

令和6年

基礎生命科学実験・生命科学実験

実験補遺

「基礎生命科学実験」S1 ターム(理科・文科)

「生命科学実験」S2 ターム(理科)

本補遺では、受講にあたっての注意や、レポート提出、実験内容・手順に関する補足等をまとめている。シラバスの内容とともに、重要な内容が書かれてあるので実験中も参考にすること。

本実験では考察まで含めたレポートを授業時間内に提出を行うため、末尾の各実験の概要、教科書および付属の映像教材にも目を通し、予習をしてから実験に臨むことを強く推奨する。実際の実験ではさらに細かい指示や変更があるので、実験の手順と背景をよく理解するような予習をこころがけてほしい。

実験 17 については、別途記載があるのでそれに従うこと。

目次

1. 一般的な注意事項	2 頁
2. 実験に関する注意	5 頁
3. レポートについて	7 頁
4. スケッチについて	8 頁
5. 実験 17. 骨格筋の力学的性質 注意事項	9 頁
6. 実験概要	11 頁

1. 一般的な注意事項

【感染症対策】

本実験を行う実験室は十分な換気設備を備えているが、人や器具を介した感染を防ぐために下記に示す感染症対策の実施を強く推奨する。実験機器や試料、実験参加者を介した感染経路を防ぐため、本実験を対面で受講する際には、

1. マスクを着用すること(特に、不織布製マスクを推奨)。
2. 入室時にはアルコールを使って手指を消毒すること(体質等によって難しい場合は入室後に備え付けの石鹸で洗浄すること)。
3. 実験終了後は速やかに退出すること(退出可能時間は適宜アナウンスする)。

なお、実験 17 など実習によっては、複数の学生が同じ実験機器を共有して行うことがある。感染のリスクについて不安がある場合や配慮が必要な場合は事前に相談すること。

【実施日程とグループ分け】

本実験は、全て対面形式で行う予定である。

各曜日 2 つのグループに分かれて受講する。実施日程、各グループの実験種目と部屋割りは、21KOMCEE EAST 3 階の実験室前のホワイトボードと実験ウェブサイト^{※1}に3月中旬頃公示する。休講や授業曜日が変更になる日程があるので確認しておくこと。また、グループ分け(すなわち部屋割り)名簿は、実習開始前日には UTOL に公開し、実験室入り口にも掲示するので、自分の教室と座席を確認して入室すること。実験 17 に関しては、別途指示(9-10 頁)に従うこと。

※1 実験ウェブサイトは <https://lecture.ecc.u-tokyo.ac.jp/~cbioexp/>、もしくは右の QR コードからアクセス可能。



↑ 実験ウェブサイト ↑

【実験の開始と終了】

本実験は 105 分授業で行うため、**13:00 に授業を開始する**。実験の説明・注意等を行う為、特に遅刻は厳禁である。授業開始後、13:30 までの入室に関しては遅刻となり減点対象とする。13:30 以降の入室は、欠席扱いとする。

実験終了後は、教員の指示に従って後片づけをし、速やかに退室すること。

【ガイダンス】

第 1 回目の授業に、最初の 20-30 分間を使って本実験の概要ガイダンスをおこなう。ガイダンスの後、直ちに実験をおこなうので、実験種目「実験 3. 顕微鏡の操作と細胞の観察」を予習しておくこと。

【各種講習の受講】

本実験では、遺伝子組み換え生物の使用(実験 1. DNA と形質発現—大腸菌の生育と PCR 法による遺伝子の増幅)と動物実験(実験 15. 動物の諸器官の構造と機能(Ⅲ)—ウシガエルの解剖(内臓))を行う。それに際して、UTOL を通じた講習の受講とテストへの合格を必須とする。未受講・不合格の場合は、その種目のレポートを受け付けない。教材等は 4 月 5 日に UTOL を通じて公開する。

【用意するもの】

1. 教科書「基礎生命科学実験 第 3 版」東京大学出版会 (付属の動画は目次に記載された方法で閲覧できる)
2. 基礎生命科学実験・生命科学実験補遺(本誌)
3. 生物実験用レポート用紙(A5 版氏名欄入りリケント紙(生協で購入可能)、実験 1~実験 16 で使用)

4. 保護メガネ・白衣

「実験 1. DNA と形質発現—大腸菌の生育と PCR 法による遺伝子の増幅」では白衣を、「実験 12. 動物の受精と初期発生(II)—アフリカツメガエル」、「実験 14. 動物の諸器官の構造と機能(II)—ザリガニの解剖」、「実験 15. 動物の諸器官の構造と機能(III)—ウシガエルの解剖(内臓)」については、白衣と保護メガネを必ず持参して着用すること。他の実験では任意とする。そのほか必要な手袋、メス、ピンセットなどはこちらで用意するので持参は不要である。

【体調不良等による欠席】

体調不良や忌引きなど、やむを得ない理由で欠席する場合には、実験の事前準備の都合上、**実験ウェブサイトにある欠席申請書フォーム^{※2}を通じて原則として当日の午前 11 時まで**に申請を行うこと^{※3}。別曜日での欠席種目の受講(補充実験)や、別課題等での補填(補講)を指示することがある。なお、課外活動、アルバイト、他科目の履修などでの欠席はこの対象とならない。但し、**欠席申請日から起算して 2 週間後までに指定の方法^{※4}で欠席理由を証明するもの(診断書、会葬礼状など)を提出すること。証明書の提出がない場合、補充実験や補講を受講しても採点の対象外とする。**

※2 欠席申請書フォームは <https://forms.gle/5qftGnQRANcasz8w5>、もしくは右の QR コードからアクセス可能。



↑欠席申請フォーム

※3 事故などで 11 時までには報告できなかった場合でも、事情により対応する場合がありますので可能な限り早く連絡すること。ただし、**欠席した授業の翌日から起算して 7 日後の 13 時(例:4/8 欠席なら 4/15 の 13 時)に達した時点で一切の申請を受け付けない。**補充実験や補講によって対応する場合に、各種目の開講期間を過ぎてしまうと実習準備や成績報告などの観点から対応が困難になることが理由である。長期の自宅療養や入院などの事情が生じた場合には別途対応する。

※4 「欠席申請書フォーム」内に記載があるのでよく確認すること。

【成績評価など】

成績は、出席、実験態度、後片づけ、レポート(「3. レポートについて」を参照)で評価する。**出席しているだけ、単にレポートを提出しただけでは合格に達しない。**実験に真摯に取り組むこと。

- 欠席:欠席した種目は評価しない。
- 遅刻:遅刻は減点対象(但し 13:30 以降の遅刻は、欠席扱い)。
- 不在・早退:実験中に 30 分以上の無断退室は減点対象。また、早退は欠席扱いとする。体調不良などの場合は、必ず実験担当教員に申告し、別課題を希望する場合は受講希望日を**欠席した授業の翌日から起算して 7 日後の 13 時まで**に欠席申請書フォームから連絡すること。
- 後片付け:器具の洗浄や整理整頓の不備も減点対象となる。
- レポート:本実験で提出するレポートは**定期試験と同等の意味をもつ**。したがって、カンニングや剽窃等の不正行為が認定された場合は、協力者も含め厳しい処分が行われる。不正行為には、インターネット上から得られる情報の注記なしの借用や、友人等から提供を受けたレポートからの書き写しも含まれる。
- 予習:必ず自分が受講する種目について、**補遺末巻に記載された実験概要および教科書や教材などで十分に予習をしてくる**こと。また予習を通じて実験全体の流れを前もって把握しておくことは、事故を回避するためにも重要である。予習してこなかった場合、実験の進行に支障をきたし、他の受講者にも迷惑をかける可能性があることも十分留意しておくこと。
- 授業中の録画・録音は禁止とする。
- ターム前半の出席、実験態度、後片づけ、レポートから合格に達しない可能性がある判断された場合、UTOL を通じて注意喚起をすることがある。UTOL の「お知らせ」に学生個人あての通知がなされ

るので、見落とさないように注意すること。但し、本通知がなされないことが必ずしも最終的な単位取得を保証するものではないことにも十分留意し、タームを通じて実験に真摯に取り組むこと。

【実験室使用上の注意】

実験室内では飲食厳禁である。なお 21 KOMCEE EAST は全面禁煙である。廃棄物は教員の指示に従い、決められた場所に分別廃棄する(詳細は「実験廃棄物」の項を参照すること)。その他のごみは実験室外のごみ箱に分別して捨てる。

【履修に関する注意】

同時に2つの基礎実験(基礎生命科学実験と基礎物理学・化学実験)を履修することは認められていない。基礎生命科学実験は、2S1 タームのみの開講であり、**理科生はこの単位をとらないと降年になる**ので注意すること。

【文科の履修希望学生】

S1「基礎生命科学実験」の履修を希望する文科生は、初回授業に必ず参加すること。また、以下の3種類の手続きを記載の期日までに必ず行うこと。

⇒4月3日までにを行う手続き(2種類)

①本実験のウェブサイトにて提示した履修希望文科学学生用の Google フォーム^{※5}を通じて受講希望曜日等を連絡する。

②UTOL で各自履修登録を行う。

⇒4月5日～5月7日に行う手続き(1種類)

③履修認定カード電子版で履修手続きをする。

上記手続きが全て行われていない場合には、授業に参加しても単位付与が出来ない可能性がある。

※5 履修希望文科学学生用の Google フォームは <https://forms.gle/9xopFPCNbRGGXsMp8>, もしくは右上の QR コードからアクセス可能。



↑履修希望文科学学生用
連絡フォーム

【S2 タームの生命科学実験の履修変更に関する注意】

2回目の訂正期間に履修を変更する者は、S2 ターム開始前までに実験ウェブサイトの間合せ専用の Google フォーム^{※6}を通じて必ず連絡すること。

【連絡先】

原則として、実験ウェブサイトの間合せ専用の Google フォーム^{※7}を通じて連絡を行うこと。

※6,7 間合せ専用の Google フォームは <https://forms.gle/czQMvLu5tzczQwCfk8>, もしくは右の QR コードからアクセス可能。



↑間合せ専用フォーム

2. 実験作業に関する注意

【実験廃棄物】

基礎生命科学実験・生命科学実験では、生物材料、ガラス、カミソリ、マイクロピペットのチップ、マイクロチューブ、チューブ、ビニール手袋など様々な廃棄物が出る。廃棄物は担当教員の指示に従い、指定された容器に捨てること。

その後これらは、事業系一般廃棄物(リサイクル出来ない紙ごみ)、産業廃棄物(プラスチック、ゴム、金属ごみ、実験系プラスチックごみ)、感染性(疑似感染性)廃棄物等、種類ごとに、外部業者に委託して処理される。分別が正しく行われていない場合、東京大学全体のゴミの引き取りが拒否される可能性もあるため、廃棄物の分別は正しく行うこと。

【禁止事項】

実験の安全な進行やその進行上妨げとなるような事柄を禁止とする。下記はその一例である。

- 教室内において実験に関係のない用途でのスマートフォン・携帯電話・タブレットなどの操作(録画・録音を含む)
- サンドルで実験室に出入りすること
- 大声で私語をすること
- 実験室内での飲食
- トランプなどのゲーム類
- 音楽などを聴くこと

