

9.日照条件とモチノキ（教員用）

■実験のねらいと特徴

日照条件の異なるモチノキの葉を観察することで『植物は環境条件の違いにより形態を変化させる』ということを知る。また、ムラサキツユクサの表皮を観察することで『植物細胞の姿』を知る。

■実験の流れ

- ・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。
- ・前説明
 - 1) 本実験の背景を説明する。
 - 2) 課題について説明する。
- ・実習中
 - 1) モチノキとムラサキツユクサの葉の採取、そして切片の作製とその観察を行う。
- ・実習後
 - 1) レポートを作成させる。

■はじめに

私達を含め、生物の生存は常に環境との相互作用の上に成り立っている。自分自身の存在は周辺へ影響与えると同時に、その存在様式は環境条件の規制を受けている。生物は生息場所で効率よく生きるために巧みな仕掛けをもち、それに適合した体のつくりをしている。

維管束植物^{用語1}は葉でおこなわれる光合成により、生態系のなかで生産者^{用語2}の役割を担っている。一般的に、葉には葉緑体をもった細胞が並んださく状組織^{用語3}があり、ガスを含む空間に富む海綿状組織^{用語4}がそれを裏打ちする。水蒸散やガスの出入りを調節する気孔は、主に葉の裏側にある。しかしながら、例えば水面に葉を浮かべる睡蓮では葉の裏側に気孔があってもガス交換できないため、空気に接する表側表皮に分布する。このように生物は生育環境にあわせた形づくりをしている。

■目的

本実験の目的は下記する二点である。

- (1) 日なたと日陰で育ったモチノキ^{用語5}の葉の違いを探す。
- (2) ムラサキツユクサ^{用語6}の葉の表皮を観察する。

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：テーブル1，2を完成させる。
- ・課題2：テーブル1，2の結果を参考に、日照条件に対する植物の適応について考察する。
- ・課題3：ムラサキツユクサの表皮細胞を観察し、スケッチする。

■実験手順

(1) 日照条件と葉の構造の関係

(1) - 1 : モチノキの葉の観察

① : 日なたで育った葉 (A) と日陰で育った葉 (B) の特徴を肉眼で観察する。

(1) - 2 : 単位面積当たりの生重量の比較

① : A、Bそれぞれの重さを測る。

② : A、Bそれぞれの面積を測る (レポート用紙に葉の型をとり、切り抜き、重さを測る。レポート用紙は 15.5 mg/cm^2)。

③ : A、Bそれぞれの単位面積あたりの生重量を出す (mg/cm^2)。自分以外の人 (5人) からもデータを集め、平均値を出す (テーブル1)。

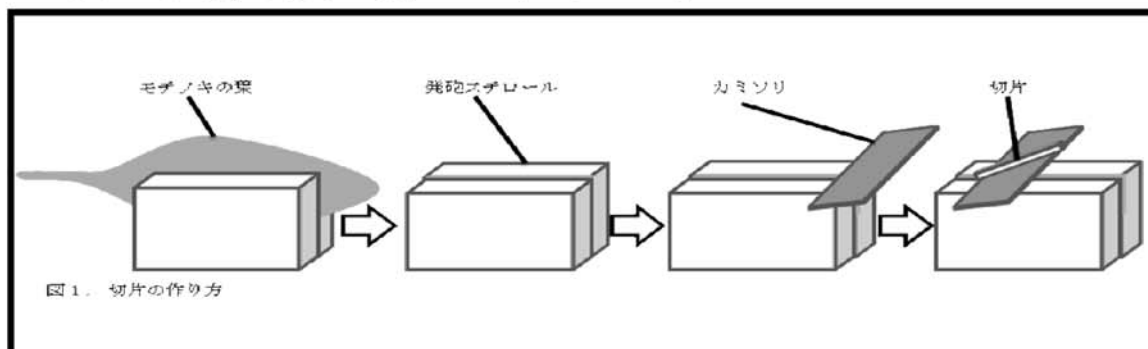
テーブル1. モチノキの葉の生重量

	生重量 (mg/cm^2)					平均値
	自分	1	2	3	4	
A						
B						

(1) - 3 : 葉の構造 (横断面) の観察 (A、Bどちらか一方をスケッチする)

①葉を発泡スチロールにはさみ、発砲スチロールごと薄く削ぐ (図1) 注1。

②水で封入後、顕微鏡で観察しスケッチする注2 3。



(1) - 4 : 葉の厚さとさく状組織の厚さを測定 (A、B両方を測定し、比較する)

①マイクロメーター (15 X 10倍で、1メモリ $10 \mu\text{m}$) を用いて葉の断面とさく状組織の厚さを推定する。

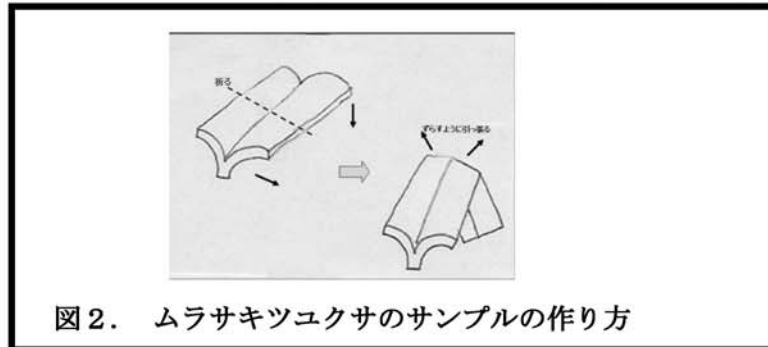
②その測定値から葉の厚さに占めるさく状組織の割合を計算する。自分以外の人 (5人) からもデータを集め、平均値を出す (テーブル2)。

テーブル2. 葉に占めるさく状組織の割合

	さく状組織の割合					平均値
	自分	1	2	3	4	
A						
B						

(2) : 葉の表皮の観察 (ムラサキツユクサ)

図2のように薄皮を剥くようにして、葉の表皮組織を採取し、スケッチする。



■ポイントやトラブルシューティング

注1 : 厚い切片をつくると、さく状組織と海綿状組織を区別しづらい (図3左)。

注2 : 脱気しないと気泡が海綿状組織に残り、観察しづらい (図3中)。

注3 : 脱気した切片は気泡に邪魔される事なく組織を観察できる (図3右)。

- ・脱気にはシリンジを用いると便利。脱気された切片は水に沈むので、脱気されていない切片と区別ができる。
- ・切れ味の良いカミソリを用いること。
- ・ムラサキツユクサの表皮の観察時、気孔の向きや位置に注意し観察する (図4)。

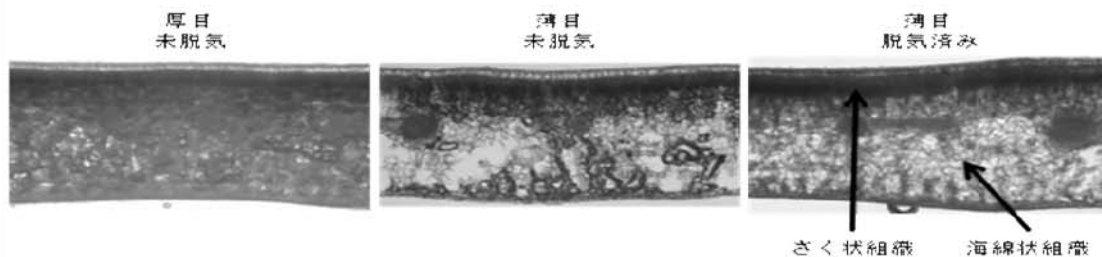


図3. 様々な条件の切片

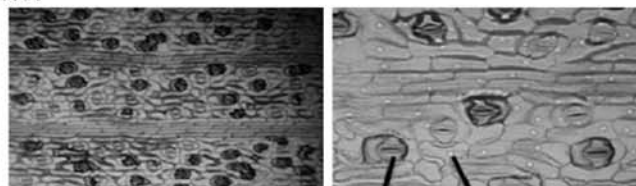


図4. ムラサキツユクサの表皮 気孔 核

■実習を成功させるための留意点

実習前

- ・モチノキが手入れされてしまうと、日陰と日向の葉の違いは観察しづらいと予想される。人の手入れが入っていない木を確保しておくこと。

実習中

- ・可能な限り薄く切片をつくらせるようにすること。
- ・カミソリの取扱いには注意させる。

■本実験の発展

- ・単子葉類と双子葉類の葉（断面や表皮）を観察し、その違いを観察させる事などがあげられる。

●資料

■使用する材料

- ・モチノキ *Ilex integra* の葉（日なた (A)・日陰 (B) から採集)：慶應義塾大学日吉キャンパス内のモチノキを使用。
- ・ムラサキツユクサ (*Tradescantia reflexa*) の葉：慶應義塾大学日吉キャンパス内のムラサキツユクサを使用。

■使用する試薬

- ・水

■使用する器具

- ・発砲スチロール (1つ/1人)
- ・カミソリ (1つ/1人)
- ・光学顕微鏡 (1台/1人)
- ・レポート用紙 (1枚/1人)
- ・観察用チャンバー (1つ/1人)
- ・ピンセット (1つ/1人)

■用語解説

用語1 (維管束植物)：水や光合成による産物を輸送するために使用される木部と師部から厚生される維管束を持つ植物を示す。

用語2 (生産者)：例外はあるが一般的には植物を示す。

用語3 (さく状組織)：葉を構成する組織の一つで、一般的には葉の表側に存在する。葉緑体に富み、比較的密に存在する。

用語4 (海綿状組織)：葉を構成する組織の一つで、一般的には葉の裏側に存在する。さく状

組織とは異なり、低い密度で存在し、細胞間隙に富む。

用語5 (モチノキ) : 日本に幅広く存在する、常緑広葉樹。

用語6 (ムラサキツユクサ) : 単子葉類でありツユクサ科に属する。原形質流動の実験に使われることがある。

10.日照条件とモチノキ（学生用）

■はじめに

私達を含め、生物の生存は常に環境との相互作用の上に成り立っている。自分自身の存在は周辺へ影響与えると同時に、その存在様式は環境条件の規制を受けている。生物は生息場所で効率よく生きるために巧みな仕掛けをもち、それに適合した体のつくりをしている。

