

13

血球の観察（哺乳類）

難易度	可能時期	教材の入手日数	準備時間	実施時間
★★☆	一年中	1週間～	1時間	40分

目的と内容

哺乳類の血球を観察し、血球の特徴について理解する。

生徒の多くは中学校でメダカを使った血流の観察を行っているが、この観察では血管を流れる赤血球を主に見ているだけである。血液の中に、赤血球以外にも白血球や血小板といった有形成分があることを実際に見ることができる実験である。

ヒトの血液が観察材料として使用されなくなり、マウスなどから血液を採集する方法が教科書では扱われているが、現実的には難しい。ここでは市販の血液を用いた。無染色のプレパラートとギムザ染色したプレパラートを作成し観察する。

既習
事項

中学校：動物の生活と生物の変遷

循環系とそのはたらき、血液の成分とそのはたらき及び腎臓と肝臓のはたらきについての概要を学習している。

血流の観察を行っている。

留意点

【指導面】

- ・「体内環境が保たれていることを理解すること」がこの単元の目標である。体内環境を維持するうえで重要なはたらきをしている血液の成分について理解させることを意識して指導する。
- ・脊椎動物の血球を観察し、血球の特徴について理解することがねらいであるので、全ての手順を生徒に実習させたい。染色の待ち時間の活用や血球のスケッチを省くなどの工夫で時間短縮が可能である。

-
- ・「血液の有形成分はどのようなものがあるだろうか」「血球の形や数はどうだろうか」など導入を工夫し、生徒自身が疑問をもち主体的に実験に取り組むように指導する。
 - ・「なぜ乾燥させてから操作するのか」「なぜ固定するのか」「なぜ染色するのか」「なぜ裏面から水を流す必要があるのか」など、操作の意味を生徒が理解するように指導する。
 - ・「適切なプレパラートを作成しているか」「顕微鏡の操作を手際よく行っているか」「血球を見付け観察しているか」などの血球の観察にかかわる操作ができているか、スケッチはスケッチの仕方によって描いているか、プリントやレポートなどに過程や結果の記録、整理をしているかなどを机間巡視して適宜指導する。

【安全面】

- ・感染症予防のためゴム手袋を着用し、血液に直接触れないように注意する。
- ・メタノールを使うので火気を扱わないように注意する。
- ・カバーガラスを割らないように注意する。
- ・実験後は石けんで手洗いをするように注意する。

【その他】

- ・可能な限り、少人数の班を構成し、一人一人の生徒が実験に取り組めるようにする。

◎準備

準備の流れ

1ヶ月前～

(発注, 調製, 代替の検討時間含む)

器具の在庫確認

メタノール, ギムザ染色液の在庫確認

実験室の備品確認

1週間前～

血液の発注

～前日

実験プリント作成・印刷

血液, メタノール, ギムザ染色液の小分け

当日

器具・教材・薬品の分配

☆教材の入手方法

・血液の入手方法

①教材業者などが販売している凝固防止処理したものを購入する。血液は, そのままだと赤血球が多すぎて観察しにくいいため, 生理食塩水で薄めて使用する。

豚の血 (ケニス 1L 0.03%クエン酸入り
4,800円)

馬保存血液 (コージンバイオ 50mL アルセ
バー液 1:1混合 2,500円) など

②飼育しているマウスなどから採集する。

ジエチルエーテルなどの麻酔剤で麻酔したうえで, 尾部など体の一部を傷付け少量出血させたものを採取する。



豚の血

薬品の情報

・ギムザ染色液

血液標本染色法の1つ。ギムザ液 (メチレンブルー, エオシン, azure B の混合液) は使用直前に水で希釈して使う。マラリア研究の先駆である医学者, グスタフ・フォン・ギムザの名を取って「ギムザ染色」と呼ぶ。ドイツ・ハンブルクの熱帯病研究所にて, マラリア原虫の染色法として開発された。現在も臨床現場で広く用いられている。

ギムザ染色液 (NaRiKa 100mL 2,400円, ケニス 100mL 2,600円)

染色されるものは以下の通り。

赤血球 (青味がかった赤)

血小板 (青)

好中球 (赤紫)

好酸球 (赤)

好塩基球 (青紫)



ギムザ染色液

準備

当日のセット

☆生徒用

<input type="checkbox"/> 検鏡セット	1組
<input type="checkbox"/> 光源装置	1台
<input type="checkbox"/> スポイト	2つ
<input type="checkbox"/> ピペット（染色液用）	1つ
<input type="checkbox"/> 50mL ビーカー	1つ
<input type="checkbox"/> ゴム手袋	1組
<input type="checkbox"/> 血液	1mL 程度
<input type="checkbox"/> メタノール	1つ
<input type="checkbox"/> ギムザ染色液	1つ

★教員用

<input type="checkbox"/> 消毒液入りバット	1つ
<input type="checkbox"/> 熱湯	適量
<input type="checkbox"/> ビーカー	1つ



動物，光源，容器，液体を入れる用具などは
代わりになるものを工夫してかまわない。

準備に必要な用具

※検鏡セット

・光学顕微鏡	1台
・スライドガラス	1組
・カバーガラス	1箱
・先尖ピンセット	1つ
・柄付き針	1つ

・ビーカー	・生理食塩水
・スポイト	・3cm ペトリ皿
・試薬ビン	・ラベル
・プチボトル	・ラベル



サポート資料の見方

顕微鏡の使い方

生物の特徴

遺伝子とDNA

生物の体内環境の維持


生物の多様性と生態系

巻末資料

① 1週間前～

血液の発注をする。メタノール，ギムザ染色液，生理食塩水を用意する。

岩手県では(株)岩手畜産流通センターがウシやブタの解体を行っているが，衛生上の理由から血液を譲ってもらうことができない（平成 24 年度現在）。教材業者などに凝固阻止の処理をしたウマ，ヒツジ，ブタなど哺乳類の血液を実験前日または当日実験前に届くように発注する。マウスなどを飼育している場合は，それらから実験の直前に血液を採集する。

発注した血液が届いたら，すぐに冷蔵庫で保管する。  →状態 1（p. 153）

メタノールは，試薬ビンなどに小分けする。ギムザ染色液は，プチボトルなどに入れる。

生理食塩水は水 100mL に塩化ナトリウム 0.9g の割合で溶かす。

② 当日

血液は直前に冷蔵庫から取り出し，生理食塩水で 10～20 倍程度に薄めて，小ペトリ皿などに小分けする。器具・教材・薬品を分配してセットを用意する。

◎観察，実験

観察，実験の流れ

□導入

- ・既習事項の確認
- ・血液の有形成分はどのようなものがあるか
答) 白血球，赤血球，血小板
- ・血球の形や数はどうだろうか
答) 白血球…大きく有核，6000～8000/mm³
赤血球…白血球より小さく円板型で無核，男性 500 万/mm³・女性 450 万/mm³
血小板…小さく無核，15 万～35 万/mm³

□目的を理解させる

□観察，実験

- ・観察手順の指導
- ・生徒へのアドバイス
- ・安全面の注意
- ・哺乳類の血球を観察し，血球の特徴について理解する（本実験）

□結果のまとめ，考察

- ・観察からわかったこと

□後片付けの指示


手順 時間のめど（およそ 40 分）


※詳しい手順は付録「13 血球の観察.pptx」を参照

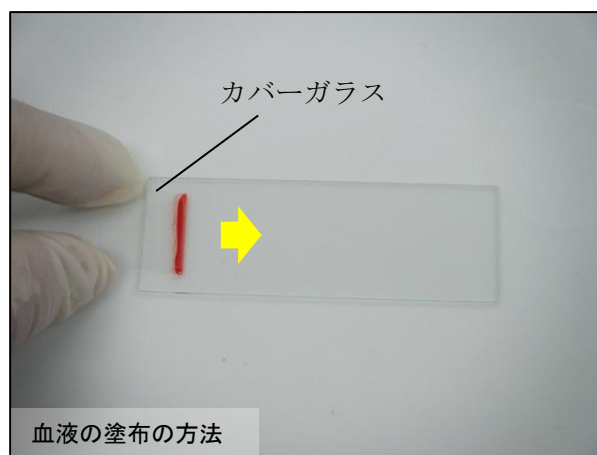
① プレパラートの作成（5分）

そのまま観察するプレパラートは，血液をカバーガラスの角を使ってスライドガラスに滴下し，カバーガラスを載せる。

これとは別に，血液をカバーガラスの一边を使ってスライドガラス2枚以上に塗り，乾燥させる。

 付録資料スライド6

 動画ファイル「動物血液の塗布」に動画あり



そのまま観察するプレパラートの血液は，スライドガラスの中央に滴下する。




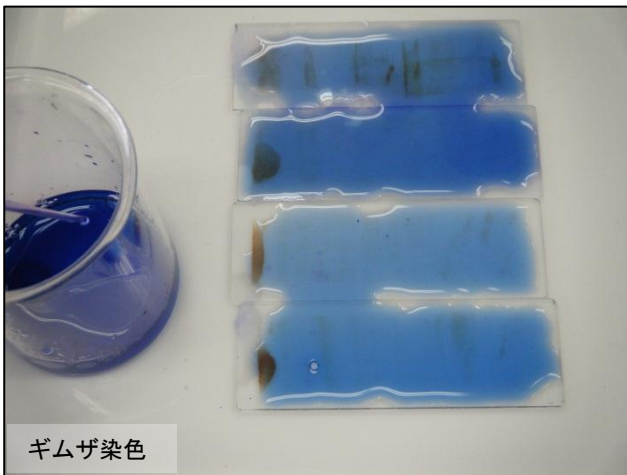
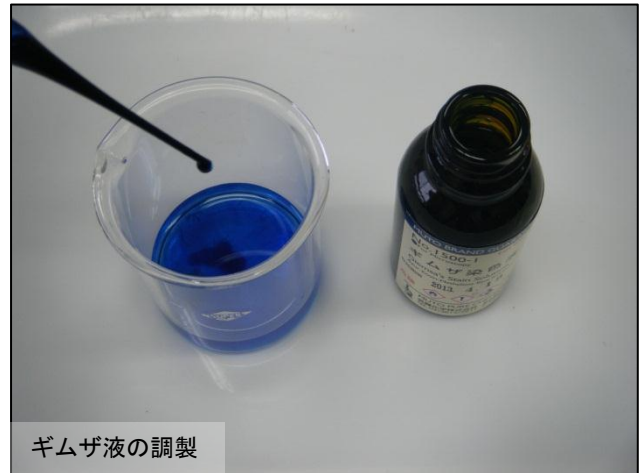
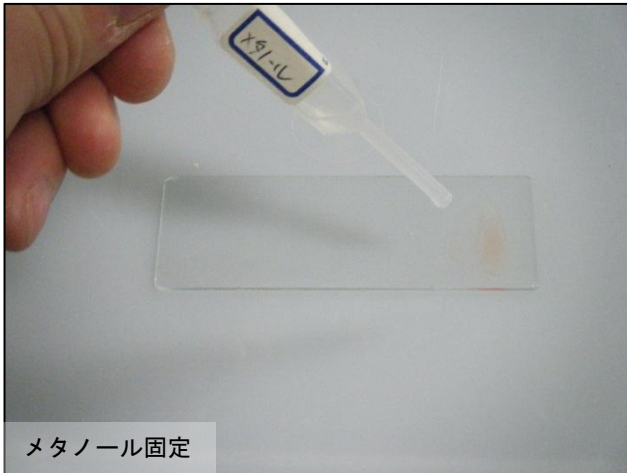
ギムザ染色をするプレパラートの血液は，スライドガラスの端に付け，カバーガラスを使って，血液を薄く塗り広げ乾燥させる。


スライドガラスとカバーガラスとの角度は 30°～45° 程度が適当である。一定の速さで塗布する。速いと薄く，遅いと厚くなる傾向がある。



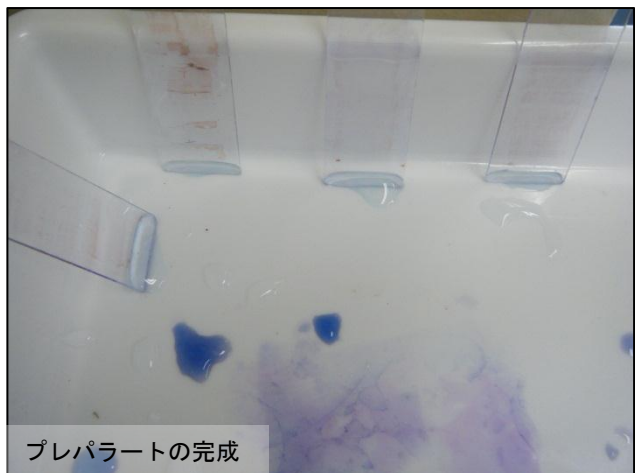
② プレパラートの作成2 (20分)