【実験中の安全面、健康面に関する注意】

- 最大限安全に実験を行うため、担当教員の指示には必ず従うこと。
- 何らかのサポートが必要な場合はあらかじめ申し出ること。
- 危険性のある試薬を用いる場合は、白衣(各自持参)やビニール手袋(こちらで準備する)を着用し、慎重に取り扱うこと。
- **試薬が皮膚や目についたり、ガラスで負傷したりしたときには、直ちに大量の水で洗い流すとともに、近くの人が担当教員に知らせること。**緊急時には、実験室の外に設置されている緊急シャワーを使用すること(下記見取り図参照)。
- 長時間連続して顕微鏡で観察し続けると、目が疲労したり気分が悪くなったりすることがある。途中で短い休憩をとるとよい。
- 実験中、体調不良になったり、ケガをしたりした場合は、担当教員に速やかに申し出ること。
- 実験材料には最大限安全なものを選んでいるが、万が一アレルギーなどでかぶれたりした場合には教員に申し出ること。また、予めアレルギーが出るとわかっている者は、実験の前に申し出ること。材料を変えるなど対応が可能な場合もある。
- 火災、地震などの非常事態により、建物内が危険な状態に陥った際には、館内に緊急放送が流れる。担当教員の指示に従い、避難すること。**防災用の折りたたみ式ヘルメットが、各実験台下の収納スペースに備え付けてある。避難口は実験室を出て左右方向 2 か所ある。**また、消火器は各実験室に 1 か所、実験室外に 5 か所(計 9 か所)、消火栓・緊急シャワーは実験室外にそれぞれ 2 か所設置されている。(見取り図参照)。

21 KOMCEE EAST 3階 平面図



【実験の後片付け】

片付けの方法は、担当教員の指示に従うこと。以下の点については、全課題で共通事項のため、教員の指示が無くとも自主的に行うこと。片付けの不備は減点の対象である。

- 実験終了後、椅子を元に戻し、机上の消しゴムのカスやゴミを捨て整頓をし、エタノールを使って拭きあげを行い、次に使う者が安全に安心して臨めるよう配慮する。
- 顕微鏡は、**レンズ以外の汚れ**はエタノールとペーパータオルでよく拭いておくこと。レンズが汚れていたら担当教員に申し出て洗浄してもらう(レンズに傷が入るとその時点で使用不可能になってしまうため)。
- スライドガラスは 70%エタノールとキムワイプで拭いたのち、専用のケースにしまう。種目によっては別途洗浄方法を指定する。
- カバーガラスは使い捨てなので、使用後はカバーガラス捨てに捨てる。
- 使用したガラス器具、プラスチック器具類は水道水でよく洗った後、純水ですすぎ、教員に指定された場所にしまう。
- マイクロピペットは水洗できない。外側の汚れはエタノールとキムワイプでよく拭いておく。なお、キムワイプは特殊な材質の紙であり、高価なため必要最低限の使用にとどめること。
- 万が一、スライドガラス、顕微鏡などの実験器具・実験機器を破損した場合は、必ず担当の教員に申し出ること。
- 白衣や教科書など、忘れ物のないことを確認してから実験室を退出すること(持ち物には記名をした方がよい)。忘れ物は、実験期間中は KOMCEE 生命科学教員控室で保管するが、貴重品等に関しては、数日中に学生支援課学生支援係(アドミニ棟 1 階 8 番窓口)へ移管する。

3. レポートについて

【提出】

生物実験レポート用紙(指定の用紙;生協で各自購入)に全て記載し、実験当日 16:40(4限終了時)までに実験室内の所定の場所に提出を行う。以後の提出は認めない。用紙が複数枚の場合、ホチキス(実験室に用意している)でまとめること。

体調不良等による欠席に対応するための別課題としてオンライン課題を課された場合、受講者は、指定された締め切りまでに UTOL を介して提出する。ファイル名やファイル形式も指定された状態にすること。課題にスケッチがある場合は、生物実験レポート用紙のようなケント紙に行くことを推奨する。その際には、スケッチの評価を適切に行うため、可能な限り高解像度でスキャナーあるいはスマートフォンで電子化し提出すること。不鮮明と判断されたものは評価しないので注意すること。最終的に提出できていることを必ず確認すること(システムトラブルなどの場合には担当教員に事前に連絡すること)。

「実験 17. 骨格筋の力学的性質」については、別途担当教員の指示に従い提出すること(5. 実験 17. 骨格筋の力学的性質 注意事項を参照)。

【レポートの書き方】

実験 1~実験 16 のレポートを書くときの主な注意点は、以下の通りである。なお、生物実験レポート用紙は、裏表両面使用して構わない。

- 提出する全てのレポートのページ右下に、月日、曜日、科類、班、座席番号、氏名を記入すること(万が一レポートがバラバラになった場合に誰のものか分からなくなることを防ぐため)。
- 教員からのフィードバックシートが配布されるので、最後のページに加えてホチキス止めするのを忘れないこと。レポート本体は返却しない。
- レポートには、実験タイトル、目的、方法、結果、考察を必ず記載すること。
- 結果については、大部分の実験種目では、スケッチによる表現が最も説得力がある。そのため、第三者が見ても分かりやすいような描写を心掛けること。
- 種目によってはスケッチではなく実験記録をレポートとして提出する。実験記録とは、その場限りの実験の詳細な観察記録であると同時に、何年か後にその記録をもとに同じ実験を繰り返すことができるものでなくてはならない。
- レポートは詳細な観察記録であると同時に、これを見るだけで同じ実験を行えるように記載することが基本的な考え方である(本実験では、方法など教員の指示に従って省略してよい)。
- 目的:教科書を参考に自分の言葉でまとめること。
- 材料:生物材料は和名と学名の両方を記載する。学名は手書きで書く場合には単語ごとに下線を引き、パソコン等で書く場合にはイタリックで書くのが慣例である。
- 方法:実際の内容を簡潔にまとめ、過去形で記載する(教科書を丸写しするのではなく、実際にやったことを書くこと)。
- 結果:実際に得られた結果を過去形で記載する。
- 考察:得られた結果から、その原因や理由、意義などを自分なりに考えてまとめる。

左上をホチキスで止める

実験タイトル

目的

方法

結果

考察

-本実習指定のレポート用紙
(名前欄入り、生協で販売)
-両面使用可能
-スケッチには鉛筆を用いる。
(スケッチ以外は黒ボールペンも可)
-読みやすい丁寧な字で

全ページ右下に
名前、日付、班、机番号
を記入

月	日	曜	科	類
氏	名			
		班	座席	番

4. スケッチについて

本実験では顕微鏡観察等の結果を記録するために、スケッチを行う。スケッチを行うためには、詳細な観察が必要となるため、単に写真を撮影することでは見出せない事柄に初めて気づくことも多く、その気づきとその記録が発見につながる。

観察物を記録するためのスケッチは、美術的なものや写真とは異なるため、標本の原型に忠実に、基本的には点と線で描写し、陰影などは必要に応じて加えること。絵の上手下手ではなく、丁寧な描写を心掛けると良い。彩色する必要はない。描線は、先を尖らせた H もしくは 2H の鉛筆を用いるときれいに描ける。また、スケッチは観察しながら描くことが大切で、観察しながら描いたものをレポートとする。改めて清書したスケッチは、観察結果のレポートとしては望ましくない。以下の点に注意しながら、次ページに示す例を参考にするとよい。

1. 大きく、丁寧に描く

特に指定がない限り、観察物を用紙いっぱい大きく描く。丁寧に描くことを心がけ、輪郭線がきれいにつながるように気をつける。

2. 線と点で描く

輪郭線はフリーハンドの 1 本線で描く。鉛筆またはシャープペンシルを用い、色鉛筆やボールペンなどはいない。濃淡を表す場合は、塗りつぶしたり斜線を用いたりせず、点描を用いる。陰影はつけない。

3. 名称や気づいたことなどを書き込む

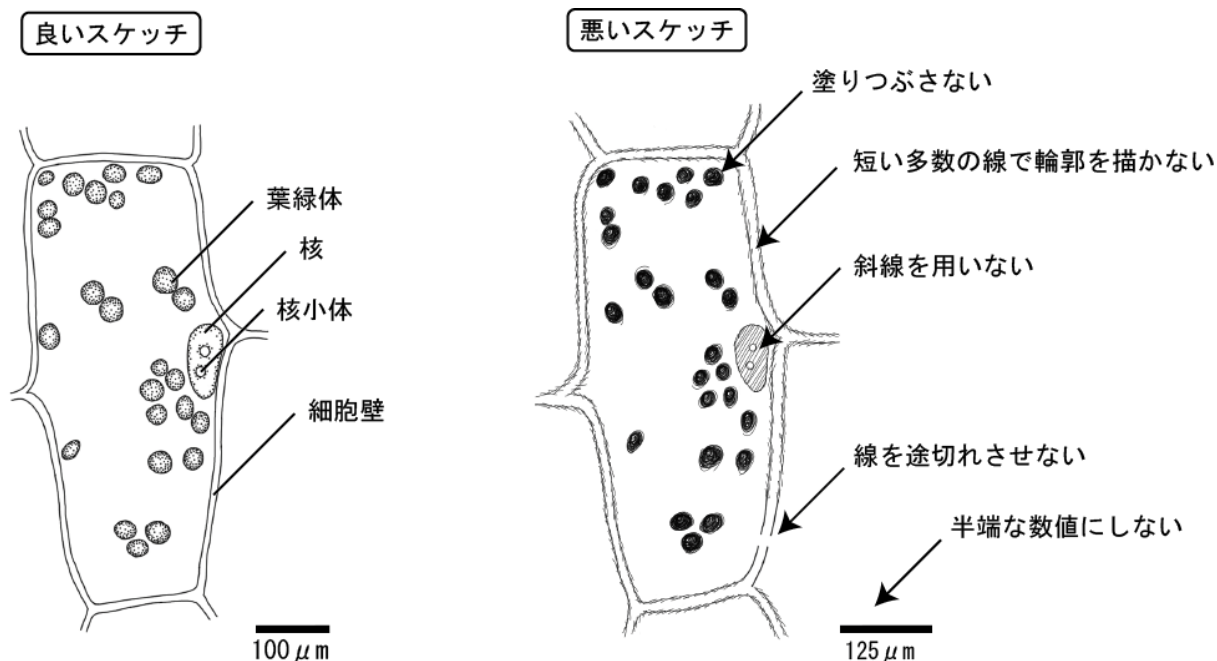
各部分の名称は引き出し線を使用して、なるべく多く書き込むこと。スケッチで表現しにくい部分や、気づいたことは、言葉による説明を書き込む。

4. 実物に忠実に描く

観察物の部分ごとの大きさやその比率、形は正確に描く。見えていないものを想像で描かないこと。同様の構造が繰り返される場合は、一部を詳しく描き、他も同様であることがわかるようにして省略してもよい。

5. スケールバーによって大きさを示す

実長測定に基づき、スケッチにスケールバーを描き加える。スケールバーの長さは 100 μm 、500 μm など切りの良い値にすること(125 μm などにはしない)。



