

放送大学面接授業H30年第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27日

グループB4 井川 陽次郎

学生番号： 192-000553-3

共同実験者： 中川 将幸

# 実験レポート: 生物のミクロ観察

生物をミクロに観察し、特徴や行動を分析する技術を学んだ。(実施日: 2019年10月27日)

以下のレポートでは、教官により配布されたレポート例の章立てを参考に記述する。

## 1. 作製済みの標本の観察

### 目的

生物の詳細を観察できる光学顕微鏡の操作方法と、顕微鏡を使った撮影、記録技術を学ぶ。

### 材料と方法

作製済みのツバキ(*Camellia japonica*)葉のプレパラート標本を、光学顕微鏡を用いて、4倍、10倍、20倍、40倍で観察し、デジタルカメラで撮影、記録する。

### 結果

以下に例を示すが、デジタルカメラが不調で、サイズ等の比較が怪しい。原因は考察にて述べる。

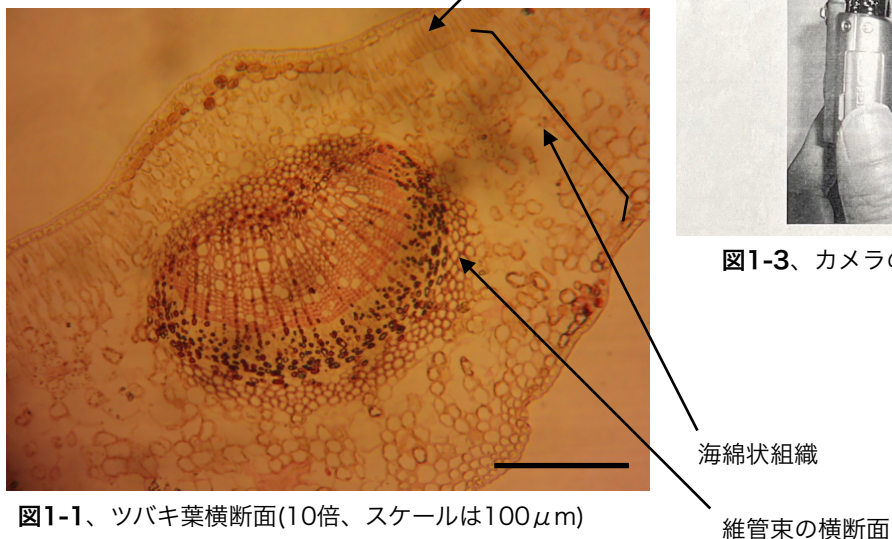


図1-1、ツバキ葉横断面(10倍、スケールは100 $\mu$ m)

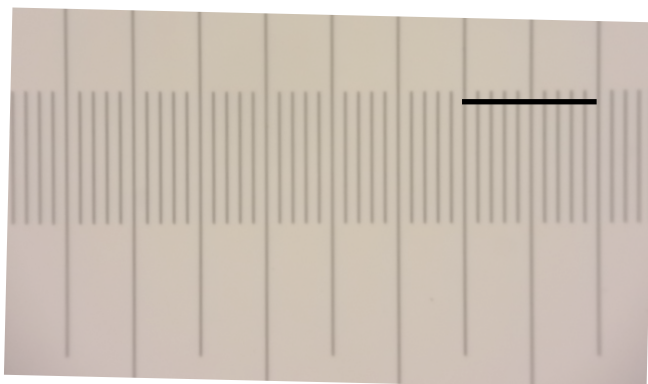


図1-2、スケール

### 考察

何度か撮影しているうちに、カメラに異常が起きた。カメラの視野が狭くなり、モニターの四隅が黒くつぶれる。おもちゃの望遠鏡を覗いているかに見えた。

その後、代替のカメラを用意していただいたが、少なくとも、この前後に撮影した画像については、信頼性を欠くと言わざるを得ない。

馬場先生による調査結果を午後になって聞いた。

カメラを覆うアダプターがずれており、スイッチ・オンでレンズ部が前方に出ようとしても、アダプターに引っ掛かる状態だった、とのことである。改良が必要かもしれない。スマートフォンを接眼レンズ部に押し付けて撮影する等の簡便法もあり得る。

