

第6章

事業Ⅲ：新しい実験テーマの開発と実験マニュアルの整備

—生 物 学（発信事業）—

事業Ⅲ：新しい実験テーマの開発と実験マニュアルの整備

— 生 物 学 (発信事業) —

報告者 金子 洋之

(1) 目的

GP 事業の目的のひとつである教育資源の共有を目指し、生物学教室で実施している生物学実験のコンテンツを整理、記述する作業を行い発信へ向けての準備を行った。実際に作業したコンテンツは、以下の10件である。

(2) 1：ヒドラの解離と構成細胞の観察・同定

2：ヒドラの摂食行動とその認識

3：シャジクモの観察「生き物は動く」

4：ゾウリムシの観察「生体膜の機能の理解」

5：ゾウリムシの運動

6：メダカ色素細胞の観察

7：イトマキヒトデの受精

8：ヒトデの発生過程の観察

9：酵素反応の特質を知る「チロシナーゼによるメラニンの酵素的生成」

10：DNAの抽出と固定

(3) 作製したコンテンツの特徴

実験用の配布マニュアル作成用として、また教員が実験をアレンジすることを考慮して、上記(2)のマニュアルは、教員用と学生用の2種類を作成した。実際のコンテンツは、次ページ以降に添付する。

(4) 今後の展望

上記10件のコンテンツを添削、参考画像の充実、著作権調査、効率的な発信方法の考察などを行い、発信用に完成させる。これらに加え、発信コンテンツの生物学の学問領域におけるバランスを考慮し、新たな開発プログラムを加味することを目指す。

ファイル名とファイル内容の関係

- 1 : ヒドラの解離と構成細胞の観察・同定 (教員用)
- 2 : ヒドラの解離と構成細胞の観察・同定 (学生用)
- 3 : ヒドラの摂食行動とその認識 (教員用)
- 4 : ヒドラの摂食行動とその認識 (学生用)
- 5 : ヒドラの飼育法
- 6 : アルテミア乾燥卵の孵化法
- 7 : シャジクモの観察[生きものは動く] (教員用)
- 8 : シャジクモの観察[生きものは動く] (学生用)
- 9 : 日照条件とモチノキ (教員用)
- 10 : 日照条件とモチノキ (学生用)
- 11 : ヲウリムシの観察[生体膜の機能の理解] (教員用)
- 12 : ヲウリムシの観察[生体膜の機能の理解] (学生用)
- 13 : ヲウリムシの運動 (教員用)
- 14 : ヲウリムシの運動 (学生用)
- 15 : ヲウリムシの飼育法
- 16 : メダカ色素細胞の観察 (教員用)
- 17 : メダカ色素細胞の観察 (学生用)
- 18 : ヒトテの発生過程の観察 (教員用)
- 19 : ヒトテの発生過程の観察 (学生用)
- 20 : イトマキヒトテの受精法
- 21 : イトマキヒトテ胚の固定法
- 22 : 酵素反応の特質を知る[チロシナーゼによるメラニンの酵素的生成] (教員用)
- 23 : 酵素反応の特質を知る[チロシナーゼによるメラニンの酵素的生成] (学生用)
- 24 : DNA の抽出と固定 (教員用)
- 25 : DNA の抽出と固定 (学生用)

1. ヒドラの解離と構成細胞の観察・同定 (教員用)

■実験のわらいと特徴

ヒドラ個体を細胞レベルにまで解離し観察することで『ヒドラを構成する細胞の種類とその姿』を学ぶ。

■実習の流れ

・実験の準備

- 1) 使用する材料、器具、試薬などは『●資料』へ。
- 2) 班や机ごとなどに、あらかじめヒドラをシャーレに入れ、小分けしておく。

・前説明

- 1) ヒドラを構成する細胞について説明する。
- 2) 課題について説明する。

・実習中

- 1) ヒドラの解離と観察を行う。

・実習後

- 1) レポートを作成させる。
- 2) 残ったヒドラの回収や片付けを行う。

■はじめに

ヒドラは、生育に適した条件下では出芽という無性生殖^{用語1}によって増殖する。一方、受精による有性生殖^{用語2}も行う。受精卵は細胞分裂を繰り返して細胞数を増やし、やがて細胞間で形と機能の違い（細胞分化）が生じ、個体が形成されていく（図1）。ヒドラの成体は約10万個の細胞からなり（我々ヒトはおよそ60兆個、200種の細胞から構成されている）、それらはわずか6種類の細胞種に分類することができる（内胚葉上皮筋細胞^{用語3}、腺細胞^{用語4}、外胚葉上皮筋細胞^{用語5}、神経細胞^{用語6}、刺細胞^{用語7}と間細胞^{用語8}；図2、4）。