5. 実験 17. 骨格筋の力学的性質 注意事項

5.1. 受講の前に

受講者は、あらかじめ以下の URL に掲載されている内容をよく確認しておくこと。

<https://idaten.c.u-tokyo.ac.jp/kiso/index.html>

以下に述べる情報はすべてこの URL にも掲載される。

授業開始までに、教科書 p175 に記載の予習課題をノートに解いて、スキャンした電子ファイルを UTOL を介して提出すること。

5.2. 授業の実施形態について

各グループの学生をさらに2つのグループに分けて、それぞれ3限と4限に実習を行う。いずれも 105 分授業で行い、3 限、4 限の開始時刻はそれぞれ 13:00 と 14:55 である。遅刻しないよう注意すること。30 分以上の遅刻は「欠席」扱いとする。

学生のグループ分け(3限と4限のどちらで実習を行うか)は決定し次第、UTOL に掲載する。実習を行わない時限(3 限に対面で実習を行う学生では、4 限)は、予習あるいはレポートの作成にあてること。

5.3. 欠席の申請について

1. 一般的な注意事項の【体調不良等による欠席】を参照のこと。

5.4. 実験について

以下の項目について、データの取得・解析、考察を必須とする：

1) 肘関節角度を 50 度から 150 度までの範囲で変え、それぞれの関節角度における等尺性収縮張力(肘屈曲筋力)を測定する。測定結果から、肘関節角度－張力関係および肘屈筋の長さ－張力関係を導く。

2) 等尺性最大張力以下のさまざまな大きさの負荷をかけて等張性収縮をおこなった時の、それぞれの負荷での肘関節屈曲角速度と肘屈曲筋力を測定する。測定結果から肘屈筋の力－速度関係を求め、最大短縮速度を導く。

3) 1 および 2 の結果をカエル骨格筋単一筋線維の結果と比較検討する。

5.5. レポートについて

ほかの種目と記載すべき事項及び提出の〆切が異なるので、十分注意すること。レポートは A4 縦サイズの PDF ファイルにして UTOL を介して提出すること。提出〆切は授業実施日の 1 週間後の 19 時とする。〆切を厳守すること。〆切に遅れたレポートは、長期の入院や急引きなど特別な事情がある場合を除いて受理しない。とくに、PC やその他機器の不具合や通信環境の不調(UTOL の障害を除く)は提出遅れの正当な理由とはならない。早めの提出を心掛けること。不十分な内容であっても一旦提出し、期限内に再提出することは全く問題ない。再提出の際は、古いファイルは消して新しいファイルに置き換えること。

可読性の観点からワープロソフトの利用を推奨する。ただし、手書きで作成したものを PDF ファイルに変換して提出することも可。最終的に1つの PDF ファイルとして提出すれば、図表など一部が手書きでも問題ない。

本実験で提出するレポートは定期試験と同等の意味をもつ。従って、剽窃等の不正行為については専用のソフトウェアなども用いて入念にその有無をチェックする。その結果、不正行為が認められた場合は、協力者も含め厳しい処分を行う。不正行為には、インターネット上から得られる情報の注記なしの借用や、友人等から提供を受けたレポートからの書き写しや図表の借用も含まれる。

構成は以下の通りとする。

- A) 目的, 方法, 結果, 考察の順に書くこと。各項には必ず本文を記載すること。
- B) 「目的」目的のない実験はあり得ない。本実験によって何をどこまで明らかにしようとするのかを自分の言葉で書くこと。また、目的を明確にするために理論的背景を自分の言葉で書くこと。
- C) 「方法」教科書をよく読んで、自分が実際に行った実験方法の要点を簡潔にまとめて書くこと。なおこの項は、自分が行ったことを記述するためすべて過去形で記述すること。
- D) 「目的」・「方法」の内容は全員に共通するが、自分の言葉で書くこと。教科書の記述や他人が書いたレポートを丸写ししたもの(ほぼ同じものを含む)は評価しない。
- E) 「結果」生データのみでなく、取得したデータを解析および整理した図表をこの項で示すこと。図表が何を示すものであるか、図表から何がわかるかについて記すこと(下記の“図表”を参照)。“Analysis”の図を使用してはならない。
- F) 「考察」実験レポートには実験結果に関する考察が必要である。**この実験においては、別に指示する課題に解答することに代える。**
- G) 「図表」図と表にはそれぞれ通し番号をつけること(図は下に、表は上に)。図の縦軸と横軸には目盛りと単位を必ずつけること。表の場合も必ず単位をつけること。
- H) 実験 2 のデータを非線形回帰して、Hill 定数を求めるためのエクセルファイルが UTOL からダウンロードできる。このファイルを利用して作成した図をレポートに使用してよい。積極的な利用を推奨するが、レポート作成する際に必ず利用しなければならないということではない。
- I) 「その他」文献値や先行研究の結果を引用した場合は必ず出典を明記すること。意見・感想がある場合はレポートの最後に簡潔に記載すること。

5.6. その他

予習としては教科書 p171~185 の内容をよく読んでおくこと。エルゴメータや PC など実験機器は指示があるまで操作しないこと。

[実験3]

顕微鏡の操作と細胞の観察

材料

オオカナダモ (学名 *Egeria densa*)

目的

- ・ 顕微鏡の正しい取り扱い方を習得する。
- ・ 実長測定をおこない、顕微鏡で観察しているものの大きさを測定できるようにする。
- ・ オオカナダモの葉を顕微鏡で観察し、細胞の基本的な構造を理解する。
- ・ オオカナダモの細胞における原形質流動を観察する。

実験

- A. 顕微鏡の操作と実長測定
- B. オオカナダモの細胞の観察

【注意】

顕微鏡は教科書・動画・教員の指示に従って正しく丁寧に扱うこと

1

実験A 顕微鏡の操作と実長測定

手順

- ① 顕微鏡の電源を入れ、ステージに対物マイクロメーターをセットして観察する。
- ② 両眼で観察することができるように各所を調整する。
- ③ 対物マイクロメーターと接眼マイクロメーターを使用して実長測定を行う。実長測定は全ての対物レンズで行う。
- ④ 実長測定の結果をレポートに見やすい表としてまとめ、実験Bの観察に利用する。

【顕微鏡操作のポイント】

接眼鏡筒の幅・・・両眼で接眼レンズを覗くことができるように幅を調整する。

視度調整・・・接眼レンズ根元の視度調整環を回し、左右の見え具合を揃える。

両眼視・・・左右の視野を意識的に重ね合わせる必要がある。

レボルバ・・・対物レンズの倍率を変える際には必ずレボルバを回すこと。

2

実験B オオカナダモの細胞の観察

操作

- ① オオカナダモの葉をピンセットで取り、スライドガラスにのせる。葉の裏表を確認しておくこと。
- ② スポイトで水道水を一滴落としカバーガラスをかける。余分な水はキムワイプで吸い取る。
- ③ 異なる2カ所(葉の表vs裏、葉の先端vs基部、若い葉vs古い葉、等)を観察し、それぞれの典型的な細胞を1つずつ大きくスケッチする。
- ④ 葉緑体が移動する時間を測定し、実長測定の結果を踏まえて原形質流動の速度を算出する。

【注意点・ポイント】

- ・ 1カ所の細胞をスケッチしたら教員またはTAに見せ、検印をもらう。検印がない場合は大きく減点する！
- ・ レポートにはそれぞれがどの部位の細胞なのかをわかりやすく記述する。
- ・ 乾燥してきたらスポイトで水を補充する。
- ・ 観察を中断するときは調光ダイヤルを最小値にし、電源を切る。

3

レポートについて

タイトル 顕微鏡の操作と細胞の観察

目的 教科書等を参考にして簡潔にまとめる

材料 和名:オオカナダモ

学名:*Egeria densa* ※手書きの場合、**単語ごとに**下線を引く(繋げてはならない)

なお、タイプする場合はイタリックにして表記する。

方法

実験A 実長測定の手順を簡潔に書く。

実験B プレパラート作成法を簡潔に書く。

結果

実験A 実長測定の結果を見やすい表にまとめる。単位を忘れずに記入する。

実験B オオカナダモの2カ所の細胞をスケッチする。
 それぞれがどの部位の細胞なのか記載した上で2つの細胞にどのような違いがあるのか記述する。

各部の名称および観察して気づいた事柄を余白に記入する。名称の記入には引き出し線を使用すること。

実長測定の結果に基づきスケールバーを記入する。スケールバーの長さは、50 μm や100 μm のように切りのよい値にすること。

原形質流動の速度および方向を記入する。

考察

実験Bで見出した細胞の差異について、その原因・理由・意義などを考えて記述する。

4

あとかたづけ

使用した実験器具は、70%エタノールとキムワイプで拭く

ただし、顕微鏡のレンズ部分は拭かない

スライドガラス

エタノールとキムワイプで拭き、**各自の専用ケース**へ戻す

※ 破損した場合には教員に申し出て補充すること

カバーガラス

- 専用のカバーガラス捨て容器に捨てる

対物マイクロメーター

- エタノールとキムワイプで拭き、**専用ケース**に戻す

使用済みのオオカナダモ・その他の実験器具

- 実験卓上に置いておく

ゴミ

- 分別して教室両脇後方のゴミ袋に捨てる

顕微鏡

- ① 対物レンズを4倍にする
- ② 調光ダイヤルを最小値にしてから電源を切る
- ③ コンセントを抜き、実験卓上に置いておく

・**レンズは拭かない！**

・**鏡筒はそのままの向きで良い**

実験1 DNAと形質発現

生物材料

大腸菌 (*Escherichia coli*)

実験手順 (1日目)

A 大腸菌形質転換体の生育

試験管には、番号以外に班名を記入

	試験管 1	試験管 2	試験管 3	試験管 4
LB培地	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
テトラサイクリン	0 μ L	20 μ L	0 μ L	20 μ L
大腸菌 1	30 μ L	30 μ L	0 μ L	0 μ L
大腸菌 2	0 μ L	0 μ L	30 μ L	30 μ L

↓
 攪拌した後、37°C恒温槽で振とう培養

↓
 約 2-3 時間後、培養液の濁度を測定する

1

B PCR法によるテトラサイクリン耐性遺伝子領域の増幅

◇ 1.5%アガロースゲルの作製 (1班でゲルを1枚作製)

メスシリンダーでTAE緩衝液を 20 mL 計りとり、三角フラスコに入れる。
 終濃度1.5%(w/v)になるようにアガロースを計り取り、三角フラスコに入れる。

↓
 ラップでフラスコの口を軽く覆い、電子レンジで加熱する (沸騰したらすぐ止めること)

目安(フラスコ2本分)

あたため or 700 W モード 30秒×2回

↓
 フラスコを取り出し、時々攪拌してアガロースを完全にとかす (熱いのでシリコンミトンを使用)

↓
 素手で触れられる程度(約 50 °C) に冷えたら、アガロース溶液をゲルトレイに流し込む。

↓
 30分以上待ち、ゲル状に固まったら、静かにコームを抜く。ゲルの入ったトレイを取り出し、ラップで包む。

↓
 ラップに班名を記載したのち、教卓上のタッパーの中へ入れる。(一週間保存、次回に使用)

