

単細胞生物の観察

【目的】

単細胞生物であるゾウリムシやミドリムシを観察し、細胞器官の構造とはたらきを理解するとともに、細胞が生命の基本単位であることを認識する。

【試料】

ゾウリムシ（原生生物界 繊毛虫類[門]）

○単細胞生物で体長 0.17～0.29mm，バクテリアを食べて生きる動物。

下水，池沼，水田，河川などほとんどの水域に棲む。よく見ると培養液中に「存在」が分かる。

○細胞小器官の名称とはたらき

- ①繊毛：全身にあり，これを動かして螺旋状に回転して泳ぐ。
- ②収縮胞：前後に計2個ある。体の中に入ってくる水を排泄する。背側にある。
- ③食胞：細胞内に取り込んだ餌を消化吸収する。いろいろな大きさのものがある。
- ④細胞口：細胞内に餌を取り込む口。腹側にある。

※核（大核，小核）は染色しないと見えない。

○培養方法

- ①コーヒーなどの空きビンをよく洗って乾かす。
- ②数センチの長さに切ったワラを多量の水（5～10 g / 1000mL）とともに鍋で10～15分ほど（茶褐色になるまで）煮てさます。
- ③ビンに煮たワラを移す。量はビンの口の1/4程度の太さの束とする。
さらに煮汁をビンの8割ぐらい入れふたをのせる。
- ④2～3日放置してバクテリア（枯草菌）を繁殖させた後，ゾウリムシを入れる。
※ビンは薄暗い涼しい所（20～26℃）に置く。1年ぐらい培養できる。

ミドリムシ（原生生物界 ユーグレナ藻類[門]）

○単細胞生物で体長 0.06～0.09mm，光合成で生きている植物。湖沼，ため池などに棲む。

○細胞小器官の名称とはたらき

- ①べん毛：体長ぐらいの長さでこれを動かして光に向かって泳ぐ。細くて見えにくい。
- ②眼点：べん毛のつけ根にある小形で簡単な視覚器。
- ③葉緑体：クロロフィルを含み光合成を行う色素体。

※核は染色しないと見えない。

○培養方法

- ①汲み置きの水でハイポネックスを1000倍に薄めて培養液とする。
- ②空きビンに培養液を深さの8割ほど入れてミドリムシを移す。
南向きで直射日光の当たらない明るい所に静置する。
※培養は比較的簡単

【薬品類】

5 %メチルセルロース（濃度は粘度に応じて調節する）

※80～120cpsのものは5 %程度，400cpsのものは2 %程度が使いやすい。

cpsが高いほど粘度が高く，同じ濃度の水溶液でもcpsが違えば粘度が違う。

なお，水分が蒸発して粘度が高くなったときは蒸留水を加えて調節する。

【観察の方法】

- ①スライドガラス中央に、5%メチルセルロースの小さいプールをつくる。
(爪楊枝を使い直径1cm、穴の大きさ3mm位のドーナツ状に塗る)
- ②穴の中に培養液を1滴入れる。
(メチルセルロースの外に流れ出さない程度がよい)
- ③低～中程度の倍率でそのまま観察し、運動の様子を観察する。
- ④爪楊枝でメチルセルロースと培養液をよくかき混ぜる。
(円を描くように。大きく広げないこと)。
- ⑤カバーガラスをかぶせる。
- ⑥低倍率から高倍率にして観察する。

※遊泳運動を観察するときや長時間観察するときは、ゾウリムシがある程度自由に泳ぎ回ることができるようにしたり、乾燥しないようにしたりする必要があるので、テーパースライドガラスを使って観察する。ホールスライドガラスでも観察できるが、水深があるためピントが合わせにくい。パンチで穴をあけたビニールテープをスライドガラスに貼る。水深が一定しているので、ピントが合わせやすく見やすい。ビニールテープの大きさは、カバーガラスより小さい方がよい。(後始末がしやすいので)