・ギムザ染色するものは、乾燥させた後に固定のためメタノールを滴下し2分程度置く。水1 mL にギムザ染色液1滴の割合で希釈してギムザ液をつくる。メタノールを乾燥させた後、ギムザ液をかけ、10分以上放置して染色する。  →状態2 (p. 153)



 **固定や染色を行う前は、しっかりと乾かしておく。**乾燥していないと細胞剥離しやすい。
血液の塗布にムラがあっても細胞剥離しやすい。

・染色後、裏返し直接水が当たらないように裏面に流水をかけ余分なギムザ液を静かに洗い流す。まわりの水分を取ってから、カバーガラスを載せプレパラートとする。



サポート資料の見方

顕微鏡の使い方

生物の特徴

遺伝子とDNA

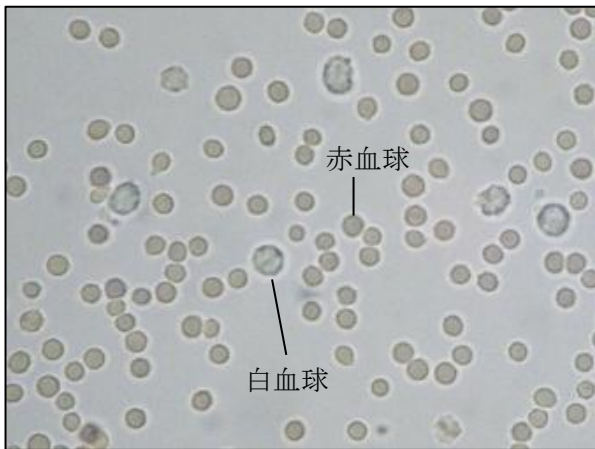
生物の体内環境の維持

生物の多様性と生態系

巻末資料

③ 血球の観察・スケッチ (15分)

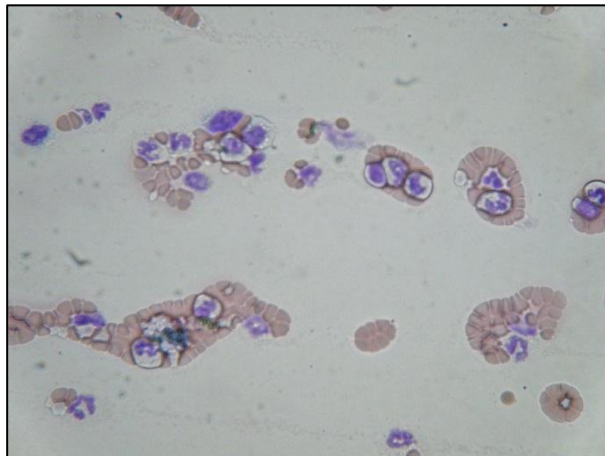
そのままのプレパラートと、ギムザ染色したプレパラートを観察する。しぼりを絞って、低倍率(15×4)でピントを合わせる。倍率を上げ、どのような形、色の血球が観察できたかスケッチする。



ブタの血球 (無染色)



ブタの血球 (ギムザ染色) 塗布の始点付近



ブタの血球 (ギムザ染色) 塗布の終点付近



血液を付けたところを中央におき、低倍率から観察させる。

そのままのプレパラートでは、血液を薄めないと赤血球が塊をつくって観察しにくい。白血球は赤血球より少し大きく、無色で観察される。

ギムザ染色のプレパラートでは青みがある部分に白血球があるため、その部分を観察させる。カバーガラスを使って塗布した場合、塗布の終点に大きな細胞である白血球が集まる傾向がある。

まとめ

- ① 血液の有形成分の特徴を確認できた。
- ② 哺乳類では白血球だけ有核であることが確認できた。
- ③ 有形成分の中で赤血球が一番多いことが確認できた。

◎後片付け

■後片付けのさせ方

- ・スライドガラスはそのまま、熱湯を入れたビーカーに回収する。
- ・血液を入れたペトリ皿は、洗わずに教卓に用意した消毒液を入れた容器に回収する。
- ・洗った器具は回収し、洗い方が不十分なものは再提出させる。
- ・実験後、石けんで手を洗わせる。

■器具等の管理

- ・回収したものは種類毎に分け、再点検した上で乾かし、所定の器具置き場に戻す。
- ・固定で使用したスライドガラスは細胞が落ちにくいので、お湯につけ時間を置いてから洗う。スライドガラスは染色液が取れていない場合があるので、アルコールで拭いてから片付けるようにする。
- ・染色液は、暗所に保管する。
- ・メタノールは、火気のないところに保管する。
- ・感染症予防のため、実験台に消毒液を噴霧し拭き取る。

失敗例

●状態1 細菌が繁殖している

原因1 常温で放置した

教材会社で扱っている血液は、食肉用に解体した動物からの副産物であるため細菌が混入していることが多い。血液を無菌状態で採取した細菌培養用のものでも、封を開けると細菌が混入してしまう。細菌を増殖させないため、冷蔵庫で保管する。

原因2 入手から日数がたった

細菌は、冷蔵庫で保管してもスピードが遅いながらも増殖する。入手から日数を置かないようにする。

●状態2 血球が見られない

原因1 血液の塗布を失敗した

血液の塗布は、適した角度で一定の速さで行わないと、ムラができて細胞剥離が起こりやすくなる。スライドガラスとカバーガラスとの角度は 45° 程度にし、2秒程度で塗布するつもりでカバーガラスを一定の速さで滑らせるとよい。

原因2 染色の操作が未熟である

乾燥が不十分だったり、流水を直接当ててしまったりすると、細胞がはがれてしまう。しっかりと乾燥する、裏側から流水をかけるなど、基本手順を守る。

原因3 顕微鏡の操作が未熟である

基本的な操作を確認した上で観察する。特に対照の無染色のプレパラートにある透明な細胞は、ピントを合わせにくいので、しぼりを絞ってコントラストを高めて観察する。

トピック

脊椎動物の血液

脊椎動物の場合、血液のなかの血球はすべて、骨髄にある造血幹細胞（血球芽細胞）から分化してつくられている。血球は赤血球、血小板、白血球に大別される。

白血球は通常、好中球・好酸球・好塩基球・リンパ球・単球の5種類とされる。

好中球、好酸球、好塩基球は、細胞質に殺菌作用を持つ顆粒が存在するため顆粒球というが、ギムザ染色による染色のされ方の違いによって分類される。主に好中球が食作用にはたらき、抗原提示は行わない。単球は異物が侵入すると組織へ移動し、自由に変形できるマクロファージや樹状細胞となって、食作用にはたらく。主に樹状細胞がヘルパーT細胞に抗原提示を行い、獲得免疫が行われる。

別法

別法①

- ・市販のプレパラートで観察するもの

プレパラートが市販されているため、確実に観察でき失敗がない。ヒトの赤血球のプレパラートは、10枚組で4,500円程度である。しかし、血液を観察するためのプレパラートをつくる過程も大切であるため、プレパラート作成から行わせたい。

別法②

- ・哺乳類以外の脊椎動物を使って観察するもの

鳥類、爬虫類、魚類などの血液を用いる。スーパーマーケットで手に入る新鮮なニワトリの心臓やアジ、ペットショップで手に入る金魚、湖沼で採集できるカエルなどが利用可能である。哺乳類と異なり、赤血球が有核であることに留意しておく。

別法③

- ・血餅を観察するもの（数研出版で採用）

クエン酸ナトリウムを血液凝固防止剤として加えられた血液に、塩化カルシウム水溶液を加えることで血液を凝固させ観察する。

別法④

- ・フィブリンを観察するもの（数研出版で発展として紹介）

凝固防止処理された血液を低温で静置し、血球の層と血しょうの層に分かれる。血しょうの層を取り出し、塩化カルシウム水溶液を加えることで、フィブリンをつくり観察する。

別法⑤

- ・血液に酸素や二酸化炭素を送り込んで、赤血球のヘモグロビンの変化による色を観察するもの

ヘモグロビンはそのままでは暗紅色、酸素と結び付いた酸素ヘモグロビンで鮮紅色となるため、生理食塩水で薄めた血液に酸素や二酸化炭素を送り込んで、その色の変化を観察する。

別法⑥

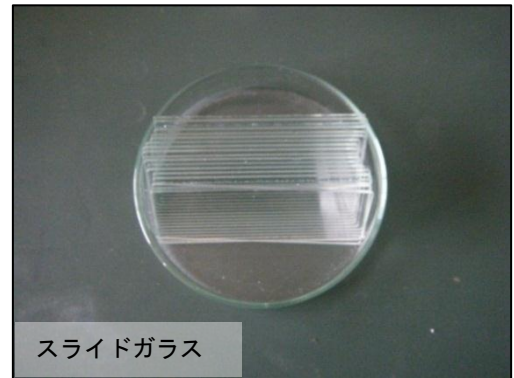
- ・体液濃度の変化が赤血球に与える影響を調べるもの（各教科書会社の探究活動で採用）

濃度が異なる塩化ナトリウム水溶液やスクロース水溶液に血液を入れ、赤血球がどのような影響を受けるかを調べる。等張液、低張液、高張液を用意して観察するもの、濃度変化を細かく分けてそれぞれを観察するものなど可能である。遠心分離器があれば、それぞれの濃度で上澄みと沈殿物を分けて観察したり、試験管で濃度毎の溶血の度合いを比べたりなど様々な工夫ができる。

器具の取り扱い

・スライドガラス

プレパラートを作成する際に、試料を上に乗せる薄い長方形のガラス。通常、短辺 26mm、長辺 76mm、厚さ 1.2mm 程度である。スライドグラスともいう。水縁磨という、薄緑色に着色している通常のソーダ石灰ガラスなどを使用し、端面を面取り・研磨した、50 枚 480 円程度のものが一般的である。生物の観察ではよく使うものなので、多めにあったほうがよい。9 cm ペトリ皿に 20 枚前後を入れておくと、観察する面が汚れにくく、班に配りやすい。



水や洗剤での洗浄では染色液が完全に落ちていないことが多い。観察に支障がないように、キムワイブ (200 枚 200 円程度) などの低発塵タイプの紙に 70%エタノールを含めて磨くとよい。

・カバーガラス

プレパラートを作成する際に、封入剤の上に乗せる薄く四角いガラス。カバーグラスともいう。割れにくいプラスチック製のものもあるが、高価である。一辺 18mm の正方形のものが多い。ガラス製で 100 枚 380 円、プラスチック製で 100 枚 860 円程度である。



カバーガラスは薄く割れやすいため、洗っても汚れが落ちていないことが多い。洗浄度を高めるために使う実験用アルコールは価格が高いため、カバーガラスを割り切って使い捨てにしたほうが現実的である。

再利用する場合には、乾いたとき白く不純物が出てくることが多いため、仕上げのすすぎは蒸留水を使いよく水切りをし、最後にアルコールですすいでから乾かす。

14

腎臓の観察（ブタ）

難易度	可能時期	教材の入手日数	準備時間	実施時間
★★☆	一年中	3～5日	1時間 20分	40分 40分

目的と内容

哺乳類の腎臓を解剖することによって、腎臓の構造を観察し、血管と尿生成のしくみとの関係を理解する。

生徒の多くは解剖に抵抗感をもつが、血液から尿が腎臓でつくられるという知識は、観察することによって実感できる。さらに、実物の臓器に触れることで、その構造の複雑さと巧妙さ、さらには生物の神秘や尊さを実際に感じることができるものである。

生徒実験の材料としては、安価であること、数がそろうことが必要である。ここでは、食肉用の「マメ」として流通しているため、ブタの腎臓を採用した。

生徒に実習させたい操作と観察を1単位時間で終えるのが難しいため、2単位時間で構成した。観察、実験を行う時数が不足している場合は、留意点や別法を基に構成し直せるように配慮している。

既習
事項

中学校：動物の生活と生物の変遷

循環系とそのはたらき、血液の成分とそのはたらき及び腎臓と肝臓のはたらきについての概要を学習している。

血流の観察を行っている。

留意点

【指導面】

- ・「生物の体内環境が保たれていることを理解すること」がこの単元の目標である。腎臓のはたらきによって体液中の塩類などの濃度が保たれることを理解させることを意識して指導する。
- ・腎臓の構造を観察し、血管と尿生成のしくみとの関係を理解することがねらいであるので、少なくとも1校時目の手順⑤、手順⑥と2校時目の内容は生徒に実習させたい。被膜を取り除いておく、腎動脈を爪楊枝などで示しておく、外観などのスケッチを省く、注入を演示にして注入済みの腎臓片を前もってつくっておくなどの工夫で時間短縮が可能である。過程は探究する能力と態度を育てるために大切であるが、達成感をもたせるため腎臓や糸球体の観察の時間を十分に確保する。