2

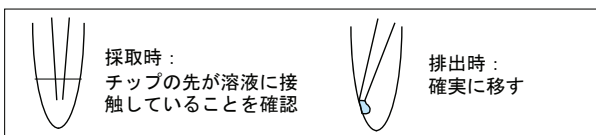
◇大腸菌液の希釈 (20倍希釈)

滅菌蒸留水 95 μ L と培養液 5 μ L を混合する

◇ PCR反応溶液の作製

ウルトラマイクロチューブに以下の液を入れる
 (必ず一人につき一本の反応液を調製すること)

大腸菌 1 (or 2) の希釈液	8 μ L
“反” のチューブ	8 μ L
“コ” のチューブ	8 μ L
計 24 μ L	



↓
 キャップを閉じ、指先で軽くはじいて溶液を混ぜた後、チューブを軽く振り、溶液を底に集める

↓
 教卓の上のチューブラックに、チューブ配置表に従ってチューブを置く

◇ PCR (反応は教員が開始する)

95°C	2分	この間を 30サイクル
95°C	50秒	
65°C	90秒	

↓
 教員が回収、2日目の電気泳動に使用

3

実験手順 (2日目)

PCRチューブに、ゲル電気泳動用色素“ゲ”を 5 μ L 入れる

↓
 混合後、チューブを軽く振り、溶液を底に集める

↓
 電気泳動

◇ 電気泳動

ゲルをTAE緩衝液で満たした泳動槽にセット
 (1台の泳動槽に1枚のゲルを置き泳動する)

↓
 ゲルの左レーンから、教員またはTAが

- ・ DNA サイズマーカー (レーン1)
- ・ ポジティブコントロール 1, 2 (レーン2, 3)

を8 μ Lロードした後、各人のサンプルを8 μ Lロード

↓
 陽極、陰極に注意して電源につなぎ泳動開始

↓
 濃青色素がゲルの2/3を越えたら、泳動を止める

↓
 ゲルを取り出し、染色液 (DNA結合性の発癌物質。触らないこと!!)につけて、30分程度まつ

↓
 FASで写真撮影

(写真は1人1枚プリントアウト。余白をはさみで切り取り、ゲル部分をレポートに貼る)

4

C リアルタイムPCR法によるDNA増幅の観察

プラスミドDNAの配列(一部)

```
10      20      30      40      50      60      70      80      90
*      *      *      *      *      *      *      *      *
5'-GTCCATTCCGACGATCGCCAGTCACTATGGCGTCTGCTAGCGCTATATGCGTTGATGCTGTGGATCCTCTACGCGGAGCGATCGTG
3'-----
100     110     120     130     140     150     160     170     180
*      *      *      *      *      *      *      *      *
GCGGCGATCACCGGCGCCACAGGTGCGGTTGCTGGCGCTATATCGCGCGACATCACCAGATGGGGAAGATCGGGCTCGCCACTTCGGGCTC
-----
190     200     210     220     230     240     250     260     270
*      *      *      *      *      *      *      *      *
ATGAGCGCTTGTTCGGCGTGGGTATGGTGGCAGGCCCGCTGGCCGGGGGACTGTTGGGCGCCATCTCCTTGATGCACCATTCCTTGGC
-----
280     290     300     310     320     330     340
*      *      *      *      *      *      *
GCGGGCGTGTCAACGGCCTCAACCTACTACTGGGCTGCTTCTTAATGCAGGAGTGGCATAAGGGAGAGC-3'
-----5'
```

プライマー1: 5'-GCGCCTATATCGCGGACAT-3'

プライマー2: 5'-ATGTCGGCGATATAGGCGC-3'

プライマー3: 5'-TCATGAGCGCTTGTTCGG-3'

プライマー4: 5'-CCGAAACAAGCGCTCATGA-3'

4つのプライマーから増幅可能と思われる2つを各班で選択
1班で反応液を1つ調製する。

反応液の調整(ウルトラマイクロチューブで調製)

- 野生株のプラスミドDNAと酵素が入った反応液 10 μ L
(はじめから入っている)
- 選んだプライマー 5 μ L
- 選んだプライマー 5 μ L
- よく混ぜた後、教卓にあるウルトラマイクロチューブ
立ての班ごとに指定された位置に置く。
- DNAが増幅する様子を観察する。

5

レポート内容

目的

材料と方法

- 材料の生物名は和名、学名両方記載
- 方法は実際に当日おこなった操作に従って書くこと
(教科書からの変更点がある)

結果

A 大腸菌の生育

- テトラサイクリン耐性株と感受性株の特定
(特定の理由も必ず書くこと)

B PCR法によるテトラサイクリン耐性遺伝子領域 の増幅

- 電気泳動写真(のり付け、各レーンの説明、
マーカーのバンドの大きさを入れる)
- PCR 増幅断片の長さ
- 欠失変異を持つ大腸菌の特定
(特定の理由も必ず書くこと)
- 欠失変異の大きさの見積もり

C リアルタイムPCR法によるDNA増幅の観察

- 選んだプライマーの種類と選択理由および増幅結果

考察

- 欠失変異に用いた制限酵素の推定
- 2つの大腸菌の表現型と遺伝型(欠失変異)との関係
- 教科書の課題3
(○リアルタイムPCR法で増幅が見られなかった理由)

6

実験15

動物の諸器官の構造と機能(Ⅲ)
ウシガエルの解剖 (内臓)

<予習>

内臓の機能・形態および諸器官の連関について指定の教科書を含めて、十分に学んでおくこと。

<目的>

脊椎動物の体内における内臓の形態および諸器官の連関の仕方について理解する。

<観察材料>

ウシガエル (*Rana (Aquarana) catesbeiana*)

<実験器具>

解剖ハサミ (大きい) :

骨、筋肉、皮膚などの

硬いものを切るときに使用。

刃先の丸い方を体内に入れる。

分解して拭き取る

(戻す際には刻印を合わせる)。



眼科ハサミ (小さい) :

内臓や腸間膜などの

柔らかい組織を切るときに使用。



1

実験15

動物の諸器官の構造と機能(Ⅲ)
ウシガエルの解剖 (内臓)

<感染対策にかかわる注意点>

・手袋で身体や筆記用具などに触れない (外側に触れないようにして着脱する)

・手袋で触れた実験器具は必ず消毒 or 洗浄

・蛇口は手で触れず (手袋をしていても!)、バレーを肘で操作する

・生物材料を使うので白衣と保護眼鏡を着用

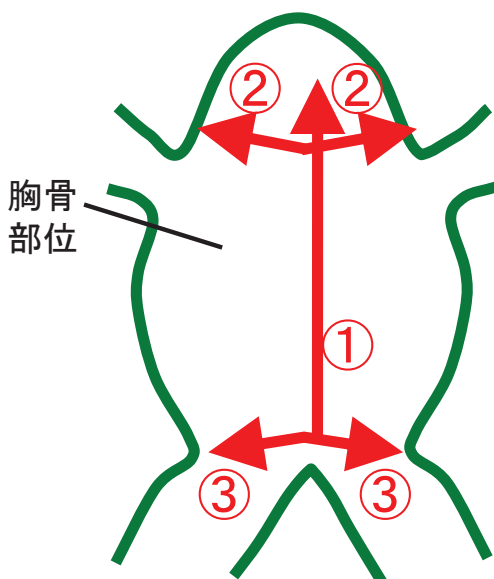
2

実験15

動物の諸器官の構造と機能(Ⅲ)
ウシガエルの解剖 (内臓)

<開腹の方法>

まず皮膚を、次に筋肉を下記のように切開する。



(詳細は次ページ)

3

実験15

動物の諸器官の構造と機能(Ⅲ)
ウシガエルの解剖 (内臓)

主に解剖ハサミで作業する



先が
太い方を体内に

<開腹の手順>

1. ピンセットで下腹部の皮膚をつかみ、はさみで切り込みを入れる。

2. 正中線から少しずらした位置を頭部方向へ切り開き (①; 胸骨より上まで)、左右にも切り開く (②; その結果、"観音開き"になる)

3. 下腹部の筋肉層に切り込みを入れ、皮膚と同様の手順で"観音開き"に切り開く

(注) 胸骨をすべて切ってから、左右に切る

4. 囲心嚢を取り外し、心臓を露出させる。

<観察・スケッチ>

開腹したままの位置 (見えない臓器があつて良い) で各臓器を観察・スケッチする。

4

実験15

動物の諸器官の構造と機能(Ⅲ)
ウシガエルの解剖（内臓）

主に眼科ハサミで作業する

(小さい方のハサミ)



＜呼吸器系・消化器系の切り離し＞

1. 大腸の付け根と膀胱の間を切り離す。
2. 腸を手で持ち上げながら、主に背側の膜を切り、呼吸器系・消化器系を切り離す。
(注1) 腸間膜などは出来るだけ切らないで、臓器などのつながりが摘出後に確認できるようにしておく。
(注2) 腸間膜を切ってしまうと特に脾臓を失いやすいので、予め場所を確認しておく。
(注3) 膵臓も切り出しの過程で失いやすい。位置を確認してから切り出すこと。
3. 食道部分を口側に置き、喉と食道の間を切り離す。
4. 取り出した臓器を水を張った小バットに移す(水を入れすぎない)。

5

実験15

動物の諸器官の構造と機能(Ⅲ)
ウシガエルの解剖（内臓）

＜観察・スケッチ＞

1. 手などでひっぱり、腸間膜などを適宜広げ(どうしてもスケッチしにくい場合は少し腸間膜を切ってもよい)、各臓器などのつながりがわかるようにスケッチする
2. 泌尿器系・生殖器系をスケッチする。

＜レポート課題＞

1. 開腹したままの位置での観察及びスケッチ
2. 呼吸器系・消化器系を切り離して観察及びスケッチ(特に1.で見えなかった臓器の観察やそれぞれのつながり方に注目)
3. 泌尿器系・生殖器系の観察及びスケッチ
4. 考察・感想など

＜後片付け＞

1. ハサミとピンセットを洗浄。
 2. バットとコルク板を洗剤で洗い、バット立てで乾燥。
 3. 解剖後のカエルは水を切り指定の容器へ。
注) 絶対に**まち針を混入させない**こと!
 4. 実験台をきれいに拭く。
- ※洗浄・清掃不備は**減点対象**

6

実験9 植物の多様性と生殖(Ⅲ) —— テッポウユリの花粉管伸長

目的 花粉管伸長のしくみを調べることによって、被子植物の生殖様式を理解する

材料 テッポウユリ(*Lilium longiflorum*)

実験A 花粉管伸長の観察

器具、試薬

光学顕微鏡、スライドガラス、カバーガラス、湿室用のタッパー、割り箸、キムワイプ、シャーレ、マイクロピペット、チップ、カミソリ、ピンセット

培地の組成

- A. 1% 寒天
 - B. 1% 寒天、7% ショ糖、
 - C. 1% 寒天、7% ショ糖、0.25 mM GDL
 - D. 1% 寒天、7% ショ糖、0.5 mM GDL
 - E. 1% 寒天、7% ショ糖、1.0 mM GDL
- (GDL=グルコノラクトン D(+)-glucono-1,5-lactone)