維管束植物^{用語1}は葉でおこなわれる光合成により、生態系のなかで生産者^{用語2}の役割を担っている。一般的に、葉には葉緑体をもった細胞が並んださく状組織^{用語3}があり、ガスを含む空間に富む海綿状組織^{用語4}がそれを裏打ちする。水蒸散やガスの出入りを調節する気孔は、主に葉の裏側にある。しかしながら、例えば水面に葉を浮かべる睡蓮では葉の裏側に気孔があってもガス交換できないため、空気に接する表側表皮に分布する。このように生物は生育環境にあわせた形づくりをしている。

■目的

本実験の目的は下記する二点である。

- (1) 日なたと日陰で育ったモチノキ^{用語5}の葉の違いを探す。
- (2) ムラサキツユクサ^{用語6}の葉の表皮を観察する。

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：テーブル1，2を完成させる。
- ・課題2：テーブル1，2の結果を参考に、日照条件に対する植物の適応について考察する。
- ・課題3：ムラサキツユクサの表皮細胞を観察し、スケッチする。

■実験手順

(1) 日照条件と葉の構造の関係

(1) - 1：モチノキの葉の観察

- ①：日なたで育った葉（A）と日陰で育った葉（B）の特徴を肉眼で観察する。

(1) - 2：単位面積当たりの生重量の比較

- ①：A、Bそれぞれの重さを測る。
- ②：A、Bそれぞれの面積を測る（レポート用紙に葉の型をとり、切り抜き、重さを測る。レポート用紙は15.5 mg/cm²）。
- ③：A、Bそれぞれの単位面積あたりの生重量を出す（mg/cm²）。自分以外の人（5人）からもデータを集め、平均値を出す（テーブル1）。

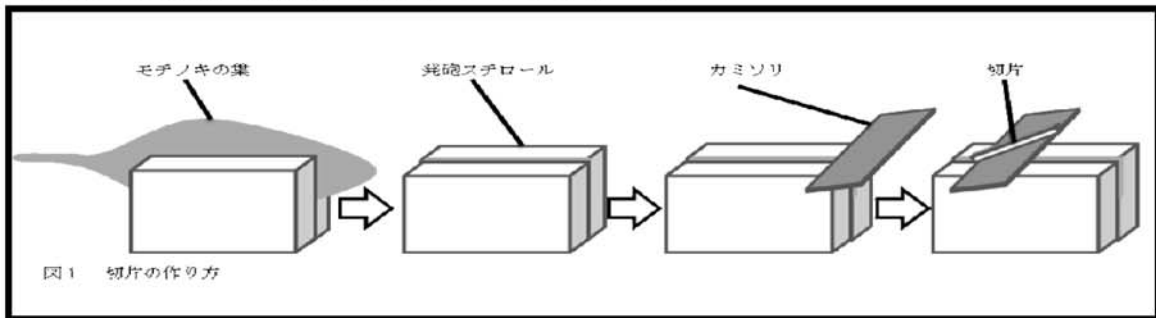
テーブル1. モチノキの葉の生重量

	生重量 (mg/ cm ²)					平均値
	自分	1	2	3	4	
A						
B						

(1) ー3 : 葉の構造 (横断面) の観察 (A, B どちらか一方をスケッチする)

①葉を発泡スチロールにはさみ、発砲スチロールごと薄く削ぐ (図1) 注1.

②水で封入後、顕微鏡で観察しスケッチする注2,3。



(1) ー4 : 葉の厚さとさく状組織の厚さを測定 (A, B 両方を測定し、比較する)

①マイクロメーター (15 X 10 倍で、1メモリ 10 μm) を用いて葉の断面とさく状組織の厚さを推定する。

②その測定値から葉の厚さに占めるさく状組織の割合を計算する。自分以外の人 (5 人) からもデータを集め、平均値を出す (テーブル2)。

テーブル2. 葉に占めるさく状組織の割合

	さく状組織の割合					平均値
	自分	1	2	3	4	
A						
B						

(2) : 葉の表皮の観察 (ムラサキツユクサ)

図2のように薄皮を剥くようにして、葉の表皮組織を採取し、スケッチする。

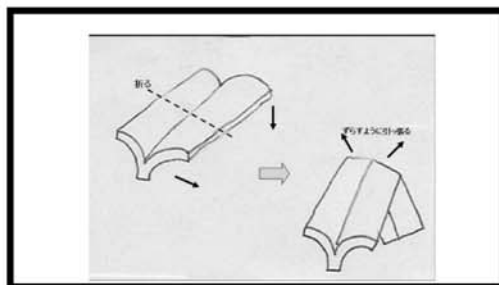


図2. ムラサキツユクのサンプルの作り方

■ポイントやトラブルシューティング

注1：厚い切片をつくると、さく状組織と海綿状組織を区別しづらい（図3左）。

注2：脱気しないと気泡が海綿状組織に残り、観察しづらい（図3中）。

注3：脱気した切片は気泡に邪魔される事なく組織を観察できる（図3右）。

- ・脱気にはシリンジを用いると便利。脱気された切片は水に沈むので、脱気されていない切片と区別ができる。
- ・切れ味の良いカミソリを用いること。
- ・ムラサキツユクサの表皮の観察時、気孔の向きや位置に注意し観察する（図4）。

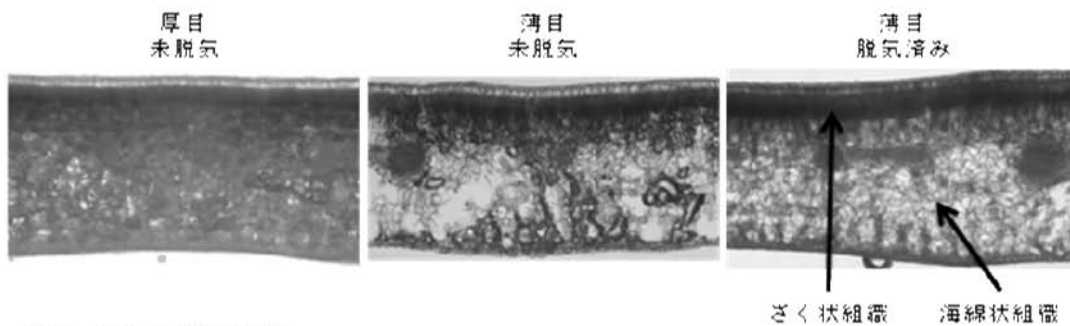


図3. 様々な条件の切片

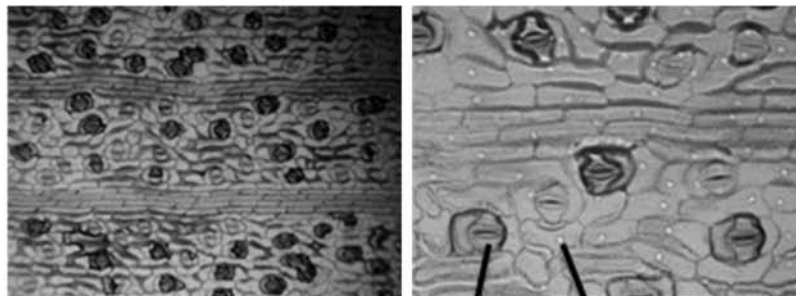


図4. ムラサキツユクサの表皮 気孔 核

■メモ

●資料

■使用する材料

- ・モチノキ *Ilex integra* の葉（日なた (A)・日陰 (B) から採集）：
- ・ムラサキツユクサ (*Tradescantia reflexa*) の葉：

■使用する試薬

- ・水

■使用する器具

- ・発砲スチロール（1つ/1人）
- ・カミソリ（1つ/1人）
- ・光学顕微鏡（1台/1人）
- ・レポート用紙（1枚/1人）
- ・観察用チャンバー（1つ/1人）
- ・ピンセット（1つ/1人）

■用語解説

用語1（**維管束植物**）：水や光合成による産物を輸送するために使用される木部と師部から厚生される維管束を持つ植物を示す。

用語2（**生産者**）：例外はあるが一般的には植物を示す。

用語3（**さく状組織**）：葉を構成する組織の一つで、一般的には葉の表側に存在する。葉緑体に富み、比較的密に存在する。

用語4（**海綿状組織**）：葉を構成する組織の一つで、一般的には葉の裏側に存在する。さく状組織とは異なり、低い密度で存在し、細胞間隙に富む。

用語5（**モチノキ**）：日本に幅広く存在する、常緑広葉樹。

用語6（**ムラサキツユクサ**）：単子葉類でありツユクサ科に属する。原形質流動の実験に使われることがある。

11.ゾウリムシの観察[生体膜の機能の理解](教員用)

■実験のわらいと特徴

ゾウリムシの食胞と収縮胞を観察することにより、『生体膜の性質や働き』を学ぶ。

■実習の流れ

・実験の準備

- 1) 使用する材料、器具、試薬などを準備する。詳細は『●資料』へ。

・前説明

- 1) 生体膜について説明する（エンドサイトーシス、エクソサイトーシスと半透性についての説明）。
- 2) ゾウリムシを説明する（食胞と収縮胞について）
- 3) 課題について説明する。

・実験中

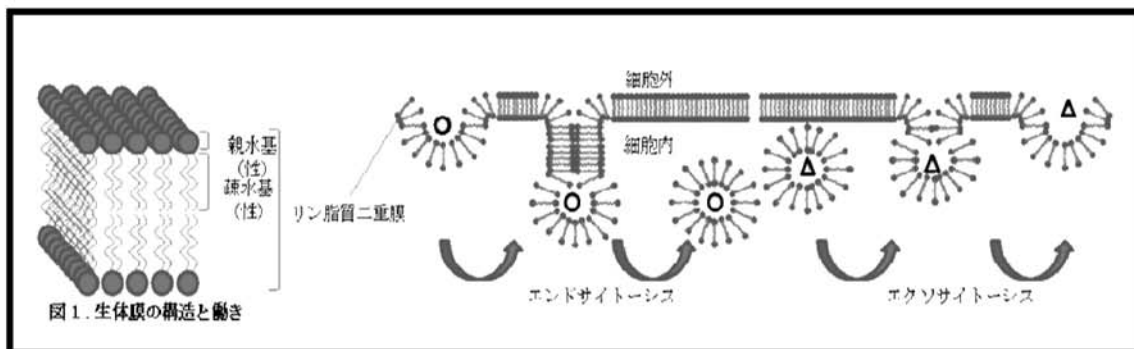
- 1) ゾウリムシのスケッチを行わせる。
- 2) 食胞を観察させる。
- 3) 収縮胞の収縮頻度を測定させる。