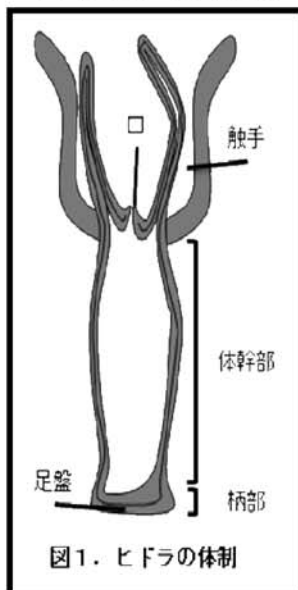


図1. ヒドラの体制

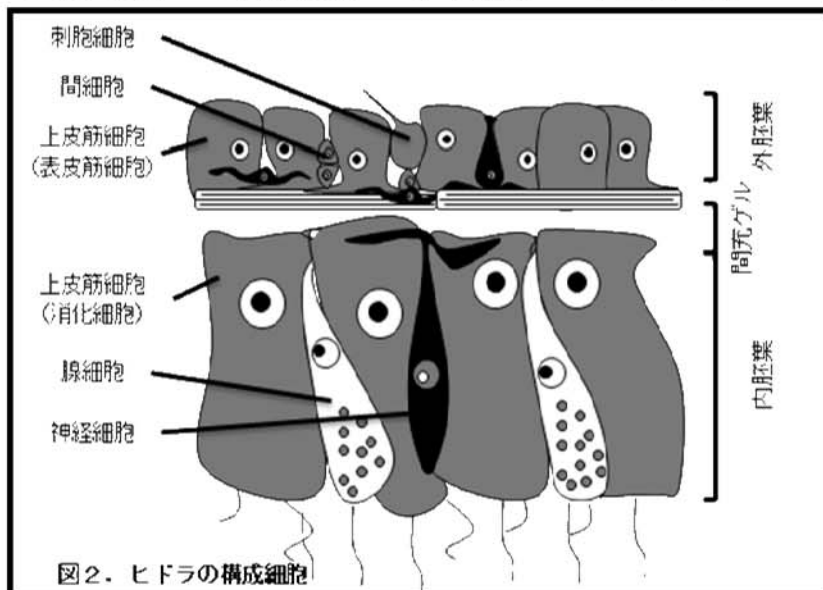


図2. ヒドラの構成細胞

■目的

本実験の目的は下記する1点である。

(1)：ヒドラの成体(個体)を個々の細胞にまで解離し、顕微鏡を用いて6種の構成細胞を同定する。

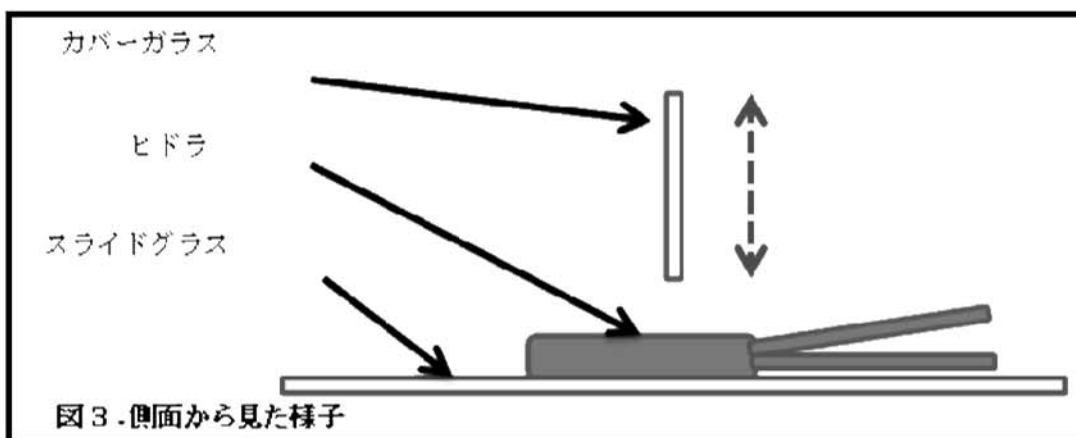
以上の実験を行い、下記する課題に答えて提出する。

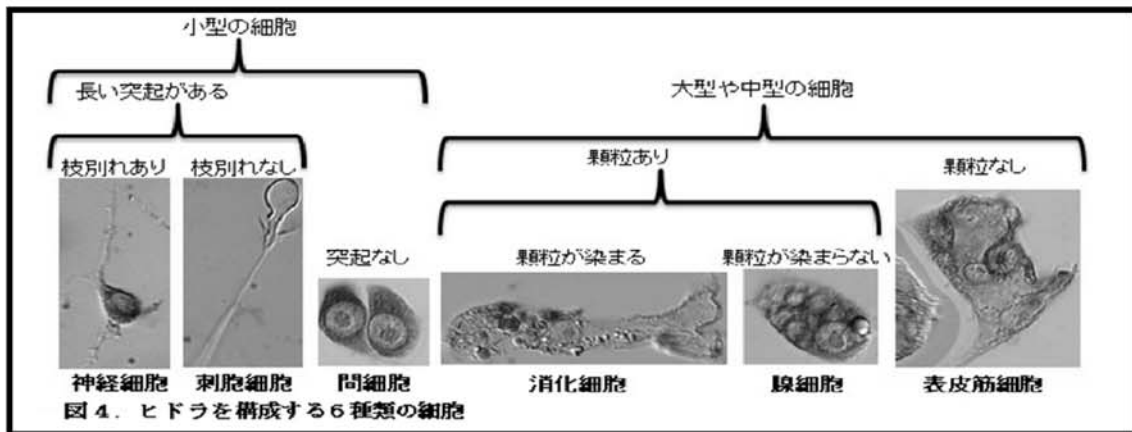
- ・課題1：6種類の細胞をスケッチする。

■実験手順

(1) ヒドラを構成する細胞の観察

- ①スライドグラス上にヒドラを一匹のせる。
- ②余分な水分をろ紙で吸い取る^{注1}。
- ③解離液を5滴落とし、5分放置する。
- ④余分な解離液をろ紙で吸い取る^{注2}。
- ⑤カバーガラスの側面を使ってヒドラを砕く^{注3}(図3)。
- ⑥染色液を一滴落とし、カバーガラスをかけて顕微鏡で観察する。
- ⑦検索表(図4)を参考にして、細胞の大きさと形、染色性に基づき、細胞の同定を行う。





■ポイントやトラブルシューティング

注1：水分を取り除かないと、解離液の濃度が十分でなくなってしまう。

注2：乾かない程度に吸い取る。

注3：塊がなくなるまで崩す。つぶしても問題ない。

■実習を成功させるための留意点

実習前

- ・最低1人1個体のヒドラを渡せるように増やしておくこと。

実習中

- ・解離液を処理する前に、ヒドラ周囲の溶液をよく取り除かせる事（解離液の濃度が低下するため）。
- ・スライドガラスにカバーガラスをかける時、空気の泡をいれないこと。
- ・長時間観察しているうちに生じる蒸発に注意させ、蒸発した分の溶液をカバーガラスを剥がすことなしに、側面部から供給させること。

■本実験の発展

- ・ヒドラの摂食行動とその認識の実習と組み合わせることができる。

●資料

■使用する材料

- ・チクビヒドラ (*Hydra magnipapillata*)：入手法や培養法は『ヒドラの飼育法』へ。

■使用する試薬

- ・解離液：グリセリン：酢酸：水=1：1：13

- ・ 染色液 : 0.05% メチレンブルー

■使用する器具

- ・ パスツールピペット (2つ/1人)
- ・ スライドグラス (1枚/1人)
- ・ ろ紙 (適量) : ある程度小さく切断しておくこと。
- ・ カバーガラス (1枚/1人)
- ・ 光学顕微鏡 (1台/1人)

■用語解説

用語1 (無性生殖) : 1つの個体が1つの個体のみで新しい個体をつくりだす生殖方法を示す。

用語2 (有性生殖) : 生殖には有性生殖と無性生殖の二種類がある。有性生殖とは異なるタイプの細胞同士の融合を介した生殖方法を示す。

用語3 (内胚葉上皮筋細胞) : ヒドラの表皮を構成する細胞であり、筋肉の役割を持つ。内胚葉に由来する。

用語4 (腺細胞) : 分泌顆粒を持つ細胞で分泌顆粒を分泌することで、取り込まれた餌を消化する。

用語5 (外胚葉上皮筋細胞) : 外胚葉由来の上皮細胞。

用語6 (神経細胞) : 神経突起をもつ細胞で、情報伝達に働く細胞である。

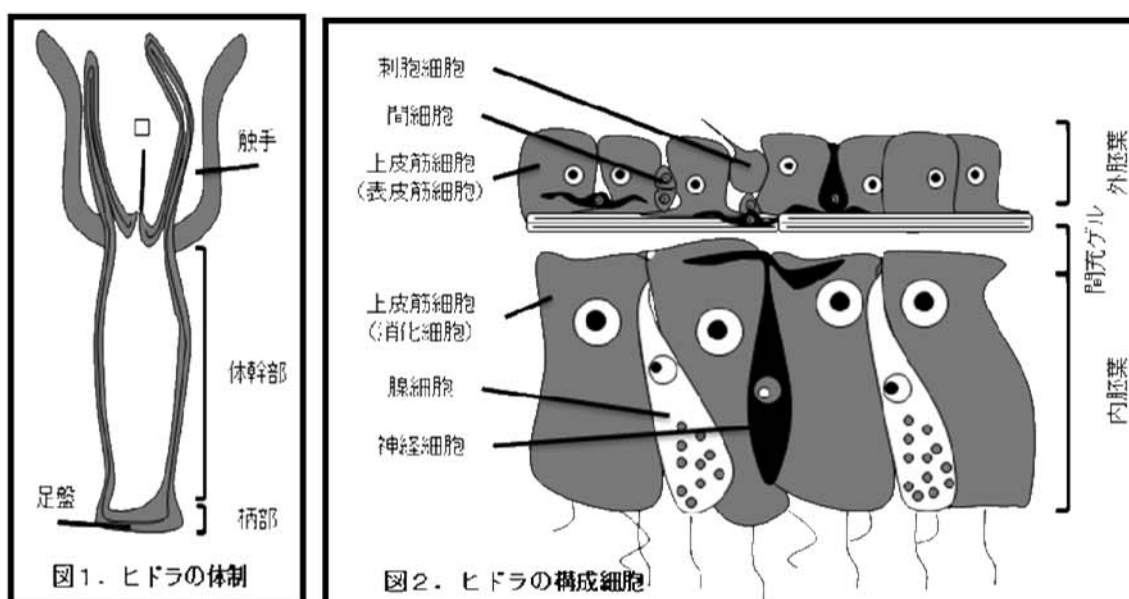
用語7 (刺胞細胞) : 刺胞細胞を構成する細部尾の一種で、この細胞から針を発射する。