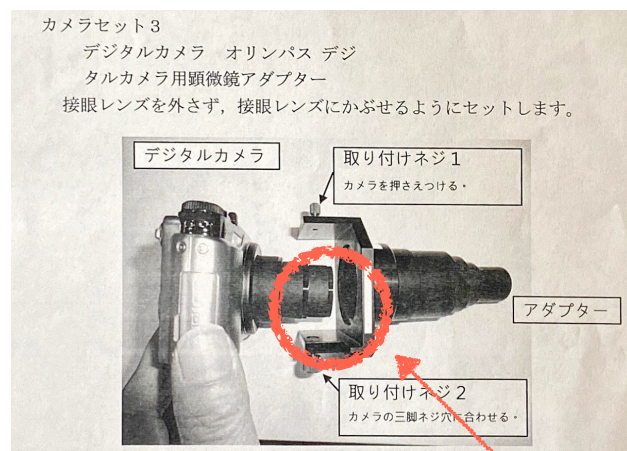


図1-3、カメラの異常箇所(テキストから)

アダプターがずれていたため、レンズ部が写真のように伸び切らず、途中で引っかかっていたという。どの段階で、このトラブルが起きたのが不明で、倍率等が怪しい。



図1-4、参考。スマホで撮影。十分に鮮明であり、撮影方法を確認すれば、実験の実習等でも使える可能性がある。

## 2. 植物組織と動物細胞標本の作製と観察

### 目的

複数種の異なる細胞を用いて、観察用標本を作製する技術を学ぶ。

### 材料と方法

植物細胞については、ツバキ(*Camellia japonica*)とヤツデ(*Fatsia japonica*)を試料とする。実体顕微鏡で葉を目視しながら、折った安全カミソリを用いて、下面の表皮を薄く削ぎ取る。また、ツバキの葉を2枚のスライドガラスで挟み、ガラスに沿って切断し均一の横断切片を露出させたあと、切片先端を少しだけガラスからはみ出させ、カミソリで削ぎ取った横断切片を得る。このうち、薄く、厚みの整った状態の良い切片を標本とし、光学顕微鏡で観察・記録する。

動物細胞については、口腔粘膜上皮細胞を用いる。綿棒で口腔粘膜を軽く擦り、スライドガラスに塗布し、ギムザ液で染色し、光学顕微鏡で観察・記録する。

### 結果

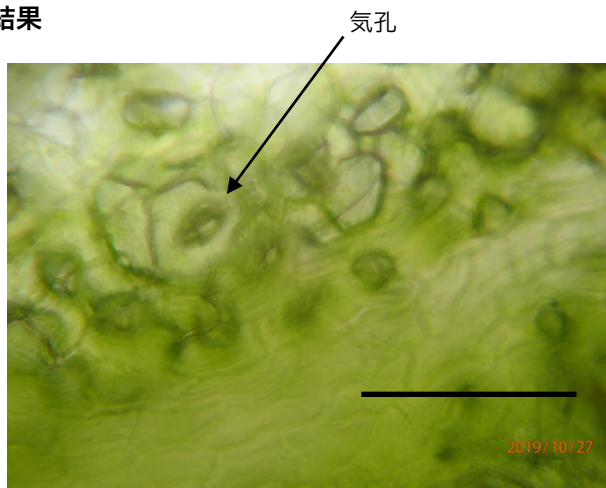


図2-1、ヤツデ葉下面表皮(40倍、スケールは100 $\mu$ m)