-
- ・液体をきれいにするという共通点がある浄水装置と腎臓の違いや、もしも、腎臓を悪くしたり失ったりした場合どうなるかなどを考えさせ、腎臓の巧妙さや大切さを意識させるなど、事前指導を工夫し、生徒自身が疑問をもち主体的に実験に取り組むように指導する。
 - ・教科書では腎臓内部の肉眼で見ることができる構造について、あまり記載がないが、実物をみた時に特徴的な構造 (p. 166 参照) について指導する。
 - ・「腎門にある管をどう見分けるか」「皮質、髄質、腎うの様子やその境目はどうなっているか」「尿はどうやって集められるか」「黒い粒々やそのまわりは顕微鏡で見るとどうなっているか」「尿はどうやってつくられるか」など、観察でどこに注目すべきか生徒が意識するように指導する。
 - ・「腎門の管を見付けているか、腎動脈を的確に判断しているか」「墨汁の注入を手際よく丁寧に行っているか。」「腎臓を上手に2つに分けているか」「適切なプレパラートを作成しているか」「顕微鏡の操作を手際よく行っているか」などの腎臓の観察にかかわる操作ができているか、スケッチはスケッチの仕方から描いているか、プリントやレポートなどに過程や結果の記録、整理をしているかなどを机間巡視して適宜指導する。

【安全面】

- ・感染症予防のため、ゴム手袋をして作業を行う。
- ・消毒液を準備し、直接触れた場合や作業後に使用する。
- ・解剖ばさみやメス、カミソリで手を傷付けないように注意する。解剖ばさみは刃先に丸みがある方を腎臓側にして切る。

【その他】

- ・見た目や臭いのために、嫌悪感や抵抗感をもつ生徒もでるが、あまり騒がず、腎臓のはたらきの大切さや構造の複雑さと巧妙さなどに触れながら進めていくと、大抵の生徒は自然と実習に参加する。
- ・気持ち悪くなった生徒、どうしても出来ない生徒は、申し出るように配慮する。
- ・墨汁などが飛び散ることがあるので、実験衣やエプロンを用意させる。
- ・可能な限り、班の人数を減らして一人一人の生徒が実験に取り組めるようにする。

◎準備

準備の流れ

1ヶ月前～

- (発注, 調製, 代替の検討時間含む)
- 器具の在庫確認
- 墨汁の在庫確認
- 実験室の備品確認

～3日前

- ブタの腎臓の在庫確認, 発注

～前日

- 実験プリント作成・印刷
- 実験衣持参の連絡
- 墨汁の在庫確認
- 腎臓の選別
- 生理食塩水の作成
- 注入用のガラス管の作成

1校時目当日

- 墨汁の小分け
- 器具・教材・薬品の分配

1校時目終了後

- 腎臓片の切り出し, 凍結

2校時目当日

- 器具・薬品の分配
- (直前) 冷凍腎臓片の配付

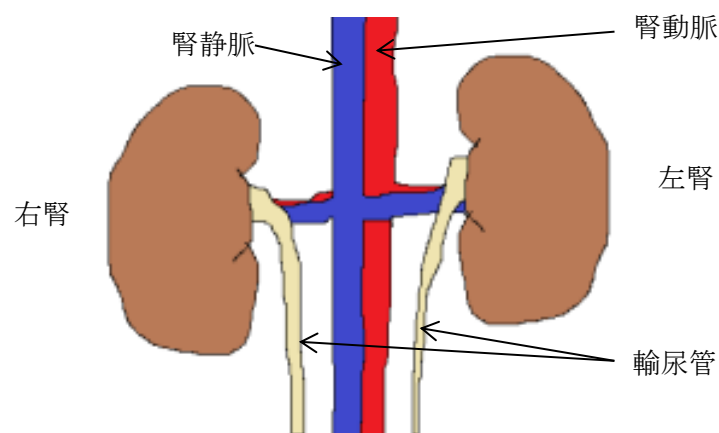
トピック

腎臓に関する豆知識①

ウシやブタの腎臓は、「マメ」と呼ばれる食材である。日本ではあまり食べられていないが、欧米では一般的に食べられている。

哺乳類の腎臓は中胚葉の腎節から分化し、は虫類、鳥類と同じく後腎由来である。魚類、両生類は中腎由来、円口類は前腎由来である。

肝臓によって圧迫されるため、右腎は左腎よりやや低い位置にある。



ヒトの腎臓の大きさは、約 150g, 縦約 12cm, 幅約 6cm, 厚さ約 3cm である。

☆教材の入手方法

・ブタの腎臓の入手方法

①食肉店から購入する。

腎臓 100 円程度/個

②(株)岩手畜産流通センター商品三課から購入する。

(電話 019-XXX-XXXX FAX 019- XXX-XXXX)

100 円程度/kg (平成 24 年現在)

腎臓 1 個 (150~300 g) 当たり 15~30 円相当

最低でも3日前までに(株)岩手畜産流通センター商品三課に電話し、申し込み者名、FAX 番号、納期、必要数を伝え、入手可能か確認する。加えて、血管が残っているものが欲しいことを伝える（しかし、食肉用に解体しているので希望通りにならないこともある）。

確認後、「検体採取申込書」（次ページ参考）が FAX で送られてくるので、必要事項を記入し、血管が残っているものが欲しいこと、受け取り方法、受け取り日時、代金の支払い方法を余白に書き加え、FAX で送信する。

※その日の解体数、注文数によって、入手できない場合もあるので、注文前に必ず、電話で確認する必要がある。平日の午後に直接受け取りに行く方法で注文すると、その日に解体された新鮮な腎臓が入手できる可能性が高い。また、火曜日から金曜日の昼受け取りであれば、前日に解体された腎臓を宅配便（冷蔵）で受け取ることが可能である。

冷凍してあっても解凍を上手に行えば普通に使える。早めに取りよせて学校で冷凍保存してもいい。



事前確認

- ・希望期日までに必要数が入手可能か電話で問い合わせる
- ・申し込み者名、FAX番号、納期、必要数を伝える
- 血管が残っているものが欲しいことも伝える

発注

- ・送信されてきた「検体採取申込書」に必要事項を記入しFAX送信する
- ・受け取り方法、受け取り日時、代金の支払い方法を余白に書き加える
- 血管が残っているものが欲しいことも記入する

受け取り

- ・直接受け取る（腎臓代金のみ）
- ・宅配便（冷蔵）で受け取る（腎臓代金＋宅配便代金1,000円前後）

保管

- ・受け取りの次の日までに実験する → 冷蔵庫
- ・しばらく期間をおいてから実験 → ビニール袋に入れて冷凍庫
→ 実験の数時間前に、ビニール袋にいれたまま流水解凍

平成 ○年 □月 △日

岩手県紫波食肉衛生検査所長 様

申込者 所在地 ○○○○○○○○○○○○○○○○○○
所 属 □□□□□高等学校
職 名 教諭
氏 名 △△ △△

連絡先電話； ▼▼▼▼-▼▼-▼▼▼▼
F A X ； ▼▼▼▼-▼▼-□□□□

検体採取申込書

このことについて、下記のとおり採取したいので、よろしくお取り計らい願います。

記

1. 採取目的 腎臓観察のため
2. 採取年月日 平成 ○年 □月 ▼日
3. 採取場所 (株)岩手畜産流通センター食肉処理場
4. 検体部位及び数量 ○ 頭分 血管を長めに残した
(□ 個) ものを希望します
5. 採取者氏名

以 上

(株)岩手畜産流通センター 担当；商品三課 まで
電話 019-XXX-XXXX FAX；019-XXX-XXXX

直接、□月▼日○時に受け取りに行き、代金を支払います

〔 受取り方法、受け取り日時、代金の支払い方法
などを記入する 〕

準備

当日のセット（1校時目）

☆生徒用		
□解剖ばさみ	1つ	
□メス	1つ	
□ゴム手袋	1組	
□爪楊枝	5本程度	
□注射器（10mL程度）	1つ	先をペンチで 切った注射針 (別法①)
□ゴム管（15cm程度）	1本	
□先を細くしたガラス管	1本	
□クリップ	1つ	
□ピンセット	1つ	
□バット	1つ	
□ブタの腎臓	1つ	
□墨汁	2mL	

★教員用

□生理食塩水	1L程度
□消毒液（0.05%オスパン，70%エタノールなど）	
□消毒液入りバット	
□回収用容器	
□生ゴミ袋	

準備に必要な用具

- ・ガスバーナー
- ・ガラス管切り
- ・解剖ばさみ
- ・冷蔵庫
- ・50mL ビーカー
- ・水
- ・塩化ナトリウム



切開用具，墨汁の注入用具，目印，注入場所を押さえる用具，容器などは代わりになるものを工夫してかまわない。



当日のセット（2校時目）

☆生徒用

<input type="checkbox"/> 光学顕微鏡	1台
<input type="checkbox"/> スライドガラス	1組
<input type="checkbox"/> カバーガラス	1組
<input type="checkbox"/> 先尖ピンセット	1つ
<input type="checkbox"/> 柄付き針	1つ
<input type="checkbox"/> 光源装置	1台
<input type="checkbox"/> 両刃カミソリ	1つ
<input type="checkbox"/> ゴム手袋	1組
<input type="checkbox"/> 冷凍腎臓片	1つ

★教員用

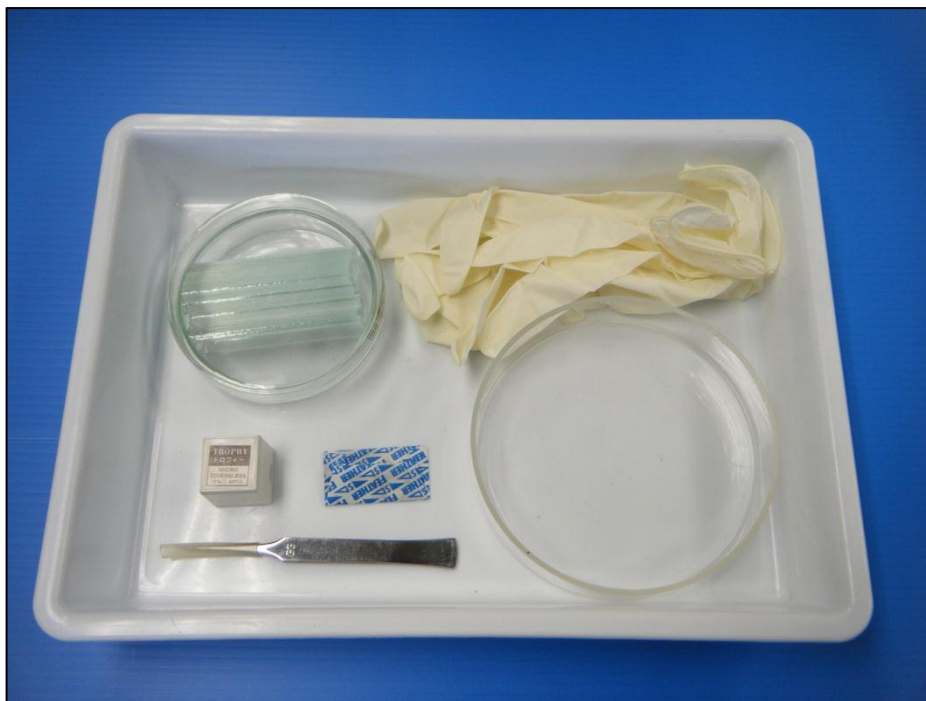
- 消毒液（0.05%オスバン，70%エタノールなど）
- 回収用容器
- 生ゴミ袋

準備に必要な用具

- ・解剖ばさみ
- ・ビニール袋
- ・冷凍庫
- ・9cmペトリ皿



光源，腎臓片を切る用具，容器など，代わりになるものを工夫してかまわない。



教材の情報

・ブタ

ヒトとブタの腎臓の大きさは同じくらいと言われるが，品種によってヒトの倍ほどになる。ブタは哺乳綱ウシ目（偶蹄目）イノシシ科の動物で，イノシシを家畜化したものである。類人猿以上に体重や皮膚の状態，内臓の大きさなどが人間に近い動物である。そのため現在，異種間移植の臓器提供用動物として，研究が続けられている。

薬品の情報

・消毒液

0.05%オスバンや 70%エタノールなど、適当な消毒液を用意する。

・墨汁



化学的には墨汁の状態はアモルファス炭素の分散したコロイド溶液である。

消毒液



①～3日前

ブタの腎臓の発注をする。

岩手県では(株)岩手畜産流通センターがブタの解体を行っており、商品三課が担当である。  血管が短い場合注入が困難になるので、血管が長いものが欲しいことを伝えるとともに予備を多めに発注する必要がある。  →状態1の原因1 (p. 170)