用語8 (間細胞) : 様々な細胞に分化する能力を持っている細胞。丸く小さな細胞である。

2.ヒドラの解離と構成細胞の観察・同定 (学生用)

■はじめに

ヒドラは、生育に適した条件下では出芽という無性生殖^{用語1}によって増殖する。一方、受精による有性生殖^{用語2}も行う。受精卵は細胞分裂を繰り返して細胞数を増やし、やがて細胞間で形と機能の違い(細胞分化)が生じ、個体が形成されていく(図1)。ヒドラの成体は約10万個の細胞からなり(我々ヒトはおよそ60兆個、200種の細胞から構成されている)、それらはわずか6種類の細胞種に分類することができる(内胚葉上皮筋細胞^{用語3}、腺細胞^{用語4}、外胚葉上皮筋細胞^{用語5}、神経細胞^{用語6}、刺胞細胞^{用語7}と間細胞^{用語8};図2, 4)。



■目的

本実験の目的は下記する1点である。

(1) : ヒドラの成体(個体)を個々の細胞にまで解離し、顕微鏡を用いて6種の構成細胞を同定する。

以上の実験を行い、下記する課題に答えて提出する。

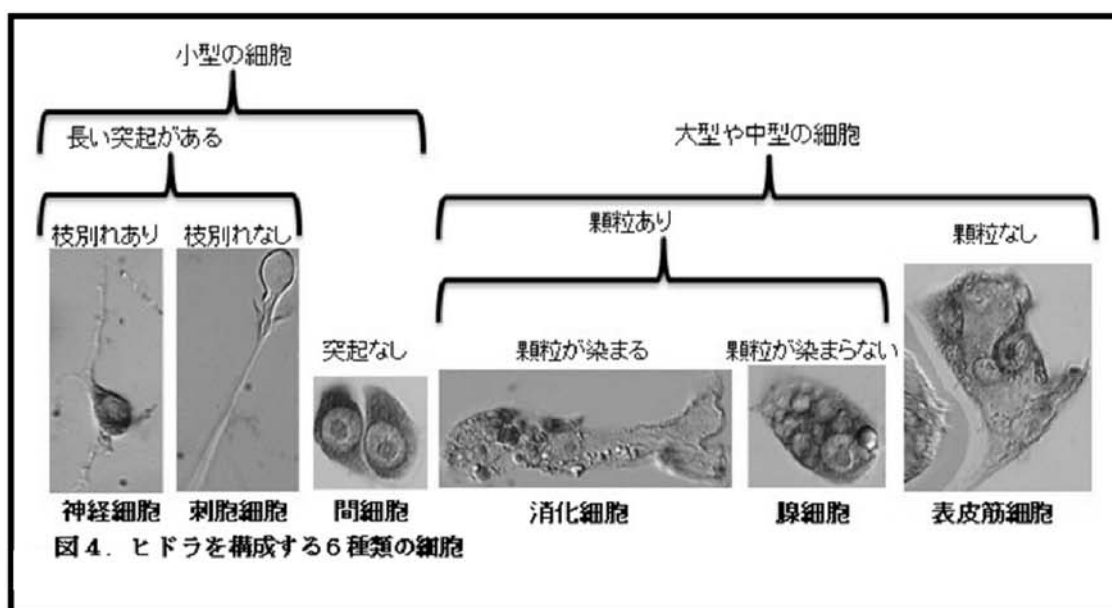
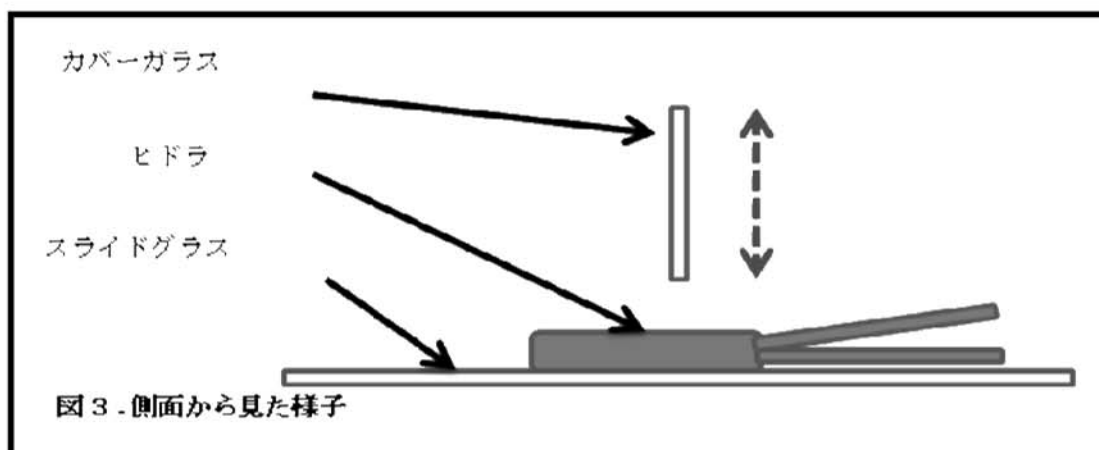
- ・課題1 : 6種類の細胞をスケッチする。

■実験手順

(1) ヒドラを構成する細胞の観察

- ①スライドグラス上にヒドラを一匹のせる。
- ②余分な水分をろ紙で吸い取る^{注1}。
- ③解離液を5滴落とし、5分放置する。

- ④余分な解離液をろ紙で吸い取る^{注2}。
- ⑤カバーガラスの側面を使ってヒドラを砕く^{注3} (図3)。
- ⑥染色液を一滴落とし、カバーガラスをかけて顕微鏡で観察する。
- ⑦検索表 (図4) を参考にして、細胞の大きさと形、染色性に基づき、細胞の同定を行う。



■ポイントやトラブルシューティング

注1：水分を取り除かないと、解離液の濃度が十分でなくなってしまう。

注2：乾かない程度に吸い取る。

注3：塊がなくなるまで崩す。つぶしても問題ない。

●資料

■使用する材料

- ・チクビヒドラ (*Hydra magnipapilata*)

■使用する試薬

- ・解離液
- ・染色液

■使用する器具

■用語解説

用語1 (無性生殖) : 1つの個体が1つの個体のみで新しい個体をつくりだす生殖方法を示す。

用語2 (有性生殖) : 生殖には有性生殖と無性生殖の二種類がある。有性生殖とは異なるタイプの細胞同士の融合を介した生殖方法を示す。

用語3 (内胚葉上皮筋細胞) : ヒドラの表皮を構成する細胞であり、筋肉の役割を持つ。内胚葉に由来する。

用語4 (腺細胞) : 分泌顆粒を持つ細胞で分泌顆粒を分泌することで、取り込まれた餌を消化する。

用語5 (外胚葉上皮筋細胞) : 外胚葉由来の上皮細胞。

用語6 (神経細胞) : 神経突起をもつ細胞で、情報伝達に働く細胞である。

用語7 (刺胞細胞) : 刺胞細胞を構成する細部尾の一種で、この細胞から針を発射する。

用語8 (間細胞) : 様々な細胞に分化する能力を持っている細胞。丸く小さな細胞である。

- ・パスツールピペット (2つ/1人)
- ・スライドガラス (1枚/1人)
- ・ろ紙 (適当量) : ある程度小さく切断しておくこと。
- ・カバーガラス (1枚/1人)
- ・光学顕微鏡 (1台/1人)

