

日本生物学オリンピック 2017 本選 広島



実験試験Ⅰ 発生生物学 予備体験冊子 (30 分)

1. 机には、予備体験冊子（8 ページ）が配布されている。
2. 説明が始まるまでは、冊子を開かずに、このページをよく読んでおくこと。また、実験机の上の機器にも触れないこと。
3. 椅子の高さはレバーで調節できる。各自、適切な位置に調節しなさい。椅子の高さが低すぎて合わない人は、挙手をする事。
4. 試験の途中で、気分が悪くなったり、トイレ等のためにやむを得ず途中退室を希望したりする場合は、挙手をする事。
5. 実験中は、必ず白衣を着用すること。また、実験用手袋は必要に応じて着用し、試料等が眼、口、皮膚などに直接触れないよう注意すること。
6. 予備体験冊子にメモを取ってもかまわない。
7. この予備体験冊子は、実験試験Ⅰの試験中に利用してもかまわない。試験終了後、冊子は持ち帰ること。
8. 実験机の上の実験道具は自由に使ってかまわない。実験中は位置も自由に動かしてかまわない。予備体験終了後は元の位置に戻しておくこと。
9. 顕微鏡のレンズが汚れていて観察に支障がある場合は、挙手して補助員に連絡すること。

サンプルと器具

- ☐ サンプルが入ったマイクロチューブ S 1本
- ☐ スポイト 1本
- ☐ 対物マイクロメーター 1枚
- ☐ スライドガラス 3枚
- ☐ カバーガラス 1箱
- ☐ ピンセット 1本
- ☐ ビニールテープ 1個
- ☐ ハサミ 1個
- ☐ 生物顕微鏡 1台
- ☐ 実験用手袋 M 1組

2つのプラスチックビーカーは、プラスチック用とガラス用のゴミ箱として使用する。紙ゴミは、机の側面の紙ゴミ用袋に入れる。ゴミの分別は確実にを行うこと。

注意

- ・ 予備体験中に顕微鏡の光源がつかなくなったり、顕微鏡のレンズが汚れたりしたら、速やかに申し出ること。
- ・ スライドガラス、カバーガラスは足りなくなったら挙手をして合図する。
- ・ ガラスを割った場合は挙手をして合図する。
- ・ プレパラートは、そのままガラスゴミ用のプラスチックビーカーに廃棄する。その際、カバーガラスをスライドガラスから外す必要はない。

<顕微鏡の使い方>

微生物等の試料を顕微鏡で観察するためには、正確なピント合わせ等の技術が必要である。また、比較的大きな微生物を観察する際は、プレパラート作製の際に試料を押しつぶさないよう配慮する必要がある。予備体験では、顕微鏡の基本的な使用方法と生物試料を顕微鏡で観察する技術を習得することを目的とする。

