

エビオスを用いたゾウリムシの簡易培養法

西田 紘章
日野 晶也

1. はじめに

今日の理科授業では、教師が講義を行うことよりも、生徒自身が活動を行うことを重要視している。生徒自身の活動とは、一般的に実験や観察、更にはクラスメートとのディスカッションのことを指すとある。著者らが見学した多くの高等学校と中学校では、教諭に対し「No Choke, No Talk, No Joke」と指導を行い、教師が喋り、板書を行う時間を減らし、生徒自身の活動の時間を増やすよう指導するように配慮されていた。

生徒自身の活動の中でも、特に観察作業は顕微鏡等を使用することにより生徒一人ひとりが様々な事象に気づくことが出来る。顕微鏡で、動く生物を見ることは生徒にとって新鮮なものであり、顕微鏡下で独自の生物の世界が広がっていることを感じることが出来るだろう。昭和期の生物教育では、顕微鏡の基本的な使用法を固定標本や植物の葉を材料に気孔の観察を行った後に、次の段階として校庭の池などから採取して微生物を観察していた。

現行の理科教育では、中学校理科2分野で細胞について学習を行う。ヒトの体が多く細胞で、できていることを知ると同時に、単一の細胞で体ができているアメーバやゾウリムシなどの単細胞生物が存在していることを学習する。しかし、教育現場で使用されている教科書の多くは、多細胞生物の観察実験は掲載されているが、単細胞生物の観察実験はあまり掲載さ

れておらず、単細胞生物の写真が掲載されているだけにとどまっている。理科教育の現場での問題として、例えば担当教員が理科準備室で仕事ができる時間が十分に確保できない状況などが背景にあるが、直接の原因は単細胞生物の飼育が学校設備では困難であるからだと考えられる。この点の問題解決を図る為に、今回提案するゾウリムシの簡易培養法では、通常の学校設備と市中の薬局で販売している薬品や栄養補助剤などを利用して簡易な方法での培養を可能とした。

2. 材料と方法

ここで紹介する培養法は一般に二員培養法と呼ばれ、ゾウリムシとともにその餌となる細菌類を培養するものである。いわばゾウリムシを頂点とする生態系そのものを継代培養することができる。以下本稿では、ゾウリムシを教材とする目的で培養法を紹介するため、単にゾウリムシ株（または単にゾウリムシ）と称するが、必ずその餌となる他の微生物群も含まれていることに留意されたい。

今回使用したゾウリムシは、2002年にお茶の水女子大学理学部最上研究室より供与していただいたゾウリムシを含む培地を、神奈川大学理学部生物科学科細胞学第二研究室（日野研究室）で継代培養したものを親株として使用した。このゾウリムシ株は培地の栄養分にカロリーメイト[®]缶（大塚製薬社製）を使用している。し

かし、カロリーメイト[®]缶は液体であり、保管に手が掛かるなどの難点があった。そのため、2012年11月より培地の栄養分をエビオス錠（アサヒフードアンドヘルスケア社製）に変更することでカロリーメイト[®]缶を使用するよりも簡単に継代培養を行うことが可能となった（2013年度 西田紘章卒業研究）。

一般にゾウリムシは培養を行うことで以下の図1のように個体数が推移していく。

培養を開始した直後は、個体数の増加が緩やかな誘導期（lag phase）となる。その後、個体数が爆発的に増えていく対数期（log phase）を経て、個体数の大きな増減が見られない定常期（stationary phase）に移る。その後、個体が死滅する死滅期に入る。授業でゾウリムシを使用する際は、定常期に入ってからすぐのものを使用すると、ゾウリムシの個体数が一番多く、活発に運動しているため観察がしやすい。図1の横軸つまり時間経過はこの培養系に注入する元株の量（具体的には培養液の体積）とこれから培養する培養液の体積、および培養温度によって大きく左右される。以下に標準となる手順と方法を示す。

