

## 肝臓を用いた動物細胞の観察

加藤 良一

地域教育文化学部 地域教育文化学科

木村 孝真

教育実践研究科 教職実践専攻

小林 大介

教育実践研究科 教職実践専攻

長根 智洋

愛知教育大学附属高等学校

鈴木 拓史

地域教育文化学部 地域教育文化学科

(平成27年8月28日受理)

### 要 旨

ウシの肝臓をカミソリの刃でなるべく細かく切り刻み、それを約0.25 g 試験管の中に入れ、そこに0.9%生理食塩水を1 mL加えて、それを試験管攪拌機で1分間連続して攪拌した後、試験管立てに立てて10分間静置した。そして、その上清を1滴スライドガラス上に取り(未染色)、カバーガラスを被せた。また、その上清の1滴の半量と酢酸オルセインの同半量をスライドガラス上で混合し5分以上静置した後(染色処理)、カバーガラスを被せた。これらのプレパラートを光学顕微鏡で観察すると、未染色と染色処理の両者において、細胞がある程度散けていて、細胞全体とその中の核がそれぞれハッキリ確認できた。

### I はじめに

中学校理科2年では、生物を構成している細胞のつくりを学び、光学顕微鏡を用いて細胞を観察する例が紹介されている<sup>1)2)3)4)5)</sup>。植物細胞の観察では、ムラサキツユクサの葉の表皮細胞<sup>1)4)</sup>、同植物の花弁の表皮細胞<sup>4)</sup>、同植物のおしべの毛<sup>1)</sup>、オオカナダモの葉の細胞<sup>1)2)3)4)5)</sup>、およびタマネギの表皮細胞<sup>2)3)4)5)</sup>が例に挙げられている。一方、動物細胞の例には、ヒトのほおの内側の粘膜細胞<sup>1)2)3)4)5)</sup>が挙げられているが、実際に生徒がこの粘膜細胞のプレパラートを作成して光学顕微鏡で観察すると、多くの細胞が重なり合い、この粘膜細胞が1つ1つバラバラとなって、その1つの細胞を確認できるようなプレパラートにするのは大変難しい。また、動物細胞の他の例としては、ニワトリの肝臓の細胞<sup>1)</sup>が挙げられている。そこで、本研究では、いろいろな動物の肝臓を用いてその細胞のプレパラートを作成し、それらを光学顕微鏡で観察して、動物細胞を観察しやすい教材として適切な肝臓を特定した。

## II 研究方法

### 1. 肝臓の入手

ニワトリおよびブタの肝臓は、山形市内のスーパーマーケットで購入した。ウシの肝臓は、同市内の牛肉専門店で購入した。ニジマスは、体長約200mmのものを同市内の鮮魚店で購入した。ヤマメは、平成27年5月に、山形市の馬見ヶ崎川の支流である不動沢で、体長200mmのものを釣り上げた。

### 2. プレパラートの作製

それぞれの動物の肝臓から約2gの切片を切り出し(図1)、その切片を厚紙の上で片刃のカミソリの刃を用いてなるべく細かく切り刻んだ(図2)。この時、ブタおよびウシの肝臓では、そこに含まれる切れにくい繊維質の組織を取り除きながら刻んだ。つぎに、その刻んだ肝臓を約0.25g量り、試験管(長さ:103mm、直径:14mm)の中に入れ、そこに0.9%生理食塩水を1mL加えた(図3)。そして、それを試験管攪拌機(アズワン㈱、Automatic Labo-Mixer NS-9)を用いて、最大攪拌速度の約2/3で1分間連続して攪拌

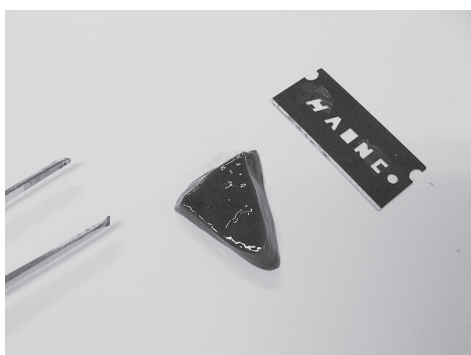


図1 切り出されたウシの肝臓の切片(中央)