<生物顕微鏡使用マニュアル>

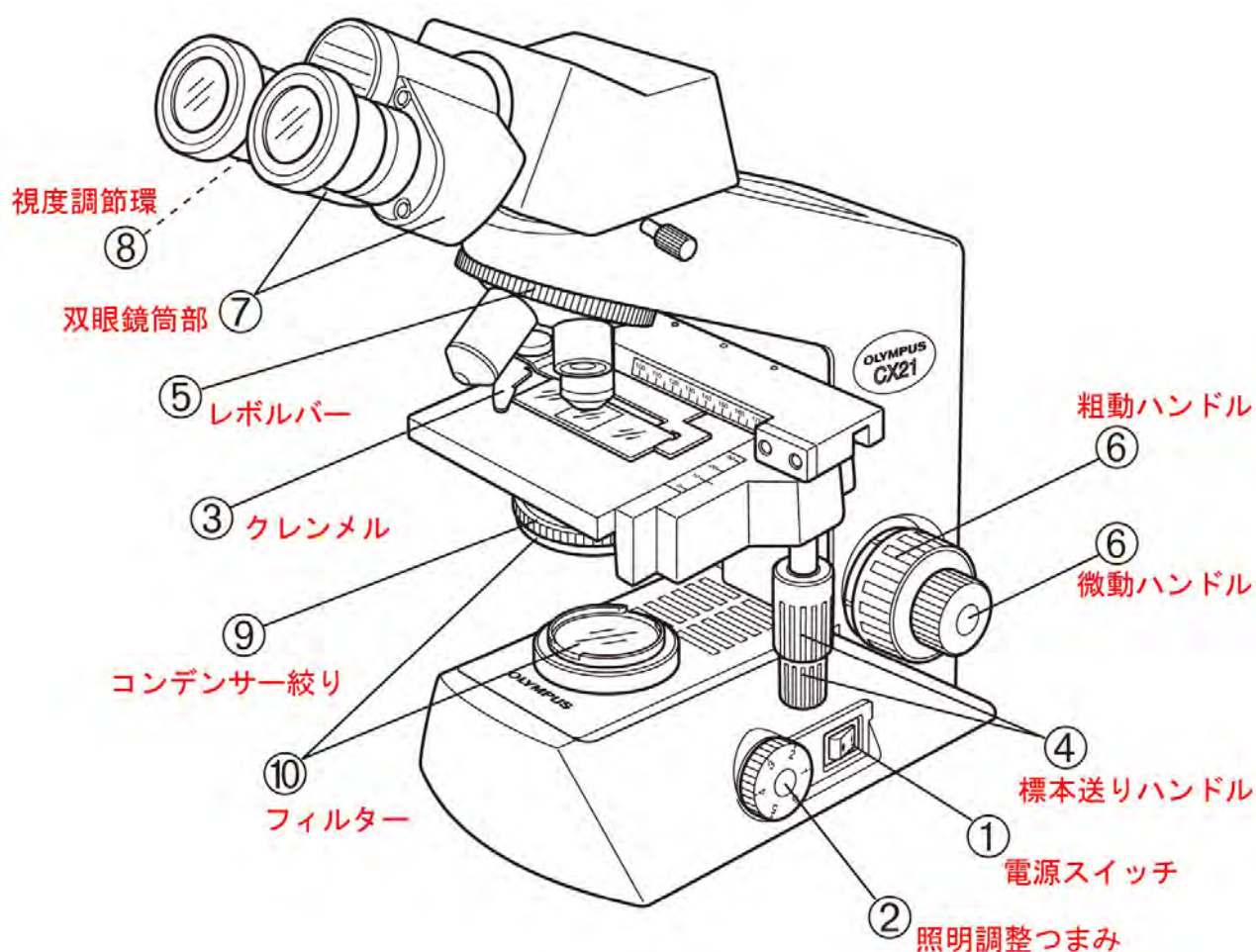


図1 顕微鏡と操作部の名称

(オリンパス社 顕微鏡取り扱い説明書より転載)

＜顕微鏡の基本操作と対物マイクロメーターの観察（図1を参照）＞

1. 電源スイッチを入れ（①）、照明調整つまみで光量を適当な明るさに調整する（②）。
2. 顕微鏡をのぞき、右の接眼レンズにマイクロメーターが入っている（目盛りが見える）ことを確認する（入っていない場合は、挙手で知らせること）。
3. 粗動ハンドル（⑥、外側）を回してステージを下まで下げる。
4. 標本（対物マイクロメーター）をステージにセットして標本押さえレバー（クレンメル（③））で固定し、標本送りハンドル（④）で照明光の位置に観察したい部位を移動させる。
5. レボルバー（⑤）を回して対物レンズを10倍にする。レンズ本体を持って回さないこと。
6. 粗動ハンドル（⑥、外側）を**少しずつ**回して、標本を乗せたステージを対物レンズにできるだけ近づける。ステージを横から見ながら確実に操作し、ステージを上げすぎて対物レンズに当てないように十分注意すること。
7. 両目で接眼レンズをのぞきつつ、粗動ハンドル（⑥）を用いてピントが合う位置までステージを下げる。ハンドルを逆方向に回していないか、注意すること。目の間隔が合わない場合は、双眼鏡筒部（⑦）の間隔を調節する。左右のレンズでピントが異なる場合は、右目で右のレンズをのぞいてピントを合わせた後、左目で左のレンズをのぞき、接眼レンズの視度調節環（⑧）を回して調節する。
8. 微動ハンドル（⑥、内側）を回してピントを微調整する。
9. コンデンサー絞り（⑨）を使って、コントラスト、焦点深度を調整する。
 - ※ 眼幅や視度には個人差があるので、各人の違いに合わせて補正すること。
 - ※ 使用中、レンズが汚れた場合には補助員に申し出ること。
10. 対物マイクロメーターの目盛りは1 mm (=1000 μ m) を100等分している。接眼マイクロメーターの目盛りと対物マイクロメーターの目盛りが一致する2点を探し（目盛りが平行になっていない場合、接眼マイクロメーターが入った接眼レンズを回転させて合わせる）、接眼マイクロメーターの1目盛りが実寸で何 μ m に対応するかを確認する。

