

〈生物分野〉

I 観察器具

(I) 顕微鏡

【使い方】

- ① 顕微鏡は直射日光の当たらない水平な台の上に置きます。
- ② レボルバーを回し、対物レンズを最も低倍率なものにします。
- ③ 反射鏡・しぼりを調節し、視野が最も明るくなるようにします。
- ④ プレパラートをステージの上に置きます。
- ⑤ 本体の横から見て、調節ねじを回し、対物レンズとプレパラートをなるべく近付けます。
- ⑥ 接眼レンズをのぞき込み、調節ねじを回し、対物レンズとプレパラートを離しながら、ピントを合わせます。
- ⑦ 明る過ぎて輪郭がはっきりしないときには、しぼりを回して明るさを調節します。
- ⑧ 高倍率で観察する際は、レボルバーを回して高倍率にし、⑤、⑥と同じ工程を行います。



顕微鏡

《注意事項》

- 使用する際に箱がある場合は、箱の扉を腹に押し当てて、片方の手を取っ手に、もう一方の手を箱の底に添えて持ち運びます。扉を腹に押し当てない場合、中の顕微鏡が揺れて、飛び出す恐れがあります。本体のみを運ぶときは、片方の手でアームを握り、もう片方の手で鏡台を下から支えます。片手で持つと、落下による怪我や本体が破損する可能性があります。



箱の運び方



本体の持ち方



悪い例

- 調節ねじが2種類（粗動ねじ、微動ねじ）ある顕微鏡では、微動ねじだけでピントを合わせると、ねじが破損することがあります。粗動ねじである程度ピントを合わせた後、微動ねじで微調整を行います。
- 調節ねじを回してもピントが合わない場合は、レンズとプレパラートとの距離に問題がある場合が多いです。プレパラートの下にスライドガラスを1枚挟むことで、対物レンズとプレパラートとの距離が近くなり、ピントが合いやすくなる場合があります。
- 細胞等の大きさを計測する場合は、接眼マイクロメータと対物マイクロメータを使用します。接眼マイクロメータは接眼レンズに、対物マイクロメータは対物レンズにセットし、顕鏡することで、接眼マイクロメータの1目盛りの長さを計算することができます。実際に、細胞等の大きさを計測する場合は、対物マイクロメータをはずし、接眼マイクロメータのみで計測します。

(2) 双眼実体顕微鏡

【使い方】

- ① 双眼実体顕微鏡は直射日光の当たらない水平な台の上に置きます。
- ② 両目でのぞき、視野が重なって見えるように鏡筒の間隔を調節します。
- ③ 右目だけで接眼レンズをのぞきながら、粗動ねじを緩めて鏡筒を上下させ、ほぼピントを合わせてから微動ねじでピントを合わせます。
- ④ 左目だけで接眼レンズをのぞきながら、視度調節リングを左右に回してピントを合わせます。



双眼実体顕微鏡

《注意事項》

- 保管方法や持ち運び方は顕微鏡に準じます。
- 粗動ねじをゆるめると本体が急に下がるので、必ず鏡筒を支えながら操作します。
- ステージの板は透明なもの、白と黒になっているものがあります。観察する試料に合わせて使い分けます。

(3) ルーペ

【使い方】

- ① ルーペを目に近付けて持ち、そのまま動かさないようにします。
- ② 観察するものを前後に動かし、ピントを合わせます。
- ③ 動かさないものを見る時は、顔を前後に動かしてよく見える位置を探します。



ルーペ

《注意事項》

- ルーペで太陽を見ないことや、試料を光源や太陽にかざして見ないことを指導します。
- 砂などがついたときレンズに傷がつかないように、拭き取らずブローアなどで吹き飛ばします。

(4) 気体検知管

【使い方】

- ① 気体検知管の両端を、チップホルダで折り取ります。
- ② 矢印のない方の端にカバーゴムを取り付けます。
- ③ 気体採取器のハンドルが、一番押し込まれていることを確認します。
- ④ 気体検知管の矢印を気体採取器に向け、差し込みます。
- ⑤ 瓶などに気体検知管を入れ、ハンドルを一気に引いて固定します。
- ⑥ 一定時間（約1分間）待った後に、気体検知管を取り外し、目盛りを読みます。



気体採取器（上）と
気体検知管（下）

《注意事項》

- 検知管の外郭はガラスでできているので、保管に注意します。
- 両端を折り取った検知管は先端が鋭くなっているため、けがに注意します。
- 酸素用気体検知管内には塩化水素 HCl が入っており、酸素 O₂ で酸化すると、気体の塩素 Cl₂ と液体の水 H₂O を生じ、その際、高温になるので注意します。

(5) オートクレーブ（滅菌装置）

【使い方】

- ① 底の排水バルブを閉めてから、装置内に水を入れ、その上に専用のかごに入れた培地などの試料を入れ、ふたを閉じて固定します。
- ② 上の排気口を開け、加熱していくと、当初は排気口から空気が出てきますが、次第に湯気が噴き出すようになります。
- ③ 内部に水蒸気が充満する頃合いを見計らって排気口を閉じます。
- ④ その後、温度と圧力に注意しながら加熱を続け、時間を見て加熱を止め、内部が十分に冷えた後に取り出します。