実験手順

- ①寒天培地の準備
- ・TAが電子レンジで溶解済み（やけどに注意！）。
 - ・約50°Cに冷めるまで待つ（手で触れられる程度）。

1

②プレパラートの作製（班ごとに作成、下表を参照）

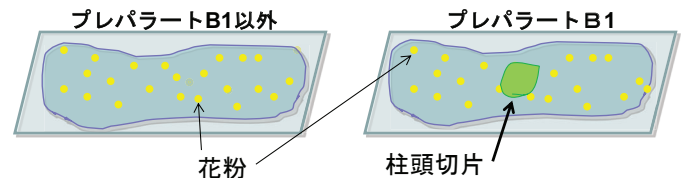
- ・スライドガラスを6枚並べ、サンプル名を記入。
- ・培地 0.75 mL をマイクロピペットで取り、滴下。
- ・培地が固まるまでの待ち時間に湿室をつくる。

プレパラート (試料名)	枚数	培地	柱頭
プレパラートA	1枚	A	-
プレパラートB-1	1枚	B	あり
プレパラートB-2	1枚	B	-
プレパラートC	1枚	C	-
プレパラートD	1枚	D	-
プレパラートE	1枚	E	-

③湿室の作製

- ・タッパーの底全体に、キムワイプを敷き十分湿らす。その上に、割り箸を並べる。

④花粉の散布



2

- ・ピンセットで花から葯を花糸（柄の部分）ごと摘みとる。
- ・培地表面に葯を何回かつけ、花粉を薄く均一に付着させる。
- ・花粉が均一でない、または付けすぎた場合は、キムワイプを用いて軽く撫でるようにして散らばらせる。

⑤柱頭切片の設置

- ・ピンセットで、花から柱頭を（花柱を含め）摘みとる。
- ・カミソリで、厚さ約1 mmの柱頭の切片を2班分切り出す。
- ・柱頭切片1枚を、プレパラートB1の培地の中央に置く。

⑥発芽処理（30°C）

- ・プレパラートを湿室内の割り箸の上に並べる。割り箸は割って2本並べる。
- ・湿室の蓋を閉め、タッパーごと30°C恒温装置に入れ、培養を開始する。

観察方法

- ・プレパラートの作成は班ごとに協力して行うが、観察は各自で行う。
- ・1時間30分後の花粉の発芽率と花粉管の長さを記録する。
複数観察（10-20個程度）して平均値を求める。

観察のポイント① → 「結果」へ

- ・ショ糖、柱頭、GDLは、花粉管の発芽、花粉管の長さ、原形質吐出にどのような影響を与えるのか。
- ・柱頭については伸長方向に与える影響についても答えよ。
- ・それぞれについて結論に至った根拠も書くこと。

3

実験B 染色による花粉管中の核の観察

器具、試薬

光学顕微鏡
スライドガラス、カバーガラス
酢酸オルセイン溶液
シャーレ
スポイト

実験手順

- ① 三角フラスコ（Dickinson培地）に入った培養花粉（前日から培養）を、シャーレに移す。
- ② 花粉管が絡み合っているため、ピンセットで引っかけてすくい取り、スライドガラスの中央に載せ、ほぐす。
- ③ サンプルの上に酢酸オルセイン溶液を数滴加え、5分以上静置する。
- ④ カバーガラスをかけ、余分な染色液をキムワイプで吸い取ってから観察する。

観察のポイント② → 「結果」へ

- ・花粉管中に核はいくつ存在しているのか。
- ・核は花粉管中のどのあたりに位置するか。

4

レポートについて

【タイトル】

【目的】

【材料と方法】

- ・ 実験AとBそれぞれについて簡潔にまとめる

【結果】

実験Aについて

- ・ 発芽率と花粉管の長さについて結果をまとめる
- ・ 結果を比較して、観察のポイント①に答える

実験Bについて

- ・ 染色後の核をスケッチする
 - ・ 観察のポイント②に答える
- ※学名、和名、スケールバーを忘れずに！

【考察】

- ① 「GDLがハチミツに存在すること」と「今回観察されたGDLの花粉管への影響」の間に生物学的な意義があると仮定した場合、その意義を考察せよ。
- ② 被子植物とコケ・シダ植物の受精方法の違いに着目して花粉を介した受精方法が持つ生物学的意義について、自分なりの考えや解釈を述べよ。

【後片付け】

スライドガラスは寒天培地などをキムワイプで拭き、マジックの字が消えるまで洗い、蒸留水ですすいだから、70%エタノールで拭いてケースに戻す

カバーガラス、カミソリはそれぞれ専用の回収容器に捨てる

実験10 被子植物の維管束構造

目的: 維管束植物の解剖学的特徴を観察し、その組織の成り立ちを理解する。

実験: 大学構内で採集した植物の茎の横断切片を染色し、顕微鏡で観察する。

茎の観察材料①:

- ・ハルジオン(春紫苑) (*Erigeron philadelphicus*)
もしくは
- ・ヒメジョオン(姫女苑) (*Erigeron annuus*)

茎の観察材料②:

- ・ハルジオン・ヒメジョオン以外の植物一種
(切片化が難しい植物もあるため、二種以上採取してもよい)

片付け: 実験器具はエタノールとキムワイプで消毒する
カミソリ・・・各実験卓上のカミソリ捨てへ
カバーガラス・・・カバーガラス捨てへ
スライドガラス・・・洗って消毒後、専用ケース
シャーレ・・・洗って消毒後、元の場所へ
観察後の植物・・・可燃ゴミへ
顕微鏡・・・元の状態に戻し、実験卓上に置いておく
レンズは拭かないこと!

1

プレパラートの作成 (植物の採集と切片の作製)

1. 大学構内で植物を採取する。
 - ・指定した範囲以外には行かないこと
 - ・根ごと引き抜かないこと
 - ・茎を適度な長さ(10~20 cm)で切断する
 - ・花壇、植え込みには立ち入らないこと
 - ・採取した植物はコップの水に差すこと

2. シャーレに水を入れる。

3. カミソリで茎断面をカットして、直角に整形する。

4. 指ぬきを使い、出来るだけ薄い切片を作る。

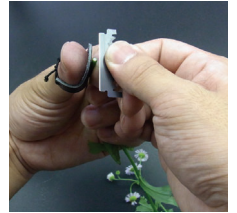
※怪我には十分注意する

5. すぐにシャーレの水に切片を浮かべる。

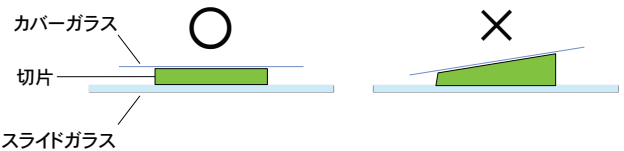
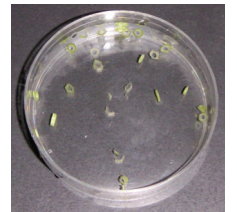
6. 薄いものを選び、スライドガラスに載せる。

※なるべく水平の切片を作成する

切片の作成



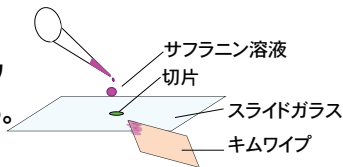
水に浮かべた切片



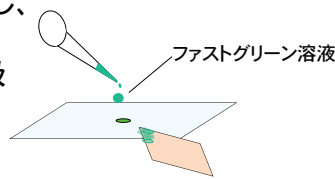
2

プレパラートの作成 (サフランとファストグリーンによる二重染色)

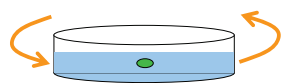
7. サフランを一滴添加し、1分程度染色したのち、キムワイプでサフランを吸い取る。



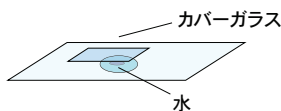
8. ファストグリーンを一滴添加し、1分程度染色したのち、キムワイプでファストグリーンを吸い取る。



9. 切片をシャーレの水に浸し、時折シャーレを揺すりながら1分程度脱色する。



10. 新しいスライドガラスに水を一滴たらし、その上に切片を載せ、カバーガラスをかけて観察する。



*乾燥に注意する。

*染色や脱色の時間はサンプルの状態に合わせて適宜調整すること。

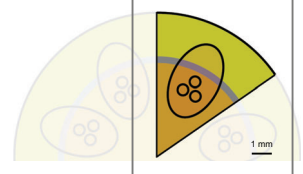
3

レポートの内容

- タイトル
- 目的
- 材料・方法 } 簡潔に
- 結果

※スケッチの例

和名(学名)の茎の横断面



- 1) 採取した植物の同定

※ 正誤は問わないが、同定の理由・根拠を記述すること

- 2) 茎の横断面のスケッチ

2-1) ハルジオンもしくはヒメジョオン

2-2) 上記以外の、自分で採取してきた植物

※横断面全体のスケッチを簡単に描写し、横断面のうち1/6~1/8(維管束の繰り返し構造の1単位分)を詳細に描写する

※ 特に維管束の部分は、細胞レベルで詳細に描写

※ スケッチには組織や細胞の名称、染色された色や濃さなどをできるだけ多く記入すること

※ 各スケッチには、タイトル、スケールバー、生物名(和名、学名)を記入すること

- 3) 植物間の違いについてのまとめ

※ 植物間での組織構造や染色の違いなどについてできるだけ多く、かつ分かりやすくまとめること

- 考察課題

観察した植物(ハルジオンかヒメジョオン・それ以外の植物)の維管束の構造の違いについて、その生育環境と繁殖域(点在/密集分布)の観点からそれぞれ考察しなさい。

4

実験16 動物の中樞神経系の構造と機能(IV) ウシガエルの解剖 (脳・神経)

<目的>

ウシガエルの解剖と観察により、脊椎動物の脳および中枢神経系の基本的構造を理解する。

<実験内容>

- 頭蓋骨を除去、脳および脳神経を露出させる。
- 脳および脳神経を背面・腹面から観察する。

<観察材料>

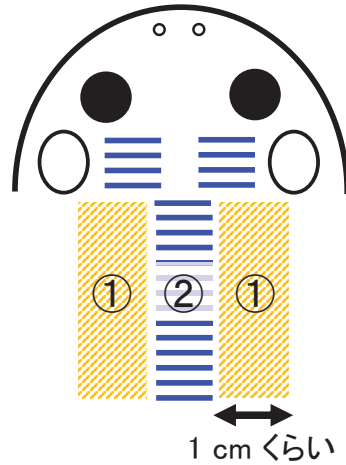
- ウシガエル (*Rana (Aquarana) catesbeiana*)
- 以前の實習で解剖したカエルの頭部をホルマリン固定した後、キレート剤EDTA(エチレンジアミン四酢酸)に漬け込み脱灰*処理したもの。

*骨、軟骨、歯などの硬組織からカルシウムを除去し、切断など容易にする工程のこと。

<実験器具>

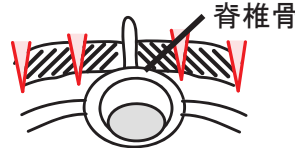
- 解剖皿, コルク板, 小解剖ばさみ, ピンセット, 実体顕微鏡

<筋肉の除去>



- ① ピンセットで黄斜線部の筋肉層を剥ぎ取る (大雑把で良い)
- ② ピンセットで青横線部の筋肉層を剥ぎ取る (根気よくできるだけきれいに取ると良い)