・実験後

- 1) レポートを作成させる。
- 2) 残ったゾウリムシを回収し、片付けを行う。

■はじめに

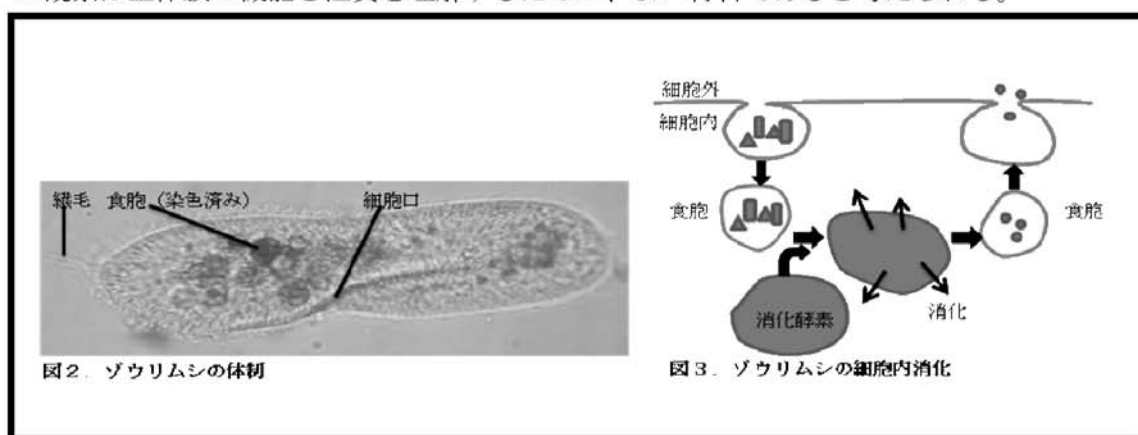
生物は細胞膜を用いて外界と明確な境界をつくる。そして、細胞膜で囲まれた内部環境を一定の条件に保つように働く。細胞膜は油の層で構成されているが、生命は「水」のあるところに存在するため、油はなじまない。そこで、油の分子は片側に水になじむ分子をつけ、油側が向かい合ってならば、親水性の端が外になる二重の層「リン脂質の二重膜」を生物はつくりだした（図1）。



このリン脂質の膜にタンパク質が割り込んだのが、生体膜である。生体膜を構成する分子達は、タンパク質も含め、自由に動く（流動モザイクモデル）。したがって、細胞外にあるものを、膜に包んで（小胞として）細胞に取り入れ（エンドサイトーシス）、また、細胞内のものを膜に包んで運び、排出（エクソサイトーシス）するメカニズムが発達したと考

えられる (図1)。

原生生物用語¹であるゾウリムシ用語² (図2) は細胞口から食胞用語³により餌をとらえて細胞内へと取り込む。その後、低 pH が至適 pH の消化酵素を含んだ小胞が食胞と融合して餌を消化する。そして未消化な物を排出する。この過程はエンドサイトーシスとエクソサイトーシスをともなう現象である (図3)。細胞膜の特徴として、それら以外にも例えば半透性があげられる。淡水に生息するゾウリムシの細胞内は外界よりも浸透圧が高い。したがって、水は細胞内に入り込み、そのうちに膨らみ、破裂してしまうはずである。しかし、ゾウリムシは生息している。それは、ゾウリムシには収縮胞用語⁵とよばれる器官をもち、収縮胞が細胞内に入り込んだ水を細胞外へくみ出すからである。ゾウリムシの食胞と収縮胞の観察は生体膜の機能と性質を理解するための、よい材料であると考えられる。



■目的

本実験の目的は下記する2点である。

- (1) ゾウリムシとその食胞を観察する。
- (2) 培養液中とコンゴレット溶液中にいるゾウリムシの収縮胞を観察し、収縮頻度を測定する。

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：ゾウリムシをスケッチする。
- ・課題2：食胞の色の変化を観察することにより、細胞内で何が起きているのか考察する。
- ・課題3：培養液中と牛乳中にいるゾウリムシの収縮胞の収縮の頻度を測定し、なぜそのような違いが生じるか、考察する。

■実験手順

(1) - 1 ゾウリムシの観察

- ①スライドガラスに米粒大のメチルセルロースをのせる。
- ②ピペットでゾウリムシ懸濁液を一滴とり、スライドガラス上に滴下する。
- ③メチルセルロースとゾウリムシ懸濁液とチップや爪楊枝で良くかきまぜる。

- ④カバーガラスをかけて顕微鏡で観察する（スケッチ）。
- (1) - 2 コンゴレット^{注1}を用いたゾウリムシの食胞の観察
- ①スライドガラスに米粒大のメチルセルロースをのせる。
 - ②ピペットでゾウリムシ懸濁液を一滴とり、スライドガラス上に滴下する。
 - ③メチルセルロースとゾウリムシ懸濁液とチップや爪楊枝で良くかきまぜる。
 - ④コンゴレット溶液を1滴滴下し、かきまぜる。
 - ⑤カバーガラスをかけて顕微鏡で観察する^{注2}。
- (2) ゾウリムシの収縮胞の観察
- ① ゾウリムシ懸濁液を2滴とメチルセルロースを混ぜ合わせる。
 - ② カバーガラスをかけて顕微鏡観察し、収縮胞の収縮の頻度を調べる（テーブル1）。
 - ③ ゾウリムシ懸濁液1滴とコンゴレット溶液1滴を混ぜる。そしてさらにメチルセルロースを混ぜ合わせる。
 - ④ カバーガラスをかけて顕微鏡観察し、収縮胞の収縮頻度を調べる（テーブル1）。

テーブル1. 収縮胞の収縮頻度における細胞外液の影響

	培養液中	コンゴレット溶液中
収縮頻度 (回数/分)		

■ポイントとトラブルシューティング

注1：コンゴレットはpHにより呈色を変化させる（メタクロマジー）色素である。

pH7.4:赤, pH 5.0:紫, pH 3.0:青

注1：食胞ないのコンゴレットの色に注目して観察する。

■実習を成功させるための留意点

実習前

- ・ゾウリムシを潤沢に準備しておくことが肝要であり、培養が上手くいかないとヒメゾウリムシばかりが増えて、本実験が効率良く進まない。

実習中

- ・食胞内に取り込まれたコンゴレット溶液（赤色色素）の色の変化が pH の変化を示すことを pH 指示薬の原理とともに事前に伝えておき、口溝から形成される食胞とその内部の色変化に留意することを徹底させておく。

実習後

- ・カバーガラスをゾウリムシの上に置く際に、空気の泡が入らないように事前に練習させ

ておく。

- ・収縮胞がゾウリムシの排出のための細胞内器官であること、そしてそれが浸透圧調節と密接に関与していることを前説明で講義しておき、収縮胞が形成されるダイナミズムに特に着目させる。

■本実験の発展

- ・ゾウリムシの実験を体験させることで、他の原生生物であるアメーバの細胞行動へ興味を喚起できる。
- ・本実験で行った収縮胞の実験をベースに、重金属イオンの収縮胞形成に及ぼす役割の解析実験をとおして、金属イオンがある細胞種にどのような悪影響を及ぼすかを体験させる実験へと発展させることができる。
- ・本実験をベースに原生生物の多様性へと視点をむけた、水辺の原生生物の系統分類実験へと発展させうる。

●資料

■使用する材料など

- ・ゾウリムシ (*Paramecium caudatum*) (5 ml/8人 (班)) : 5-10 匹/1 滴ほどの密度にし、試験管に分注しておく。もし密度が低い場合は、手回し遠心機などを利用して、密度を調節すること。ゾウリムシの飼育法は『ゾウリムシの飼育法』へ。

■使用する試薬など

- ・メチルセルロース : 適当量。1.5 ml チューブなどに小分けしておく。
- ・コンゴレット溶液 (1 ml/8人 (班)) : 市販の牛乳にコンゴレットの粉末を適当量溶かす。1.5 ml チューブなどに分注しておく。

■使用する器具など

- ・スライドグラス (1枚/1人)
- ・ピペット : (1本/1人)
- ・光学顕微鏡 (1台/1人)
- ・試験管 (1つ/8人 (班))
- ・1.5 ml チューブ (2つ/8人 (班))

■用語解説

用語1 (現生生物) : 生物の分類の一つ。19世紀、ヘッケルが生物の分類をこれまでの2界説(動物と植物)から原生生物を分離させ、3界説(動物、植物と原生生物とした)。

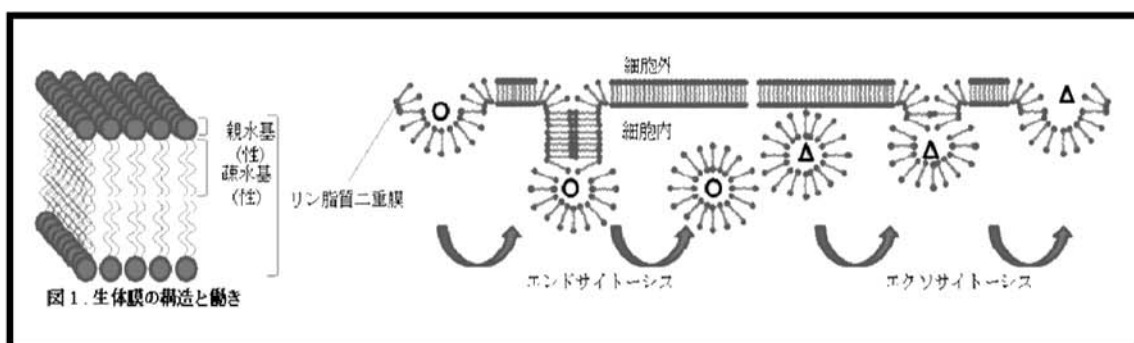
用語2 (ゾウリムシ) : 原生生物。草履のような形態をしている。細胞表面に繊毛を持ち、それらの動かすことにより、移動することができる。