3.ヒドラの摂餌行動とその認識（教員用）

■実験のわらいと特徴

ヒドラの摂餌行動を観察する過程を通して、『ヒドラの身体づくり』や『餌の認識メカニズム』を学ぶ。

■実習の流れ

- ・準備
 - 1) それぞれのシャーレに2～5匹のヒドラを分けておく。
 - 2) 使用する材料、試薬や器具などは『●資料』へ。
- ・前説明
 - 1) ヒドラとその摂食行動についての簡単な説明。
 - 2) 課題についての簡単な説明
 - 3) スケッチの意義と描き方の説明
 - 4) 実体顕微鏡の使用法の説明
- ・実習中
 - 1) ヒドラのスケッチを行わせる。
 - 2) 摂食と認識メカニズムについての実験を行わせる。
- ・実習後
 - 1) レポートを作成させ提出させる。
 - 2) ヒドラの回収や片付けを行う。

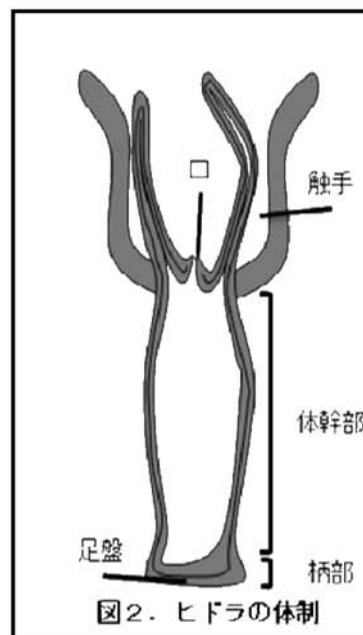
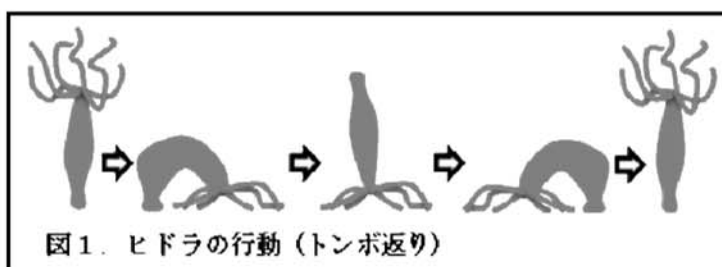
■はじめに

クラゲ、サンゴやイソギンチャクと共に刺胞動物^{用語1}と呼ばれるグループに属するヒドラは、1 cm 前後の淡褐色の動物であり池や沼の石や水草に付着して生活する（とんぼ返りなどで移動することもできる[図1]）。ヒドラという名前は、ギリシャ神話に登場する9頭の頭を持つ蛇に由来する。

ヒドラの体は、内胚葉^{用語2}と外胚葉^{用語3}上皮シートが互いに裏側で接着し合った単純な筒状構造を基本とする（図2）。この筒の一端は開いた状態になっており、食物を取り入れる際に口の機能を果たす。両上皮シートは口の周囲から突出して6本前後の触手を形成し、ヒドラの形態を特徴付けている。また、体幹部には出芽した娘ポリプが見られることもある（ヒドラは卵と精子の受精による有性生殖^{用語4}の他に、遺伝的に同一なクローン^{用語5}を体細胞からつくる無性生殖^{用語6}を行う。このクローンは娘ヒドラと呼ばれる）。

ヒドラは肉食であり、独立した個体として生活するために活発に摂食する。ヒドラの摂食行動は以下のように進行する。獲物が触手に接触すると、刺胞細胞^{用語7}から鋭い繊維が噴出され、獲物の動きを止める（海水浴でクラゲに刺されて痛みを感じるのは、この刺胞に刺されたためである）。次に、触手を縮めながら内側へ巻き込むようにして獲物を口に運び、胃腔（消化管として機能する）へ嚥下し、消化する。消化物は、内胚葉を構成する細胞の

一種である消化細胞に吸収され、栄養となる。その後消化され残った物は、口から排泄される。



■目的

本実習の目的は下記する2点である。

- (1) ヒドラの体の構造をスケッチすることで理解する。
- (2) 4種類の実験処理を通して、摂食時における獲物の認識メカニズムを考察する。

以上の実験を行い、そして下記する課題に答えてレポートを提出する。

- ・課題1：ヒドラの体の構造及び特徴について観察し、スケッチする。
- ・課題2：摂食行動はどのようなステップを経ているのか（どのように獲物を認識し、口へ運び、嚥下、消化するのかなど）を観察に基づいて考察する。

■実験手順

- (1) 各自ヒドラの入ったシャーレを取り、実体顕微鏡や肉眼でヒドラをよく観察しスケッチする。
- (2) ヒドラにおける獲物の認識メカニズムの解析（テーブル1）。
 - ① 1枚目のシャーレ中のヒドラにパスツールピペットを用いてヒドラ飼育水を与え^{注1}、行動を観察する。
 - ② 2枚目のシャーレ中のヒドラに生きているアルテミア幼生をパスツールピペットで与え^{注2}、行動を観察する。
 - ③ 3枚目のシャーレ中のヒドラにアルコール抽出した幼生を同様に与え、行動を観察する。
 - ④ 4枚目のシャーレ中のヒドラにグルタチオン溶液^{注3用語9}を同様に与え、行動を観察

する。

テーブル1. ヒドラへの実験処理

実験処理			
ヒドラ飼育水①	生きている アルテミア②	アルコール処理済 み アルテミア③	グルタチオン 溶液④
ヒドラの行動			

■ポイントやトラブルシューティング

注1：ピペットの先をヒドラの口に近づけて穏やかに与える。

注2：パストゥールピペットを他の処理などに使いまわさないこと（グルタチオン溶液を吸ったパストゥールピペットを使ってアルコール処理済みアルテミアをヒドラに処理すると、ヒドラはパストゥールピペットに残っていたグルタチオン溶液に反応してしまう可能性がある）。

注3：分量の目安はピペットの先1 cm くらい。

■実習を成功させるための留意点

実習前

- ・ 生きたアルテミア、アルコール処理したアルテミア、グルタチオン溶液はそれぞれ、1.5 ml のチューブなどに入れ配る。
- ・ ヒドラの用意には少なくとも2週間は時間を設けておく。
- ・ 餌であるアルテミアも4日ほど余裕をもって準備すること。室温の条件などにより上手く孵化せず、アルテミアが不足する場合がある。
- ・ パストゥールピペットは、処理ごとに分けて使う必要があるため、色違いのテープなどを貼り区別する。

実習中

- ・ 摂餌実験は、それぞれの処理ごとに約5分間の連続観察が望ましい。
- ・ パストゥールピペットを他の処理などに使いまわさないように注意させる。

実習後

- ・ 考察のための方向性のある程度は絞っておかないと、アルコール処理した餌は生きていないといった曖昧な視点で文章を書いてくる学生がよく見られる。
- ・ グルタチオン溶液を添加したプラスチックシャーレを使い回す場合、良く洗うこと。シ