体幹部の断面図

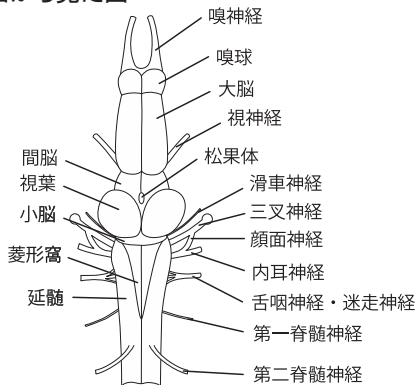


※骨を剥ぎ取る際に、筋肉層が邪魔になるため、特に脊椎骨周辺部の筋肉を丁寧に除去する

<背側の解剖>

- ① 頭骨の背壁にハサミで切れ目を入れる
- ② ピンセットとハサミを使って背壁を剥がす。
- ③ ②で出来た穴を前後に広げる。
※嗅神経から第二脊髄神経まで (以下、実体顕微鏡下で作業)
- ④ 延髄神経周辺を左右に広げる
※三叉神経、顔面神経、内耳神経、舌咽神経、迷走神経が観察できれば良い。

<背面から見た図>



注: 動眼神経は描かれていない

頭部の断面図



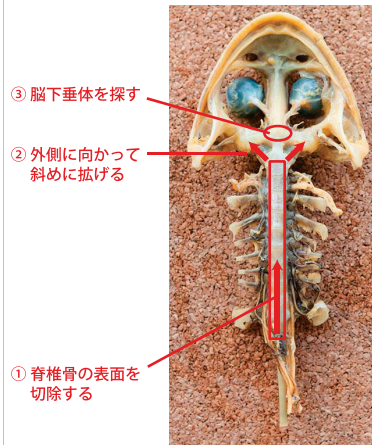
ハサミやピンセットで脳や神経を傷つけないように、慎重に!

<腹側の解剖>

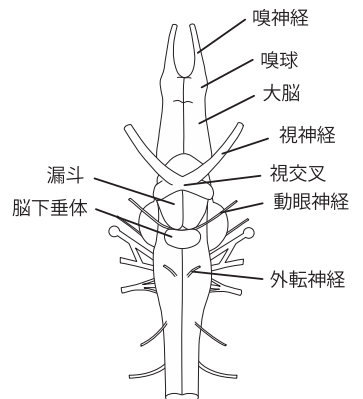
※腹側の解剖は背側のスケッチが終わってから!

- ① 脊椎骨の後端付近にハサミで切れ目を入れ、骨の表面をハサミとピンセットで切除し、神経を露出させる
- ② 骨格が十字になっている分に到達したら、外側に広げるように斜めにハサミを入れる
- ③ 切れ目をめくり上げ、脳下垂体を見つけたら傷つけない等に慎重に骨を除去する

<腹面から見た図>



- ① 脊椎骨の表面を切除する
- ② 外側に向かって斜めに広げる
- ③ 脳下垂体を探す



視交叉、漏斗、脳下垂体あたりを観察してみよう

<レポート>

1. 目的・材料・方法
2. 結果
 - ・ 背側および腹側のスケッチをする
 - ・ 適宜、文字でも観察記録を取ること

[スケッチの注意点]

 - ・ 観察に基づいて、大きく、忠実に
 - ・ 用紙1枚に1つのスケッチを大きく
 - ・ フリーハンドの線または点(点描)であらわす
 - ・ (判別できた範囲で)各部の名称, 気づいたことを記録する
3. 考察
神経のつながり, 大きさ, 配置に関することなど
4. 感想(あれば)

<後かたづけ>

- ・ 死骸、キムワイプ、手袋は
それぞれ指定のビニール袋に入れる。
- ・ ハサミ、ピンセット、バットは洗剤を
使用して洗い、各自の実験台で乾燥させる。
- ・ 実体顕微鏡を所定の番号の棚に片付ける
- ・ 実験台をきれいに拭く

実験14 動物の諸器官の構造と機能(II)
ーザリガニの解剖ー

●目的

節足動物の基本的構造及び体制を理解する。

●実習内容:ザリガニの解剖

- ①内部形態(心臓付近及び消化器系)を観察し、その構造を理解する。
- ②神経系を観察し、その構造を理解する。

●材料

(和名)ウチダザリガニ
(学名) *Pacifastacus leniusculus*

●器具について

- ①解剖器具(ピンセット、各種はさみ)、小解剖皿
- ②実体顕微鏡(任意)

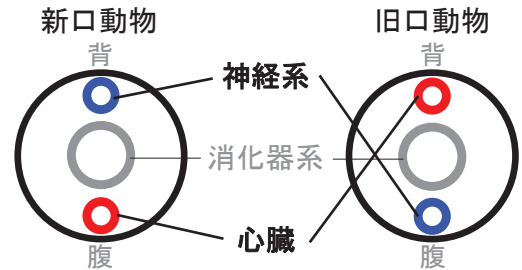
●麻酔方法

解剖前に麻酔を行う。
(炭酸水にザリガニを30分程度浸しておく)

実験14 動物の諸器官の構造と機能(II)
ーザリガニの解剖ー

<異なる体制>

輪切り像を示すと:



参考)動物の系統

胚発生の過程では胚の一部が陥入する。この陥入部位の外界に通じる部分を原口と呼ぶ。

原口が将来の口になる生き物を旧口動物、原口が肛門になる生き物を新口動物と呼ぶ。



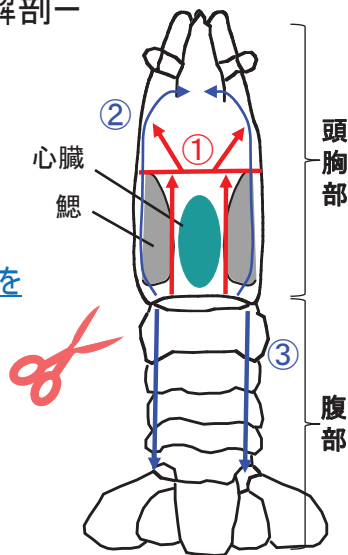
実験14 動物の諸器官の構造と機能(II)
ーザリガニの解剖ー

●心臓・消化器の観察

- ①頭胸部を縦-横に切開し、胃を露出させる

- ②③ 背側の外骨格を除去

心臓、胃、肝臓、生殖腺をスケッチ(つなかりに注目)



●神経系の観察

- ①胸部・腹部の内臓および筋肉を除去

その結果、脳・腹部神経節が露出されるが、胸部神経は骨格の下に潜っている状態になる

- ②ピンセット等で胸部骨格を除去し(やや難かも)

胸部神経を露出

各種神経及び神経節、緑腺、膀胱をスケッチ(つなかりに注目)

実験14 動物の諸器官の構造と機能(II)
ーザリガニの解剖ー

●レポート

1. 目的・材料・方法
2. 結果

以下の観察記録およびスケッチをする(いずれも臓器のつながりを意識すること)

- ・内部形態(心臓・消化器・生殖腺)
- ・神経系(脳・食道下・腹部・胸部神経節)
- ・その他、緑腺など

3. 考察

- ・脊椎動物との共通点・相違点に着目し、自由記述
- ・その他(任意)

●スケッチの注意点

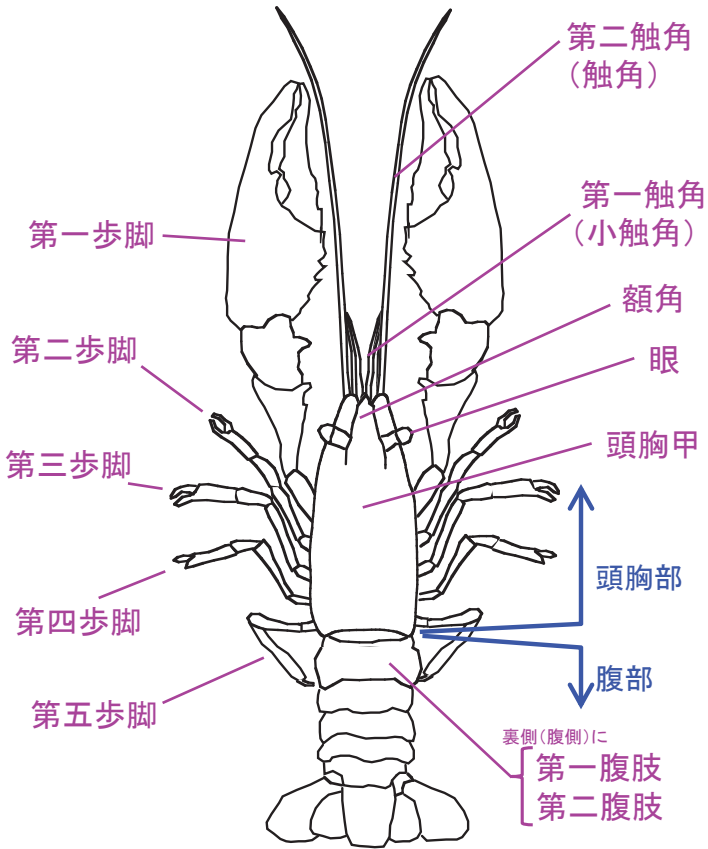
- ・観察に基づいて大きく、正確に、丁寧に描く
- ・フリーハンドの線または点(点描)であらわす
- ・各部の名称や気づいたことを、引き出し線で書き込む

●後かたづけ

- ・ザリガニの死骸は専用の入れ物に入れる。
- ・解剖皿は洗浄後、各自の机の上におく。
- ・ハサミ、ピンセットは洗剤で洗浄後、純水ですすぐ。
- ・実体顕微鏡(レンズ以外)に付いた汚れは消毒用エタノールを含ませたキムワイプで拭く。レンズは拭かないこと。
- ・各自の机の上をきれいに拭く。