3. 培地の作成

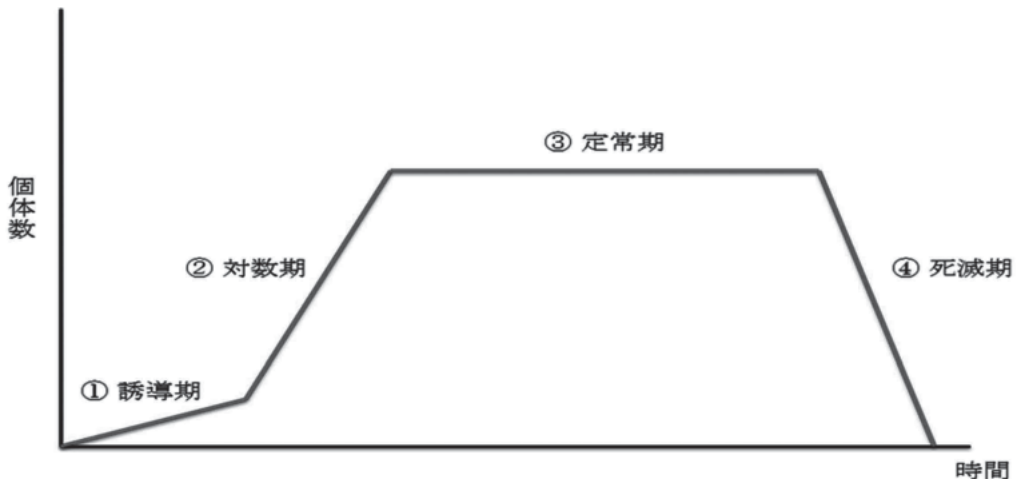
培地を作成するのに必要な実験材料：

- ・500 mlの三角フラスコ、またはコニカルビーカー
- ・エビオス錠（アサヒフードアンドヘルスケア社製）
- ・電子レンジ
- ・種となるゾウリムシ（培養液）
- ・アルミホイル

エビオス錠（2000錠）は薬局にて2500円程度で購入することが出来る。これに合わせて可能であれば、消毒用エタノールを準備しておき、作業する場所や手を滅菌することを推奨する。消毒用エタノールはエタノール濃度（70%程度）が望ましいが、キッチン除菌用（エタノール濃度40%）のものでも十分に滅菌効果が得られる。

ゾウリムシ培養液の作成：

- ① 500 mlの三角フラスコ（またはコニカルビーカー）にエビオス錠を1錠加え、500 mlの目盛まで水道水を加える。
- ② 上記の三角フラスコを電子レンジに入れ、中の溶液を沸騰させる。

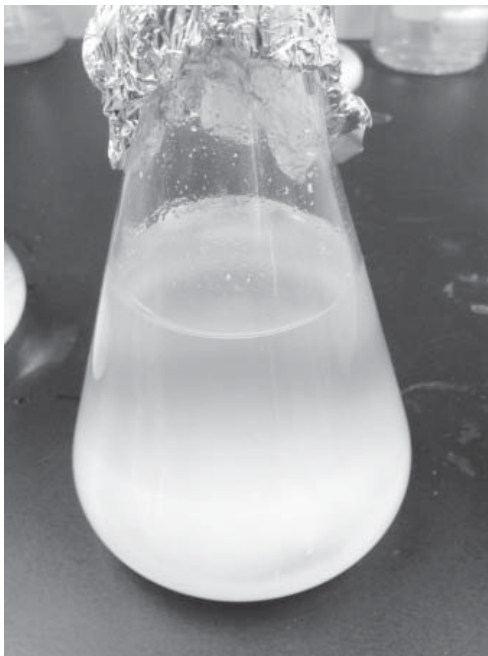


(図1) 培養時間の経過によるゾウリムシ個体数の変化

- ③ 沸騰した溶液が室温程度になるまで、1晩冷ましておく。(時間がない場合は、水冷して冷ましてもよい。)
- ④ 室温まで冷ました溶液の中に、種となるゾウリムシ培養液を1 mlから2 ml加え、アルミホイルを2重から3重にしたもので蓋をして培養を開始する。培養液を吸い取る際は、ピーカーの中央部から取り出すのが望ましい。
- ⑤ 上記の培養液は直射日光の当たらない場所に保管しておく。