②前日まで

実験衣持参の連絡、墨汁の用意をする。届いた腎臓の選別をする。注入用のガラス管を作成する。生理食塩水をつくる。

届いた腎臓は血管、輸尿管を確認し短いものを除く。短いものが多く生徒には困難な場合は、事前に腎動脈の位置に爪楊枝などを差しておく必要がある。逆に、血管、輸尿管が長すぎる場合は、生徒が血管を扱える程度残して解剖ばさみで取り除いておく。輸尿管の中に尿が残っていることがあるため注意する。

注入用のガラス管は、ビニール管の内径に適当なもので作成する。作成方法は、次ページの「☆ガラス管からパストツールピペットや毛細管針を作成する方法」に従って作成するとよい。毛細管にする必要はないため、ガラス管を引く際は少し間をおいてから引くようにする。

漏れ出した墨汁で観察しにくい場合があるため、洗浄用に生理食塩水をつくる。生理食塩水の濃度は0.9%であるため、塩化ナトリウム9 gに水991 gの割合で溶かす。

③1校時目当日

墨汁を分配する。器具・教材・薬品を分配してセットを用意する。

④1校時目終了後

回収した腎臓のうち、腎臓の皮質が黒ずんだものを選び、皮質と髄質を含んだ部分を3 cm 角程度の大きさに小分けし、ビニール袋に入れ冷凍庫で完全に凍らせる。残りの腎臓は、各自治体の処理方法に従って破棄する。

凍結させる目的は2つある。1つは、腐敗させないため、もう1つは、血管観察用の切片をつくる際、凍結していた方が薄い切片を簡単につくりやすいためである。薄片作成には少量で十分である。



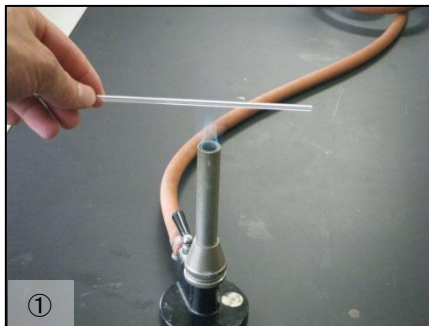
⑤ 2校時目当日

器具・薬品を分配してセットを用意する。腎臓片セットに入れない。

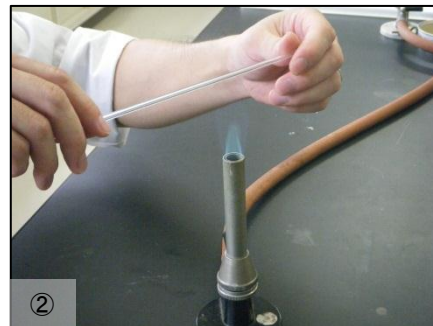
冷凍した腎臓片は、実際に操作をする直前に冷凍庫から出し配付するようにする。

☆ガラス管からパスツールピペットや毛細管針を作成する方法

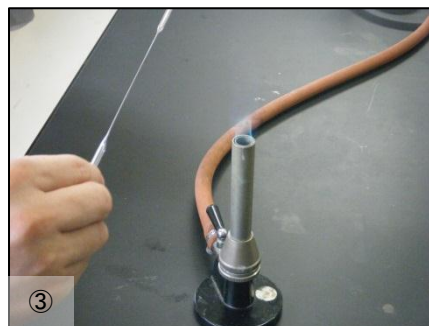
① ガスバーナーでガラス管の引き伸ばしたいところをまんべんなく熱する。



② ガラス管を回しながら熱し、柔らかくなるのを待つ。



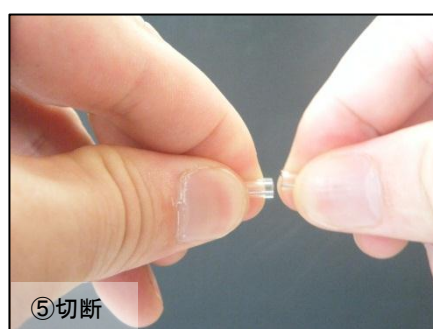
③ 1本の管としての手応えがなくなったら、火から出して同じ力で外側に引き延ばす。



④ 冷えたら、引き伸ばした部分を適当な長さで折る。



⑤ ガラス管部分は、適当な長さにガラス管切（ヤスリで代用可能）で傷を付けて折る。



◎観察，実験

観察，実験の流れ

1校時目

□導入

- ・既習事項の確認
- ・（腎臓を見せる前に）ヒトとブタの腎臓の大きさは同じくらいだが，どのくらいの大きさか
答）腎臓の大きさは，ヒトの成人で約150g，縦約12cm，幅約6cm，厚さ約3cm
- ・腎臓の構造を観察するにはどうすればよいか
答）切って内部を肉眼で観察する
血管に墨汁を注入して血液の流れがわかるようにして顕微鏡で観察する

□目的を理解させる

□観察，実験

- ・観察手順の指導
- ・生徒へのアドバイス
- ・安全面の注意
- ・腎臓を解剖し，観察する（本実験）

□結果のまとめ，考察

- ・観察からわかったこと

□後片付けの指示

2校時目

□導入

- ・既習事項の確認
- ・どうして塩濃度が高いと腎臓に負担がかかるのか
答）薄めるために体液量が多くなり，糸球体にかかる圧力が大きくなる
また，通常以上に水を再吸収しナトリウムイオンを排出する必要が出てくる

□目的を理解させる

□観察，実験

- ・観察手順の指導
- ・生徒へのアドバイス
- ・安全面の注意
- ・腎臓の切片を作成し，観察する（本実験）

□結果のまとめ，考察（設問例）

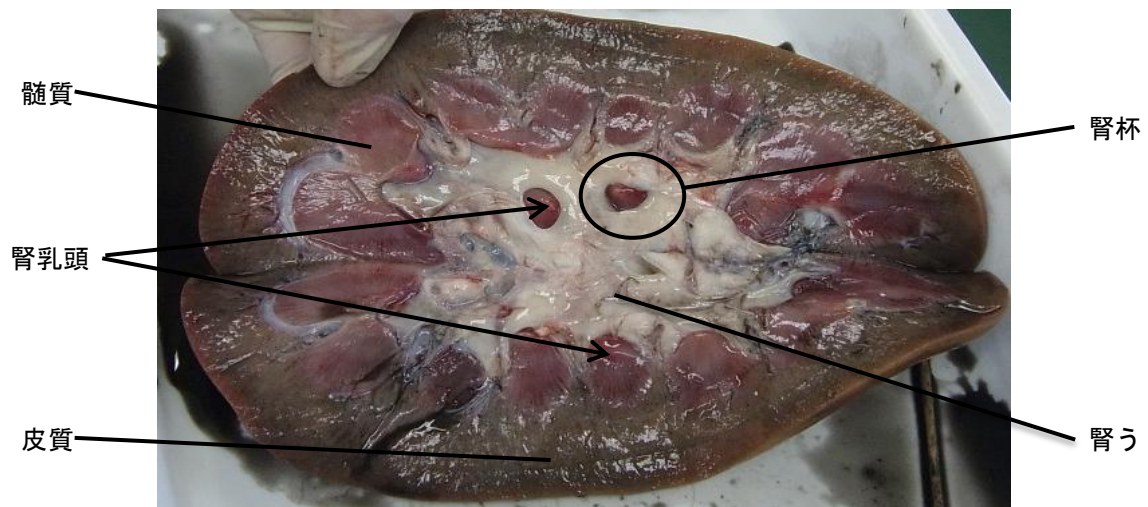
- ・観察からわかったこと
- ・血管と尿生成のしくみとの関係
答）血管が糸球体のように急に細くなることで圧力が高まり，原尿がつくられる
原尿は細尿管を通る過程で周囲の毛細血管に再吸収され，残ったものが尿になる

□後片付けの指示

手順

時間のめど (およそ 80 分)

腎臓内部構造の名称



※詳しい手順は付録「1 4 腎臓の観察.pptx」を参照

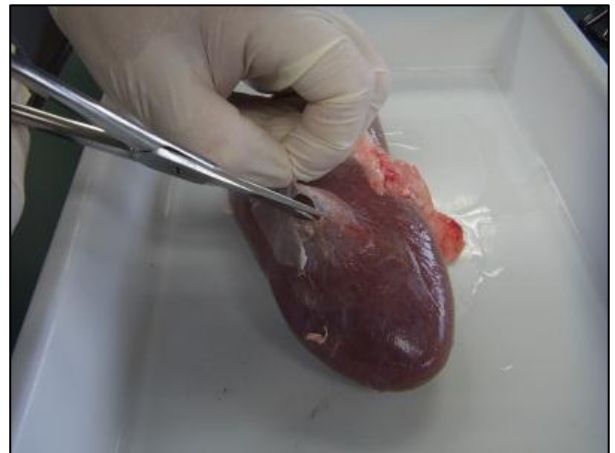
1 校時目

① 被膜の除去 (2分)

腎臓の被膜を指でつまみ、解剖バサミで切れ込みを入れる。被膜をはぐと腎門 (中央内側のくぼんだ部分) 付近で繋がっているの、余分な脂肪と共に取り去る。



感染症予防のため、ゴム手袋をして作業をする。解剖ばさみは刃先に丸みがある方を腎臓側にして切る。食肉処理場では、腎臓内部の検査で傷を付けたものがあるので、傷の所から被膜を剥いてもよい。切れ込みが入ると簡単に膜をむける。




② 外形の観察, スケッチ (10分)

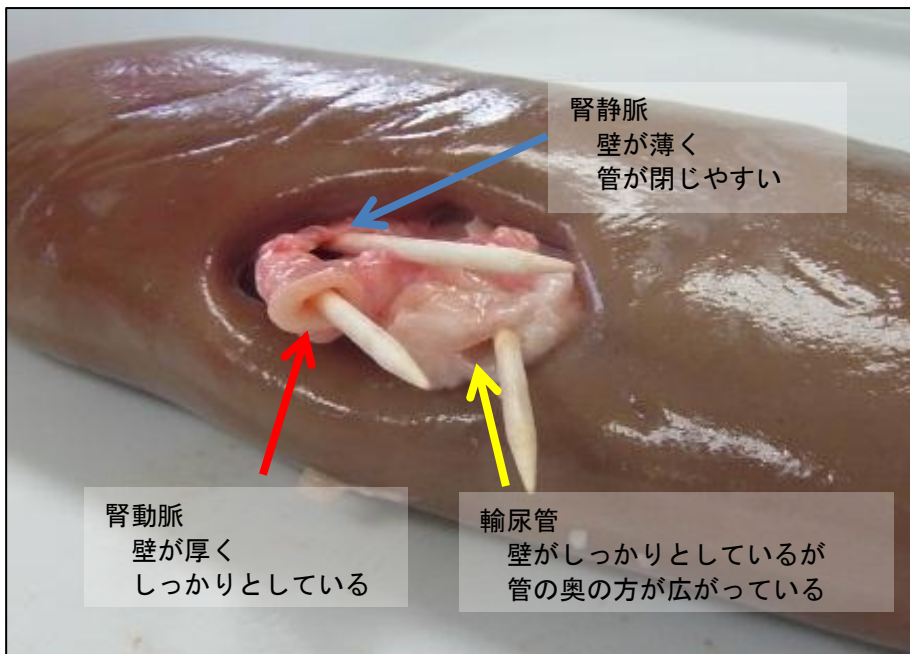
腎臓の大きさを測り、外形を観察し、スケッチする。

縦, 横, 高さの長さや質量を測る。スケッチすることによって, 細部を観察する。




③ 血管，輸尿管の確認（3分）

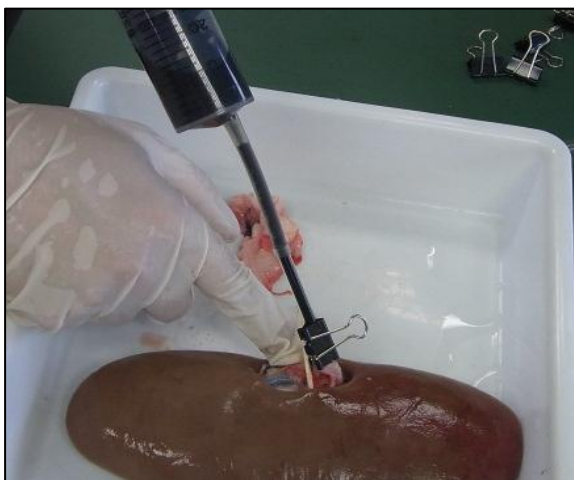
腎門の管を探し，爪楊枝で目印を付ける。管を見比べ，腎動脈を見きわめる。輸尿管の奥は腎うとなるため広がりがあるが，血管の奥は逆に細くなる。腎静脈に比べ，腎動脈は血管壁が厚い。  →状態1 (p.170)