用語3 (食胞) : 細菌や有機物を消化するために、ゾウリムシの細胞口からエンドサイトーシスにより取り込まれた小胞を示す。

12.ゾウリムシの観察[生体膜の機能の理解](学生用)

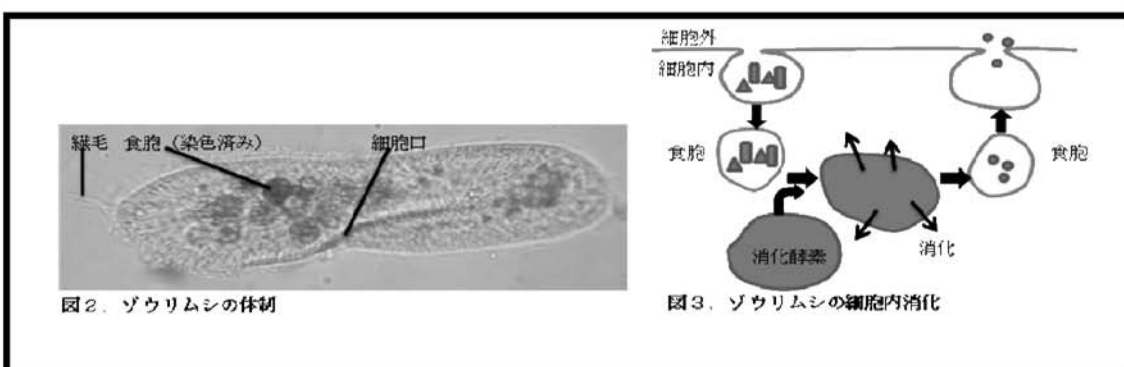
■はじめに

生物は細胞膜を用いて外界と明確な境界をつくる。そして、細胞膜で囲まれた内部環境を一定の条件に保つように働く。細胞膜は油の層で構成されているが、生命は「水」のあるところに存在するため、油はなじまない。そこで、油の分子は片側に水になじむ分子をつけ、油側が向かい合ってならび、親水性の端が外になる二重の層「リン脂質の二重膜」を生物はつくりだした(図1)。



このリン脂質の膜にタンパク質が割り込んだのが、生体膜である。生体膜を構成する分子達は、タンパク質も含め、自由に動く(流動モザイクモデル)。したがって、細胞外にあるものを、膜に包んで(小胞として)細胞に取り入れ(エンドサイトーシス)、また、細胞内のものを膜に包んで運び、排出(エクソサイトーシス)するメカニズムが発達したと考えられる(図1)。

原生物^{用語1}であるゾウリムシ^{用語2}(図2)は細胞口から食胞^{用語3}により餌をとらえて細胞内へと取り込む。その後、低pHが至適pHの消化酵素を含んだ小胞が食胞と融合して餌を消化する。そして未消化な物を排出する。この過程はエンドサイトーシスとエクソサイトーシスをともなう現象である(図3)。細胞膜の特徴として、それら以外にも例えば半透性があげられる。淡水に生息するゾウリムシの細胞内は外界よりも浸透圧が高い。したがって、水は細胞内に入り込み、そのうちに膨らみ、破裂してしまうはずである。しかし、ゾウリムシは生息している。それは、ゾウリムシには収縮胞^{用語5}とよばれる器官をもち、収縮胞が細胞内に入り込んだ水を細胞外へくみ出すからである。ゾウリムシの食胞と収縮胞の観察は生体膜の機能と性質を理解するための、よい材料であると考えられる。



■目的

本実験の目的は下記する2点である。

- (1) ゾウリムシとその食胞を観察する。
- (2) 培養液中とコンゴレット溶液中にいるゾウリムシの収縮胞を観察し、収縮頻度を測定する。

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：ゾウリムシをスケッチする。
- ・課題2：食胞の色の変化を観察することにより、細胞内で何が起きているのか考察する。
- ・課題3：培養液中と牛乳中にあるゾウリムシの収縮胞の収縮の頻度を測定し、なぜそのような違いが生じるか、考察する。

■実験手順

(1) -1 ゾウリムシの観察

- ①スライドガラスに米粒大のメチルセルロースをのせる。
- ②ピペットでゾウリムシ懸濁液を一滴とり、スライドガラス上に滴下する。
- ③メチルセルロースとゾウリムシ懸濁液とチップや爪楊枝で良くかきまぜる。
- ④カバーガラスをかけて顕微鏡で観察する(スケッチ)。

(1) -2 コンゴレット^{注1}を用いたゾウリムシの食胞の観察

- ①スライドガラスに米粒大のメチルセルロースをのせる。
- ②ピペットでゾウリムシ懸濁液を一滴とり、スライドガラス上に滴下する。
- ③メチルセルロースとゾウリムシ懸濁液とチップや爪楊枝で良くかきまぜる。
- ④コンゴレット溶液を1滴滴下し、かきまぜる。
- ⑤カバーガラスをかけて顕微鏡で観察する^{注2}。

(2) ゾウリムシの収縮胞の観察

- ①ゾウリムシ懸濁液を2滴とメチルセルロースを混ぜ合わせる。
- ②カバーガラスをかけて顕微鏡観察し、収縮胞の収縮の頻度を調べる(テーブル1)。
- ③ゾウリムシ懸濁液1滴とコンゴレット溶液1滴を混ぜる。そしてさらにメチルセルロースを混ぜ合わせる。
- ④カバーガラスをかけて顕微鏡観察し、収縮胞の収縮頻度を調べる(テーブル1)。

テーブル1. 収縮胞の収縮頻度における細胞外液の影響

	培養液中	コンゴレット溶液中
収縮頻度 (回数/分)		

■ポイントとトラブルシューティング

注1：コンゴレットはpHにより呈色を変化させる（メタクロマジー）色素である。

pH7.4:赤, pH 5.0:紫, pH 3.0:青

注1：食胞ないのコンゴレットの色に注目して観察する。

■メモ

●資料

■使用する材料など

- ・ゾウリムシ (*Paramecium caudatum*) (5 ml/8人 (班))

■使用する試薬など

- ・メチルセルロース
- ・コンゴレット溶液 (1 ml/8人 (班))

■使用する器具など

- ・スライドグラス (1枚/1人)
- ・ピペット (1本/1人)
- ・光学顕微鏡 (1台/1人)
- ・試験管 (1つ/8人 (班))
- ・1.5 ml チューブ (2つ/8人 (班))

■用語解説

用語1 (現生生物)：生物の分類の一つ。19世紀、ヘッケルが生物の分類をこれまでの2界説（動物と植物）から原生生物を分離させ、3界説（動物、植物と原生生物とした）。

用語2 (ゾウリムシ)：原生生物。草履のような形態をしている。細胞表面に繊毛を持ち、それらの動かすことにより、移動することができる。

用語3 (食胞)：細菌や有機物を消化するために、ゾウリムシの細胞口からエンドサイトーシスにより取り込まれた小胞を示す。

13.ゾウリムシの運動（教員用）

■実験のねらいと特徴

ゾウリムシに金属イオンを処理することにより、『金属イオンが繊毛運動に影響を与える』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。
- ・前説明
 - 1) ゾウリムシの繊毛についての説明（金属イオンが繊毛運動を阻害することなど）
 - 2) 課題についての説明
- ・実習中
 - 1) ゾウリムシの遊泳を観察させる。
 - 2) 繊毛運動における金属イオンの影響を観察させる。
- ・実習後
 - 1) レポートを作成させる。
 - 2) 残ったゾウリムシを回収する。

■はじめに

原生物^{用語1}であるゾウリムシ^{用語2}は単細胞で構成されている（図1）。細胞の表面には繊毛が存在し、その繊毛が有効打と回復打と呼ばれる二種類の運動を繰り返すことによってゾウリムシは遊泳している。繊毛は中心に二本、そしてその周囲に9本の軸糸で形成され、その軸糸は細胞骨格^{用語3}として知られている微小管^{用語4}から構成されている。繊毛の運動はカルシウムイオンにより制御されていると考えられている。

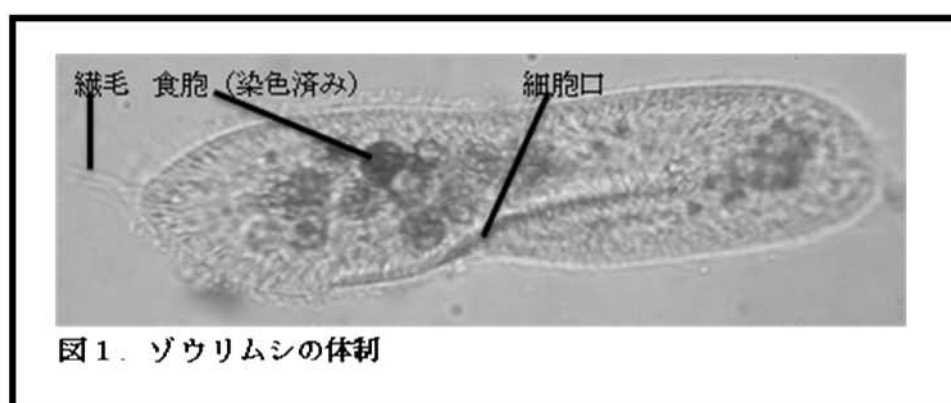


図1. ゾウリムシの体制

■目的

本実習では下記する2点を目的とする。

- (1) ゾウリムシの観察
- (2) ゾウリムシの金属イオン^{注1}に対する影響の観察

以上の実験を行い、その後下記する課題に答え、レポートを提出する。

- ・課題1：ゾウリムシを観察する（数、泳ぐ速度、方向、パターン、泳ぎ方など）。図示してもよい。
- ・課題2：テーブル1を完成させ、図1のようなグラフを完成させる。