＜生物試料の観察＞

1. 試料が押しつぶされないよう、テープを細く切ったものを2枚用意し、1 cm 程度の間隔をあけてスライドガラスに貼る（図2）。
テープの厚さは、試料の大きさに応じて適宜工夫する。



図 2

2. スポイトで試料（S と表記のチューブ）を少量取り、スライドガラスに滴下する（図2）。静置時間が長いと、試料はチューブの底にたまっている可能性があるので注意すること（チューブの底を数回、軽く指でたたき、よくかき混ぜてから使う）。

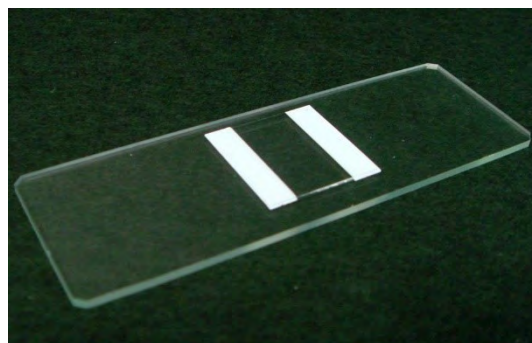


図 3

3. 端がテープの上にあるように、カバーガラスをかける（図3）。
4. カバーガラスからはみ出した余分な水分は、キムワイプで吸い取る。
5. 顕微鏡の対物レンズを 10 倍にセットする。
6. スライドガラスに貼ったテープの端が対物レンズの下に来るようにセットする。
7. 粗動ハンドルを使い、レンズにできるだけ近づけるように（しかしながらぶつからないように）目で確認しながら、ステージをゆっくりと上げる（図4）。

8. 接眼レンズをのぞきながら、粗動ハンドルを使ってステージをゆっくりと下げる（図4）。
逆に動かしてスライドガラスをレンズにぶつけないように注意すること。

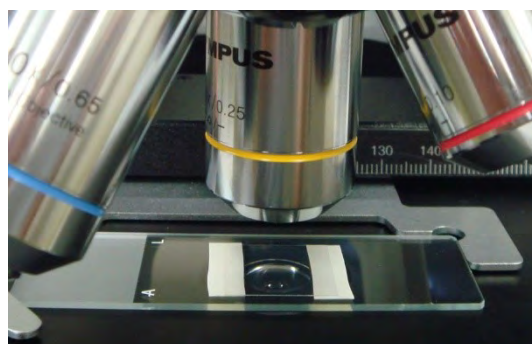


図 4

9. スライドガラスに貼ったテープの縁にピン트가合う位置までステージを下げて止める (図 5)。

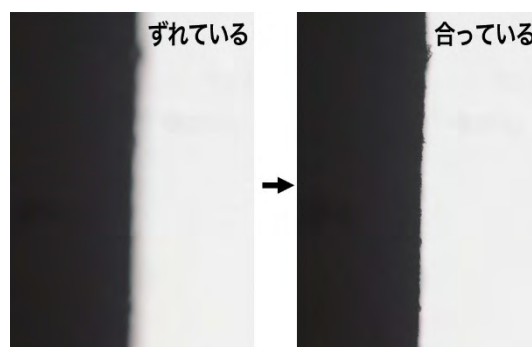


図 5

10. 標本送りハンドルを使って、試料を視野の中心に移動させ、微動ハンドルを使って焦点を微調整する (図 6)。接眼レンズの視野と実際のスライドガラスの位置関係は左右が逆になるので、操作時は注意する。