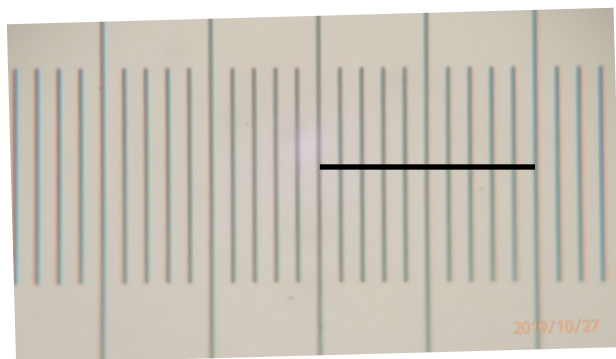


図2-2、スケール

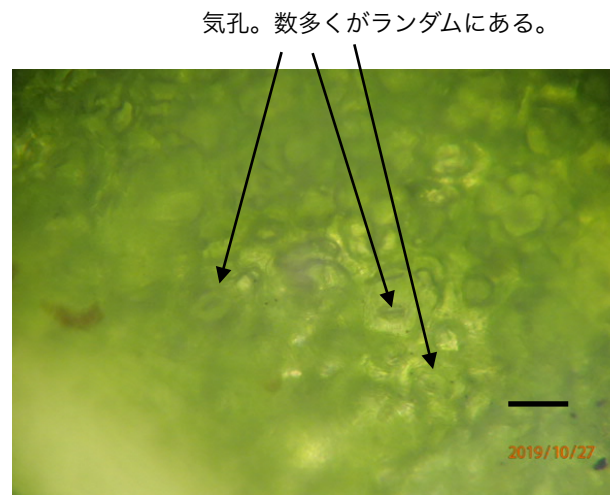


図2-3、ヤツデ葉下面表皮(10倍、スケールは100 $\mu$ m)

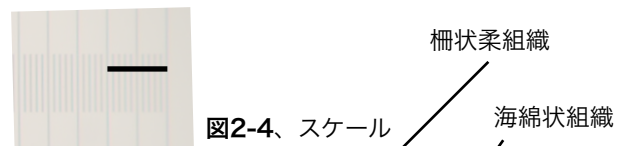


図2-4、スケール

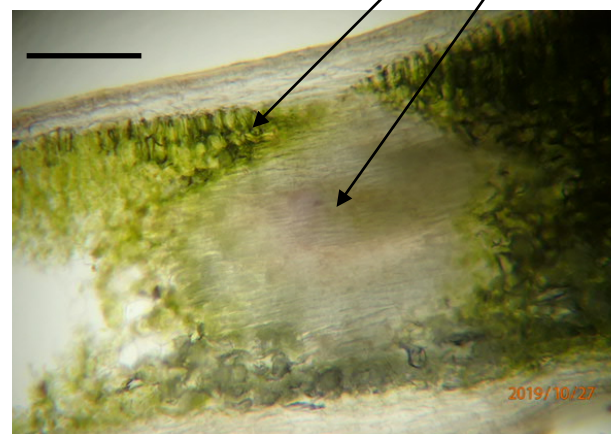


図2-5、ツバキ葉横断面(40倍、スケールは50 $\mu$ m)

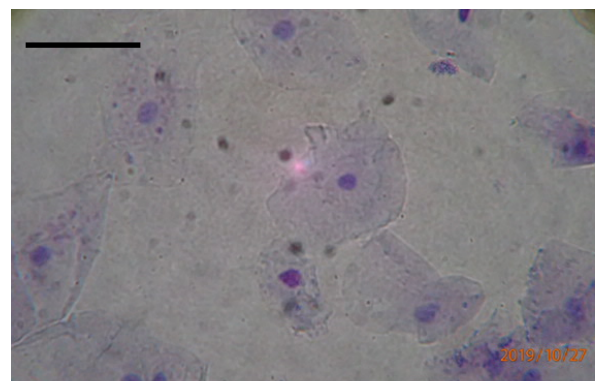


図2-6、口腔粘膜上皮細胞(40倍、スケールは50 $\mu$ m)