■実験手順

(1)：ゾウリムシの観察

- ①1滴のゾウリムシ懸濁液を取りスライドガラスにのせ観察する^{注2}。数、泳ぐ速度、方向、パターン、泳ぎ方に注目して観察する。

(2)：ゾウリムシの金属イオン^{注1}に対する影響の観察

以降の実験は2人1組で行い、互いに1種類の金属イオンを担当すること

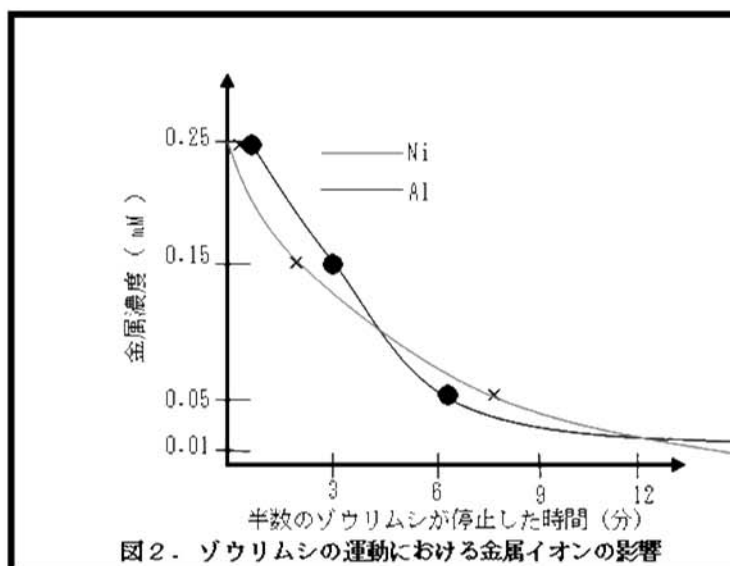
- ①(1)の①で用いたゾウリムシ懸濁液に金属イオン溶液を1滴追加し^{注3}、3分間連続観察後、3分おきに12分まで観察する（テーブル1、2）。
- ②(2)の①と同様の方法で、その他の濃度の溶液を処理したときの半数のゾウリムシが停止した時間を記録する（テーブル1、2）。
- ③パートナーの結果を写す。表は相手の記載が多い場合は要点のみでよい。グラフはAlとNiの結果を重ねて近似曲線で描く（図2を参考にすること）。

テーブル1. ゾウリムシの運動に対するアルミニウムイオンの影響

	金属イオン(Al)溶液の濃度 (mM)			
	0.01	0.05	0.15	0.25
運動停止までの時間(分)				

テーブル2. ゾウリムシの運動に対するニッケルイオンの影響

	金属イオン(Ni)溶液の濃度 (mM)			
	0.01	0.05	0.15	0.25
運動停止までの時間(分)				



■ポイントとトラブルシューティング

注1 : Ca は繊毛の振幅と波形の方向を調整するが、Al、Ni はその Ca の働きを阻害する。

注2 : ゾウリムシは水面近くに集まっている。よく混ぜないと適当な数が取れない。うまく取れない時は軽くピペッティングする方法を教える。

注3 : 勢いよくニップルを押しすぎない(多すぎ)、ピペットの先に空気を入れない(少なすぎ)、ピペットの先をスライドグラス上の溶液にはつけない。

■実習を成功させるための留意点

実習前

・ ゾウリムシを潤沢に準備しておくことが肝要であり、培養が上手くいかないとヒメゾウリムシばかりが増えて、本実験が効率良く進まない。

実習中

・ カバーガラスをゾウリムシの上に置く際に、空気の泡が入らないように事前に練習させておく。

■本実験の発展

『ゾウリムシの観察』と組み合わせることができる。

●資料

■使用する材料など

・ ゾウリムシ (*Paramecium caudatum*) (5 ml/試験館) : 約 10 匹/1 滴ほどの密度にしておく。もし密度が低い場合は、手回し遠心機などを利用して、密度を調節すること。

■使用する試薬など

- 0.5 mM 塩化アルミニウム 6 水和物溶液 (5 ml/試験館) : 100 mM 塩化アルミニウム 6 水和物溶液 1ml に H₂O で 200ml にメスアップ。
- 0.3 mM 塩化アルミニウム 6 水和物溶液 (5 ml/試験館) : 100 mM 塩化アルミニウム 6 水和物溶液 0.3ml に H₂O で 200ml にメスアップ。
- 0.1 mM 塩化アルミニウム 6 水和物溶液 (5 ml/試験館) : 100 mM 塩化アルミニウム 6 水和物溶液 0.2ml に H₂O で 200ml にメスアップ。
- 0.02 mM 塩化アルミニウム 6 水和物溶液 (5 ml/試験館) : 100 mM 塩化アルミニウム 6 水和物溶液 0.04ml に H₂O で 200ml にメスアップ。

• 100 mM 塩化アルミニウム 6 水和物溶液

塩化アルミニウム 6 水和物	1.2 g
H ₂ O	100 ml
<hr/>	
100 mM 塩化アルミニウム 6 水和物	約 100 ml

- 0.5 mM 塩化ニッケル 6 水和物溶液 (5 ml/試験館) : 100 mM 塩化ニッケル 6 水和物溶液 1ml に H₂O で 200ml にメスアップ。
- 0.3 mM 塩化ニッケル 6 水和物溶液 (5 ml/試験館) : 100 mM 塩化ニッケル 6 水和物溶液 0.3 ml に H₂O で 200ml にメスアップ。
- 0.1 mM 塩化ニッケル 6 水和物溶液 (5 ml/試験館) : 100 mM 塩化ニッケル 6 水和物溶液 0.2ml に H₂O で 200ml にメスアップ。
- 0.02 mM 塩化ニッケル 6 水和物溶液 (5 ml/試験館) : 100 mM 塩化ニッケル 6 水和物溶液 0.04ml に H₂O で 200ml にメスアップ。

• 100 mM 塩化ニッケル 6 水和物溶液

塩化ニッケル 6 水和物	1.18 g
H ₂ O	100 ml
<hr/>	
100 mM 塩化ニッケル 6 水和物	約 100 ml

■使用する器具など

- 試験管 (9本/2人 (班))
- 試験管立て (1台/2人)
- パスツールピペット (9本/2人)
- スライドガラス (8枚/2人)
- ストップウォッチ (2つ/2人)
- キムワイプ : 適当
- 定規 (1つ/2人)
- 廃液入れ (2つ/1クラス)

■用語解説

用語¹ **(原生生物)**：生物の分類の一つ。19世紀、ヘッケルがこれまでの2界説（動物と植物）から原生生物を分離させ3界説（動物、植物と原生生物とした）。

用語² **(ゾウリムシ)**：原生生物。草履のような形態をしている。細胞表面に繊毛を持ち、それらの動かすことにより、移動することができる。

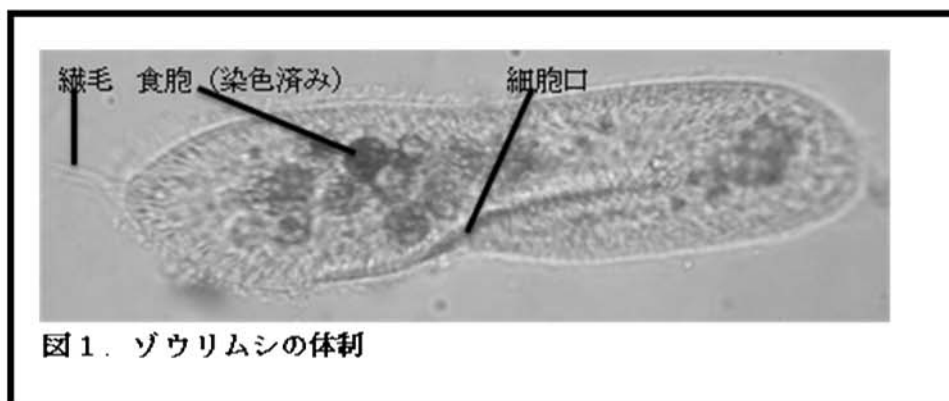
用語³ **(細胞骨格)**：繊維状の構造をし、細胞の形態維持、細胞分裂、繊毛運動や筋収縮に働く。細胞骨格には中間径フィラメント、アクリフィラメントと微小管の3種類からなる。

用語⁴ **(微小管)**：細胞骨格の一つ。 α チューブリンと β チューブリンのヘテロ二量体を基本単位とし、中空のチューブ構造をとる。

14.ゾウリムシの運動 (学生用)

■はじめに

原生物^{用語1}であるゾウリムシ^{用語2}は単細胞で構成されている (図1)。細胞の表面には繊毛が存在し、その繊毛が有効打と回復打と呼ばれる二種類の運動を繰り返すことによってゾウリムシは遊泳している。繊毛は中心に二本、そしてその周囲に9本の軸糸で形成され、その軸糸は細胞骨格^{用語3}として知られている微小管^{用語4}から構成されている。繊毛の運動はカルシウムイオンにより制御されていると考えられている。



■目的

本実習では下記する2点を目的とする。

- (1) ゾウリムシの観察
- (2) ゾウリムシの金属イオン^{注1}に対する影響の観察

以上の実験を行い、その後下記する課題に答え、レポートを提出する。

- ・課題1：ゾウリムシを観察する (数、泳ぐ速度、方向、パターン、泳ぎ方など)。図示してもよい。
- ・課題2：テーブル1を完成させ、図1のようなグラフを完成させる。

■実験手順

(1)：ゾウリムシの観察

- ①1滴のゾウリムシ懸濁液を取りスライドガラスにのせ観察する^{注2}。数、泳ぐ速度、方向、パターン、泳ぎ方に注目して観察する。

(2)：ゾウリムシの金属イオン^{注1}に対する影響の観察

以降の実験は2人1組で行い、互いに1種類の金属イオンを担当すること

- ①(1)の①で用いたゾウリムシ懸濁液に金属イオン溶液を1滴追加し^{注3}、3分間連続観察後、3分おきに12分まで観察する (テーブル1、2)。
- ②(2)の①と同様の方法で、その他の濃度の溶液を処理したときの半数のゾウリムシ