シャーレに付着しているグルタチオンにヒドラが反応してしまい、実験結果が上手く出ない場合がある。

■本実験の発展

- ・ 別項のヒドラの解離と構成細胞の観察・同定と組み合わせることが可能。

●資料

■使用する材料など

- ・ チクビヒドラ (*Hydra magnipapilata*) (4 – 5 匹/シャーレ) : 飼育方法や入手方法は『ヒドラの飼育法』へ。
- ・ アルテミア (*Artemia salina*) (1 ml/ 1.5 ml チューブ) : ヒドラの餌。飼育方法や入手方法は『アルテミア乾燥卵の孵化法』へ。Pack 1ml あたり 75 ml のヒドラ水の割合で準備する
- ・ アルコール処理済みアルテミア (1 ml/ 1.5 ml チューブ) : アルテミアをアルコール処理した事により細胞内物質が除かれている。ヒドラの摂食行動にアルテミアの細胞内物質がどのような働きをしているか調べるために使われる。

■使用する試薬など

- ・ 10-100 μM グルタチオン溶液 : グルタチオンを 10-100 μM になるようにヒドラ飼育水に溶かす。

グルタチオン	0.30-3 mg
ヒドラ飼育水	10 ml
<hr/>	
10-100 μM グルタチオン溶液	10 ml

- ・ ヒドラ飼育水 : 詳細は『ヒドラの飼育法』へ。

■使用する器具など

- ・ ニップル付きパスツールピペット (4 本/1 人)
- ・ 直径 6 cm のプラスチックシャーレ (3 枚/1 人)
- ・ スケッチ用紙 (1 枚/1 人)
- ・ H 以上の硬質鉛筆 (1 本/1 人)
- ・ 実体顕微鏡 (1 台/1 人)
- ・ ヒドラ回収用の容器 (一つ/教室) : 飼育容器など

■用語解説

- 用語1 (刺胞動物) : 刺胞動物門に属する生物を示す。毒針を持っており、刺激を受けると針糸を放出する。ヒドラのほかにイソギンチャクやクラゲが刺胞動物としてあげられる。
- 用語2 (内胚葉) : 将来、消化管などを形成する細胞集団。発生時、原腸が陥入した後、陥入した細胞集団を示す。
- 用語3 (外胚葉) : 将来、表皮や神経管を形成する細胞集団。原腸が陥入した後、陥入せず外側に残った細胞集団を示す。
- 用語4 (有性生殖) : 生殖には有性生殖と無性生殖の二種類がある。有性生殖とは異なるタイプの細胞同士の融合を介した生殖方法を示す。
- 用語5 (無性生殖) : 一つの個体が一つの個体のみで新しい個体をつくりだす生殖方法を示す。
- 用語6 (クローン) : 同じ遺伝情報をもった個体や細胞の集団を示す。
- 用語7 (刺胞細胞) : 刺胞動物を構成する細胞の一種で、この細胞から針を発射する。
- 用語8 (グルタチオン) : グルタミン酸、システインとグリシンが結合したトリペプチドを示す。

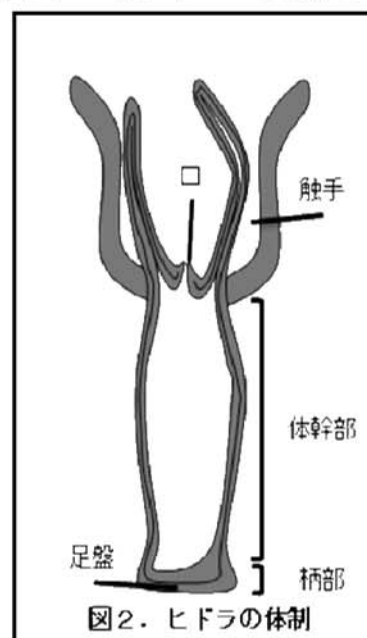
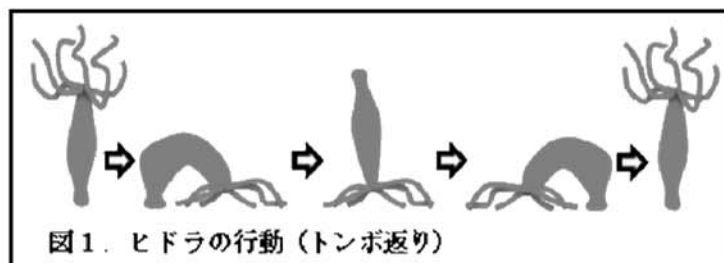
4.ヒドラの摂食行動とその認識 (学生用)

■はじめに

クラゲ、サンゴやイソギンチャクと共に刺胞動物^{用語1}と呼ばれるグループに属するヒドラは、1 cm 前後の淡褐色の動物であり池や沼の石や水草に付着して生活する（とんぼ返りなどで移動することもできる[図1]）。ヒドラという名前は、ギリシャ神話に登場する9頭の頭を持つ蛇に由来する。

ヒドラの体は、内胚葉^{用語2}と外胚葉^{用語3}上皮シートが互いに裏側で接着し合った単純な筒状構造を基本とする（図2）。この筒の一端は開いた状態になっており、食物を取り入れる際に口の機能を果たす。両上皮シートは口の周囲から突出して6本前後の触手を形成し、ヒドラの形態を特徴付けている。また、体幹部には出芽した娘ポリプが見られることもある（ヒドラは卵と精子の受精による有性生殖^{用語4}の他に、遺伝的に同一なクローン^{用語5}を体細胞からつくる無性生殖^{用語6}を行う。このクローンは娘ヒドラと呼ばれる）。

ヒドラは肉食であり、独立した個体として生活するために活発に摂食する。ヒドラの摂食行動は以下のように進行する。獲物が触手に接触すると、刺胞細胞^{用語7}から鋭い繊維が噴出され、獲物の動きを止める（海水浴でクラゲに刺されて痛みを感じるのは、この刺胞に刺されたためである）。次に、触手を縮めながら内側へ巻き込むようにして獲物を口に運び、胃腔（消化管として機能する）へ嚥下し、消化する。消化物は、内胚葉を構成する細胞の一種である消化細胞に吸収され、栄養となる。その後消化され残った物は、口から排泄される。



■目的

本実習の目的は下記する2点である。

- (1) ヒドラの体の構造をスケッチすることで理解する。
- (2) 4種類の実験処理を通して、摂食時における獲物の認識メカニズムを考察

する。

以上の実験を行い、そして下記する課題に答えてレポートを提出する。

- ・課題1：ヒドラの体の構造及び特徴について観察し、スケッチする。
- ・課題2：摂食行動はどのようなステップを経ているのか（どのように獲物を認識し、口へ運び、嚥下、消化するのかなど）を観察に基づいて考察する。

■実験手順

- (1) 各自ヒドラの入ったシャーレを取り、実体顕微鏡や肉眼でヒドラをよく観察しスケッチする。
- (2) ヒドラにおける獲物の認識メカニズムの解析（テーブル1）。
 - ① 1枚目のシャーレ中のヒドラにパスツールピペットを用いてヒドラ飼育水を与え^{注1}、行動を観察する。
 - ② 2枚目のシャーレ中のヒドラに生きているアルテミア幼生をパスツールピペットで与え^{注2}、行動を観察する。
 - ③ 3枚目のシャーレ中のヒドラにアルコール抽出した幼生を同様に与え、行動を観察する。
 - ④ 4枚目のシャーレ中のヒドラにグルタチオン溶液^{注3}用語⁹を同様に与え、行動を観察する。