図2 ウシの肝臓を切り刻んでいる様子

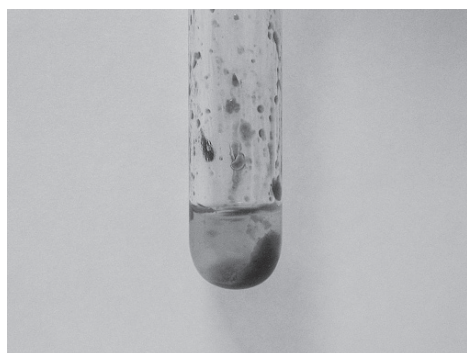


図3 刻んだ肝臓を試験管に入れ、そこに生理食塩水を加えた様子

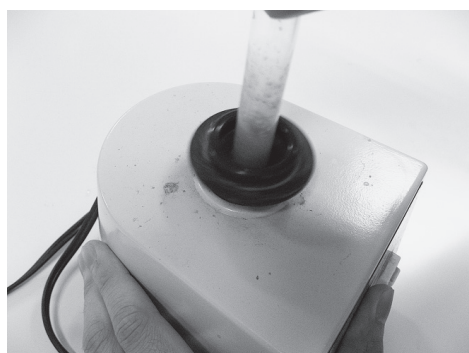


図4 試験管攪拌機を用いて攪拌している様子

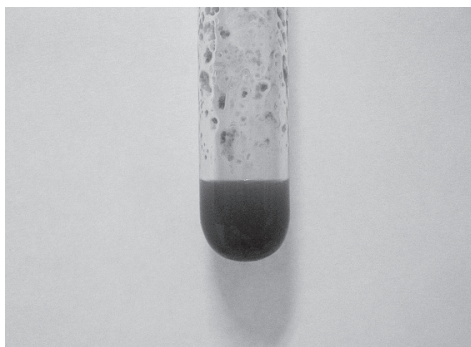


図5 試験管攪拌機で攪拌した後の様子



図6 その上清と酢酸オルセインをスライドガラス上にのせた様子

(図4)した後(図5)、試験管立てに立てて10分間静置した。その上清をパスツールピペットで1滴スライドガラス上に取り(未染色)、カバーガラスを被せた。また、その上清の1滴の半量と酢酸オルセイン(45%酢酸中に色素のオルセインが1%含まれる)の同半量をスライドガラス上に両者が接するようにのせ(図6)、両者を楊枝で混合し5分以上静置した後(染色処理)、カバーガラスを被せた。これらのプレパラートは、光学顕微鏡(OLYMPUS BX41)を用いて観察した。

### Ⅲ 結果

#### 1. ニワトリの肝臓

肝臓に存在する繊維質の組織は、肝臓切片の切り刻みに全く影響を与えなかった。未染色のプレパラートを観察すると、細胞は1つずつバラバラとなっていて、細胞の輪郭はハッキリしていたが、その中の核は確認できなかった(図7)。1つの細胞の大きさは約10 $\mu\text{m}$ で、光学顕微鏡の倍率を400倍としてその細胞を確認できた。一方、酢酸オルセインで染色処理のものは、細胞全体の像として確認できなかったが、各細胞の核だけは見ることができた(図8)。