が停止した時間を記録する（テーブル1、2）。

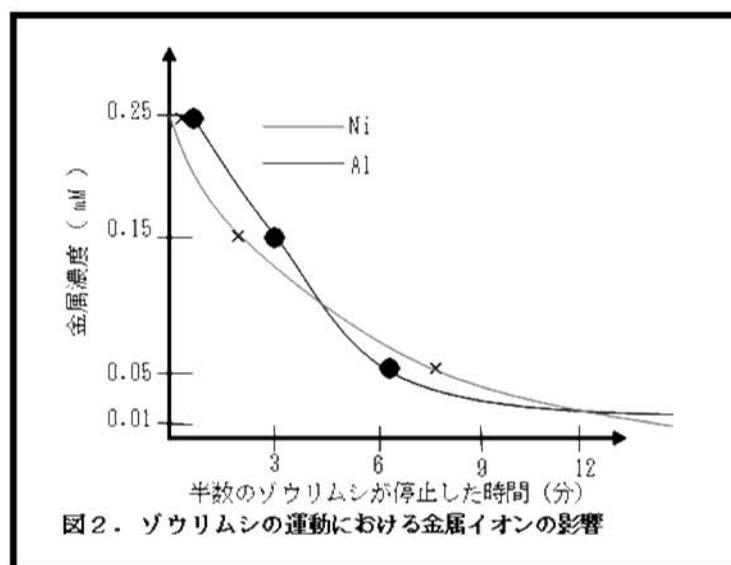
③パートナーの結果を写す。表は相手の記載が多い場合は要点のみでよい。グラフはAlとNiの結果を重ねて近似曲線で描く（図2を参考にすること）。

テーブル1. ゾウリムシの運動に対するアルミニウムイオンの影響

	金属イオン(Al)溶液の濃度 (mM)			
	0.01	0.05	0.15	0.25
運動停止までの時間(分)				

テーブル2. ゾウリムシの運動に対するニッケルイオンの影響

	金属イオン(Ni)溶液の濃度 (mM)			
	0.01	0.05	0.15	0.25
運動停止までの時間(分)				



■ポイントとトラブルシューティング

注1 : Ca は繊毛の振幅と波形の方向を調整するが、Al、Ni はそのCaの働きを阻害する。

注2 : ゾウリムシは水面近くに集まっている。よく混ぜないと適当な数が取れない。うまく取れない時は軽くピペッティングする方法を教える。

注3 : 勢いよくニップルを押しすぎない（多すぎ）、ピペットの先に空気を入れない（少なすぎ）、ピペットの先をスライドグラス上の溶液にはつけない。

■メモ

●資料

■使用する材料など

・ゾウリムシ(*Paramecium caudatum*) (5 ml/試験館)

■使用する試薬など

・0.5 mM 塩化アルミニウム 6 水和物溶液 (5 ml/試験館)

・0.3 mM 塩化アルミニウム 6 水和物溶液 (5 ml/試験館)

・0.1 mM 塩化アルミニウム 6 水和物溶液 (5 ml/試験館)

・0.02 mM 塩化アルミニウム 6 水和物溶液 (5 ml/試験館)

・0.5 mM 塩化ニッケル 6 水和物溶液 (5 ml/試験館)

・0.3 mM 塩化ニッケル 6 水和物溶液 (5 ml/試験館)

・0.1 mM 塩化ニッケル 6 水和物溶液 (5 ml/試験館)

・0.02 mM 塩化ニッケル 6 水和物溶液 (5 ml/試験館)

■使用する器具など

・試験管 (9本/2人 (班))

・試験管立て (1台/2人)

・パストゥールピペット (9本/2人)

・スライドガラス (8枚/2人)

・ストップウォッチ (2つ/2人)

・キムワイプ: 適当

・定規 (1つ/2人)

・廃液入れ (2つ/1クラス)

■用語解説

用語1 (原生生物): 生物の分類の一つ。19世紀、ヘッケルがこれまでの2界説(動物と植物)から原生生物を分離させ3界説(動物、植物と原生生物とした)。

用語2 (ゾウリムシ): 原生生物。草履のような形態をしている。細胞表面に繊毛を持ち、それらの動かすことにより、移動することができる。

用語3 (細胞骨格): 繊維状の構造をし、細胞の形態維持、細胞分裂、繊毛運動や筋収縮に働く。細胞骨格には中間径フィラメント、アクリンフィラメントと微小管の3種類からなる。

用語4 (微小管): 細胞骨格の一つ。 α チューブリンと β チューブリンのヘテロ二量体を基本単位とし、中空のチューブ構造をとる。

15. ゾウリムシの飼育法

■目的

ゾウリムシ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) ゾウリムシの培養液をつくる。
- 2) ゾウリムシの培養液にゾウリムシを植え継ぐ。

■実験手順

(1) : ゾウリムシの培養液の作製

- ①稲わら 5本程度を約 8 cm 程度に切る。
- ②1000 ml の水道水が入った鍋に切ったわらを全て入れる。
- ③鍋に火をかけ、15分沸騰させる。
- ④完全にさます。

(2) : ゾウリムシの植え継ぎ

- ①大体 300 ml の培養液が入る容器^{注1}に 200 ml の培養液を入れる^{注2}。
- ②ゾウリムシの懸濁液を 1-2 ml 吸い取り^{注3}、新しい培養液に混ぜる。
- ③ふた^{注4}をし、20℃、遮光した条件で培養する^{注5注6}。
- ④ゾウリムシを維持する目的ならば、1回/3か月の頻度で植え継ぐ。実習などで、大量にゾウリムシが必要な場合には、必要な日の約 2-3 週間前に植え継ぐこと。

■ポイントとトラブルシューティング

注1 : ビーカーなどでもいいが、コーヒーの空きビンなどでも良い。

注2 : 稲わらも培養液と一緒に容器に入れる。

注3 : ゾウリムシは負の走地性があるため、水面の近くに集まっている。したがって、なるべく水面近くの培養液を取り、植え継ぐこと。

注4 : 容器にスポンジや紙でふたをすること。

注5 : 室温で培養しても問題ないが、夏場、培養液の温度が 28 度以上にならないように注意すること。

注6 : 時々様子を観察して、培養液が蒸発し減ってきたら、水道水を加える。

- ・ゾウリムシはわら煮出し汁に発生する枯草菌を食べて増殖する。
- ・ゾウリムシ以外にもワムシなども増えるので、注意すること。

■使用する材料など

- ・ゾウリムシ (*Paramecium caudatum*)

■使用する試薬など

・稲わら: 荒縄などでもよい。Web で調べる限り、ほかにも豆乳、パンイースト、レタスなどを用いている場合がある。

- ・水道水

■使用する器具など

- 鍋：
- 培養瓶：なるべく広口の容器が良い（三角フラスコよりもビーカーなど）。
- ピペット：ゾウリムシを移すために使うだけなので、必須ではない。
- はさみ：稲わらを切るために使用する。
- インキュベーター：必須ではない。

16.メダカ色素細胞の観察（教員用）

■実験のねらいと特徴

剥離したメダカのウロコに存在する色素細胞を用いて、色素顆粒が神経伝達物質などで制御される様子を観察することで『体色変化のメカニズム』を理解させる。

■実習のながれ

・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) メダカからウロコを剥がし、人数分のプレパラートを作る（ウロコ2-3枚/観察用チャンバー）。

・前説明

- 1) 体色変化と色素胞、色素顆粒の関係を説明する。
- 2) 課題について説明する。

・実習中

- 1) ウロコや色素細胞の観察とスケッチを行う。
- 2) 色素顆粒の移動における神経伝達物質の影響の観察とスケッチを行う。

・実習後

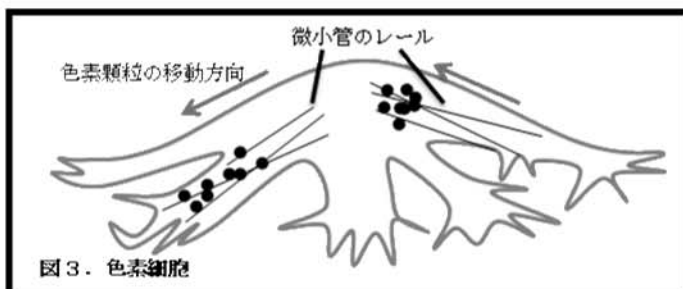
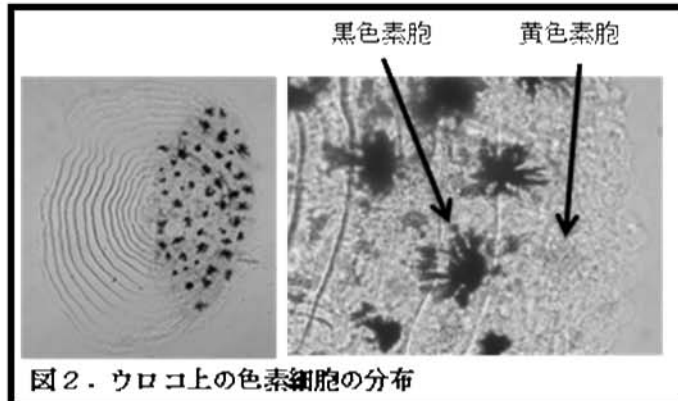
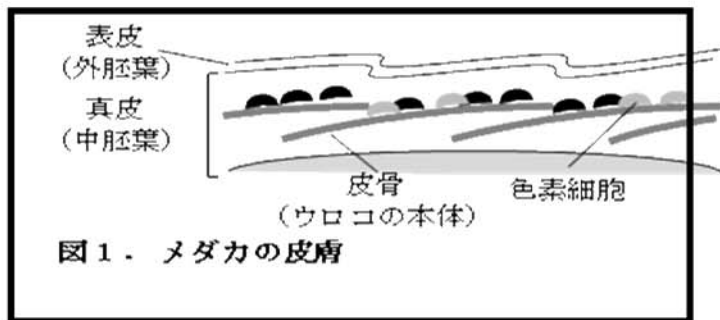
- 1) レポートを完成させる。
- 2) 片付けを行う。

■はじめに

多くの動物は種に固有の体色を有しているが、それは必ずしも一定ではなく、環境などの変化に応じてダイナミックに変化する場合がある（カメレオンやタコなど）。魚類の場合、ウロコに存在する数種の色素細胞群は、それぞれの色素顆粒を細胞質内に持ち、色素顆粒を色素細胞内で拡散、凝集させることで個体の体色を変化させる（テーブル1、図1、2、3）。体色を決定する色素細胞内の色素顆粒の動態は、外界の環境の変化（色調など）を認識し応答する。その過程に、交感神経系^{用語1}が関与し、働いている事が知られている。