4. 結果

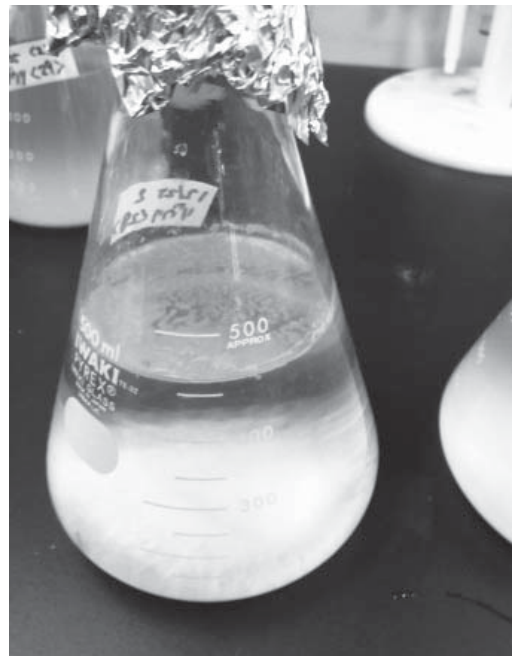
このようにして作成した培養液は、1～2週間ほどで定常期に達する。定常期に達したとき(培養から12日目)のゾウリムシの個体数は、1 ml中に約750固体程度であり、顕微鏡で観察を行うと視野(4×10倍)の中に常時、約10個体のゾウリムシを観察することができ、観察に十分適するものであると考える。



(図2) 培養開始直後のゾウリムシ培養液

もっと大量のゾウリムシを生徒に観察させたい場合は、培養液を作成する段階で、エビオス錠の数を1錠から2錠に変更することでより多くのゾウリムシを観察させることが可能である。エビオス錠を2錠に変更した時の定常期に達した時(培養12日目)の個体数は1 ml中に約1250固体程度である。

この培養液では3週間ほどで死滅期入っていくため、その前に植え継ぎを行っていくことが望ましい。植継を行う時期としては、培養から1週間から2週間に一回程度の植継を行うので十分である。植継操作としては、同様に培養液を500 mlの三角フラスコ、またはコニカルピーカーに培養液を作成し、④の操作を行えば良い。培養開始直後(図2)と2週間培養した(図3)を比較した写真を示す。順調に培養が進むと溶液が澄み表面にシートができることに注意されたい。



(図3) 2週間後のゾウリムシ培養液

5. 結果と考察

従来の培養法では、たとえ液体カロリーメイトを利用する場合でも、他のイオンなどを加える必要があった。ここで紹介したように、エビオス錠には、酵母由来の物質やその他の塩類もバランス良く配合されているので、これを溶かすだけでゾウリムシが増殖可能なマイクロコスモスが形成されることが明らかになった。

このようにして培養したゾウリムシは、生徒が想像する以上に動きまわり、顕微鏡で観察するとそれがよくわかる。顕微鏡の視野の中に数十匹のゾウリムシが出たり入ったりする光景は、生徒にとって面白いものであろう。それだけに、教科書に載っているゾウリムシの写真を見せるだけでは、もったいないと考える。ゾウリムシを単に「単細胞生物」を教えるときの教材にするだけでなく、理科という教科の面白さを伝えるため、興味の扉を開くための教材にして頂きたい。

本稿をお読みになって、この方法で培養される場合には、下記の連絡先にご連絡頂ければ種となるゾウリムシ（培養液）をお届けすることが可能である。謝辞に掲げた現場の先生方には、この培養法をお伝えした上で、種となるゾウリムシを郵便や宅急便でお送りした。我々の研究室以外でも、継代培養が可能なのは実証済みである。

謝辞

この論文の作成に当たり、本学理学部非常勤講師の木村功先生と吉田修久先生、茅ヶ崎市立浜須賀中学校の山崎拓也教諭、札幌恵佑会病院の西田靖仙先生に多大なる協力をいただきました。この場を借りて感謝申し上げます。

日野（研究室）連絡先：

aky-hino-bio@kanagawa-u.ac.jp

本稿は西田君の卒業論文「ゾウリムシ *Paramecium caudatum* の簡易培養液の開発」を基

にし、本人と共に日野が改訂した。