実験14 動物の諸器官の構造と機能(II)
 -ザリガニの解剖-

<外部形態(アメリカザリガニの例)>



実験14 動物の諸器官の構造と機能(II)
 -ザリガニの解剖-

<外部形態(ウチダザリガニ・オス・背側)>



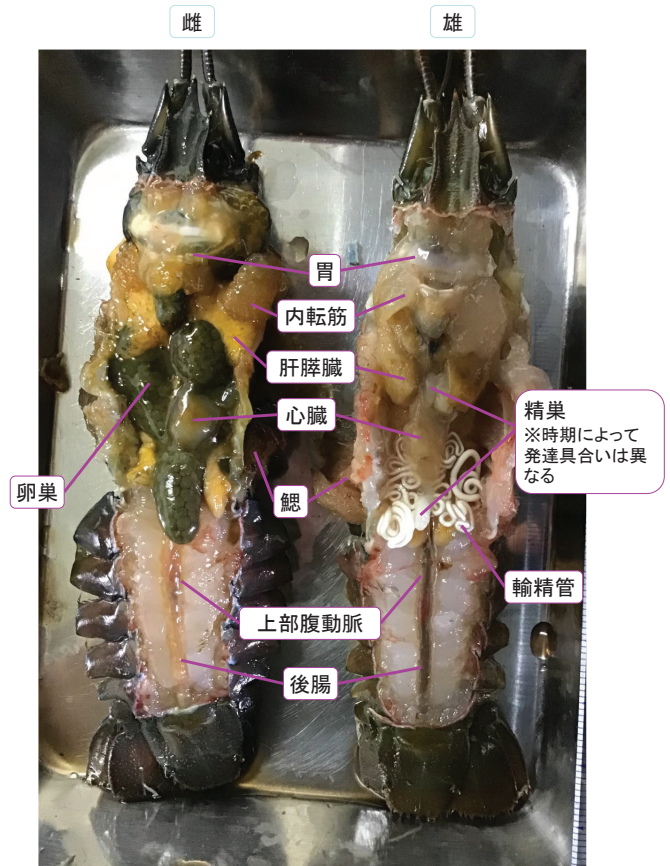
実験14 動物の諸器官の構造と機能(II)
 -ザリガニの解剖-

<外部形態(ウチダザリガニ・オス・腹側)>



実験14 動物の諸器官の構造と機能(II)
 -ザリガニの解剖-

<ウチダザリガニの内部形態(背側から)>

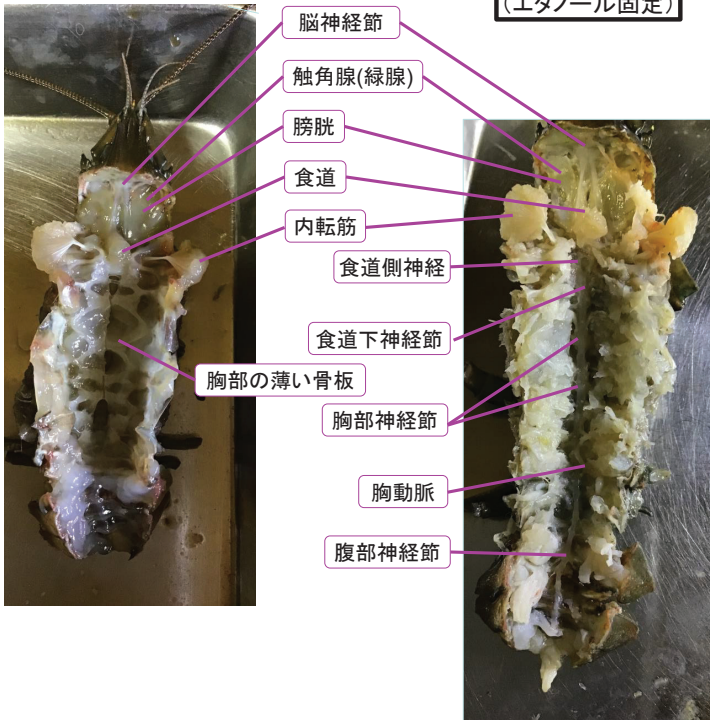


実験14 動物の諸器官の構造と機能(II)
ーザリガニの解剖ー

< 消化器・循環器を取り除いたウチダザリガニ >

背側から

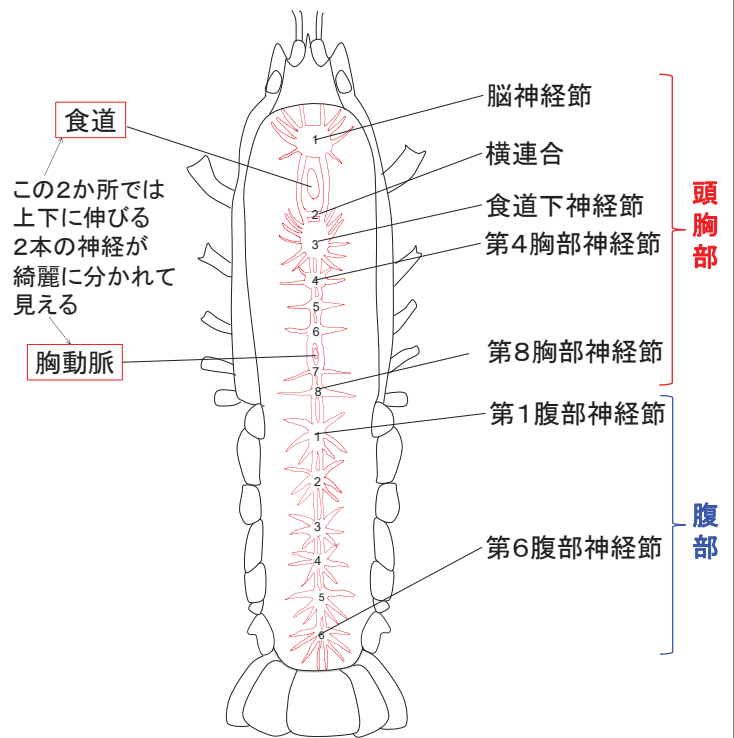
骨格除去後
(エタノール固定)



※模式図は補遺参照のこと

実験14 動物の諸器官の構造と機能(II)
ーザリガニの解剖ー

< 神経節の名称 >



実験12 動物の受精と初期発生(II) —— アフリカツメガエル

実験I: 生胚の観察

目的: 両生類の受精卵がどのように発生していくか理解する。

材料: アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*)

方法:

- (1) 採卵・人工授精・ゼリー層除去を行う。
- (2) 実体顕微鏡で観察し、スケッチする。

実験II: レチノイン酸(RA)の発生への影響

目的: 発生過程におけるRAの役割を理解する。

材料: アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*)

方法:

- (1) 固定胚(RA処理と未処理)の比較観察。
- (2) 任意: 半切片(hemi-section)による胚内部の観察。



<レポートへの記載事項>

- ・タイトル
- ・目的 (簡潔で良い)
- ・材料と方法
 - ※方法は、簡潔で良い。
 - ・受精卵を得た方法
 - ・RA処理
 - ・(半切片の作成)
- ・結果
 1. スケッチ3枚(用紙1ページに1種類)
 - ① 2細胞期以降(生胚)
 - ※実習時間中には2-4細胞までは観察できる予定
 - ② 神経胚(固定胚, 配布)
 - ③ 尾芽胚(固定胚, 配布)
 - ※特徴(気づいたこと)を記述すること
 2. RA処理胚と未処理胚との違い
 - 観察結果の図示と文字説明を併用すること。
- ・考察
 - ① 観察した胚の様子(経時変化、特定の場所・構造など)を基に自由に。
 - ② 推定したRAの役割について。
 - ③ その他(任意)
- ・感想など(あれば。評価とは無関係)

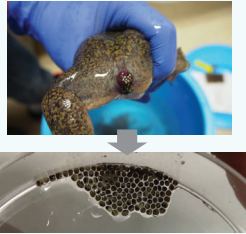
<RA処理の概要>

まず、人工授精させた卵を胚胞期まで発生させた。次に、胚胞期から初期神経胚までの間、RA存在下で培養し、よく洗浄後、再びRA非存在下で初期幼生の時期まで培養した(発生ステージについては教科書参照)。

<人工授精の方法>

1. 採卵

- 指をピースにし、カエルの片脚を挟んで掴む(※目を隠す&しっかり持つ)
- 腹を優しく押して、排卵させる
- シャーレの縁で卵を受ける



2. 媒精

- 卵周辺に水が過剰な場合はキムワイプで除去する
- 精子懸濁液を3-4滴たらす
- ガラス棒で攪拌し、精子を全体に広げ、さらに卵が重ならないように一層にする
- 3分待つ
- 水を入れ、受精させる
(時刻を記録)

3. ゼリー層除去

- (受精後30-60分後くらい)
- 水を除く(廃液入れに捨てる)
 - 4.6%システイン酸塩酸塩水溶液をシャーレの半分位の深さまで入れる
 - ガラス棒でかき混ぜる
 - ゼリー層が溶けたら(1-3分位)、スタインバーグ氏液を入れ卵を洗う
 - 液を一旦捨て、上記の洗浄を4回繰り返す(計5回)

後片付け

- ・ 実体顕微鏡 → 水分を拭き取り、元の場所へ
- ・ 残った胚 → 各自の胚捨てへ
- ・ シャーレ、スポイト → 水道水で洗浄後、蒸留水ですすぎ各自の机に
- ・ 廃液入れ → 流しにながして、軽く洗い、各自の机に

<固定胚の半切片の作成法>

1. カミソリの準備

袋に包んだまま、端を折る

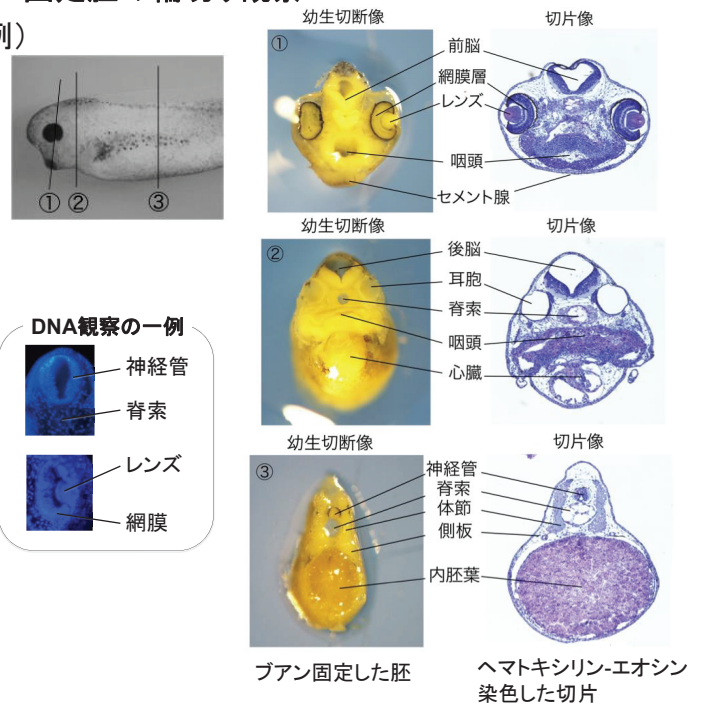


端を使う



2. 固定胚の輪切り観察

例)



[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

↓

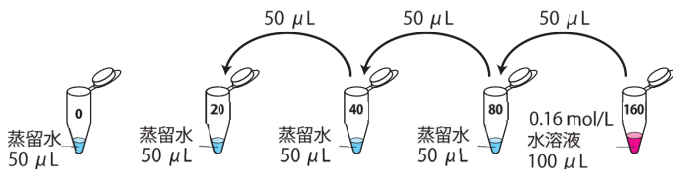
完成 (0.2 mL の塩化ニッケル処理済みゾウリムシ)

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 μ Lずつ分注する。
- 「160」には0.16 mol/L 塩化ナトリウムまたはソルビトールを100 μ L量り取る。
- 「160」から50 μ L取り、「80」に加えて数回ピペティングする。この操作によって80 mmol/L 水溶液が100 μ Lできる。
- 以下、20 mmol/L まで同様に調製する。