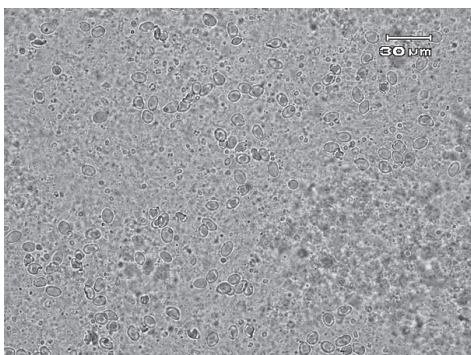


図7 未染色のニワトリの肝臓の細胞

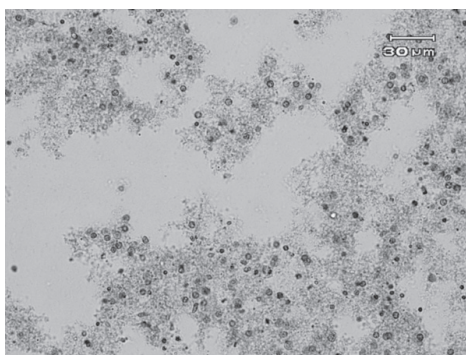


図8 酢酸オルセインで染色処理したニワトリの肝臓の細胞

## 2. ブタの肝臓

肝臓の切片をカミソリの刃で細かく切る際に、肝臓に存在する繊維質の組織がその切り刻みを妨げ、その切断は少し困難であった。未染色のプレパラートでは、細胞は部分的に重なって、場合によっては10個以上が集合していて、核は確認しにくかった(図9)。1つの細胞の大きさは23 $\mu\text{m}$ 前後で、光学顕微鏡の倍率を400倍としてその細胞を十分観察できた。一方、酢酸オルセインで染色処理すると、細胞全体が鮮明に確認でき、核はその細胞内に各1個ハッキリ見えた(図10)。

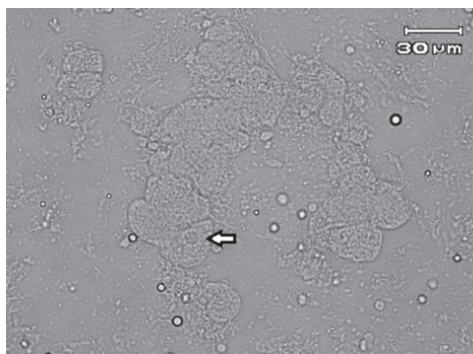


図9 未染色のブタの肝臓の細胞  
矢印は、核を示している。

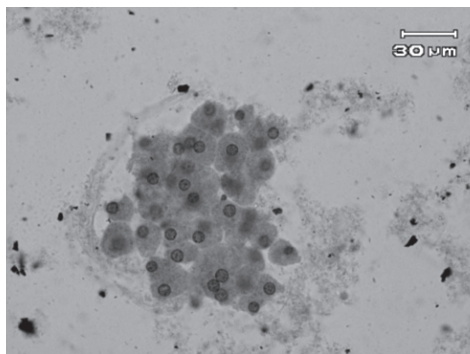


図10 酢酸オルセインで染色処理したブタの肝臓の細胞

## 3. ウシの肝臓

肝臓に存在する繊維質の組織は、ブタの場合と比較して少なく、その切り刻みにほとんど影響を与えなかった。未染色のプレパラートを観察すると、ブタの場合と比較して細胞はそれほど集合してなく、細胞はある程度散けていて、その中の核は確認しやすかった(図11)。1つの細胞の大きさは約30 $\mu\text{m}$ で、光学顕微鏡の倍率を400倍としてその細胞を十分観察できた。一方、酢酸オルセインで染色処理のものは、細胞全体として鮮明に確認でき、核はその細胞内に各1個ハッキリと見えた(図12)。

