

溶液 または 0.5% ブロムフェノールブルー溶液

### コンゴレッド（またはブロムフェノールブルー）で染色された酵母の作り方

0.5% (w/v) コンゴレッド（またはブロムフェノールブルー）を 500  $\mu$ l と、乾燥パン酵母（100 mg を 1 ml SMB に溶かしたもの）100  $\mu$ l をマイクロチューブに入れて混ぜ、100°C で約 30 分沸騰させたまま煮る。さましてから、SMB で 2～3 回洗い（あれば卓上遠心機で 5,000 rpm で 3 分程度遠心して酵母を沈殿させ、上澄みを捨てて、新しい SMB を入れる、これを 2～3 回繰り返す）、外液の色素を除く。最後に 1 ml SMB に酵母を浮遊させておく。

### 手 順

- ① ゾウリムシの浮遊液に、上記のコンゴレッド（またはブロムフェノールブルー）で染色された酵母の浮遊液を少量混ぜる。
- ② これにメチルセルロース液を落として運動を抑制し、隙間を作るようにしたスライドグラスに入れて、カバーグラスをかける。
- ③ 顕微鏡下で、時間を追って観察し、食胞の色が変化する様子を調べる。

コンゴレッドは、中性付近では赤色であるが、pH 3 では青色となる。ブロムフェノールブルーは、中性付近では青色であるが、pH 4 では緑色、pH 3 では黄色となる。これを指標に、食胞内の pH を推定できる。*P. multimicronucleatum* では、ふつう食胞の酸性化は食胞形成後 4～10 分で起こり、8～20 分で再び中性に戻る。*P. bursaria* では、酸性化は非常に早く 30 秒で起こり、2 分で中性に戻るという。

## 【ディディニウムとゾウリムシを用いたファゴサイトーシス（食作用）の観察】

### 背景と目的

ゾウリムシの天敵は、ディディニウム (*Didinium nasutum*) という繊毛虫である (図 1-5)。ディディニウムは、ゾウリムシに接触すると、細胞口から放出体であるトキシストを放出してゾウリムシを麻痺させ (図 1-15)、ほんの 1～2 分のうちに、自分とほとんど同じ大きさのゾウリムシを丸呑みしてしまう (図 1-16)。一方、ゾウリムシは、体表面からトリコシストを放出して防御しようと試みるが、ディディニウムのほうが圧倒的に強力で、たいていディディニウムに食べられてしまう。短時間にダイナミックなファゴサイトーシスを観察することができるので、見ていて飽きるこ

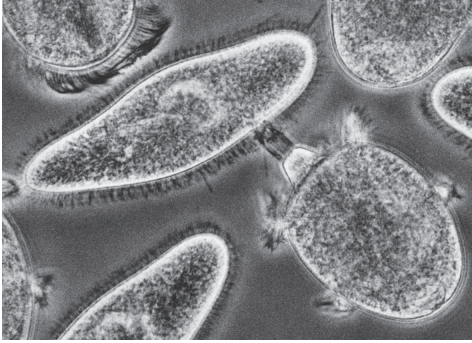


図 1-15 放出体 (トキシシスト) でゾウリムシを攻撃するディディニウム  
(p.83 カラー図参照)



図 1-16 ゾウリムシを飲み込みつつあるディディニウム (p.83 カラー図参照)

とがない。(難易度 \*\*)

### ポイント

ディディニウムは前もってシストから出しておく。ゾウリムシを与えて、絶やさないように維持していることが難しいかもしれない。

### 手順

ゾウリムシとディディニウムのそれぞれの浮遊液を適量とり、シャーレやデプレッションスライドに入れて混合し、実体顕微鏡下で観察する。ディディニウムがゾウリムシを捕らえる反応はたいそうすばやいので、ディディニウムを目で追いながら観察するとよい。

ディディニウムをシストから出すには、シストをゾウリムシの浮遊液に入れて、25℃におく。2～3日するとディディニウムが出てきてゾウリムシを捕食し始める。実験に用いるときは、十分にゾウリムシを与えたあと、1日程度、餌を与えずに置くとよく捕食する。しかし餌を与えない期間が長すぎると細胞が小さくなってあまり捕食しなくなるので注意が必要である。

## 【ゾウリムシの収縮胞の機能の実験】

### 背景と目的

淡水産の原生生物には収縮胞が存在し、浸透圧勾配によって細胞内に流入する水分を細胞外に排出している。収縮法の活動は、外液の浸透圧に依存しており、細胞内外に浸透圧差が存在しない状態では、収縮法は活動しない。したがって、収縮胞の活動