管を傷付けないために，爪楊枝は尖っていない方を差し込む。血管が短く切断されているために，腎動脈，腎静脈ともに複数見つかることがある。
 血液が腎動脈から腎臓に入り，腎臓から腎静脈に出てくる間に，血液中の不要なものから尿が生成されて，輸尿管を通して出てくるという関係を理解するのに大切である。

④ 墨汁の注入（5分）

注射器とガラス管をゴム管でつなぐ。墨汁を水で10倍程度に薄め，それを注射器に入れ腎動脈に差し込む。腎動脈の目印の爪楊枝をはずし，接続部をクリップでとめるか指で押さえる。墨汁が漏れないように，ゆっくりと注入する。腎臓の表面が黒ずんできたなら，注入をやめる。  別法①



無理に注入すると墨汁が飛び散ることがある。腎動脈であること，血管に対してまっすぐ入っていることを確認しながら，ゆっくり注入する。腎動脈は上部・中部・下部の3本の動脈に分かれ腎臓内部に入るため，分岐後の動脈に注入することで部分的に墨汁によって黒ずむことが確認できる。  →状態2 (p.170)

糸球体に墨汁の粒子がつくことで黒くなり，観察しやすくなる。市販の墨汁の原液は濃すぎため詰まりやすく，注入が難しいため薄めて使う。空気を入れないように注意する。

腎臓に検査の傷がある場合，そこから墨汁が漏れることがあるが，かまわず注入する。

⑤ 腎臓の切開（5分）

腎門と反対側の縁に沿って切れ込みを入れる。腎うで繋がった状態まで切り開く。腎うと輸尿管の繋がりを確認する。

柔らかく切りにくいので手を切らないように注意する。メスがなければカッターナイフでもよい。腎うと輸尿管が繋がっていることを確認するために、腎うを切り離さない。開いた腎う側からピンセットなどを差し込むと輸尿管に抜けるので、確認できる。



⑥ 断面の観察・スケッチ（15分）

皮質，髓質，腎うの違いに注意して観察し，スケッチする。それぞれの境界や黒い点にも注目する。

皮質と髓質は，感触や色調の違いで判断できる。皮質は柔らかく，墨汁の注入によって黒みを帯びた中に黒い粒々（糸球体）が観察される。髓質は，弾力があり，放射状のすじが見られ，墨汁の注入によってあまり変色しない。髓質には内側に尖った腎乳頭という構造が集まっている。尿が腎乳頭の尖った先端から腎杯という部分で腎うに集められ，輸尿管を通っていく。腎うや輸尿管は白く伸縮性がある。



まとめ

- ① 哺乳類の腎臓を解剖することで，内部の構造を観察できた。
- ② 血管，皮質，髓質，腎う，輸尿管などの観察から，腎臓のはたらきを理解できた。

◎後片付け

■後片付けのさせ方

- ・腎臓は，教卓に用意した回収容器にまとめて回収する。ゴム手袋，爪楊枝は燃えるゴミとして捨てさせる。
- ・解剖ばさみ，メス，ピンセット，クリップは洗わずに教卓に用意したオスバン消毒液を入れたバットに回収する。
- ・ビーカー，注射器などは水で洗わせる。
- ・洗った器具は回収し，洗い方が不十分なものは再提出させる。
- ・実験後，薬用石けんで手を洗わせる。

■器具等の管理

- ・回収したものは種類毎に分け，再点検した上で乾かし，所定の器具置き場に戻す。
- ・使用した金属製の器具は，水気を取ってからアルコールで拭き錆びないようにする。
- ・感染症予防のため，実験台にオスバンを噴霧し拭き取る。

2校時目

① 皮質の薄片作成 (10分)

一部を大きく切り取り、凍結している面を出す。そこから髄質側に向かって組織を薄く切る。薄片にそのままカバーガラスを載せてプレパラートをつくる。

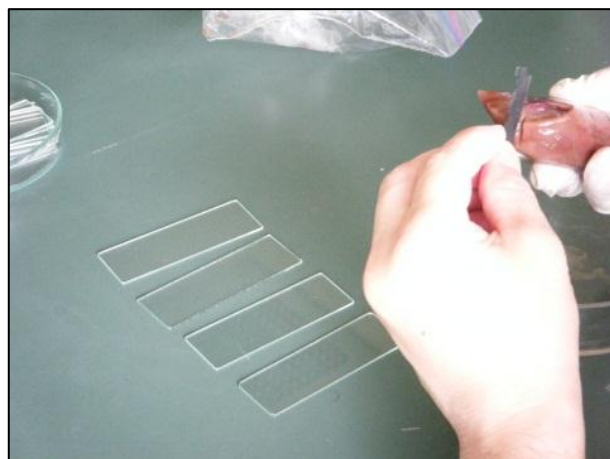


別法②

手を切らないように注意する。室温が高いと短時間で溶けてくる。作業直前に冷凍庫から出し、配付した方がよい。また、溶けにくくするために、氷を配付する。



凍結した面は、適度に固く薄く切り取りやすいが、すぐ解凍されるので、プレパラートを並べておき、切片を次々に載せていった方がよい。



補助資料スライド 32

動画ファイル「皮質の薄片作成」に動画あり

② 糸球体の観察・スケッチ (30分)

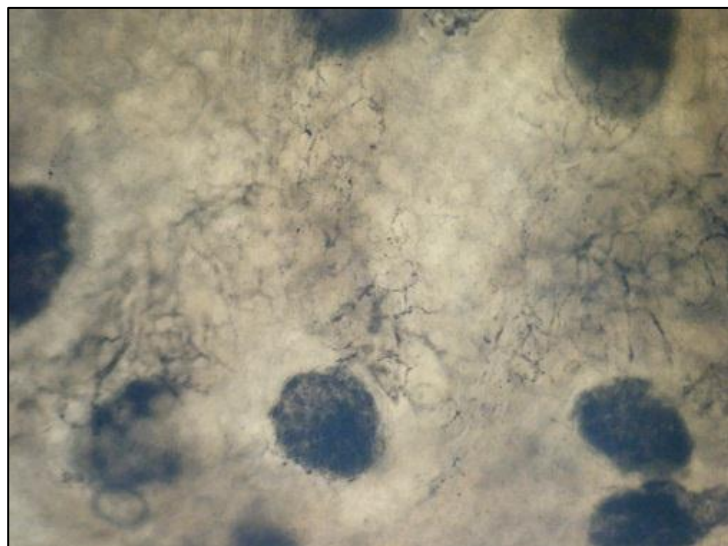
顕微鏡で黒い点付近がよくわかるものを探して観察し、スケッチする。



黒く見えるところが血管である。肉眼で黒い点として見えていた部分が糸球体である。低倍率～中倍率(7×4～15×10)程度で十分観察できる。また、糸球体のまわりにうっすらとボーマン嚢があることも観察できる。さらに糸球体から出た血管が毛細血管となって広がっている様子も観察できることがある。



→状態3 (p. 171)



まとめ

顕微鏡観察により、糸球体付近の血管の走行を観察して血管と尿生成のしくみとの関係を理解できた。

◎後片付け

■後片付けのさせ方

- ・洗った器具は回収し、洗いが不十分なものは再提出させる。
- ・プレパラートは洗わず、教卓に用意した水を入れたビーカーにそのまま入れさせる。
- ・実験後、薬用石けんで手を洗わせる。

■器具等の管理

- ・回収したものは種類毎に分け、再点検した上で乾かし、所定の器具置き場に戻す。
- ・使用した金属製の器具は、水気を取ってからアルコールで拭き錆びないようにする。
- ・感染症予防のため、実験台にオスバンを噴霧し拭き取る。
- ・プレパラートは、熱湯消毒した上で洗浄する。

失敗例

●状態1 血管を探せない

原因1 材料の血管が短く切られている

購入の申し込みをする際に、血管が残っているものが欲しいことを伝える。ブタの腎臓は食肉用なので、解体業者は血管の長さを考えながら解体していない。希望通りにならないこともあるが、血管が探しやすいものを分けてくれる。

また、予備の腎臓を多めに頼み、できる限り血管の短いものを材料として使わないようにする。

原因2 腎動脈や腎静脈を見付けられない

輸尿管は見付けやすいが、腎動脈や腎静脈は見付けにくい。輸尿管付近の膜をピンセットで持ち上げて、太さがほぼ一様な管があれば血管である。腎動脈は血管壁が厚くしっかりとしているが、腎静脈は血管壁が薄いため閉じていくことが多く管として判断するのが難しい。

腎静脈が見つからなくても操作を進めることができるので、墨汁の注入に必要な腎動脈を見付けることを最優先し、この操作に作業時間を取られないようにする。生徒の技量によっては、事前に腎動脈に爪楊枝を差し込み、後の操作に支障がないように配慮する必要がある。

●状態2 腎臓の表面がうまく墨汁で染まらない

原因1 墨汁が古い

墨汁は新しいものを使うこと。古い墨汁は墨の粒子が結合していることが多く、薄めても毛細血管に届く前に目詰まりを起こしやすい。

原因2 墨汁が濃すぎる、薄すぎる

墨汁が濃すぎると、墨の粒子が目詰まりを起こし糸球体がうまく黒くならない。また、薄すぎても墨の粒子が足らず、糸球体がうまく黒くならない。墨汁の製品によって濃度は異なるが、5～10倍に薄めると適した濃度になる。

原因3 腎動脈ではないところに墨汁を入れている

はじめから墨汁があふれる場合、管に墨汁が入っていない可能性が高い。

腎静脈に間違っって注入した場合、逆流を防ぐ弁が静脈にあるために抵抗が強く、腎臓表面も黒く染まらない。また、輸尿管に間違っって注入した場合、抵抗があまりなく墨汁が入るが、腎臓表面も黒く染まらない。10mL程度しか腎動脈には入らないので、墨汁を10mL入れても腎臓表面が黒くならない場合は、腎動脈を再度探し、墨汁を注入し直す。

原因4 注入しているところに隙間がある

腎臓内部で腎動脈は分岐し細くなるために、墨汁を注入する際抵抗が強くなる。注射器と腎動脈がしっかりとつながっていないと墨汁が漏れ出してしまう。グリップでしっかりと止めるか、ゴム手袋をした手で注入部をしっかりと押さえる。

原因5 腎動脈が途中で切断されている

検査で腎臓に傷があり、そこで腎動脈が切断されているため、糸球体まで墨汁が届かない。傷のところに墨汁を入れるか、別の腎動脈を探して墨汁を入れなおす。

●状態3 黒く染まった糸球体が観察できない

原因1 切片が厚すぎる

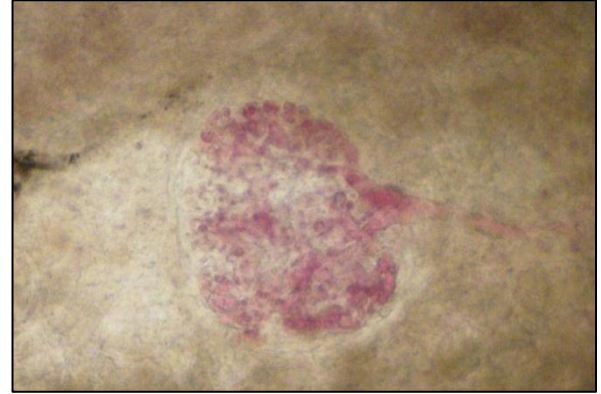
切片が厚すぎると、光が透過せず組織が観察しにくい。複数のプレパラートを作成し、切片の薄いものを観察する。凍結した面を切る、切片作成装置を使うなど切片の薄いものを得る工夫をする。

原因2 組織を切る方向が間違っている

切片をつくる面は、皮質から髄質に向かった皮質の縦断面である。方向が間違っていると、薄い切片でもうまく見えないことがある。

原因3 墨汁が入っていない領域を観察している

肉眼で黒い粒々が観察できるプレパラートを観察する。腎動脈は腎臓内部で分岐するため、墨汁が入らない部位が出ることもある。墨汁が入っていない糸球体は赤血球によって赤く見えることがある。



墨汁が入っていない糸球体

原因4 顕微鏡の操作が未熟である

観察に適したプレパラートは作成できているが、顕微鏡操作が未熟なために観察ができていない。基本的な操作を確認した上で観察する。

トピック 腎臓に関する豆知識②

左右の腎臓はそれぞれ約 120 万個のネフロン（腎単位）を持つが、ネフロンに含まれる糸球体は壊れても再生しないため、腎臓に負担をかけすぎると腎不全を起こし人工透析が必要となることがある。