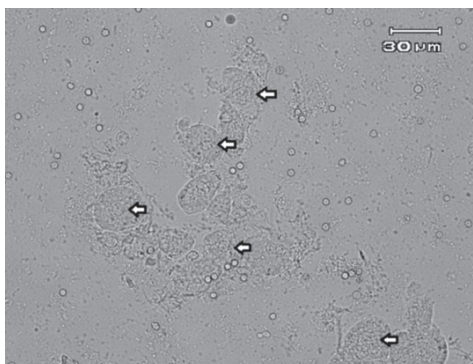


図11 未染色のウシの肝臓の細胞  
各矢印は、核を示している。

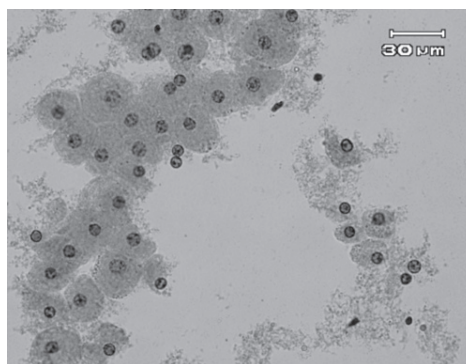


図12 酢酸オルセインで染色処理したウシの肝臓の細胞

#### 4. ヤマメの肝臓

肝臓に存在する繊維質の組織は、ウシの場合と比較してさらに少なかった。未染色のプレパラートでは、細胞は1つずつバラバラとなっていて、核はさらに小さくて見づらいがなんとか確認できた(図13)。1つの細胞の大きさは約 $6\mu\text{m}$ で、光学顕微鏡の倍率を400倍にしてもその細胞を確認しにくかった。一方、酢酸オルセインで染色処理すると、個々の細胞が鮮明に確認できたが、核は小さくてほとんど見えなかった(図14)。

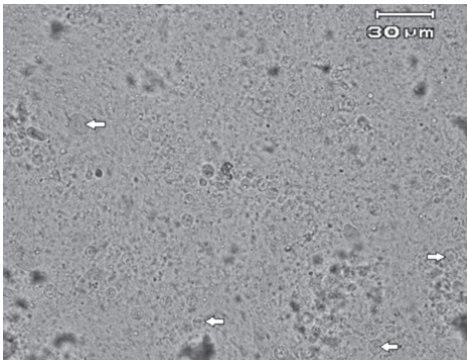


図13 未染色のヤマメの肝臓の細胞  
各矢印は、核を示している。

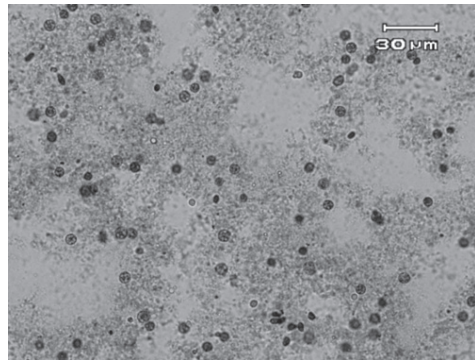


図14 酢酸オルセインで染色処理したヤマメの肝臓の細胞

#### 5. ニジマスの肝臓

肝臓に存在する繊維質の組織は、ニワトリの場合と同様に極めて少なかった。未染色のプレパラートを観察すると、細胞は1つずつバラバラとなっていて、核は確認しやすかった(図15)。1つの細胞の大きさは約 $13\mu\text{m}$ で、光学顕微鏡の倍率を400倍としてその細胞を観察できた。一方、酢酸オルセインで染色処理のものは、細胞が鮮明に確認でき、核はその細胞内に各1個ハッキリと見えたものもあったが、細胞全体として見えにくく、核だけ見えたものが多かった(図16)。

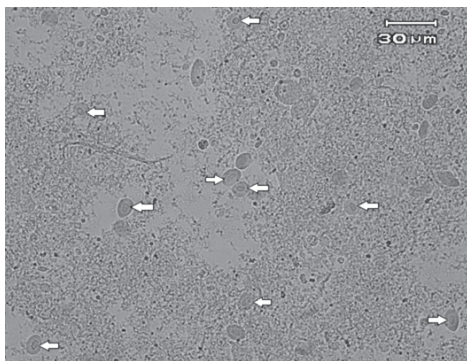


図15 未染色のニジマスの肝臓の細胞  
各矢印は、核を示している。

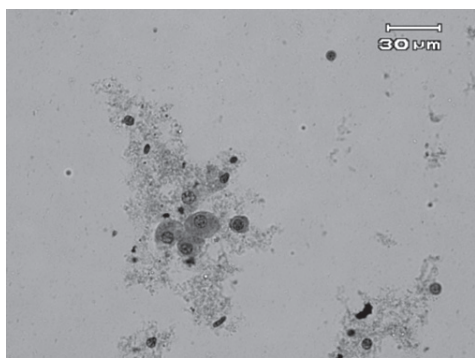


図16 酢酸オルセインで染色処理したニジマスの肝臓の細胞

以上の結果をまとめると、表1のようになる。上記の1～5で共通していたのは、未染色のプレパラートでは、脂肪等がその背景に存在するため、全体的に細胞が少し確認しにくい標本となった。一方、酢酸オルセインで染色処理すると、その酢酸の作用で背景の脂肪が見えなくなり、前者と比較して観察しやすい標本となった。なお、上記1～5それぞれにおいて、別々の肝臓をしいた2回以上の実験が行われ、その各結果は全く同じになった。