テーブル1. ヒドラへの実験処理

	実験処理		
ヒドラ飼育水①	生きている アルテミア②	アルコール処理済み アルテミア③	グルタチオン 溶液④

ヒドラの行動

■ポイントやトラブルシューティング

注1：ピペットの先をヒドラの口に近づけて穏やかに与える。

注2：パスツールピペットを他の処理などに使いまわさないこと（グルタチオン溶液を吸ったパスツールピペットを使ってアルコール処理済みアルテミアをヒドラに処理すると、ヒドラはパスツールピペットに残っていたグルタチオン溶液に反応してしまう可能性がある）。

注3：分量の目安はピペットの先1 cm くらい。

●資料

■使用する材料など

- ・チクビヒドラ (*Hydra magnipapilata*)
(4 - 5 匹/シャーレ)
- ・アルテミア (*Artemia salina*)
(1 ml/ 1.5 ml チューブ)
- ・アルコール処理済みアルテミア
(1 ml/ 1.5 ml チューブ)

■使用する試薬など

- ・グルタチオン溶液
- ・ヒドラ飼育水

■使用する器具など

- ・ニップル付きパスツールピペット
(4 本/1 人)
- ・直径 6 cm のプラスチックシャーレ
(3 枚/1 人)
- ・スケッチ用紙 (1 枚/1 人)
- ・H 以上の硬質鉛筆 (1 本/1 人)
- ・実体顕微鏡 (1 台/1 人)
- ・ヒドラ回収用の容器 (1 つ/教室) :

■用語解説

- ・用語 1 (刺胞動物) : 刺胞動物門に属する生物を示す。毒針を持っており、刺激を受けると針糸を放出する。ヒドラのほかにイソギンチャクやクラゲが刺胞動物としてあげられる。
- ・用語 2 (内胚葉) : 将来、消化管などを形成する細胞集団。発生時、原腸が陥入した後、陥入した細胞集団を示す。
- ・用語 3 (外胚葉) : 将来、表皮や神経管を形成する細胞集団。原腸が陥入した後、陥入せず外側に残った細胞集団を示す。
- ・用語 4 (有性生殖) : 生殖には有性生殖と無性生殖の二種類がある。有性生殖とは異なるタイプの細胞同士の融合を介した生殖方法を示す。
- ・用語 5 (無性生殖) : 一つの個体が一つの個体のみで新しい個体をつくりだす生殖方法を示す。
- ・用語 6 (クローン) : 同じ遺伝情報をもった個体や細胞の集団を示す。
- ・用語 7 (刺胞細胞) : 刺胞動物を構成する細胞の一種で、この細胞から針を発射する。
- ・用語 8 (グルタチオン) : グルタミン酸、システインとグリシンが結合したトリペプチドを示す。

5.ヒドラの飼育法

■目的

ヒドラを飼育するために必要な下記する2つの作業を目的とする。

- 1) ヒドラの餌であるアルテミアを与える。
- 2) ヒドラを飼育している容器を洗い、ヒドラ飼育水を交換する。

■使用する材料など

・チクビヒドラ (*Hydra magnipapilata*) : 刺胞動物で淡水棲である。再生能力が高く、昔から研究材料として使われている。国立遺伝学研究所

(<http://www.nig.ac.jp/labs/OntoGen/keitou.html>)から分与可能。

・アルテミア (*Artemia salina*) : ヒドラの餌として使用する。アルテミアの入手法は『アルテミア乾燥卵の孵化法』へ。

■使用する試薬など

・ヒドラ飼育水 : 1×Hydra A, 1× Hydra B, 1× Hydra C (1 mM CaCl₂ 2H₂O, 1 mM NaCl, 1 mM KCl, 1 mM Tris [2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール], 0.1 mM MgSO₄ 7H₂O, pH 7.6)

1000× Hydra A	1 ml
1000× Hydra B	1 ml
1000× Hydra C	1 ml
H ₂ O	997 ml
ヒドラ飼育水	1000 ml

・ 1000× Hydra A

CaCl ₂ 2H ₂ O	73.5 g
NaCl	29.2 g
KCl	3.7 g
H ₂ O	500 ml にメスアップ
1000× Hydra A	500 ml

・ 1000× Hydra B

Tris	60.6 g
H ₂ O	500 ml にメスアップ
1000× Hydra B	500 ml

HCl で pH 7.6 にあわせる。

・ 1000× Hydra C

MgSO ₄ 7H ₂ O	12.3 g
H ₂ O	500 ml にメスアップ
1000× Hydra C	500 ml

■使用する器具など

・ 適当なシャーレなど

■実験手順

1) アルテミア（餌）の与え方。

- ①アルテミアの光に集まる性質（走光性）を利用するため、一方向から光をあて（蛍光灯など）、アルテミアを一箇所に集める^{注1}。
- ②駒込ピペットなどを用いてアルテミアをビーカーに移す。
- ③水道水でぬらした茶こしにアルテミアを注ぎ、濾す^{注2}。
- ④約 50 ml のヒドラ飼育水を茶こしいれ、アルテミアを洗う^{注3}。
- ⑤④の作業を合計 3 回繰り返す。
- ⑥ヒドラ飼育水の中へ均等にアルテミアをまく^{注4}。

2) ヒドラを飼育している容器の洗浄とヒドラ飼育水の交換

- ①アルテミアを与えてから 4 – 5 時間静置する^{注5}。
- ②指や筆を使い飼育容器を撫でることでヒドラと飼育容器の接着をはがす^{注6}。
- ③茶こし、紙くずネットやメッシュなどの上にヒドラ飼育水ごと流し、ヒドラを濾す。
- ④シャーレを水洗いする^{注7}。
- ⑤洗ったシャーレにヒドラ飼育水とヒドラを入れる^{注8}。20℃で飼育する。

■ポイントやトラブルシューティング

注1：アルテミアを孵化させた容器を横から見たとき、沈んでいる物は孵化していない卵、浮いている物は卵の殻。中間にいるが物が孵化したアルテミアである。なるべく中間にいる物を吸うこと。

注2：穴の径がなるべく小さい茶こしを使うこと。そうでないと、アルテミアが濾せない。

注3：アルテミア飼育水に含まれている塩を取除いている。

注4：ヒドラを見渡したとき、ほとんどのヒドラがアルテミアを捕まえたことで触手を丸めていれば良しとする。

注5：ヒドラはアルテミアを食べ、消化し、排出するまでに 4–5 時間かかる。排出した後にシャーレを掃除する。

注6：筆を用いると傷つきやすく増えにくい。毎日掃除する場合は、指のほうが良い。

注7： ヒドラは粘液を出すので、粘液が十分に取除けていることを確認する。

注8： 飼育容器にふたをしないこと。酸欠になってしまう。

・最低でも1回/週で餌やりと容器の掃除を行うこと。ヒドラを増やしたい場合はアルテミアを毎日与え、掃除も毎日する。

・餌であるアルテミアは孵化した当日のものしか基本的には使わない。ただ、孵化後4℃で保存すれば、翌日まで餌として使用できる。

6.アルテミア乾燥卵の孵化法

■目的

ヒドラの餌であるアルテミアを孵化させる。

■使用する材料

・アルテミアの耐性卵（乾燥卵）：節足動物でいわゆるシーモンキー。耐性卵は乾燥状態でも休眠し続ける事が可能であり、それゆえ、魚などの餌に利用されている。今回の場合、アルテミアはヒドラの餌として使われる。アルテミアの耐性卵（乾燥卵）はペットショップなどで入手可能（会社名：テトラ、商品名：テトラ ブラインシュリンプエッグス）。