成人男性の腎臓でろ過されできる原尿は、1日あたり約 180L。このうち大半が再吸収され、残ってできる尿は1日あたり約 1.5Lである。

通常、血球やタンパク質などの大きい物質はろ過されず、ろ過されたグルコースはすべて再吸収される。このため、血球、タンパク質、グルコースは尿には含まれない。

腎臓に大きく関係するホルモンは2種類。間脳視床下部の神経分泌細胞で生産、脳下垂体後葉から分泌される「バソプレシン」は水の再吸収を促進し、尿の量を抑え、副腎皮質で生産、分泌される「鉱質コルチコイド」はナトリウムイオンの吸収とカリウムイオンの排出を促進する。

別法

別法①

- ・墨汁を注射器で注入するもの

多くの教科書では注射針（安全のため針先をベンチで切断したもの）を注射器につないだものが示されている。先を細くしたガラス管にゴム管をつないだ注射器は、腎動脈に密着しやすく注入もしやすい。

別法②

- ・腎臓の薄片作成を変えたもの

※2時間連続で観察する場合やスケッチなどを省いて1時間で糸球体まで観察する場合は、凍結させる方法以外で切片を作成する必要がある。この場合、次のように切片作成装置をつくと比較的薄い切片を得ることができる。

生の腎臓から切片をつくる場合、柔らかく弾力があり薄片をつくりにくい。カミソリとカミソリの間にプラ板（下敷きなど）や厚紙を切ったものをはさんで、2枚歯の切片作成装置を作成すると薄片がつくりやすい。



切片作成装置の材料



切片作成装置



切片作成の様子

発展

皮質部分の一部を解剖ばさみで細かく刻んだ上で、金網を使って越す。目の粗さを細かくして、ろ過していくと、多量の糸球体を分離することができる。切り取った量と、皮質全体の量の関係から、全体の糸球体の推定もできる。

器具の取り扱い

・注射筒と注射針

注射筒は注射する際に使用するガラス製やプラスチック製の容器。プラスチック製のディスポーザブル注射器は1 mL～100mLの様々な容量のものがあり、安価である。

(NaRiKa 1 mL のもの 45 円～100mL のもの 500 円)

注射する際に使用する針。すべての注射筒に使用できるが、腎臓への墨汁の注入に使用する場合は、針の先端をペンチで切断して刺さらないようにして使用する。



注射筒と注射針

・解剖ばさみ

生物実験で、生物の組織を切るための器具。留め金が固定されているタイプと分離するタイプがある。普通のハサミと同様に使うが、生物の組織を切るため、洗浄後に水気をしっかりと取らないとサビの原因となる。分離するタイプでは、ペアを間違えると切れないことがあるので、注意する。



解剖ばさみ

・メス

ステンレス製のものや刃先だけ取り変えるもの、使い捨てのものなどさまざまなタイプがある。切れ味が鋭いので、手を傷付けないように注意する。



メス

・カミソリ

両刃のものが他の実験でも使えて汎用性が高い。切れ味が鋭いので、手を傷付けないように注意する。



カミソリ

15

食作用の観察（昆虫）

難易度	可能時期	教材の入手日数	準備時間	実施時間
★★☆	一年中	1 カ月～	前日 1 時間	40 分

目的と内容

昆虫の体液を用いて、体内に侵入した異物が食作用によって血球にとり込まれることを観察し、自然免疫について理解する。

生徒の多くは、ケガなどで異物が入ったところが翌日赤くはれることを経験しているが、それが白血球の食作用による結果だと気付いていない。生まれもっている自然免疫（先天性免疫）の1つとして、食作用が昆虫にもあるという共通性を知ることができる実験である。

ある程度大きい個体の昆虫であれば観察が可能であるが、入手のしやすさ、数のそろえやすさ、価格の安さ、実験のしやすさ、可能時期など材料により一長一短がある。異物を注入し免疫反応が起こるのを待つ必要があるため、異物の注入まで準備し、プレパラート作成から生徒に操作させる。

既習
事項

なし

留意点

【指導面】

- ・「免疫とそれにかかわる細胞のはたらきについて理解すること」がこの単元の目標である。病原菌などの異物を認識，排除して体内環境を保つ仕組みを理解させることを意識して指導する。自分ではない異物を排除するという自然免疫は，多くの生物に生まれつき備わっている。食作用のしくみに加えて，食作用が昆虫にもあるという共通性を伝えたい。
- ・体内に侵入した異物が食作用によって血球にとり込まれることを観察し，自然免疫について理解することがねらいである。血球を観察しやすくする手順③のギムザ染色を省く，血球のスケッチを省くなどの工夫で時間短縮が可能である。

-
- ・「体内に進入した異物はどうやって取り除かれるのだろうか」「昆虫の生活環境は，ヒトの生活環境よりきれいではないがどうしているのだろうか」など導入を工夫し，生徒自身が疑問をもち主体的に実験に取り組むように指導する。
 - ・「なぜ乾燥させてから操作するのか」「なぜ固定するのか」「なぜ染色するのか」「なぜ裏面から水を流す必要があるのか」など，操作の意味を生徒が理解するように指導する。
 - ・「血液の採取をしているか」「墨汁の注入を，手際よく丁寧に行っているか」「適切なプレパラートを作成しているか」「顕微鏡の操作を手際よく行っているか」「血球を見付け観察しているか」などの食作用の観察にかかわる操作ができているか，スケッチはスケッチの仕方によって描いているか，プリントやレポートなどに過程や結果の記録，整理をしているかなどを机間巡視して適宜指導する。

【安全面】

- ・カミソリや眼科ばさみなどでけがをしないように注意する。
- ・メタノールを使うので火気を扱わないように注意する。
- ・カバーガラスを割らないように注意する。
- ・昆虫を触るので，実験後は石けんで手洗いをするように注意する。

【その他】

- ・比較的大きい昆虫を材料とするため嫌悪感や抵抗感をもつ生徒もでるが，あまり騒がず命を奪うものではないことを説明し進めていくと，大抵の生徒は自然と実習に参加する。
- ・気持ち悪くなった生徒，どうしても出来ない生徒は，申し出るように配慮する。
- ・可能な限り，少人数の班を構成し，一人一人の生徒が実験に取り組めるようにする。

◎準備

準備の流れ

～1ヶ月前

□（カイコ購入の場合）カイコの発注

1ヶ月前～

（発注，調製，代替の検討時間含む）

□器具の在庫確認

□メタノール，ギムザ染色液の在庫確認

□実験室の備品確認

1週間前～

□（コオロギ購入の場合）コオロギの発注

～前日

□実験プリント作成・印刷

□墨汁の在庫確認

□教材の入手

□メタノール，ギムザ染色液の小分け

□注入用のガラス管の作成

前日

□墨汁の注入

当日

□器具・教材・薬品の分配

☆教材の入手方法

・コオロギの入手方法

①野外で採集する。岩手県ではエンマコオロギなどが採集できる。成虫は8月～10月に見られ，畑や草地，道端などに広く分布する。夜行性のため，夜間に物陰から出てきたところが捕獲しやすい。日中は大きめの石や積んだ枯れ草の下にいることが多い。雑食性で煮干しやかつお節などを入れたペットボトルでトラップ採集もできるが，捕獲できないこともある。数を集めるのに時間がかかるので，早めに捕獲することが準備の負担軽減になる。金魚やメダカのエサ，ドッグフードなどで飼育ができる。



②エサとして販売しているものを購入する。一年中，は虫類や魚類などのエサ用として，ヨーロッパイエコオロギやフタホシコオロギなどがホームセンター内のペットショップやインターネットで購入できる。岩手県では取り扱っていないところが多く，あまり数をそろえられない。値段の上でも，インターネットで購入した方が安い。生き物のため入手できない場合があるため，早めに確認する。

ホームセンターで購入（成虫） 300円前後／10個体

インターネットで購入（成虫） 800円前後／100個体 2～4日で配送

例)

・イナゴの入手方法

野外で採集する。主に，岩手県ではコバネイナゴが採集できる。成虫は8月～10月に見られ，イネ科の植物を食草とするので，水田でよく観察される。水田で採集する場合，出穂時期には畦畔を歩くと米のカメムシ吸汁害を招くため，水田所有者に確認する必要がある。昼行性で，動きが活発であるため捕虫網を用いた方がよいが，早朝は動きが鈍く素手でも捕獲できる。メスが大きく，材料に適している。

・ オンブバッタの入手方法

野外で採集する。主に、成虫は8月～10月に見られ、シソ科、ナス科などの双子葉類を食草とするので、草地や畑でよく観察される。昼行性で、飛翔しないので捕獲しやすい。メスが大きく、材料に適している。



コバネイナゴ



オンブバッタ

・ カイコの入手方法

①岩手大学や養蚕農家から譲ってもらう。養蚕農家では5月～10月の桑の葉が出ている時期に年5回ほど養蚕している。カイコは人工飼料や桑の葉を用意して飼育する必要があるが、桑の葉を食べたものは桑の葉以外食べない、また、農薬、たばこの花粉、朝露などがついた桑の葉を食べると死んでしまうので注意する。観察、実験では終令幼虫を使うため、適した時期が5日程度と短く、カイコの状態に合わせて計画する必要がある。



カイコ終令幼虫

岩手大学農学部 TEL 019-XXX-XXXX

②インターネットで購入する。眠とよばれる脱皮する前の状態で購入するが、おおよそ3令幼虫の眠から2週間、4令幼虫の眠から1週間でマユをつくる。配送する日が決まることが多いため、観察、実験の予定週から逆算して1ヶ月以上前に確認する。

インターネットで購入 (4眠発送5令飼育) 2,500円前後/20個体例)

材料の選定の参考として、この資料で扱った昆虫の特徴を簡単にまとめた。

	コオロギ	イナゴ	オンブバッタ	カイコ
可能時期	8～10月 (購入は一年中)	8～10月	8～10月	5～10月初旬 (購入は一年中)
材料の特徴	購入するものはエンマコオロギより小型で、異物注入で死にやすい。単価は安い。	比較的捕まえやすい。出穂時期の水田はやめておく。可能な時期が限られている。	生息場所がわかれば、比較的捕まえやすい。可能な時期が限られている。	異物注入に丈夫である。実験に使用できる期間が短い。単価が高い。
血液の取り方	後肢の切断 血液量が少ない	後肢の切断 血液量が少ない	後肢の切断 血液量が少ない	尾角の切断 血液量が多い

教材の情報

- ・エンマコオロギ (学名 : *Teleogryllus emma*)
コオロギ科エンマコオロギ属
- ・ヨーロッパイエコオロギ (学名 : *Acheta domestica*)
コオロギ科 Acheta 属
- ・コバネイナゴ (学名 : *Oxya yezoensis*)
バッタ科イナゴ属

湿った環境を好み、イネ科植物の葉を食べる。そのため水田に多く生息し、イネの葉を食べるので害虫として扱われる。

天敵の存在を感じると、止まっている草などの反対側に回り込んで身を隠そうとする習性がある。

- ・オンブバッタ (学名 : *Atractomorpha lata*)
オンブバッタ科オンブバッタ属
- ・カイコ (学名 : *Bombyx mori*)
カイコガ科カイコガ属

家畜化された昆虫で、人の手なしでは生きていけない。

薬品の情報

- ・ギムザ染色液

血液標本染色法の1つ。ギムザ液 (メチレンブルー, エオシン, azure B の混合液) は使用直前に水で希釈して使う。マラリア研究の先駆である医学者、グスタフ・フォン・ギムザの名を取って「ギムザ染色」と呼ぶ。ドイツ・ハンブルクの熱帯病研究所にて、マラリア原虫の染色法として開発された。現在も臨床現場で広く用いられている。

ギムザ染色液 (NaRiKa 100mL 2,400円, ケニス 100mL 2,600円)

染色されるものは以下の通り。

- 赤血球 (青味がかった赤)
- 血小板 (青)
- 好中球 (赤紫)
- 好酸球 (赤)
- 好塩基球 (青紫)



トピック 昆虫の血液

昆虫の循環器系は開放血管系といい、閉じた血管系をもたないので、血液とリンパ液、組織液の区別はない。正式には「血リンパ」と呼び、透明またはうすい黄色や緑色をしている。昆虫の血球細胞は通常2～数種類存在し、原白血球、プラズマ細胞、顆粒細胞、小球細胞、エノシトイドなどに分類される。これらの血球細胞の中で原白血球細胞以外は異物侵入に対する生体防御の一翼を担っていることが解明されている。