オートクレーブ

《注意事項》

- 取扱いには十分な知識が必要です。作業主任者の指示に従い、作業を行うようにします。
- 分解・整備・清掃を行うに当たっては、十分冷やした後、内部圧力などに注意しながら開放しなければなりません。

(6) インキュベーター（恒温装置）

【使い方】

- ① 前扉や内扉を開け、庫内に培地などの試料を入れ、扉を閉じます。
- ② パネルを操作し、庫内の温度を設定します。機材によっては、保温時間や温度上限・下限を設定できるものもあります。
- ③ その後、温度に注意しながら加熱を続け、時間を見て加熱を止め、取り出します。



インキュベーター

《注意事項》

- 設置場所には注意をします。転倒防止措置を行い、アースを設置します。また、可燃物との並置は厳禁です。

2 顕微鏡観察

(1) プレパラート作成

【作成方法】

- ① 乾いたきれいなスライドガラスの中央に試料を置き、水を1滴落とします。
- ② 利き手にピンセットを、もう片方の手には柄付き針を持ちます。利き手のピンセットでカバーガラスを軽くはさみ、**図1**のように柄付き針の先端でカバーガラスの1辺を支えながら、気泡を追い出すように試料の片側からカバーガラスを倒していきます。
※ 水が多過ぎてカバーガラスが浮いてしまう場合は、小さく切ったろ紙で吸い取ります。



図1 カバーガラスのかぶせ方

《注意事項》

- カバーガラスは非常に薄く、破損の恐れがあります。破損した場合、カバーガラスの破片は発見しにくいので、ガムテープ等で周辺を粘着します。

(2) 染色

【染色方法】

- 核を染色する場合、酢酸カーミン（オルセイン）液やメチレンブルー液を使います。
- デンプンを調べる場合、ヨウ素液を使います。
- ミトコンドリアの染色にはヤヌスグリーン液を使います。

《注意事項》

- 植物の細胞質を染色する場合には、染色液を落としてすぐカバーガラスをかぶせるのではなく、しばらく待ってからかぶせる方が、より染色が進みます。

3 解剖

解剖

【解剖方法】

- 解剖はさみの丸みを帯びた方を皮下に刺し入れ、内臓を傷つけないように切開します。



解剖はさみ

《注意事項》

- 手羽先では、皮と筋肉の間に大量の皮下脂肪があります。ナイフが滑らないよう注意します。
- 解剖に使うピンセットは先が鋭いものが多いので、けがに注意します。
- イカやアジの場合、寄生虫のアニサキス幼生が付着していることがあります。
- 解剖に使用した試料は食用とせず、生ごみとして捨てます。
- 解剖が終わった後は必ず手を洗わせます。
- 解剖に使用したはさみは、中央部で外してきれいに洗います。
- 解剖はさみやメスを使用するときは、他人や自分の手を傷つけないように気を付ける必要があります。二人ペアで実習を行う場合は、一人が解剖対象を抑えて、もう一人が解剖はさみやメスで切開すると大変危険です。解剖はさみやメスを持つ人が利き手とは逆の手で解剖対象を抑えるようにしましょう。

4 培養

培養

【培養方法】

- 培養に使うペトリ皿などのガラス器具は家庭用の蒸し器で 20 分以上殺菌してから使います。扱うときは手で触らないように、長いピンセットか箸を使います。
- インキュベーター内に入れることで気温や湿度が一定に保たれ、効率よく培養できます。

《注意事項》

- 培地に使用する 0.1%デンプン水溶液は、水にデンプンを必要量入れて、弱火で加熱します。濁りがとれたら加熱をやめます。熱湯にデンプンを入れると加熱分解してヨウ素反応が見られなくなります。
- 培養後、観察や実験を行った後の培地は加熱殺菌します。

5 飼育・栽培

(1) 指定外来種の飼育・栽培の禁止

《注意事項》

- 外来生物法（特定外来生物による生態系等に係る被害の防止に関する法律）により、国の指定した特定外来生物の飼育・栽培・保管及び運搬，加えて，野外へ放つ・植える及びまくこと，さらに，譲渡し，引渡しなどをすることが禁止されています。許可なく飼養等を行った場合の罰則は，1年以下の懲役もしくは100万円以下の罰金が科されます。
- また，佐賀県としても，移入規制種として2020年12月現在，18種の植物，7種の魚類，3種のは虫類，4種の哺乳類が挙げられています。これらの生物を野外に放つ（種蒔，植栽する）ことは禁止されています。栽培や飼育する場合，決められた飼養施設等で適切な管理を行ってください。なお，捕獲したものをその場で放つ（再放流，リリースする）ことも禁止されていますので，捕獲した場合，適切に処理を行ってください。

