の体調などの理由により偶然新陳代謝が悪く、はく離した細胞の数が少なかったため、取得できた細胞全てが粘膜とともに綿棒の奥へしみ込んでしまい、こすり落とせなかった、というものである。



10倍

F

0.05ｍｍ



E部　40倍

0.05ｍｍ

　　　　　　　　　　　　　　写真10　口腔内より取得した細胞

4.　クラミドモナスの走性の観察

4-1　目的

クラミドモナス（Chlamydomonas reinardtii）に走性があることを観察する。

4-2　実験方法

4-2-1　光応答の観察

クラミドモナスの培養液をシャーレに取り、均一に分布していることを確認後暗箱に入れ、一方向から10分程度光を当てた後に、分布がどのように変化しているかを観察する。

4-2-2　顕微鏡による観察

クラミドモナスの培養液をスライドグラス上に液下し、顕微鏡で走性があることを観察する。個体が観察しづらい場合は、暗視野照明装置を顕微鏡に装着して行う

4-3　実験結果

4-3-1　光応答の観察結果

暗箱に入れる前と、暗箱の中で一方向から10分程度光を当てた後では、クラミドモナスの分布は図2のように変化した。

　　　　　　　実験開始時　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　10分程度経過後

光

　　　　　　均一な分布　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　光が来る方向へ集中

図2　クラミドモナスの光応答

4-3-2　顕微鏡による観察結果

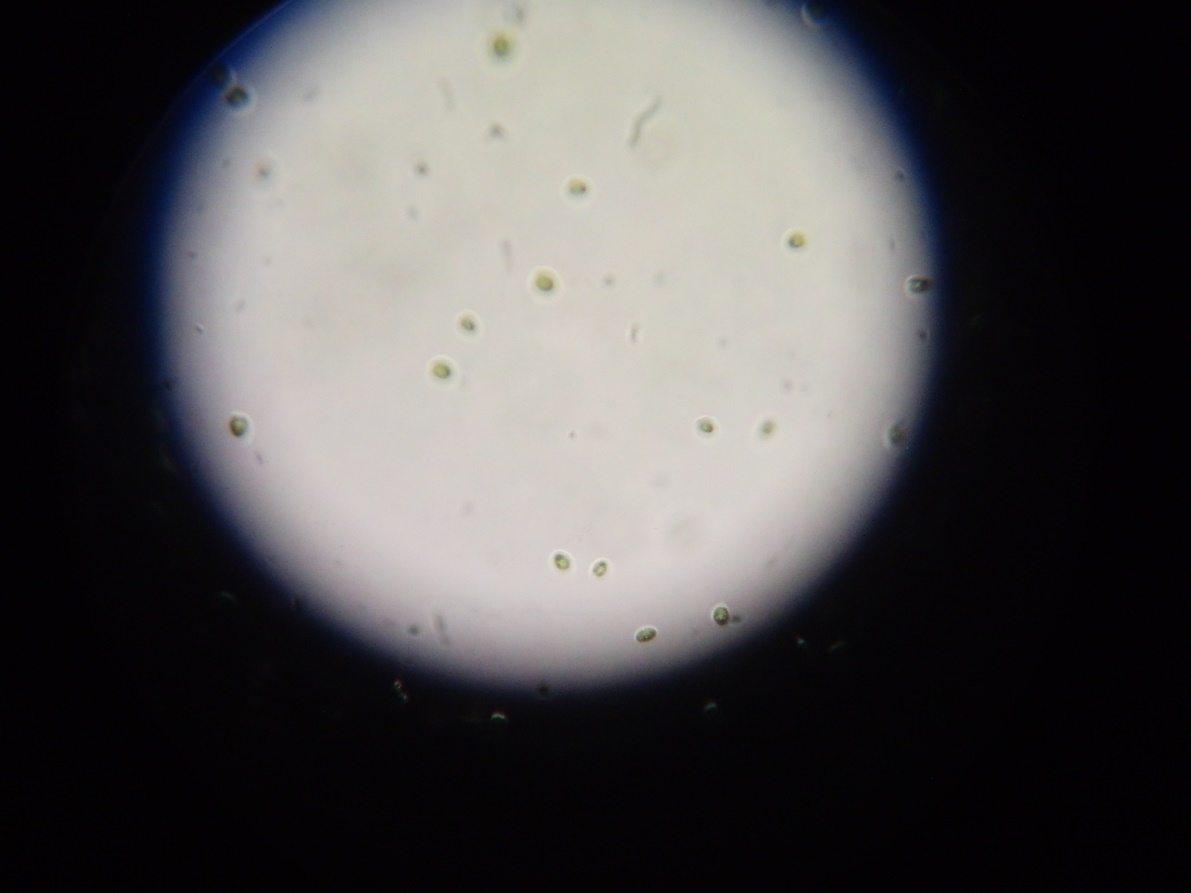
顕微鏡で観察した結果、視野内を自由に遊泳していることが確かめられた。遊泳の速度が速く、写真にはブレが生じている（次頁の写真11,12）。

