

[実験5]

単細胞生物の構造と細胞小器官の機能

—— ゾウリムシの観察 ——

観察材料 ゾウリムシ (*Paramecium multimicronucleatum*)

目的 ゾウリムシの細胞構造を詳しく観察し細胞小器官の特徴と機能を理解する。

実験 収縮胞の収縮頻度の測定を行う。

試薬類

ラベル	内容	注意事項
無印	ゾウリムシ	
オレンジ	0.8 mmol/L 塩化ニッケル	
黄色	0.16 mol/Lソルビトール	席番号が偶数の人
緑色	0.16 mol/L塩化ナトリウム	席番号が奇数の人
白	蒸留水	

試薬の混入が起こらないように、試験管、ピペット、チップの取り扱いに注意すること

実験 収縮胞の収縮頻度の測定

① ゾウリムシの塩化ニッケル処理を行う。



1.5 mL チューブ内で
ゾウリムシ 0.5 mL と塩化ニッケル水溶液 0.5 mL を混合



チューブを立てた状態で 5 分間静置



上澄み液
沈んだゾウリムシ



上澄み液 0.9 mL を除去
※できるだけゾウリムシを吸わないように注意する



+ 蒸留水 1.0 mL



チューブを立てた状態で 5 分間静置



上澄み液 0.9 mL を除去
※できるだけゾウリムシを吸わないように注意する

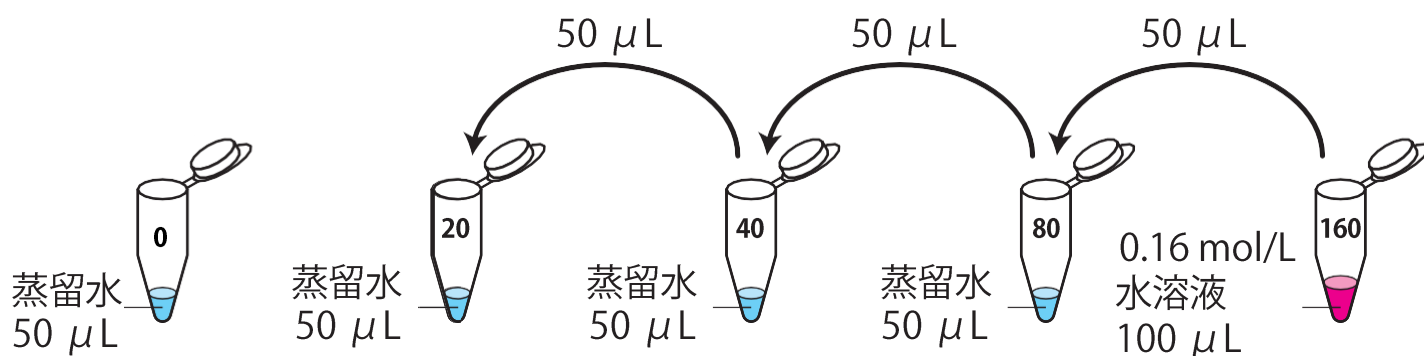


完成 (0.2 mL の塩化ニッケル処理済みゾウリムシ)

重要：塩化ニッケル処理から 1 時間が経過すると
ゾウリムシの調子が悪くなるので再調製すること

実験 収縮胞の収縮頻度の測定

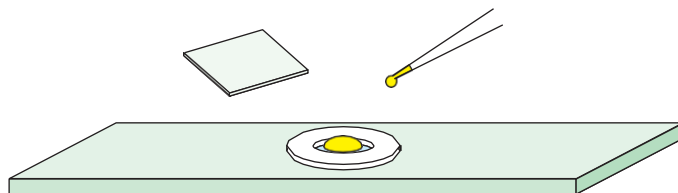
- ② 塩化ナトリウムまたはソルビトールの希釈系列を調製する。
- 5本の1.5 mL チューブを用意し、0、20、40、80、160 と書く。
 - 「160」以外のチューブに蒸留水を $50\ \mu\text{L}$ ずつ分注する。
 - 「160」には $0.16\ \text{mol/L}$ 塩化ナトリウムまたはソルビトールを $100\ \mu\text{L}$ 量り取る。
 - 「160」から $50\ \mu\text{L}$ 取り、「80」に加えて数回ピペッティングする。この操作によって $80\ \text{mmol/L}$ 水溶液が $100\ \mu\text{L}$ できる。
 - 以下、 $20\ \text{mmol/L}$ まで同様に調製する。