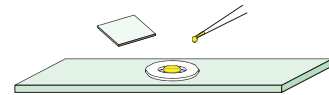


③ 5本の0.5 mL チューブに0、10、20、40、80と書き、それぞれに0、20、40、80、160 mol/Lの水溶液を20 μ Lずつ分注する。

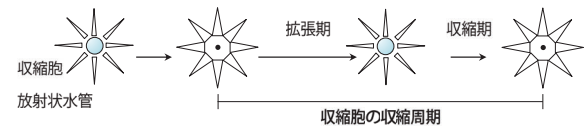
④ ①をタッピングしてゾウリムシを均等に分散させてから20 μ Lを③の1本に加え、すぐに観察する。
希釈系列とゾウリムシの混合は一度に行わず、各濃度ごとに調整・観察を行う（観察は0 mmol/Lから）。

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 μ L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PCI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

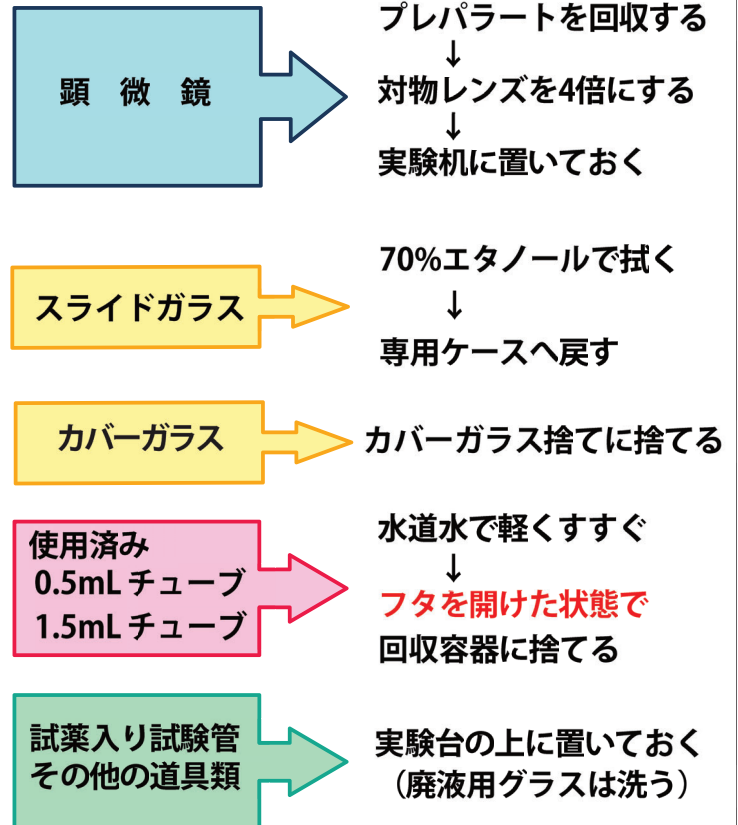
結果 塩化ナトリウムまたはソルビトール添加時の収縮胞の収縮頻度を測定し、全員分の集計結果とともに表とグラフにまとめよ。なお、表とグラフは配布する用紙に記入すること。

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

5

あとかたづけ



6

実験2 電気泳動による 光合成関連タンパク質の分離

目的：

タンパク質を分子量の違いによって分離する手法であるSDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動法の原理を理解し、その手法を習得する。

材料：

シアノバクテリア *Synechocystis* sp. PCC 6803
野生株および *cpcA* 遺伝子欠損変異株

実験：

(班単位でおこなう)

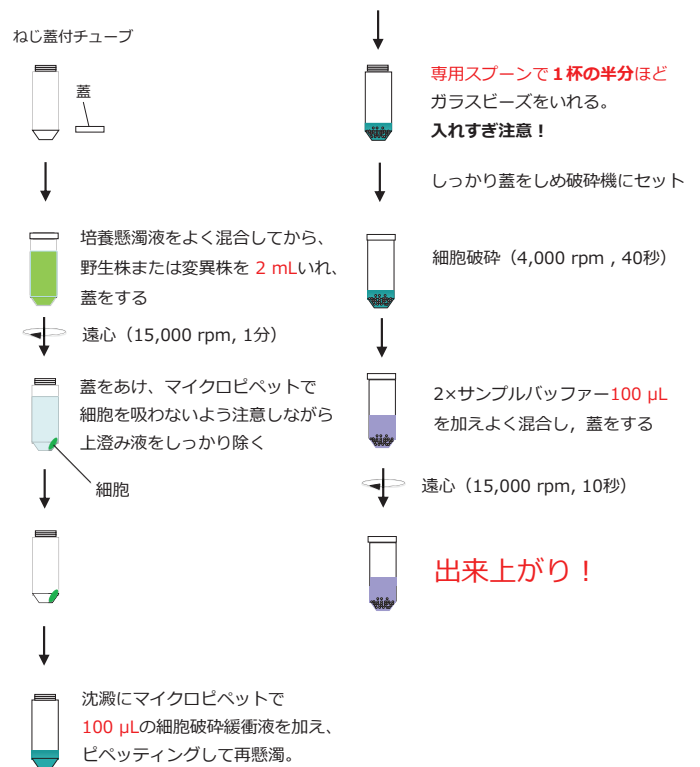
- A：野生株および *cpcA* 遺伝子欠損変異株の細胞を破碎後、タンパク質を電気泳動で分離し、フィコシアニンのバンドを同定、その分子量を推定する。
- B：分光光度計を用いて細胞の吸収スペクトルを測定することによりフィコシアニンが光合成に利用する光の波長を推定する。

1

実験A「電気泳動」の手順

(1) 泳動サンプルの調製 (個人ごと)

(1人2本：野生株と変異株を一本ずつ)



2

(2) 電気泳動 (班ごと)

- 泳動用緩衝液を泳動槽の線のところまでいれる。
- ゲル板よりコームをゆっくり垂直に抜き取る。
レーンの配列が乱れた場合、教員またはTAに申し出る。
- ゲル板を泳動槽へとりつける(教科書参照)。
- 上部槽の上端から2-3 mmのところ、**ウェルが完全に浸るまで**泳動用緩衝液を入れる。
- マイクロピペットで、両端のレーンには分子量マーカーを8 μL、その間のレーンに各自のサンプル8 μLを、ビーズをなるべく吸わないように上の方から吸い、ゆっくり流し込む。
(全てのレーンを埋めた方がきれいに泳動できる)
- 電源部の泳動槽への取り付けをおこなう(教科書参照)。
- メインスイッチOFFを確認してからACアダプターをコンセントに差し込み、メインスイッチをONにする。
Tris-Gly PAGELのHighモードが選択されていることを確認する。
- RUNボタンを押し、泳動を開始する。
泳動は、30分経つと自動的に終了する。

泳動の30分間に実験Bをおこなう。

3

(3) ゲルの染色、脱染 (班ごと)

手袋をして操作すること

- 泳動終了後、泳動用緩衝液を流しに捨て、泳動槽からゲル板を取り出し、**軽くゲル板全体を水洗**した後、スパテルを使ってゲル板をはがす (**裏表が分かるようにゲルの右下を切っておく**)。
- ゲルをゲル板からはがし染色用ガラス容器に入れる。
50 mLチューブの染色液全量 (約30 mL)を加え、フタをした後、電子レンジにセットし、加熱処理する。
(あたためモード約30~40秒が目安)。**火傷に注意**。
容器を振とう機に置き、約10分間振とう。
染色液をスポイトを使って50 mLチューブに必ず戻す。
- 容器に水道水を50 mL程度加え (量り入れる必要はない)、2.と同様に電子レンジで加熱処理後、約10分間 (バンドがはっきり見えるようになるまで) 振とう。
※脱染水は指定の容器に廃棄。絶対に流しに捨てない。
- ゲルを写真に撮る
(撮影方法については教員の指示に従うこと)。

4

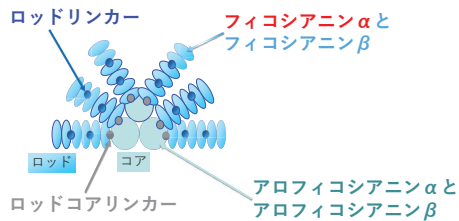
実験B「吸収スペクトルの測定」(班ごと)

1. 野生株(WT)又は変異株(MT) 培養懸濁液 1 mLを測定用セルに入れ、測定を行う。
あらかじめ培養懸濁液をよく混合してから、マイクロピペットを用いて懸濁液を分取する。(ベースラインは事前に教員が補正済みなので、培養懸濁液の測定を行うだけでよい)
2. シアノ廃液入れに細胞を捨てた後、セルを蒸留水(DW) でよくすすぐ。

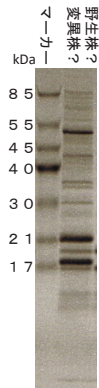
参考資料

表1 (教科書 p.30)

タンパク質名称	みかけの分子量 (kDa)	存在場所
ロッドリンカー	34	ロッド
ロッドリンカー	33	ロッド
ロッドコアリンカー	30	ロッドとコアの間
フィコシアニンβ	21	ロッド
アロフィコシアニンα	18.5	コア
フィコシアニンα	17.5	ロッド
アロフィコシアニンβ	17	コア



図：野生株のフィコビリソームの構造



図：電気泳動におけるマーカーの分子量

5

後かたづけ

泳動槽

水で洗ったあと、実験机上に逆さにして乾かす。

染色用ガラス容器

水洗後、各自の実験机に逆さにして乾かす。

ビーズの入った容器

各自の実験机に置く。

使用済ゲル板

軽くすすいで、所定の机の指定容器に捨てる。
包装袋とコームは不燃ごみ。

使用済ねじ蓋付チューブ

指定容器にフタを閉めて捨てる。

15 mlチューブ(野生株・変異株用)

水洗→蒸留水ですすいだ後、野生株・変異株を分けて、所定の机の洗い桶に逆さにして乾かすように入れる。

プラスチックセル(分光器)

純水すすぎの後、逆さにして各自の実験机上に立てておく。

6

レポートの内容

○タイトル、目的、材料と方法(生物名)

○結果

A)電気泳動

- 写真の余白を切り取って糊付け。
- 実験A課題1~3
課題1：フィコシアニンαのバンド特定とその特定理由
課題2：変異株でフィコシアニンα以外に失われたタンパク質の特定
課題3：変異株ではフィコビリソームの構造がどのようになっているか、図と文章で説明せよ

2)細胞の吸収スペクトル

- 写真の余白を切り取って糊付け。
- 株の種類と読み取った吸収ピークの波長を記載。
- 実験B課題1(問いが3つあるので注意)
 1. シアノバクテリアが光合成に利用している波長の推定
 2. 野生株と変異株の見た目の色の違いが生じた原因を、吸収スペクトルの違いから噛み砕いて説明せよ
 3. フィコシアニンが吸収する光の波長

○考察

- 変異株において失われた、フィコシアニンα以外のタンパク質は、フィコシアニンαとどのような関係にあるか答えよ。また、変異株においてそれらのタンパク質が失われたのはなぜか、考えるメカニズムを答えよ。ただし、変異株ではcpcA遺伝子以外の遺伝子には変異が生じていないものとする。
- 変異株が得られた経緯を考慮した上で、cpcA遺伝子に生じた変異はどのような環境に対して適応的な変異であると考えられるか、理由も含めて答えよ。

7