■使用する試薬

・アルテミア飼育水 1000 ml

天然塩 ^{注1}	20 g
水	1000 ml
アルテミア飼育水	約 1000 ml

■使用する器具

- ・適当なシャーレなど：可能な限り底広の容器が良い^{注2}。
- ・エアープンプ：必須ではない。

■実験手順

1) アルテミアを孵化させる。

- ①シャーレに 1000 ml の飼育水を入れ、静置後、1 g（4000 匹に相当）のアルテミア耐性卵を均一に撒く。
- ②20℃の場合 2 日、30℃の場合 1 日培養し、孵化させる。

■ポイントやトラブルシューティング

^{注1}：アルテミア飼育水の天然塩は NaCl で代用できない。アルテミアが育てるためには NaCl 以外のミネラル分も必要なので、必ず”天然塩”を使用すること。スーパーなどで手に入る。

^{注2}：底が広い容器を使い、乾燥卵がなるべく重なり合わないようにする。そうしないと孵化率が下がる。乾燥卵の重なり合いを防ぐため、エアープンプを使い乾燥卵を飼育容器の中で循環させても良い。

7. シャジクモの観察[生きものは動く] (教員用)

■実験のねらいと特徴

シャジクモの原形質流動を観察することで『植物も積極的に運動している』ことを学ぶ。

■実習の流れ

- ・準備
 - 1) 使用する材料、器具、試薬などを準備する。詳細は『●資料』へ。
 - 2) 班や机ごとに、あらかじめシャジクモを小分けしておく。
- ・前説明
 - 1) シャジクモと原形質流動について説明する。
 - 2) 課題について説明する。
- ・実習中
 - 1) シャジクモの体制の観察と原形質流動の観察を行う。
- ・実習後
 - 1) レポートを作成させ、提出させる。
 - 2) 片付けとシャジクモの回収を行う(シャジクモはその後、水槽に戻して培養する)。

■はじめに

生物が生きていくためには、必要な物質を必要な場所へと運ぶ必要がある。たとえば肺から取り込まれた酸素は血管を通して全身へと運ばれる。また1細胞内においても必要な物質を能動的に運ぶメカニズムは存在する。特に植物細胞は動物細胞に比べてサイズが大きいため、そのメカニズムはより必要とされる。植物における物質の能動的な輸送方法として原形質流動が知られている。この現象にはATP^{用語1}を必要とし、またアクチンフィラメント^{用語1}とそのモータータンパク質^{用語2}であるミオシン^{用語3}により制御されると考えられている。シャジクモ(図1)の原形質流動は非常に観察しやすいため、本実習ではシャジクモを用いる

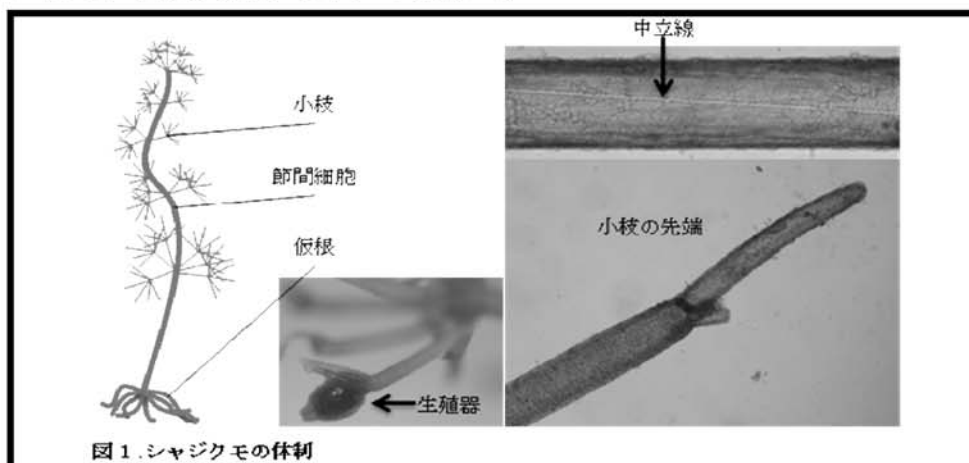


図1. シャジクモの体制

■目的

本実験の目的は下記する1点である。

(1) シャジクモの観察とシャジクモの原形質流動を観察する。

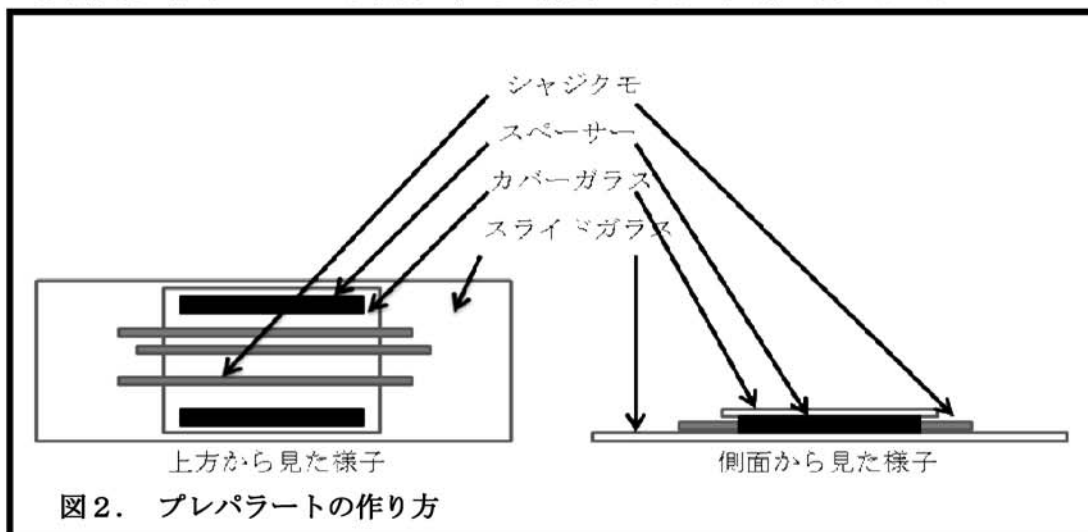
以上の実験を行い、下記する課題に答え、レポートを提出する。

- ・課題1：小枝細胞の観察図（各部の名称を記入する）を完成させる。
- ・課題2：細胞質流動の様子（位置、進行方向、相対速度ならびに中立線との関係に注目）の観察し、記述する。
- ・課題3：この生き物にとって、細胞質流動はいかなる意義を持つと考えられるか考察する。

■実験手順

(1) シャジクモの観察

- ①節間細胞の部分をハサミで切り取り^{注1}、観察用チャンバーにセットする^{注2}（図2）。
- ②低倍率で全体を見て観察に適した部位を選ぶ。
- ③顕微鏡の微動ハンドルを駆使し、その構造の三次元的理解に努める^{注3}。



■ポイントとトラブルシューティング

注1：無駄な小枝を取り除くと、カバーガラスがうまくかけられる。

注2：水を用いて、シャジクモの乾燥を防ぐこと。

注3：プレパラートの作成直後は原形質流動が観察できない場合がある。5-10分ほどおいた後観察すると原形質流動が観察できるようになる場合がある。また、長時間観察していると原形質流動が観察できなくなる場合がある。

- ・なるべく観察したい細胞はピンセットなどでつままないほうがよい。細胞にダメージを与えないため。

■実習を成功させるための留意点

実習前

- ・ シャジクモを必要量確保しておくこと。

実習中

- ・ シャジクモを乾燥させないように注意させる。
- ・ プレパラートを作製した直後は原形質流動しない場合があるが、5分ほど待った後観察すると原形質流動している場合がある。
- ・ プレパラートを作製し長時間経過したものが原形質流動しなくなってしまう場合がある。その場合はつくり直す。