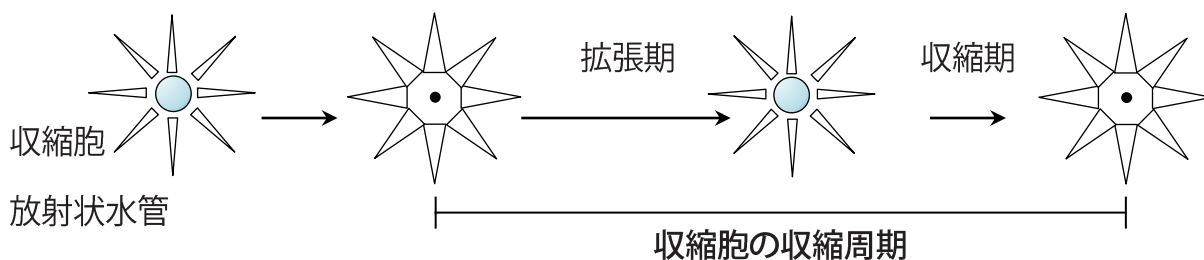
- ③ 5本の0.5 mLチューブに0、10、20、40、80と書き、それぞれに0、20、40、80、160 mol/Lの水溶液を $20\ \mu\text{L}$ ずつ分注する。
- ④ ①をタッピングしてゾウリムシを均等に分散させてから $20\ \mu\text{L}$ を③の1本に加え、すぐに観察する。
希釈系列とゾウリムシの混合は一度に行わず、
各濃度ごとに調整・観察を行う（観察は $0\ \text{mmol/L}$ から）。

実験 収縮胞の収縮頻度の測定

- ⑤ ④をタッピングしてゾウリムシを均等に分散させてから4 μL をリングシール付スライドガラスに滴下し、カバーガラスをかけて観察する。



- ⑥ 収縮胞の収縮周期（拡張期＋収縮期）を測定する。



1つの濃度について3個体の測定※を行い、1分間あたりの収縮頻度の平均値を算出する。

※ 2分以上観察しても収縮しない場合には、収縮周期「120秒以上」、収縮頻度「0回/分」とする。

- ⑦ ⑥で得られる結果を表とグラフにまとめる。さらに指定のPCにデータを入力し、全員分の集計結果を確認する。

注意点・ポイント

- 塩化ニッケル処理したゾウリムシはチューブの底に沈むため、タッピングして全体に分散させてから使用する。
- 実験操作は各個人で行い、1人で一連の測定結果をまとめること。

レポートについて

実験題目 単細胞生物の構造と細胞小器官の機能

観察材料 ゾウリムシ (*Paramecium multimicronucleatum*)

目的 } 教科書と実験補遺を参考にして
方法 } 簡潔にまとめること

結果 塩化ナトリウムまたはソルビトール添加時の収縮胞の収縮頻度を測定し、全員分の集計結果とともに表とグラフにまとめよ。
なお、表とグラフは配布する用紙に記入すること。

考察

- 細胞外液の塩化ナトリウムまたはソルビトール濃度と収縮胞の収縮頻度の関係から、収縮胞の機能を考察せよ。
- 塩化ナトリウムとソルビトールの作用の違いがどのような理由によって生じるのか説明せよ。
- その他

あとかたづけ

顕微鏡

プレパラートを回収する
↓
対物レンズを4倍にする
↓
実験机に置いておく

スライドガラス

70%エタノールで拭く
↓
専用ケースへ戻す

カバーガラス

カバーガラス捨てに捨てる

使用済み
0.5mL チューブ
1.5mL チューブ

水道水で軽くすすぐ
↓
フタを開けた状態で
回収容器に捨てる

試薬入り試験管
その他の道具類

実験台の上に置いておく
(廃液用グラスは洗う)