表1 各動物の肝臓から細胞のプレパラートを作製して、その観察のしやすさをまとめたもの

動物	肝臓の切り刻みやすさ	肝臓細胞の分離	肝臓細胞の大きさ (約□ $\mu$ m)	未染色のものでの確認		染色処理のものでの確認		総合評価
				細胞全体	核	細胞全体	核	
ニワトリ	○	○	10	○	×	×	○	×
ブタ	△	×	23	○	×	○	○	△
ウシ	○	△	30	○	○	○	○	◎
ヤマメ	○	○	6	○	△	○	×	×
ニジマス	○	○	13	○	○	△	○	×

#### IV 考 察

中学校理科2年では、光学顕微鏡を用いて植物と動物の細胞を観察することを学ぶ<sup>1)2)3)4)</sup>。動物細胞の観察ではヒトの粘膜細胞<sup>1)2)3)4)</sup>が例に挙げられているので、実際の授業の中で、各生徒に自分自身のほおの内側から綿棒を用いて粘膜細胞を採取させ、その細胞のプレパラートを作成させて光学顕微鏡で観察させることが多く行われているが、その大方のプレパラートでは細胞が多重に重なり合っていて、細胞が散けて1つの粘膜細胞が明確に確認できるようにさせることは大変難しい。そこで、他の動物細胞の例として紹介されている肝臓の細胞<sup>1)</sup>に注目した。一般に市販されていてその入手がいつでも可能ないくつかの肝臓を試料とし、簡単な前処理によって細胞を1つ1つバラバラにして、その細胞全体とその中の核を光学顕微鏡で確実に観察できるような教材を開発するのが、本研究の目的である。

肝臓の細胞を1つずつバラバラにする方法としては、肝臓を細かく切り刻んだ後に、生理食塩水中でそれを激しく懸濁することでそれが可能になると考えた。そこで、ニワトリの肝臓を試料にして、細かく切り刻んだその肝臓を試験管の中に入れ、そこに生理食塩水を加えて、試験管攪拌機を用いて1分間、2分間、または5分間連続して攪拌した後、10分間静置した。その上清を滴下して作成したプレパラートを光学顕微鏡で観察した結果、全ての攪拌時間で細胞はそれぞれ重なり合うことなく散け、攪拌時間を1分間以上しても、細胞の分離状態は変わらないことが分かった(データは掲示しない)。この結果から、本研究では、試験管攪拌機を用いた攪拌時間を1分間とした。

つぎに、ニワトリ、ブタ、ウシ、ヤマメ、またはニジマスの肝臓を試料にしてこの手法を行い、作成した細胞のプレパラートをそれぞれ観察した。ニワトリ、ヤマメ、およびニジマスの肝臓の試料において完全に細胞は散けたが、ブタの肝臓では細胞がいくつも重なり、およびウシのそれでは細胞はある程度散けていた(表1)。細胞の大きさは、これらの

中でウシのそれが最も大きく、ついでブタのそれも大きかったが、それ以外のものでは小さかった(表1)。未染色のプレパラートでは、細胞全体とその中の核が共に明確に観察できたのは、ウシおよびニジマスの肝臓を用いた場合であり(表1、図11、図15)、それ以外の肝臓では細胞全体しかハッキリと確認できなかった。また、酢酸オルセインで染色処理したプレパラートで細胞全体とその中の核が共に明確に観察できたのは、ブタおよびウシの肝臓を用いた場合であった(表1、図10、図12)。以上の結果から、ニワトリ、ブタ、ウシ、ヤマメ、およびニジマスの肝臓の中で、本研究の手法で動物細胞を観察するのに最も適した試料はウシのそれであった。ただし、ウシの肝臓の細胞を酢酸オルセインで染色した方が、ウシのこの細胞を未染色で観察した場合と比較して、細胞全体および核の存在をより鮮明に確認できたので、できれば染色処理したプレパラートを作製するのが望ましいと考えられる。中学校2年生の生徒に、ウシの肝臓を試料にして、上記Ⅱの2のような手法でプレパラートを作製させれば、動物細胞を簡単にハッキリと観察させることができ、これを新たな教材として提唱したい。