(2) メダカの飼育

《注意事項》

- メダカの尾びれの毛細血管を用いて，顕微鏡で血流の観察をします。その際，観察に使用した後のメダカを，捕獲した以外の場所に放流することは禁止されています。たとえ同種の魚類であっても，水系が違えば国内外来種となり，遺伝子のかく乱を招く可能性があります。
- 血流の観察のために，水槽などで飼育されているメダカの中に，外来種であるカダヤシが混入している場合があります。上で記載しました特定外来生物の1つですので，飼育を続けることはできません。発見したら殺処分することになります。

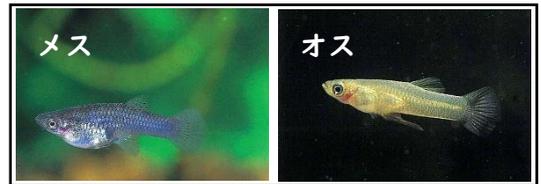


図2 カダヤシ

図2の左はカダヤシのメス，右はカダヤシのオスの写真です。図3のミナミメダカのメス，オスとの違いは，尻びれと尾びれの形で見分けられます。カダヤシはオス，メス共に，尾びれの端が丸みを帯びたうちわ型になっています。また，尻びれがミナミメダカとは大きく違うので，そこで区別がつけます。

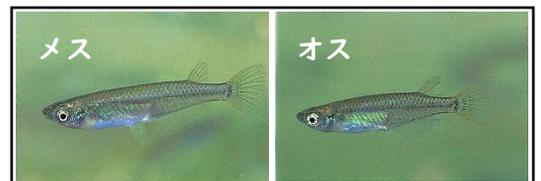


図3 ミナミメダカ

(写真提供：田島 正敏 氏)

(3) ザリガニの飼育

《注意事項》

- 無セキツイ動物の例として，ザリガニの体のつくりや運動の様子を観察することがあります。その際，観察に使用した後のザリガニ（アメリカザリガニ）を野外の川などに放流することは禁止されています。
- 2020年11月に，アメリカザリガニを除く外国を原産とするザリガニ類が，全て特定外来生物に指定されました。中でも注意が必要なのは，「ミステリークレイフィッシュ（マーブルクレイフィッシュ）」と言われるザリガニです。このザリガニは単為生殖が可能で，メスだけで繁殖することができます。

6 DNA実験

(1) DNA抽出

【実験方法】

- ① 試料に細胞溶解液を入れ、試験管をゆっくり振って混ぜ合わせます。
- ② ①にタンパク質分解酵素を入れ、試験管をゆっくり振って混ぜ合わせます。
- ③ ②の試験管を約 50℃の恒温水層に入れ、タンパク質の分解反応を進めます。
- ④ ③の試験管に塩化ナトリウム水溶液を入れ、試験管をゆっくり振って混ぜ合わせます。
- ⑤ ④の試験管を斜めに傾けて持ち、こまごめピペットを用いてよく冷やしたエタノールを試験管の内壁を伝うようにゆっくり加えます。
- ⑥ 試験管を傾ける角度をゆっくりと変化させ、試料とエタノールの境界面を少し波立たせます。また、試験管を少し回転させ、試料がエタノールと接触するようにします。
- ⑦ 糸球状の DNA が析出します。

《注意事項》

- 激しくかき混ぜると、析出しないのでゆっくり静かに混ぜ合わせます。

(2) 遺伝子組換え実験（カルタヘナ法について）

《注意事項》

実施に当たっては、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（いわゆるカルタヘナ法又は遺伝子組換え生物等規制法）」で定めるルールをしっかりと守る必要があります。以下にこれらのルールを掲げますので、しっかりと守り、遺伝子組換え実験の安全の確保に努めて下さい。

① 遺伝子組換え実験中の拡散防止措置をしっかりととること！

遺伝子組換え実験を行う上で最も大事なことは、実験に用いる遺伝子組換え生物を実験室の外へ拡散させないことです。この拡散を防ぐため、カルタヘナ法（遺伝子組換え生物等規制法）では、実験の種類に応じた「拡散防止措置」をとるよう定めています。

② 保管中の拡散防止措置をしっかりととること！

数週間にわたって実験を行う場合、作成した遺伝子組換え生物を保管する必要がありますが、この場合には、①遺伝子組換え生物が漏出しない容器に入れ、容器に遺伝子組換え生物である旨の表示をすること、②冷蔵庫など決められた場所に保管し、見やすい箇所に遺伝子組換え生物である旨の表示をすること（つまり、①と②の2カ所の表示をしなければなりません）、を守る必要があります。

③ 体制を整備すること！

カルタヘナ法（遺伝子組換え生物等規制法）では、遺伝子組換え実験を行う際に、その安全な取扱いについて検討する委員会を設置し、検討を行うよう求めているところですが、通常の教育目的の実験であれば、安全管理が容易なことから、こうした委員会の設置は必須ではありません。しかしながら、遺伝子組換え実験の内容や安全管理の方法などを組織として十分に把握した上で、実験を行うことが必要であると考えられます。また、実験を指導する方々は、遺伝子組換え生物等の取扱いについて十分な経験を有していることが望まれます。

（文部科学省研究振興局ライフサイエンス課生命倫理・安全対策室 Web サイトより）