実習後

- ・ シャジクモは回収し、水槽に戻し、育てる。

■本実験の発展

- ・ 原形質流動はアクチンフィラメントにより調節されていることが知られている。したがって、その阻害剤であるサイトカラシンなどを処理することにより、原形質流動におけるアクチンフィラメントの関与を確かめることができる。

●資料

■使用する材料など

- ・ ナガフラスコモ (*Nitella orientalis*) : 水槽に水とシャジクモを入れ、野外で育てている。

■使用する試薬など

- ・ 水

■使用する器具など

- ・ 観察用チャンバー (1つ/1人)
- ・ 光学顕微鏡 (1台/1人)
- ・ はさみ (1つ/1人)
- ・ ピンセット (1つ/1人)

■用語解説

用語1 (ATP) : アデノシンに三つのリン酸が結合したもの。

用語2 (アクチンフィラメント) : 細胞骨格の一つで、アクチンが多数結合し、フィラメント状になったもの。

用語3 (ミオシン) : アクチンフィラメントと結合し、アクチンフィラメント上を移動するモータータンパクの1つ。

8. シャジクモの観察[生きものは動く] (学生用)

■はじめに

生物が生きていくためには、必要な物質を必要な場所へと運ぶ必要がある。たとえば肺から取り込まれた酸素は血管を通して全身へと運ばれる。また1細胞内においても必要な物質を能動的に運ぶメカニズムは存在する。特に植物細胞は動物細胞に比べてサイズが大きいため、そのメカニズムはより必要とされる。植物における物質の能動的な輸送方法として原形質流動が知られている。この現象にはATP^{用語1}を必要とし、またアクチンフィラメント^{用語1}とそのモータータンパク質^{用語2}であるミオシン^{用語3}により制御されると考えられている。シャジクモ(図1)の原形質流動は非常に観察しやすいため、本実習ではシャジクモを用いる。

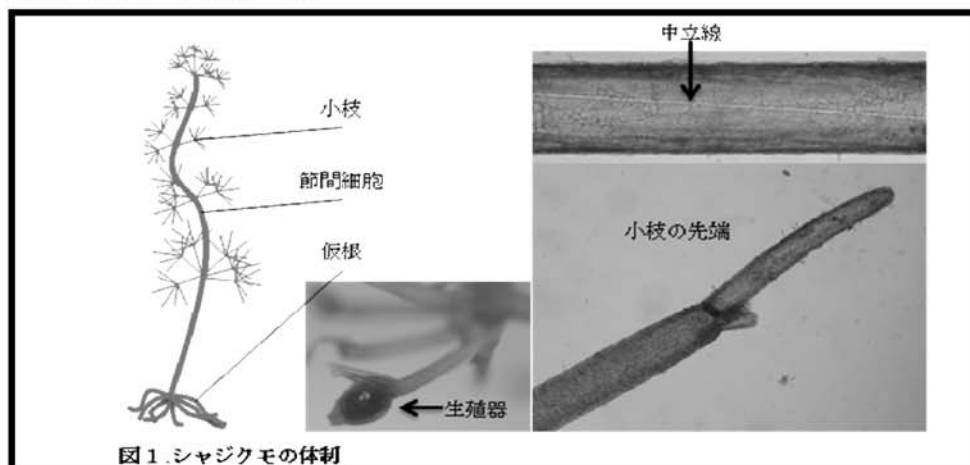


図1 シャジクモの体制

■目的

本実験の目的は下記する1点である。

(1) シャジクモの観察とシャジクモの原形質流動を観察する。

以上の実験を行い、下記する課題に答え、レポートを提出する。

- ・課題1：小枝細胞の観察図(各部の名称を記入する)を完成させる。
- ・課題2：細胞質流動の様子(位置、進行方向、相対速度ならびに中立線との関係に注目)の観察し、記述する。
- ・課題3：この生き物にとって、細胞質流動はいかなる意義を持つと考えられるか考察する。

■実験手順

(1) シャジクモの観察

①節間細胞の部分をハサミで切り取り^{注1}、観察用チャンバーにセットする^{注2}(図2)。

②低倍率で全体を見て観察に適した部位を選ぶ。

③顕微鏡の微動ハンドルを駆使し、その構造の三次元的理解に努める^{注3}。

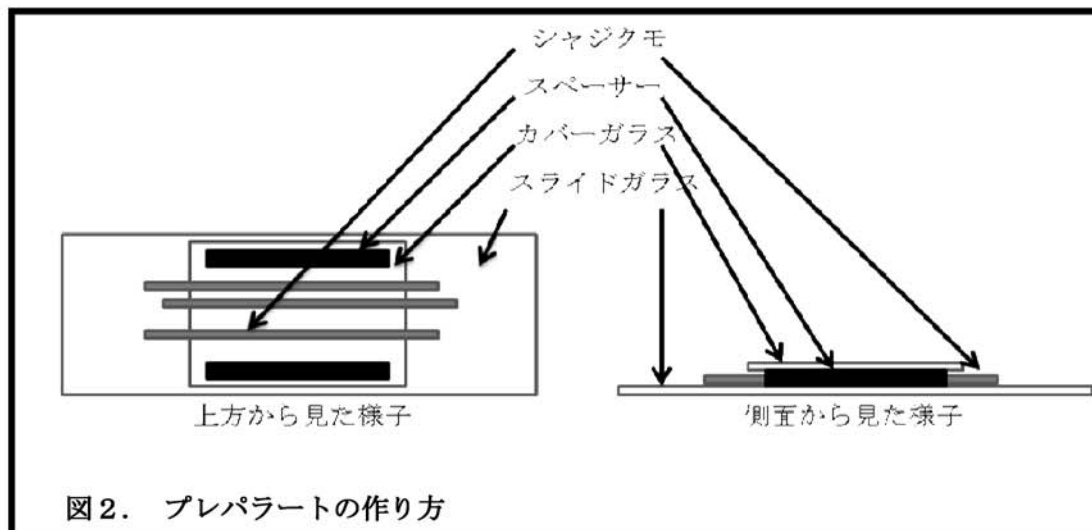


図2. プレパラートの作り方

■ポイントとトラブルシューティング

注1：無駄な小枝を取り除くと、カバーガラスがうまくかけられる。

注2：水を用いて、シャジクモの乾燥を防ぐこと。

注3：プレパラートの作成直後は原形質流動が観察できない場合がある。5-10分ほどおいた後観察すると原形質流動が観察できるようになる場合がある。また、長時間観察していると原形質流動が観察できなくなる場合がある。

- ・なるべく観察したい細胞はピンセットなどでつままないほうがよい。細胞にダメージを与えないため。

■メモ

●資料

■使用する材料など

- ・ナガフラスコモ (*Nitella orientalis*) :
水槽に水とシャジクモを入れ、野外で育てている。

■使用する試薬など

- ・水 (10 ml/試験管)

■使用する器具など

- ・観察用チャンバー (1つ/1人)
- ・光学顕微鏡 (1台/1人)
- ・はさみ (1つ/1人)
- ・ピンセット (1つ/1人)
- ・試験管 (1つ/8人 (班))

■用語解説

- 用語1 (ATP) : アデノシンに三つのリン酸が結合したもの。
- 用語2 (アクチンフィラメント) : 細胞骨格の一つで、アクチンが多数結合し、フィラメント状になったもの。
- 用語3 (ミオシン) : アクチンフィラメントと結合し、アクチンフィラメント上を移動するモータータンパクの1つ。