- ・原白血球は大きさが6～12 μm で、球形をしており、原始的な血球とされる。
- ・プラズマ細胞は体に入ってきた異物を食べるか、包み込んで退治する細胞である。16～30 μm で紡錘形をしている。
- ・顆粒細胞はプラズマ細胞同様、体に入ってきた異物を退治する細胞である。直径8～16 μm の細胞で、比較的小さな核と細胞質に小さな顆粒を持つ。
- ・小球細胞は8～20 μm ほどで、細胞質に1.5～6 μm の小球が1細胞に1～20個含まれている。
- ・エノシトイドは球型で12～25 μm と血球としては大きい血球である。

準備

当日のセット

☆生徒用

- | | | |
|---|-----|----|
| <input type="checkbox"/> 検鏡セット | 1組 | |
| <input type="checkbox"/> 光源装置 | 1台 | |
| <input type="checkbox"/> 眼科ばさみ (または解剖ばさみ, カミソリ) | 1つ | 1つ |
| <input type="checkbox"/> 9 cm ペトリ皿 | 1組 | |
| <input type="checkbox"/> スポイト (エタノール用) | 1つ | |
| <input type="checkbox"/> ピペット (染色液用) | 1つ | |
| <input type="checkbox"/> 50mL ビーカー | 1つ | |
| <input type="checkbox"/> 保冷剤 | 1つ | |
| <input type="checkbox"/> メタノール | 1つ | |
| <input type="checkbox"/> ギムザ染色液 | 1つ | |
| <input type="checkbox"/> 異物注入済み昆虫 | 1個体 | |

- | | |
|--------------------------------|-----|
| <input type="checkbox"/> 無処理昆虫 | 1個体 |
|--------------------------------|-----|

準備に必要な用具

※検鏡セット

- | | |
|----------|----|
| ・光学顕微鏡 | 1台 |
| ・スライドガラス | 1組 |
| ・カバーガラス | 1箱 |
| ・先尖ピンセット | 1つ |
| ・柄付き針 | 1つ |

- | | |
|--------|------------|
| ・試薬ビン | ・ラベル |
| ・プチボトル | ・ラベル |
| ・容器 | ・氷 |
| ・紙 | ・毛細管針 |
| ・ビニール管 | ・墨汁 |
| ・ビーカー | ・9 cm ペトリ皿 |
| ・容器 | ・氷 |
| ・ペトリ皿 | |

★教員用

- 昆虫を入れる容器
- 熱湯
- ビーカー



光源、麻酔に使う用具、墨汁の代わりに異物、異物の注入用具、容器などは代わりになるものを工夫してかまわない。



① 1ヶ月前～

昆虫の発注をする。

岩手県ではコバネイナゴが採集しやすく数もそろえやすいが、観察に適した時期が限られるため、時期のずれがある場合や昆虫の採集が難しい場合はあらかじめ注文して入手した方がよい。昆虫を選定したうえで、墨汁を注入することによって死亡する可能性があるため予備を多めに発注する必要がある。

② 前日まで

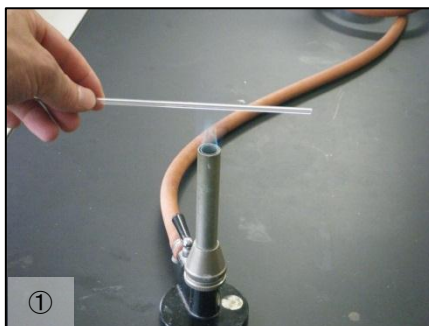
昆虫を入手する。メタノール、ギムザ染色液を小分けする。注入用のガラス管を作成する。

メタノールを試薬ビンに小分けする。ギムザ染色液を用意し、プチボトルに入れる。

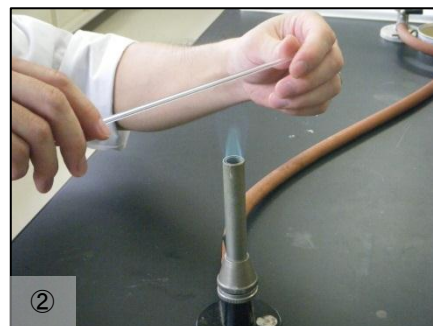
注入用のガラス管は、ビニール管の内径に適当なもので作成する。作成方法は、次の「☆ガラス管からパスツールピペットや毛細管針を作成する方法」に従って作成するとよい。毛細管針にするため、ガラス管を引いて細くなったものを再度温めて引くようにする。

☆ガラス管からパスツールピペットや毛細管針を作成する方法

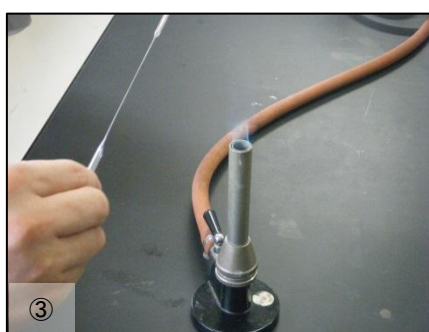
① ガスバーナーでガラス管の引き伸ばしたいところをまんべんなく熱する。



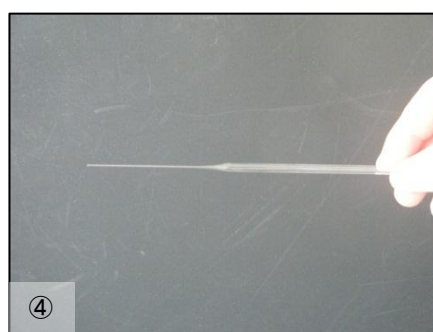
② ガラス管を回しながら熱し、柔らかくなるのを待つ。



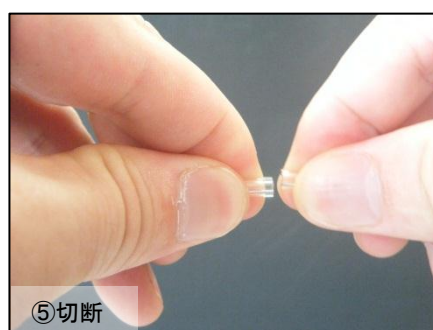
③ 1本の管としての手応えがなくなったら、火から出して同じ力で外側に引き延ばす。



④ 冷えたら、引き伸ばした部分を適当な長さで折る。



⑤ ガラス管部分は、適当な長さにガラス管切（ヤスリで代用可能）で傷を付けて折る。



③前日

昆虫に墨汁を注入する。  →状態 1, 状態 3 (p.185)

注入操作の前に、昆虫が暴れないように氷上麻酔する。氷上麻酔の仕方は、容器に氷を引き詰め、紙を氷の上に敷く。その上に昆虫を置き、逃げないように蓋で覆うなどして動かなくなるまで (10分～) 放置する。

氷上麻酔をしたものに、墨汁 0.05mL 程度を注入し 1 日置く。中央部は内臓などの器官があるため、左右どちらかに片寄ったところで、コオロギ、イナゴ、バッタなどは腹部の体節と体節の間、カイコは腹脚の付け根に注入する。昆虫の血球細胞が墨汁の粒子を異物として認識し、食作用のよって細胞に取り込む。

前日に作業ができなかった場合でも注射後 3 時間経っていれば食作用が見られるため、朝に注入すれば午後に観察することは可能である。注入後は、餌を与え体力を回復させる。



注入に用いる器具は注射器でもよいが針が太く昆虫に負担が大きいため、死亡する割合が高くなる。ガラス管から毛细管針をつくって、それにビニール管をつないだ注入器を作成すると、昆虫の負担を減らすことができる。ただし、注入操作は注射器を用いた方が簡単である。



注射器での注入 (カイコ)



毛细管針での注入 (エンマコオロギ)

④当日

器具・薬品を分配してセットを用意する。昆虫はセットに入れない。

昆虫は授業の直前に氷上麻酔し、実際に操作をする直前に配付するようにする。

◎観察，実験

観察，実験の流れ

1 校時目

□ 導入

- ・ 既習事項の確認
- ・ 昆虫の血液はヒトと同じだろうか
答) 異なるが，血球も存在する
- ・ 細菌などが身の回りに多い中で，昆虫が無事に生きているのは何か自然免疫がはたしているのではないか
答) ヒトの白血球に相当する自然免疫にかかわる血球がある

□ 目的を理解させる

□ 観察，実験

- ・ 観察手順の指導
- ・ 生徒へのアドバイス
- ・ 安全面の注意
- ・ 体内に侵入した異物が食作用によって血球に取り込まれることを観察する（本実験）

□ 結果のまとめ，考察

- ・ 観察からわかったこと
- ・ 脊椎動物との相違点はないだろうか
答) 高度な生体防御である免疫は持たない

□ 後片付けの指示

手順 時間のめど（およそ 40 分）

※詳しい手順は付録「15 食作用の観察.pptx」を参照


① 血液の採取（5分）

麻酔しておいた墨汁を注入した個体と対照の墨汁を注入しない個体を用意し，それぞれから血液を採取する。スライドガラスを並べ，コオロギやイナゴなどは後肢を切断する。カイコは尾角を切る。



大きめの昆虫であるため，躊躇する生徒が多いと予想されるが，命を奪うものではないことを説明し，割り切って行わせる。腹部は臓器があり，血液以外が含まれやすいため避ける。

バッタ類の後肢からはあまり血液が出ない。

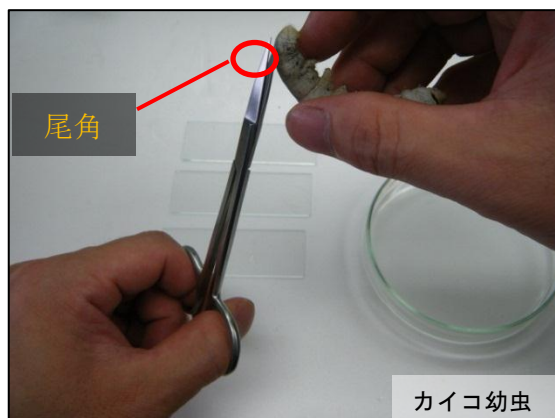
カイコは第 11 体節の背面にある尾角を傷付けると血液があふれてくるため，すぐに少量ずつスライドガラスに付けていく。  → 状態 2，状態 4（p. 185）



カイコ幼虫



エンマコオロギ



尾角

カイコ幼虫

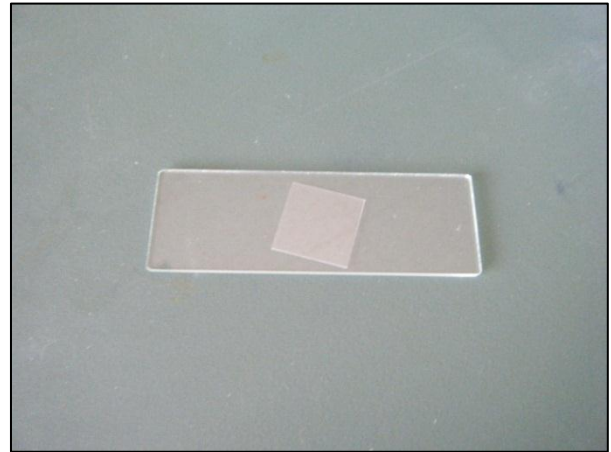
② プレパラートの作成（1分）

血液をスライドガラス2枚以上に塗る。1枚はそのまま、カバーガラスを載せプレパラートとする。




バッタ類の後肢からはあまり血液が出ないため、太い部分を押し血液をスライドガラスに絞り出してから、カバーガラスを載せる。

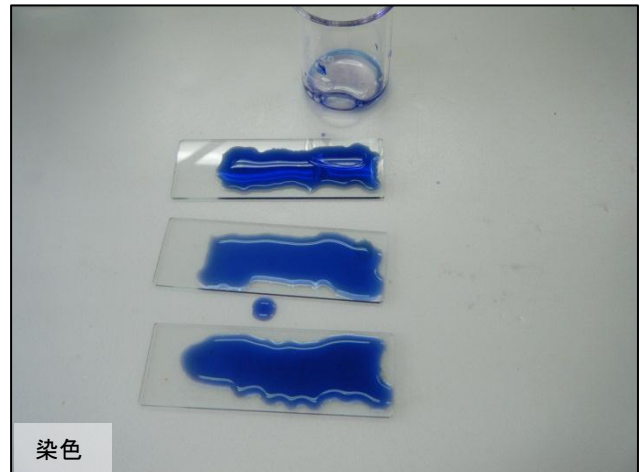
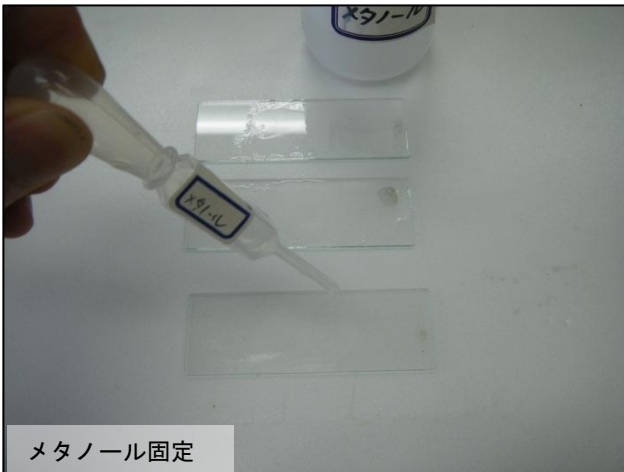
カイコで血液量が多くなった場合、カバーガラスがずれるので、カバーガラスを載せたあと、ろ紙で上から押さえる。