テーブル1. 5種類色素細胞

細胞種	色調	色素顆粒	色素物質
虹色素胞	金属光沢（虹色、反射光）	イリドソーム（反射小板）	プリン類
白色素胞	可視光線反射（白）	リューコソーム	プリン類
赤色素胞	黄橙～赤色	カロチノイド、プテリノソーム	カロチン、プテリジン
黄色素胞	黄～橙色	カロチノイド、プテリノソーム	カロチン、プテリジン
黒色素胞	茶～黒褐色	メラノソーム	メラニン



■目的

本実習では下記する2点を目的とする

- (1) メダカのウロコに存在する各種色素細胞の形態的特徴やウロコ内の分布パターンを観察し、スケッチする。
- (2) 色素顆粒の動態を調節するホルモンを色素細胞に処理することにより、ホルモンの役割を調べる。

以上の実験を行い、その後下記する課題に答え、レポートを提出する。

- ・課題1：ウロコ全体図及びそれぞれの色素胞をスケッチする（色素胞の分布、数、形態）。
- ・課題2：無処理（生理食塩水）や各試薬処理下での色素顆粒の分布と、それぞれの条件での予想される個体レベルの体色を表にまとめる。
- ・課題3：神経制御を介した体色変化の生理学的意味について考察する。

■実験方法

(1) ウロコ全体の観察（色素細胞の分布・形態）

- ①黒色素胞、黄色素胞を低倍率（対物×10）で明視野観察し、ウロコ上での分布を調べる。
- ②白色素胞を低倍率（対物×10）で暗視野観察し、ウロコ上での分布を調べる。
- ③黒色素胞の微細構造を高倍率（対物×40）で明視野観察する。

(2) 色素顆粒の移動におけるホルモンの影響

- ①エピネフリン^{用語2}をカバーガラスの隅に滴下し^{注1}、反対側からろ紙で吸い取る（図4）。
- ②3種類の色素胞（黒、黄、白色素胞）について、色素顆粒におけるホルモンの影響を観察する（テーブル2）。

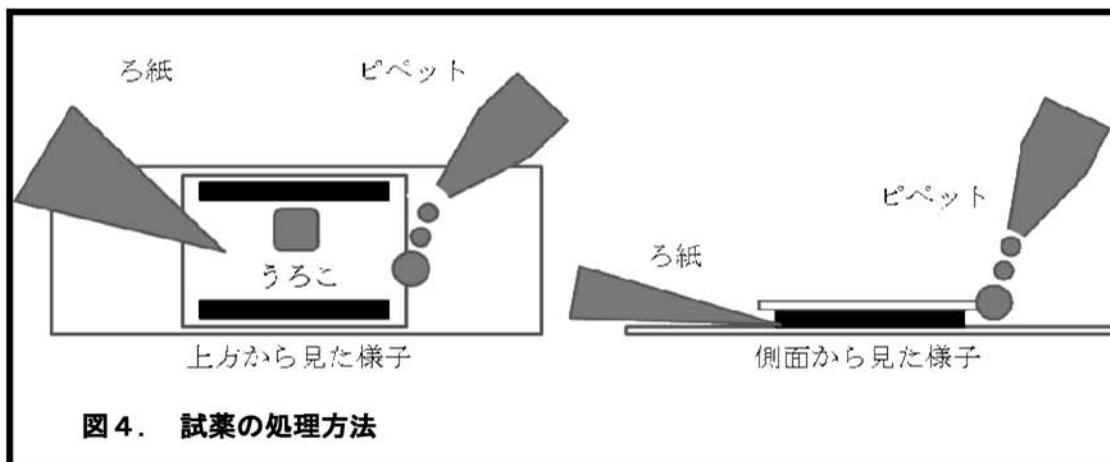


図4. 試薬の処理方法

- ③テオフィリン^{用語2}を用いて、エピネフリンと同様のことを行う^{注2}（テーブル2）。

テーブル2. 色素胞におけるエピネフリンとテオフィリンの影響

	黒色素胞	黄色素胞	白色素胞
エピネフリン・処理前			
エピネフリン・処理後			
テオフィリン・処理前			
テオフィリン・処理後			

■ポイントとトラブルシューティング

注1：静かに滴下しないと、ウロコが視野から消えてしまう場合がある。

注2：完全にエピネフリンを除去するため、数回リンガー液で洗うこと。

■実験を成功させるための留意点

実習前

- ・ 学生には剥離したウロコを封入したプレパラートを渡す(各自に剥離させると、メダカを過剰に痛めつけることになってしまう。なれた人が扱えば 60 人ほどのクラスでも 3 匹ぐらいのウロコで間に合い、メダカも生還させられる)。
- ・ 皮骨側を上にして観察用チャンバーにのせる。

実習中

- ・ まず、低倍でウロコ全体を観察しスケッチさせる。次に色素細胞の分布域に注目させる。
- ・ 暗視野にして、白色素胞を見る。黒色素胞に重なって、点状に見えるはずである。数は少ない。
- ・ テオフィリン処理時、エピネフリン処理時より、入れ替える回数を多くしないと影響が観察されない場合がある。

●資料

■使用する材料

- ・ **メダカ (*Oryzias latipes*) の背側ウロコ (図 5 の白矢印)** : メダカはペットショップなどで入手可能。ガーゼでメダカをそっとおさえ、尾のほうから身体に平行に先の細いピンセットを動かして、ウロコを塊で剥がし、リンガー液に入れる。その後、実体顕微鏡の元で 1 枚ずつはがす。

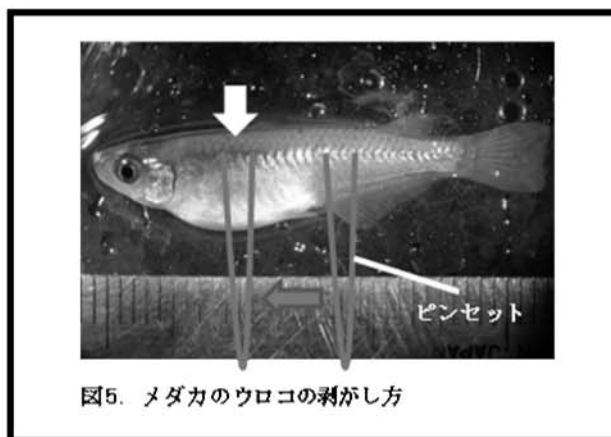


図5. メダカのウロコの剥がし方

■使用する試薬

- ・ **メダカリンガー液 (1 ml/1.5 ml チューブ) :**

NaCl	780 mg
KCl	20 mg
CaCl ₂	21 mg
H ₂ O	1000 ml にメスアップ
メダカリンガー液	1000 ml

NaHCO₃ 溶液を用いて pH 7.3 とする。冷蔵庫で保存

- 10 μM エピネフリン溶液 (1 ml/1.5 ml チューブ) : アドレナリンとして使用。構造式は C₉H₁₃NO₃。分子量は 183.2。

10 mM エピネフリン溶液	10 μl
メダカリンガー液	10 ml
10 μM エピネフリン溶液	約 10 ml

- 10 mM エピネフィン溶液 (ストック溶液)

エピネフリン	1.832 mg
蒸留水	1 ml
10 mM エピネフリン溶液	1 ml

エピネフリン 1.832 mg に 0.1N の HCl を 1 滴加え溶かす。遮光して、冷蔵庫で保存。

- 10 mM テオフィリン溶液 (1 ml/1.5 ml チューブ) : 構造式は C₇H₈N₄O₂。分子量は 180.17。

テオフィリン	18 mg
メダカリンガー液	10 ml
10 mM テオフィリン溶液	10 ml

■使用する器具など

- 観察用チェンバー : スライドガラス中央部に細いビニールテープをカバーガラスのサイズに合わせて長軸に方向に二本貼る (左右端から液の交換がしやすい)。

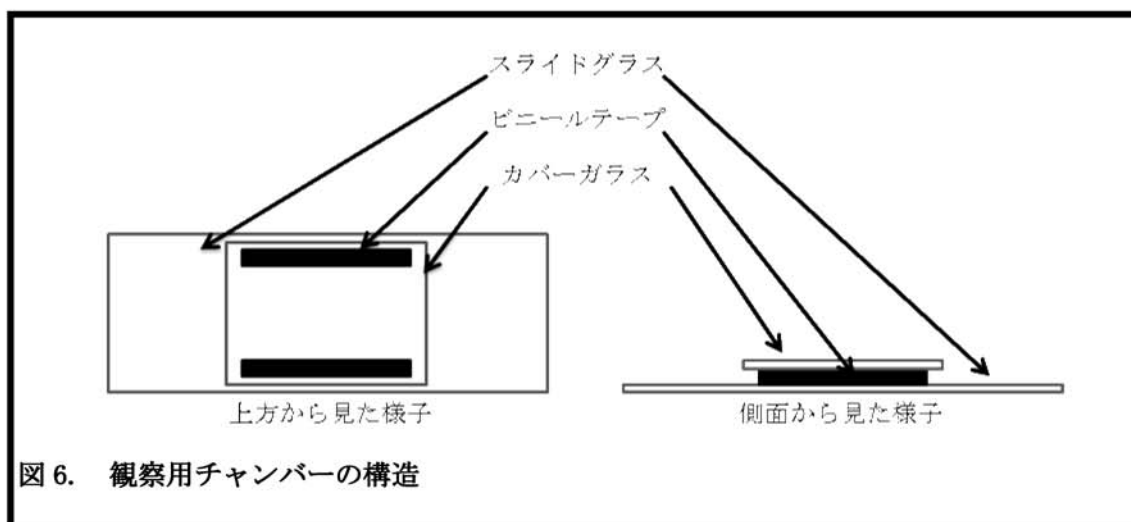


図 6. 観察用チャンバーの構造

- ・パストゥールピペット (3本1人)
- ・ろ紙 (適当量)
- ・光学顕微鏡 (1台/1人)