なお、写真中にあるスケールは1-3-1で得られたものである。

4-4　クラミドモナス観察結果の考察

カバーガラスをかけない状態での観察では、暗視野照明装置を使用するなどしてもクラミドモナスの鞭毛を見ることができなかった。

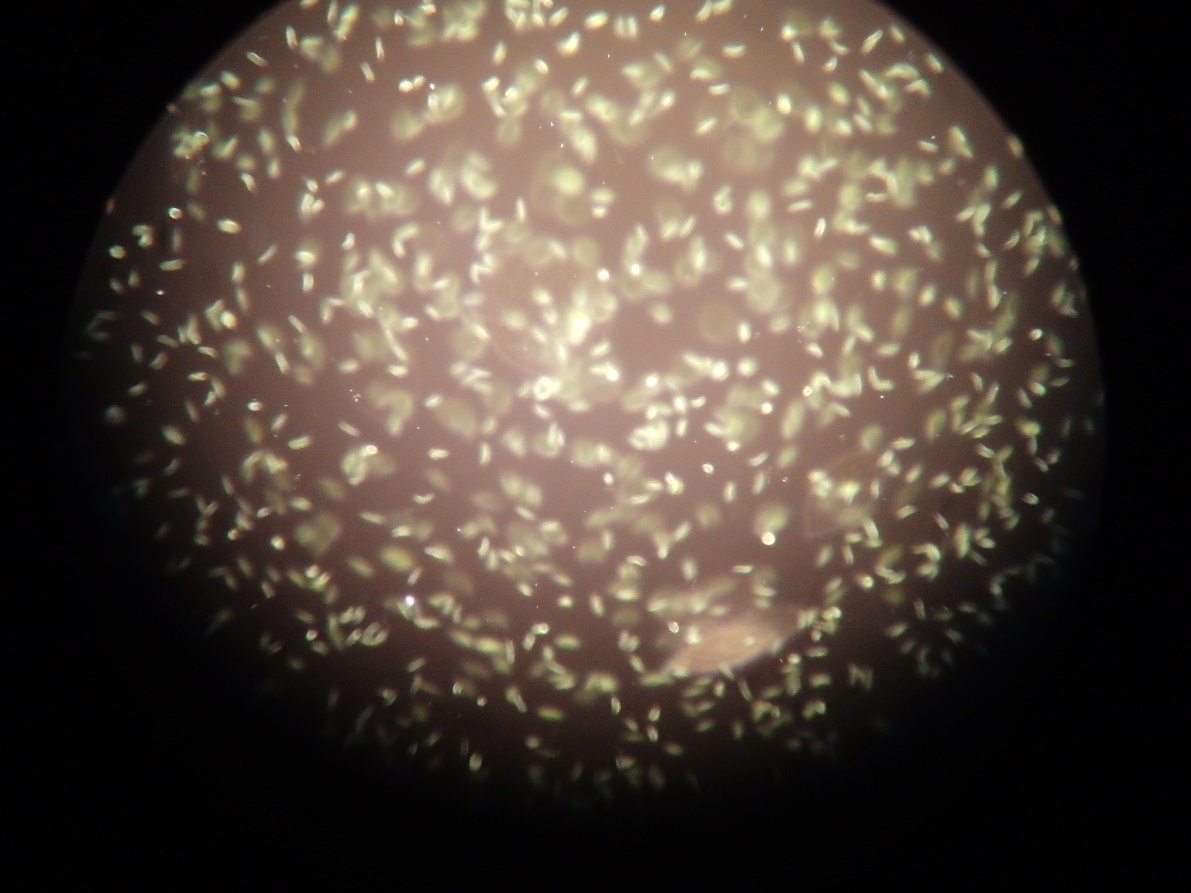
これは、活発に遊泳している場合は鞭毛の動作も早く、細くて観察しづらいものがさらに菅あsつしづらい状況になっていたためと推察される。



20倍

0.05ｍｍ

写真11　通常の照明法による観察写真



20倍

0.05ｍｍ

写真12　暗視野照明装置による観察写真

5.　精子遊泳運動の観察

5-1　目的

ニジマスの精子はどのような環境因子によって運動を調整されるかを観察する。

5-2　実験方法

浸透圧の差による運動の違い及びイオン濃度の差による運動の違いを観察するために、淡水、浸透圧を調節したNaCl溶液、イオン濃度を調節したKCl溶液を作成し、楊枝などの先端に付着させたニジマスの精子をその中へ浸して、運動の様子を顕微鏡で観察する。

5-3　実験結果

浸透圧の差による運動の違いは、表1の通りであった。

表1　浸透圧の差による運動の違い

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 淡水  (単位：m) | NaCl溶液  (単位：ml) | 浸透圧  (単位：mOsm) | 結果 |
| 1.0 | 0.0 | 0 | 30s以上動いている精子があった |
| 0.6 | 0.4 | 400 | 20sまでに全ての精子は動きが止まった |
| 0.5 | 0.5 | 500 | 10sまでに全ての精子は動きが止まった |
| 0.4 | 0.6 | 600 | 全ての精子は動かなかった |

また、イオン濃度の差による運動の違いは、表2の通りであった。

表2　イオン濃度の差による運動の違い

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 淡水  (単位：ml) | KCl溶液  (単位：ml) | K+濃度  (単位：mM) | 結果 |
| 0.6 | 0.4 | 16 | 全ての精子は動かなかった |
| 0.5 | 0.5 | 20 | 全ての精子は動かなかった |
| 0.4 | 0.6 | 30 | 15sまでに全ての精子は動きが止まった |

5-4　精子遊泳運動観察結果の考察

5-3のより、ニジマスの精子は浸透圧が600mOsmより大きい場合や、K+のイオン濃度が30mMより小さい場合は、運動を開始しないという結果を得られた。

　　これは細胞膜外部の環境が、運動を開始するための信号が発せられない浸透圧やイオン濃度がこの

値付近であるためと推察される。

以上