### 考察

実体顕微鏡を使えば、薄い切片標本を比較的容易に作製できることが分かった。口腔粘膜上皮細胞を染色することで、動物細胞を明瞭に観察できることを確認した。



### 3. クラミドモナスの光応答実験

#### 目的

「葉緑体、ミトコンドリア、核ゲノム全てを改変できる唯一の生物」(\*1)として、光合成研究などに用いられる「クラミドモナス (*Chlamydomonas reinhardtii*)」の性質を確認する。

#### 材料と方法

クラミドモナスをシャーレに移す。4辺のうち1辺の一部に窓のある箱でシャーレを覆い、窓からLEDライトを照射する。5分ほど放置し、箱を開けて中を確認する。

#### 結果

一様に分布していたクラミドモナスが、光を照射していた側に集まっていることが確認できた。

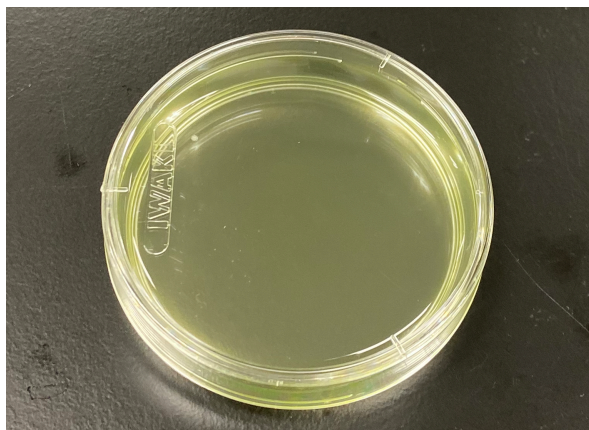


図3-1、LED照射前のシャーレ



図3-2、LED照射中

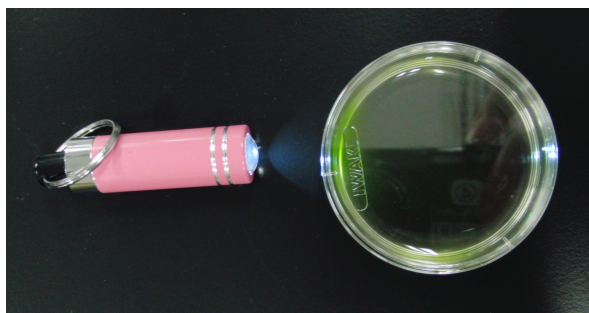


図3-3、LED照射後

#### 考察

クラミドモナスの光走性を確認できた。\*1によれば、この生物は「大腸菌のような植物細胞」「泳ぐ葉緑体」とも形容できるという。「さらに進んだ生物学実験」のような面接授業があれば、「猛スピードで移動するクラミドモナス選抜」「異なる光量、波長によるクラミドモナスの光応答の違い」「クラミドモナスの光応答を増強するための物質選定」といった実験もしてみたい。

#### 引用元

1. 単細胞緑藻クラミドモナス *Chlamydomonas*の解説 (基生研・環境光生物学) (<http://www.nibb.ac.jp/photo/organism/chlamy.html>)