## V まとめ

ニワトリ、ブタ、ウシ、ヤマメ、またはニジマスの肝臓をカミソリの刃でなるべく細かく切り刻み、それを約0.25g試験管の中に入れ、そこに0.9%生理食塩水を1mL加えて、それを試験管攪拌機で1分間連続して攪拌した後、試験管立てに立てて10分間静置した。そして、その上清を1滴スライドガラス上に取り(未染色)、カバーガラスを被せた。また、その上清の1滴の半量と酢酸オルセインの同半量をスライドガラス上で混合し5分以上静置した後(染色処理)、カバーガラスを被せた。これらのプレパラートを光学顕微鏡で観察すると、ニワトリ、ヤマメ、およびニジマスの試料において完全に細胞は散けたが、ブタの肝臓では細胞がいくつも重なり、およびウシのそれでは細胞はある程度散けていた。細胞の大きさは、これらの中でウシのそれが最も大きく、ついでブタのそれも大きかった。さらに、未染色と染色処理の両者において、細胞全体とその中の核がそれぞれハッキリ確認できたのはウシの試料だけであった。

以上のことから、中学校理科の授業では、ウシの肝臓を試料にして、上記のような手法で生徒にプレパラートを作製させれば、動物細胞を簡単に明確に観察させることができ、これを教材として提唱できた。

なお、本研究は、山形大学大学院教育実践研究科の大学院生を対象とした授業科目「教材開発のための教科内容研究(生物学)」の中で、生物教育の教材開発研究として行ったものである。

### 引用・参考文献

- 1) 岡村定矩、藤嶋昭、ほか49名 (2012) 「文部科学省検定済教科書 新しい科学 2年」東京書籍pp. 74-77。
- 2) 有馬郎人、ほか57名 (2012) 「文部科学省検定済教科書 理科の世界 2年」大日本図書 pp. 83-84。
- 3) 霜田光一、ほか25名 (2012) 「文部科学省検定済教科書 中学校科学 2」学校図書 pp. 123-124。
- 4) 細矢治夫、養老孟司、下野洋、福岡敏行、ほか25名 (2012) 「文部科学省検定済教科書 自然の探求 中学校理科 2」教育出版pp. 115-116。
- 5) 塚田捷、山極隆、森一夫、大矢禎一、ほか57名 (2012) 「文部科学省検定済教科書 未来へひろがる サイエンス 2」新興出版社啓林館pp. 6- 8。



## Summary

Ryoichi Kato<sup>1)</sup>, Takamasa Kimura<sup>2)</sup>, Daisuke Kobayashi<sup>2)</sup>,  
Tomohiro Nagane<sup>3)</sup>, Takuji Suzuki<sup>1)</sup>  
Observation of animal cell using the liver

Liver of a cow were cut out fine into small pieces using a razor' s edge. The 0.25g of the pieces and 1ml of 0.9% saline were put into a test tube. The tube was stirred vehemently using a mixer for one minute and kept uprightly for ten minutes. One drop of the supernatant obtained was put on a slide and covered with a cover glass (No staining).

A half drop of the supernatant and other half drop of acetic orcein were mixed on a slide, they were incubated for five minutes, and they were covered with a cover glass (Staining treatment). As they were observed using a microscope, each cell was separated to some degree, and whole cell and a nucleus were checked clearly in both of no staining and staining treatment.

- 1) Food and Nutrition, Faculty of Education, Art and Science, Yamagata University
- 2) Professional School of Education, Graduate School of Teacher Training, Yamagata University
- 3) Senior High School Affiliated to Aichi University of Education