■用語解説

用語1 (交感神経系) : 自律神経系 (交感神経系と副交感神経系) の一つ。おもにストレスなどに応答して働く。

用語2 (エピネフリン) : 交感神経伝達物質であるアドレナリン (副腎髄質ホルモン) の異なる呼び名。α-, β-アドレナリン作用受容体に作用する。生体内では伝達物質の分解、回収などにより反応が終了するが、実験系ではテオフィリンに置き換えることにより代行する。

■参考

- ・神経末端から標的細胞に放出された神経伝達物質は細胞膜の受容体 (レセプター) で受容され、細胞内情報伝達系を活性化して、それぞれの細胞に固有の一連の反応 (カスケード制御) の引き金を引く。同じ化学物質に曝されても受容体を持たない細胞では反応は生じない。
- ・色素細胞は神経冠細胞から離脱・移動し、胚内各所に落ち着いた細胞たちの子孫である。したがって分化した後も神経系とは深い関係にある。
- ・ヒメダカはメラニン顆粒成熟途上の突然変異体で異型のメラニン顆粒をもつ。
- ・色素成分のうち、黄色素胞のカロチンは、動物体内では生成されないため経口的に摂取されたものである。

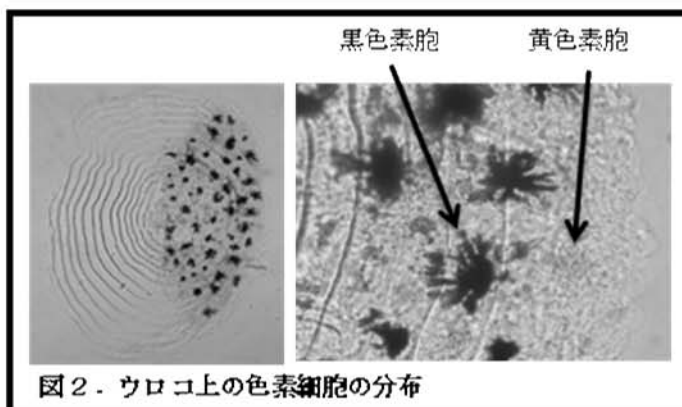
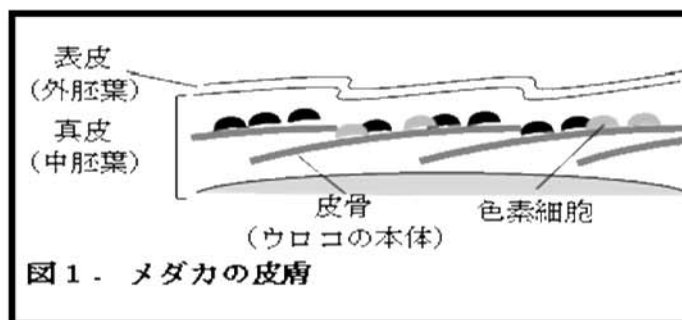
17.メダカ色素細胞の観察（学生用）

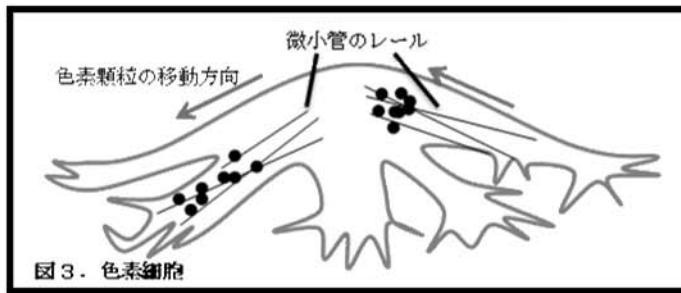
■はじめに

多くの動物は種に固有の体色を有しているが、それは必ずしも一定ではなく、環境などの変化に応じてダイナミックに変化する場合がある（カメレオンやタコなど）。魚類の場合、ウロコに存在する数種の色素細胞群は、それぞれの色素顆粒を細胞質内に持ち、色素顆粒を色素細胞内で拡散、凝集させることで個体の体色を変化させる（テーブル1、図1、2、3）。体色を決定する色素細胞内の色素顆粒の動態は、外界の環境の変化（色調など）を認識し応答する。その過程に、交感神経系^{用語1}が関与し、働いている事が知られている。

テーブル1. 5種類色素細胞

細胞種	色調	色素顆粒	色素物質
虹色素胞	金属光沢（虹色、反射光）	イリドソーム（反射小板）	プリン類
白色素胞	可視光線反射（白）	リュウコソーム	プリン類
赤色素胞	黄橙～赤色	カロチノイド、 プテリノソーム	カロチン、 プテリジン
黄色素胞	黄～橙色	カロチノイド、 プテリノソーム	カロチン、 プテリジン
黒色素胞	茶～黒褐色	メラノソーム	メラニン





■目的

本実習では下記する2点を目的とする

- (1) メダカのウロコに存在する各種色素細胞の形態的特徴やウロコ内の分布パターンを観察し、スケッチする。
- (2) 色素顆粒の動態を調節するホルモンを色素細胞に処理することにより、ホルモンの役割を調べる。

以上の実験を行い、その後下記する課題に答え、レポートを提出する。

- ・課題1：ウロコ全体図及びそれぞれの色素胞をスケッチする（色素胞の分布、数、形態）。
- ・課題2：無処理（生理食塩水）や各試薬処理下での色素顆粒の分布と、それぞれの条件での予想される個体レベルの体色を表にまとめる。
- ・課題3：神経制御を介した体色変化の生理学的意味について考察する。

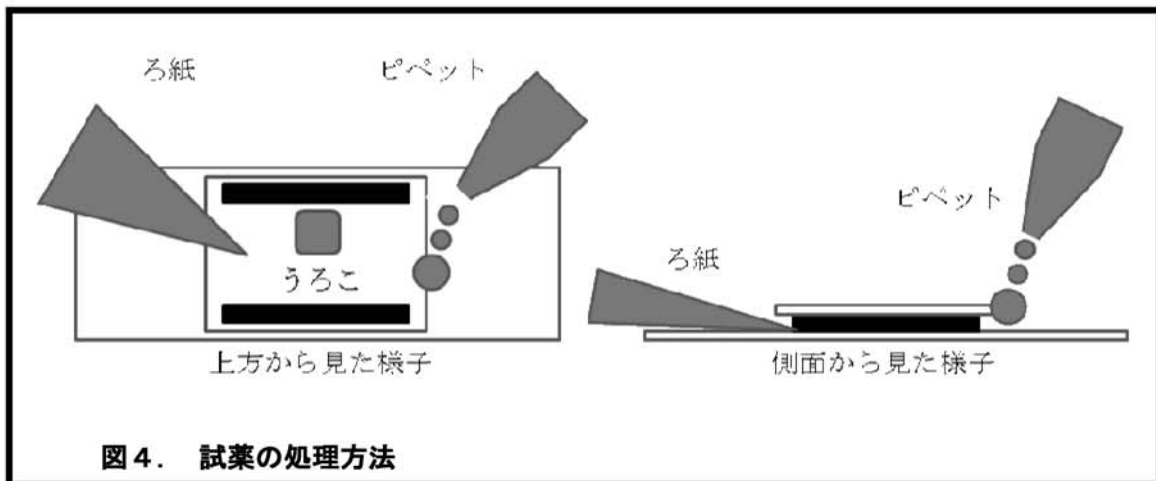
■実験方法

(1) ウロコ全体の観察（色素細胞の分布・形態）

- ①黒色素胞、黄色素胞を低倍率（対物×10）で明視野観察し、ウロコ上での分布を調べる。
- ②白色素胞を低倍率（対物×10）で暗視野観察し、ウロコ上での分布を調べる。
- ③黒色素胞の微細構造を高倍率（対物×40）で明視野観察する。

(2) 色素顆粒の移動におけるホルモンの影響

- ①エピネフリン^{用語2}をカバーガラスの隅に滴下し^{注1}、反対側からろ紙で吸い取る（図4）。
- ②3種類の色素胞（黒、黄、白色素胞）について、色素顆粒におけるホルモンの影響を観察する（テーブル2）。



③テオフィリン^{用語2}を用いて、エピネフリンと同様のことを行う^{注2}（テーブル2）。

テーブル2. 色素胞におけるエピネフリンとテオフィリンの影響

	黒色素胞	黄色素胞	白色素胞
エピネフリン・処理前			
エピネフリン・処理後			
テオフィリン・処理前			
テオフィリン・処理後			

■ポイントとトラブルシューティング

注1：静かに滴下しないと、ウロコが視野から消えてしまう場合がある。

注2：完全にエピネフリンを除去するため、数回リンガー液で洗うこと。

■メモ

●資料

■使用する材料

- ・メダカ (*Oryzias latipes*) の背側ウロコ

■使用する試薬

- ・メダカリンガー液
(1 ml/1.5 ml チューブ)
- ・エピネフリン溶液
(1 ml/1.5 ml チューブ)

- ・テオフィリン溶液
(1 ml/1.5 ml チューブ)

■使用する器具など

- ・観察用チェンバー (1 枚/1 人)
- ・パスツールピペット (3 本/1 人)
- ・ろ紙 (適当量)
- ・光学顕微鏡 (1 台/1 人)

■用語解説

用語1 (交感神経系)： 自律神経系 (交感神経系と副交感神経系) の一つ。おもにストレスなどに応答して働く。

用語2 (エピネフィン)： 交感神経伝達物質であるアドレナリン (副腎髄質ホルモン) の異なる呼び名。α-, β-アドレナリン作用受容体に作用する。生体内では伝達物質の分解、回収などにより反応が終了するが、実験系ではテオフィリンに置き換えることにより代行する。

■参考

- ・ 神経末端から標的細胞に放出された神経伝達物質は細胞膜の受容体 (レセプター) で受容され、細胞内情報伝達系を活性化して、それぞれの細胞に固有の一連の反応 (カスケード制御) の引き金を引く。同じ化学物質に曝されても受容体を持たない細胞では反応は生じない。
- ・ 色素細胞は神経冠細胞から離脱・移動し、胚内各所に落ち着いた細胞たちの子孫である。したがって分化した後も神経系とは深い関係にある。
- ・ ヒメダカはメラニン顆粒成熟途上の突然変異体で異型のメラニン顆粒をもつ。
- ・ 色素成分のうち、黄色素胞のカロチンは、動物体内では生成されないため経口的に摂取されたものである。