## 4. クラミドモナスの遊泳観察

### 目的

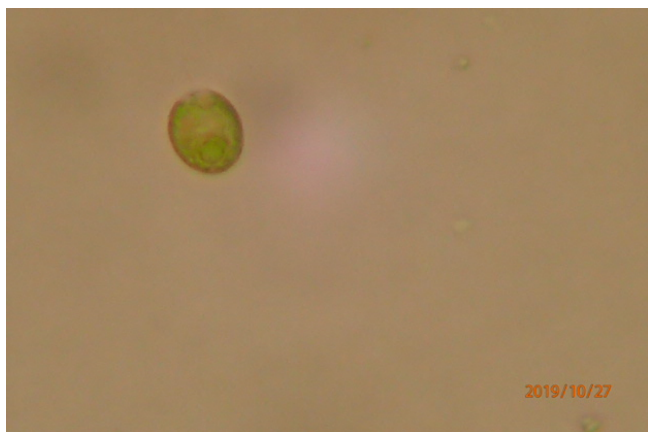
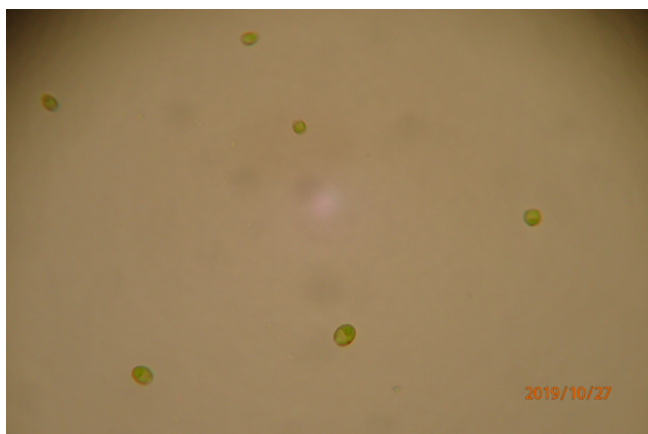
暗視野照明を得る簡易装置を使い、クラミドモナスの細部を観察する。鞭毛も捉える。

### 材料と方法

スライドガラスにクラミドモナスを滴下し、カバーガラスでゆったりと覆い、光学顕微鏡で観察する。これに続いて、暗視野照明用コンデンサーを光学顕微鏡にセットして観察する。

### 結果

通常照明で撮影したクラミドモナスが図4-1、4-2である。カメラを拡大モードにすると、鮮明とは言えないが、内部構造を一定程度、観察できた。ただし、鞭毛までは見えない(図4-1、4-2)。