ゾウリムシについて

稲わら培養液のポイント

- ①稲わらを煮沸する前に、農薬を流水で十分洗い流す。
- ②煮沸する時間は、熱耐性の枯草菌の芽胞が発芽すればよいので気にしなくてもよい。
- ③枯草菌の繁殖のために、稲わらを入れたまま培養液として使用する。
※より簡単な培養液として、カロリーメイト(0.1%)やウーロン茶・麦茶を薄めて使用する方法もある。

培養のポイント

- ①密閉せず、通気性の良い状態を保つ。スポンジや紙で蓋をしてもよい。
- ②培養するのであれば、直射日光の当たらない場所で20～26℃(室温)に保つ。28℃以上になると接合能力を発現できなくなるので注意する。
- ③維持するのであれば、1～3か月に1回の頻度で植え継ぐ。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2週間前くらいに植え継ぐとよい。
また、室温で増殖した後、冷蔵庫(約10℃)に保存して細胞分裂回数を遅らせて長生きさせる。
- ④負の走地性のため、水面近くの培養液に、ゾウリムシが集まっているので、この部分をゾウリムシ懸濁液として植え継ぐ。
- ⑤植え継ぐ際、マイクロピペットは、沸騰水の入ったビーカーの中でピペッティングをして消毒する。なお、直後のマイクロピペットは熱いので、これから植え継ごうとする培養液を少量ピペットの先端に吸い上げて冷やしてから行う。

【補足】①ゾウリムシにはヒトと同様に寿命があり、接合後の細胞分裂回数に依存して歳をとる。さらに、次に相当する時期がある。

	未熟期	→	思春期	→	青年期	→	中年期	→	老衰期
細胞分裂回数			約50回				約700回		
			接合能力発現						

25℃で餌が十分な場合、1日に3回分裂する。

$700 \div 3 = \text{約}233$ 日（7～8か月）で寿命が尽きるが、接合によって寿命はリセットされ、若返る。

②実験に使用する株は、クローンの一部を冷蔵庫に保存し、実験に必要な時に室温で培養する。培養液1滴中に10数個体以上が含まれるように予め調整しておく。

③ミドリゾウリムシは、藻類のクロレラを細胞質中に約700個も細胞内共生させているので緑色に見える。原生動物が藻類を細胞内共生させて最終的には葉緑体だけを獲得した植物細胞に進化する過渡期にある細胞と考えられている。

※「被食者と捕食者」の関係から「相利共生」の関係へ（過程は不明）

ゾウリムシの利益……クロレラが光合成で作った炭水化物を得る。

クロレラの利益……ゾウリムシの餌消化によって生じた窒素源やゾウリムシの中にいることで移動力を得る。

薬品のポイント

メチルセルロース

①5℃前後の冷水にはよく溶けるが、温水にはあまり溶けないので、溶かすときには冷水を使用する。

②一度溶けると室温で安定するので、室温での保存は可能である。

③水溶液にしたときの粘度によって複数の種類があるので、注文するときには注意が必要である。

④水溶液を作るとき、なかなか溶けずに固まりになりやすい。容器に入れた蒸留水をスターラーで攪拌しながら、メチルセルロースを少しずつ気長に溶かす必要がある。

※使う前日に水溶液を作って冷蔵庫に入れておけば、使うときには溶けている。

攪拌のときに気泡が入るが、一日放置すれば自然に抜ける。

運動を鈍らせる他の方法

①スライドガラスに綿棒の脱脂綿を少量ほぐして薄く引き、その上からゾウリムシの入った試料を滴下し、観察する。

②培養液と等量の0.02%塩化ニッケル水溶液を加えて、麻酔効果でゾウリムシの繊毛運動を鈍らせる。

③培養液全体が5%になるようにエタノールを加えて、振とうすると繊毛が抜けて動かなくなる。

観察のポイント

①運動方法（泳ぎ方）

②細胞の立体的認識

③細胞周囲の繊毛の運動（十分絞り込む）

④細胞口の確認

⑤食胞およびその形成のしくみ

⑥収縮胞の確認（収縮と拡張）

⑦その他各種の細胞内顆粒や粒子の確認