③ プレパラートの作成2（19分）



・もう1枚はスライドガラスに薄く塗ってから乾燥させた後、固定のためメタノールを滴下し2分程度置く。メタノールを乾燥させた後、水1mLにギムザ染色液1滴の割合に希釈したギムザ液をかけ、10分以上放置して染色する。  →状態4の原因2（p.185）



・染色後、裏返し直接水が当たらないように裏面に流水をかけ余分な染色液を静かに洗い流す。まわりの水分をろ紙などで取ってから、カバーガラスを載せプレパラートとする。



ギムザ染色によるプレパラート作成は、省略してもよい。



カイコの場合は血液量が多いため、血球観察と同様にカバーガラスを使って、血液を薄く塗り広げた方がよい。




付録資料スライド22

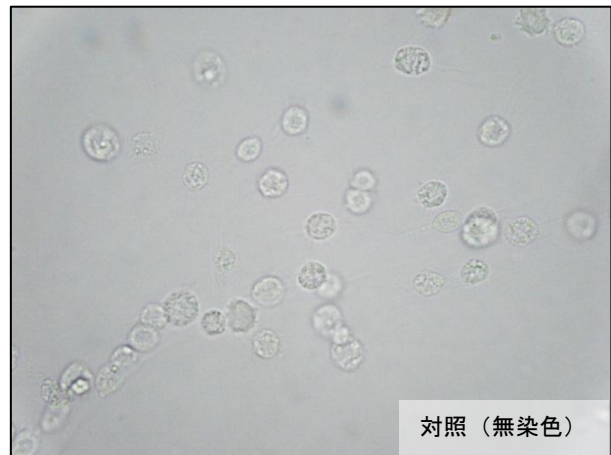
動画ファイル「昆虫血液の塗布」に動画あり



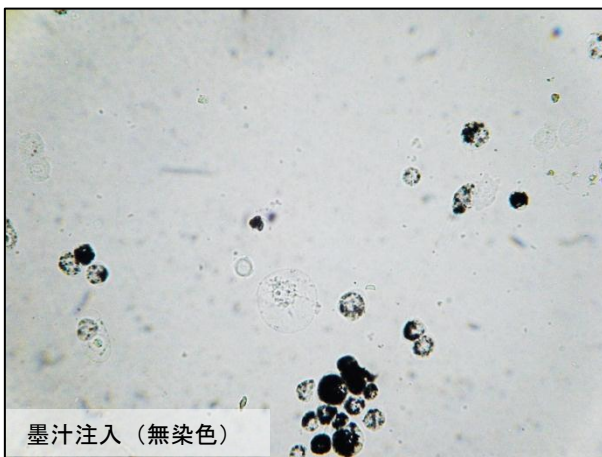
固定や染色の際は、乾燥していないと細胞がはがれやすいため、しっかりと乾かしてから行う。

④ 食作用の観察・スケッチ（15分）

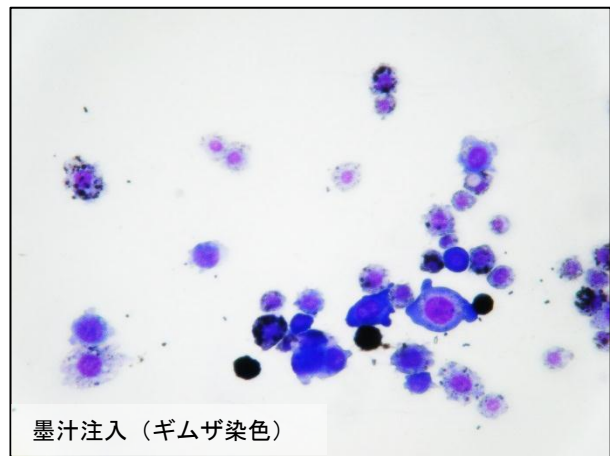
墨汁を注入した個体と対照の墨汁を注入しない個体のそれぞれについて、そのままのプレパラートと、ギムザ染色したプレパラートを観察する。しぼりを絞って、低倍率（15×4）でピントを合わせる。倍率を上げ、どのような形、色の血球が観察できたかスケッチする。墨汁が取り込まれた血球を探す。すべての血球で墨汁が取り込まれているのか観察する。また、固定していないプレパラートの白血球の動きを観察する。  →状態3，状態4（p.185）



対照（無染色）



墨汁注入（無染色）



墨汁注入（ギムザ染色）



対照の血球と比較することで、墨汁が血球に取り込まれていることがはっきりとわかる。血球に墨汁を取り込んでいない血球はほぼ透明で、しぼりを絞らないと観察しにくい。血液を付けたところを中央におき、低倍率から観察させる。ギムザ染色では青みがある部分に細胞があるため、その部分を観察させる。カイコのように塗布した場合、塗布の終点に大きな細胞が集まる傾向がある。

まとめ

- ①食作用によって体内に侵入した異物が血球に取り込まれていることが確認できた。
- ②すべての血球で食作用が見られるわけではないことが確認できた。
- ③自然免疫による異物の排除の仕方について理解できた。

◎後片付け

■後片付けのさせ方

- ・昆虫は回収し、後肢やろ紙などは燃えるゴミに捨てさせる。
- ・スライドガラスはそのまま、熱湯を入れたビーカーに回収する。
- ・洗った器具は回収し、洗い方が不十分なものは再提出させる。
- ・実験後、薬用石けんで手を洗わせる。

■器具等の管理

- ・回収したものは種類毎に分け、再点検した上で乾かし、所定の器具置き場に戻す。
- ・固定で使用したスライドガラスは細胞が落ちにくいので、お湯につけ時間を置いてから洗う。スライドガラスは染色液が取れていない場合があるので、アルコールで拭いてから片付けるようにする。
- ・染色液は、暗所に保管する。
- ・メタノールは、火気のないところに保管する。

失敗例

●状態1 昆虫が死んでしまう

原因1 注射針が太い

昆虫にとって注射針は太い。毛細管針も作成によっては太い可能性がある。細くした毛細管針での注射は死亡率が少ないためよいが、かなり手間がかかるので、死亡することを計算に入れて多めに注射する。

原因2 麻酔が効いていない

麻酔が効いていないと、強く暴れて体液が漏れ出すことがある。注射前には完全に動きがなくなるまで麻酔し、体温で暖まらないように素早く注射する。

原因3 異物の量が多すぎる

異物が少ないと血球に取り込まれたものが観察しにくい、多すぎると抵抗力が弱まり死んでしまうことがある。注射する量(0.05mL程度)を守り、注射後は餌を与え静かなところに置く。

原因4 注射した場所が悪い

正中線上には、臓器が集中しているので、深い傷を与えると死んでしまう。正中線からずれた腹部や脚の付け根に注射する。バッタ類の注射場所で、羽の付け根という文献もあるので試してみてもよい。

●状態2 血液を採取できない

原因1 血液の採取に問題がある

バッタ類の後肢からはあまり血液が出ない。切った後肢の太い部分を指でつぶしながら、切断面をスライドガラスにこすり付けて血液を採取する。

原因2 抵抗感が強い

生徒によって、虫に対する嫌悪感や生物を傷付けることへの抵抗感が強く操作ができないことがある。個体は生徒に配付せず、胸部から取り離れたバッタ類の後肢を配付するなど配慮する。

●状態3 異物が入った血球が見られない

原因 準備に問題がある

異物が少ないと血球に取り込まれたものが観察しにくい。注射する量(0.05mL程度)を守り、注射後は餌を与え静かなところに置く。

●状態4 血球が見られない

原因1 血液の採取に問題がある

昆虫には体液の少ないものが多く、バッタ類の後肢からもあまり血液が出ない。乾燥しやすいため後肢切断後は速やかに血液を採取し、そのまま観察するものはすぐにカバーガラスを載せる。

原因2 染色の操作が未熟である

乾燥が不十分だったり、流水を直接当ててしまったりすると、細胞がはがれてしまう。しっかりと乾燥する、裏側から流水をかけるなど、基本手順を守る。

原因3 顕微鏡の操作が未熟である

基本的な操作を確認した上で観察する。特に対照の無染色のプレパラートにある透明な細胞は、ピントを合わせにくいので、しぼりを絞ってコントラストを高めて観察する。

別法

別法

- ・ブタの血液をつかうもの（啓林館の教科書で採用しているもの）

実際に白血球が納豆菌を捕食する様子が観察でき、食作用の観察には最も適している。しかし、遠心分離機が欲しいこと、ブタの新鮮な血液が必要なこと、白色層を得にくいこと、染色しないので顕微鏡操作がかなり難しいことなどから、多くの高校では実施しにくいと考えられる。

手順は、簡単に次の通りである。感染症予防のため、ゴム手袋を着用し、直接血液に触れないようにする。材料は、納豆、豚の新鮮な血液（クエン酸ナトリウムで血液凝固を阻止したもの）、ゴム手袋、時計皿、毛細ガラス管、パテ、ガラスカッター、遠心分離機、検鏡セットを用意する。

- ①スライドガラスの表面にカバーガラスを利用して、線状に納豆菌を付ける。
- ②ブタの血液を、毛細ガラス管にとり、底をパテで封じてから 2000 回転/分で 20 分間遠心分離した後、赤い層と透明な層の間の白色層のすぐ下をガラスカッターで傷付けてから折る。
- ③毛細ガラス管中の白色層と血しょうと一緒に納豆菌が付いたスライドガラスに出し、カバーガラスを載せて検鏡する。
- ④じっくり観察すると、納豆菌を捕食する白血球が観察できる。ただし、白血球の動きは非常にゆっくりしているため、動きをとらえにくい。一定時間ごとにスケッチや写真で記録し変化を見るとわかりやすい。

器具の取り扱い

・注射筒と注射針

注射筒は注射する際に使用するガラス製やプラスチック製の容器。プラスチック製のディスプレイ注射器は1 mL～100mL の様々な容量のものがあり、安価である。(NaRiKa 1 mL のもの 45 円～100mL のもの 500 円)

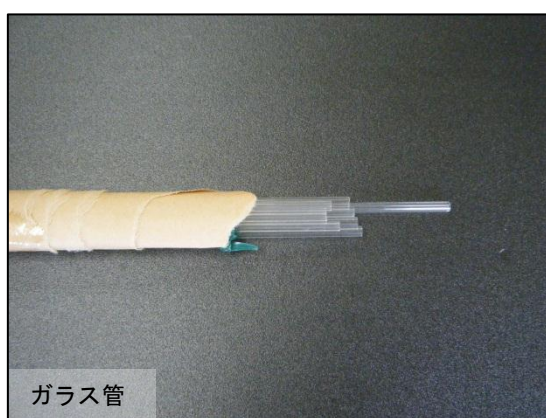
注射する際に使用する針。すべての注射筒に使用できるが、昆虫に注射する場合、太さが1 mm 程度と太く昆虫の負担が大きくなる。



注射筒と注射針

・ガラス管

ガラスの管。内径は外径から2 mm 程度少ないものが一般的である。外径は1 mm 刻みで4 mm～10mm，長さ38cm 及び外径5 mm と6 mm，長さ120cm のガラス管が販売されており，価格は650 円～2,300 円程度と様々である。このサポート資料では，外径4 mm，長さ38cm (価格650 円程度) のガラス管を使用した。



ガラス管

・ガラス管切

ガラス管を切る装置。Vの字のへこみにガラス管を置き，円形の刃の付いた部分ではさんでからガラス管をまわすと傷がつく。



ガラス管切

・ビニール管など

ビニール，ゴム，ポリエチレンなどでできた柔らかい管。材質によって異なるが内径は1 mm 刻みで3 mm～25mm と様々であり，目的によって使い分ける。内径6 mm のものを5 cm 程度に切って，ピンセットや柄付き針のカバーなどにするとうい。

注入での利用はガラス管の外径に合わせる。長い方が操作は楽であるが，長すぎると圧力がかからないため，長くても20cm 程度にした方がよい。



ビニール管