上から図4-1、4-2

その後、暗視野照明用コンデンサーをセットして、標本を詳細に探索したところ、クラミドモナスが集中している領域で、鞭毛を観察できた(図4-3、4-4)。

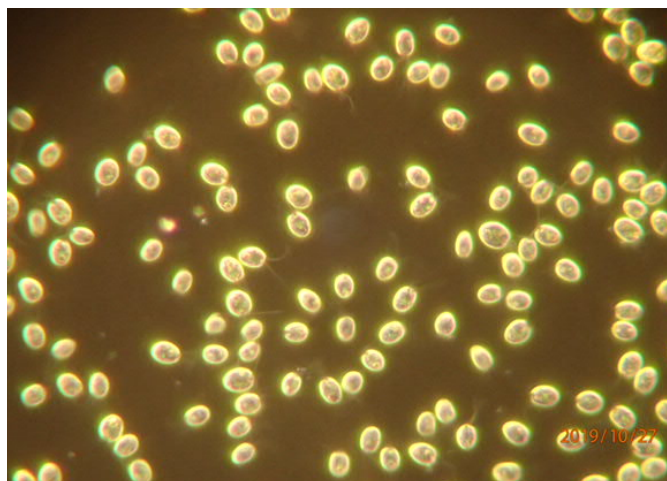


図4-3、暗視野照明用コンデンサーを付け撮影

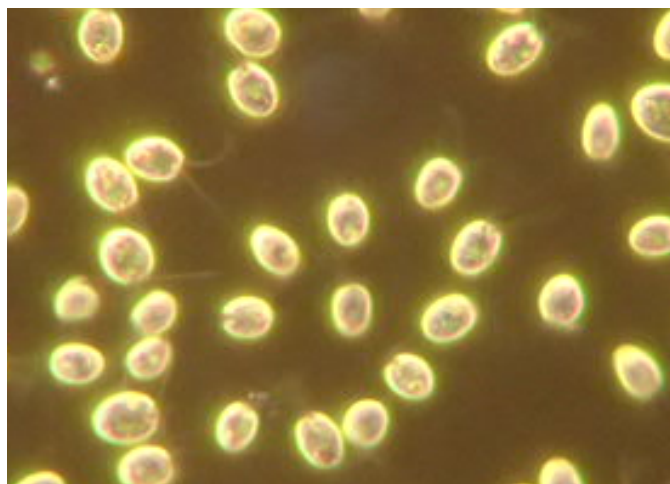


図4-4、図4-4を拡大。鞭毛が見える。

さらに、興味深い集合形態も確認できた。

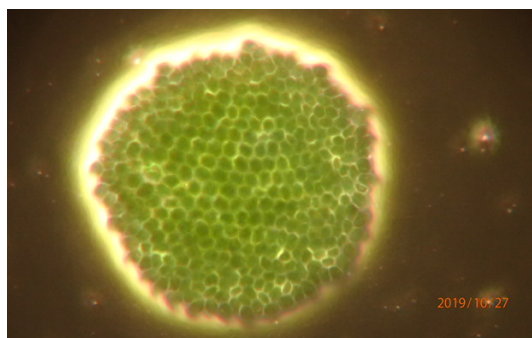


図4-5、集合体、円形(球形かもしれない)

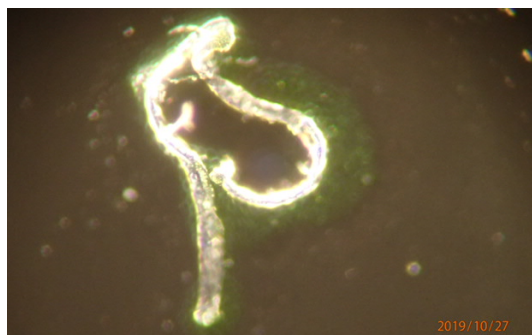


図4-6、集合体、スヌーピー形

## 考察

内部構造に、少しだけ迫ることができた。

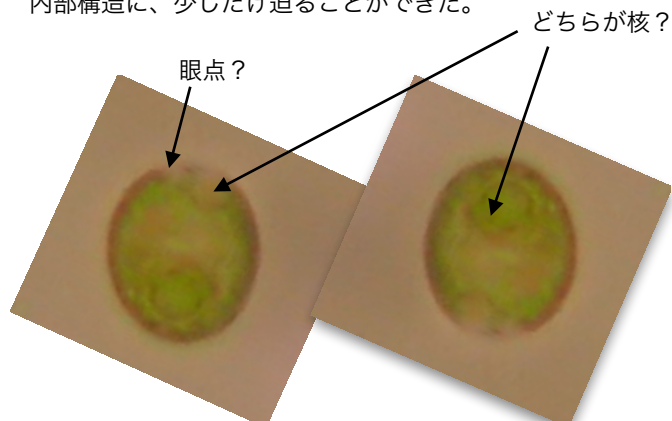


図4-7、図4-2を拡大。同一写真を上下で。

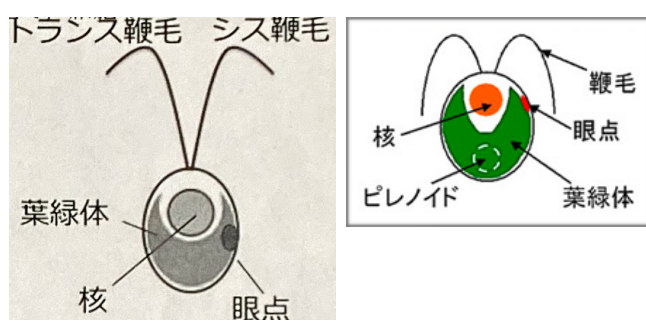


図4-8(左)、テキストから。図4-9(右)、引用元\*1から

ただし、上下にある大きな丸のどちらが核か、ピレノイドかは判定できない。核の脇にある組織が眼点とすれば、図4-7左が、図4-8、4-9の天地に合致する。

謎も残った。図4-5、4-6の集合体である。なぜこんな塊になるのか。弱って活動を停止すると、表面張力に打ち勝てずに集合するのか。単なる物理現象か、生物としての性質か、大変に興味深い。

