

1 原形質分離の改良実験

1. 目的

原形質分離の実験は、細胞膜の性質を学ぶうえで一般的に行われる実験である。しかし、原形質分離が見られる細胞で、細胞壁と細胞膜の間に外液（スクロース溶液）があることを見て確認することはできない。そこで各種色素を使って外液に色をつけ、より観察しやすい色素を見つけ、さらに観察に適した濃度を求める。

2. 準備

顕微鏡（ビデオ撮影ができるもの）、検鏡用具（スライドガラス、カバーガラス、スポイド、ピンセット、柄つき針、はさみ、ろ紙等）、ビデオ撮影装置一式、天秤、各種色素、ユキノシタの葉（裏が赤いもの）、ショ糖溶液（0.5mol/l）

今回用意した各種色素の一覧（学校に常備されているものを使用 アイウエオ順）

アセトカーミン溶液	ギムザ液	メタニルイエロー
アリザリン	ゲンチアナバイオレット	メチルブルー
アリザリンレッドS	コンゴーレッド	メチルオレンジ
インジゴ	サフラニン	メチルバイオレット
エオシン	酸性フクシン	メチレンブルー
塩基性フクシン	スダン	
カーミン	ニュートラルレッド	

3. 方法

- (1) 用意した各種色素がショ糖溶液に溶けるかどうかを確かめる。溶けないものは色のついたショ糖溶液にならないので、実験には使用しない。
- (2) ユキノシタの葉の裏面の表皮をはがしとり、検鏡に適した大きさに切り取る。
- (3) 切り取った表皮片を各種の色素を溶かしたショ糖液に10分間沈める。
- (4) 表皮片をスライドガラスにとり、浸した液で封じて150倍で検鏡する。

注 ア．個人で研究する場合は肉眼で検鏡してもよいが、グループで研究する場合はテレビを使用する。

イ．数多くの色素を使うので、検鏡した像はビデオに残しておく、後ほど比較検討するのにたいへん有効である。スケッチではとても対応しきれないし、細部の観察をするにはビデオは欠かせない

4. 結果と考察

(1) 水に対する溶性・不溶性（色素の保存期間・保存状態で変化する可能性がある）

- ア．可溶性 青系統 ギムザ液・メチルブルー・メチレンブルー・メチルバイオレット・
酸性フクシン・ゲンチアナバイオレット
赤系統 コンゴレッド・フクシン・アセトカルミン溶液・アリザリン・
カルミン・ニュートラルレッド・メチルオレンジ・アリザリンレッドS・
エオシン・サフラニン・メタニルエロー
- イ．不溶性 インジゴ スダン

(2) 可溶性に分類された色素について

- ア．可溶性に分類された色素であっても、その溶性には程度の大小があり、適不適がある。
イ．色素によっては細胞膜を通過して、外液の中に留まっていないものがある。
ウ．ユキノシタの細胞には赤色色素があるので、同系統の色を用いた場合は外液との区別がしにくく、観察に不向きなものもある。特に優れた赤系統の色素でないかぎり、青系統の色素を対象にする。

(3) (1)(2)の結果からより優れた色素を選別したところ、青系統の色素であるメチルブルーが溶性にむらがなく、しかもユキノシタの細胞膜を通過しないので、原形質分離の様子がよく分かる色素であることが判明した。また赤い色素をもたないユキノシタの細胞が原形質分離をしていることもはっきりと確認することができる。

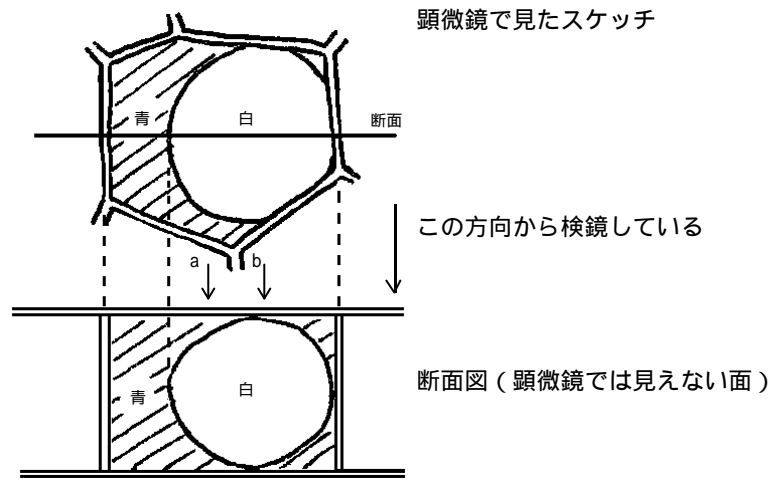
(4) ショ糖溶液に対するメチルブルーの最適濃度を調べた結果は以下のとおりである。

6 mg/ml	濃すぎて全体が青く染まってしまう
4 mg/ml	濃すぎて全体が青く染まってしまう
2 mg/ml	濃すぎて全体が青く染まってしまう
1 mg/ml	濃すぎて全体が青く染まってしまう
0.7mg/ml	赤い細胞・白い細胞共に原形質分離の様子がよく分かる
0.5mg/ml	色素の色がはっきりと区別できない
0.25mg/ml	薄くて白い細胞では原形質分離の様子が分からない
0.125mg/ml	薄くて白い細胞では原形質分離の様子が分からない

以上の結果から、0.7mg/mlが最適濃度といえる。

5. 発展

文末に資料として添えた写真からは分かりにくいですが、赤い色素のない細胞の細胞膜に包まれた部分に注目すると、細胞膜に近い部分と細胞の中心部分では色が異なる。これは以下のことを示している。（下図参照）



図に示す方向から検鏡すると、aとbでは明らかに色が異なって見える。すなわちbよりもaの方が青が強くなる。これは図に示したように細胞にはある厚みがあり、細胞膜に包まれた部分は球に近づこうとしていることが理解できる。