## 引用元

1. クラミドモナスのページへようこそ(<http://www.gene.nagoya-u.ac.jp/~ishiura-g/Chlamy/Chlamy%20clock.html>)

## 5. ニジマス精子の運動活性化実験

### 目的

ニジマス(*Oncorhynchus mykiss*)精子は、なぜ、体内では休眠していて、水中に放出されると運動を開始するのか。これを調節している環境因子を確認する。

### 材料と方法

ニジマスの精子を採取し、チューブに入れて冷却下で管理する。少量のニジマス精子を爪楊枝先端で取り、スライドガラスに塗布する。カバーガラスは使わない。ここに、ニジマス体内と河川の環境因子を模擬した以下の表の溶液をピペットで滴下して、精子の動きを光学顕微鏡で観察する。これを繰り返し、精子の運動スイッチが、どの溶液の、どんな濃度で切り替わるのかを確認する。



図5-1、ニジマスの精子採取

NaCl浸圧溶液				
浸透圧 (mOsm)	0.5M NaCl (ml)	水(ml)	濃度(mM)	
1000	1.0	0.0	500	
800	0.8	0.2	400	
500	0.5	0.5	250	
400	0.4	0.6	200	
300	0.3	0.7	150	
200	0.2	0.8	100	

K+浸圧溶液		
K+濃度(ml)	50mM KCl (ml)	水(ml)
0	0.0	1.0
4	0.1	0.9
8	0.2	0.8
12	0.3	0.7
16	0.4	0.6
20	0.5	0.5
30	0.6	0.4
50	1.0	0.0

マニトール浸透圧溶液		
浸透圧 (mOsm)	800mM マニトール (ml)	水(ml)
0	0.0	1.0
200	0.2	0.6
400	0.4	0.4
600	0.6	0.2
800	0.8	0.0

### 結果

NaCl浸圧溶液				
浸透圧 (mOsm)	0.5M NaCl (ml)	水(ml)	濃度(mM)	動き(あれば+)
1000	1.0	0.0	500	略
800	0.8	0.2	400	略
500	0.5	0.5	250	
400	0.4	0.6	200	
300	0.3	0.7	150	+
200	0.2	0.8	100	+



K+浸圧溶液			
K+濃度 (ml)	50mM KCl (ml)	水(ml)	動き(あれば +, 鈍い動きは +-)
0	0.0	1.0	+
4	0.1	0.9	+-
8	0.2	0.8	+-
12	0.3	0.7	
16	0.4	0.6	
20	0.5	0.5	
30	0.6	0.4	略
50	1.0	0.0	略

マニトール浸透圧溶液			
浸透圧 (mOsm)	800mM マニトール (ml)	水(ml)	動き(あれば +, 鈍い動き は+-)
0	0.0	1.0	+
200	0.2	0.6	+
400	0.4	0.4	+
600	0.6	0.2	
800	0.8	0.0	

## 考察

テキストによれば、ニジマスも人間と同様に、体液の浸透圧は300mOsmである。NaCl濃度で150mMに当たるといふ。これ以下の濃度の淡水と触れることで、精子の運動が開始されると予想している。

実験の結果、NaClでは、この予想通りになった。K+イオン濃度については、4～8ml程度まで下がったところで精子の運動開始が観察された。これも予想通り。

最後に、マニトール溶液を用いた浸透圧のみの効果を見る実験では、NaCl溶液の場合より高い400mOsm程度で運動開始が確認された。この結果からは、浸透圧は多少高くても、精子は運動を開始すると予想される。精子の運動のブレーキ役としては、浸透圧だけでは十分ではない、と予想されるのではないかな。