図 6

11. コンデンサーの絞りをを使って、コントラストや焦点深度を調整する。絞りすぎると解像度が低下するので、以下の表を参考にして適切な絞り量を設定する。

コンデンサー絞り	開ける	閉める
解像度	高い	低い
明るさ	明るい	暗い
焦点深度	浅い	深い
コントラスト	弱い	強い

12. 試料が見つからない場合は、標本送りハンドルを使ってステージをゆっくりと動かして探す。

図 6 に相当する試料を観察することができた選手は、顕微鏡の設定はそのままにして挙手し、補助員に連絡する。補助員は顕微鏡の像をチェックし、正しい像が観察できていることを確認する。正しい像が観察できていなかった場合は、試料の像の観察をやり直す (焦点合わせを再び行う)。

13. 試料をさらに拡大して観察したい場合は、対物レンズのレボルバーをゆっくりと回転させ、対物レンズを 40 倍に変更する(図 7)。

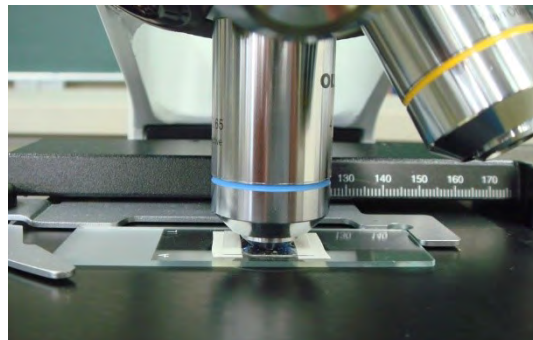


図 7

日本生物学オリンピック 2017 本選 広島



実験試験 II 分子生物学 予備体験冊子

(20 分)

【予備体験の内容：マイクロピペットの操作法】

1. 机には本冊子 1 部が配布されている。
2. 椅子の高さはレバーで調節できる。各自、適切な位置に調節しなさい。椅子の高さが低すぎて合わない人は挙手をする。
3. 試験の途中で気分が悪くなったり、トイレ等のためにやむを得ず途中退室を希望したりする場合は、挙手をする。
4. 実験中は必ず白衣を着用すること。また、実験用手袋は必要に応じて着用し、試料等が眼、口、皮膚などに直接触れないよう注意すること。
5. 予備体験冊子にメモを取ってもかまわない。試験終了後、予備体験冊子は持ち帰ること。
6. 実験机の上の実験器具は自由に使ってかまわない。予備体験中は位置も自由に動かしてかまわない。実験終了後はなるべく元の位置に戻しておくこと。

予備体験に必要なもの

この予備体験では、下に示した器具と試薬を用いる。足りないものがあったら挙手をする
こと。

<input type="checkbox"/> マイクロピペット	1 本
<input type="checkbox"/> マイクロピペット用チップ	1 箱
<input type="checkbox"/> チューブ立て	2 種類
<input type="checkbox"/> 4 連チューブ	1 本
<input type="checkbox"/> 水	1 本
<input type="checkbox"/> グリセロール	1 本

マイクロピペット

マイクロピペットは 1,000 μl (1 ml) 以下の微量の液体を計量し、分注するときに使用する。プッシュボタンを上下させることにより本体内の空気を動かして、液体を吸い上げたり排出したりできる構造になっている。今回使用するマイクロピペットは、目盛り調節ダイヤルを回して量り取る容量を設定することで、2.0~20.0 μl の容量を量り取ることができる。

マイクロピペットの操作方法

調節ダイヤルを回して目盛りの表示を量り取りたい容量に設定する。回らない時はロックされているので、調節ダイヤルの下にあるロックを解除してから回すこと。今回使用するマイクロピペットでは、上から 3 つ目の数字は小数点以下を示している。図 1 は、20.0 μl に設定した例を示している。

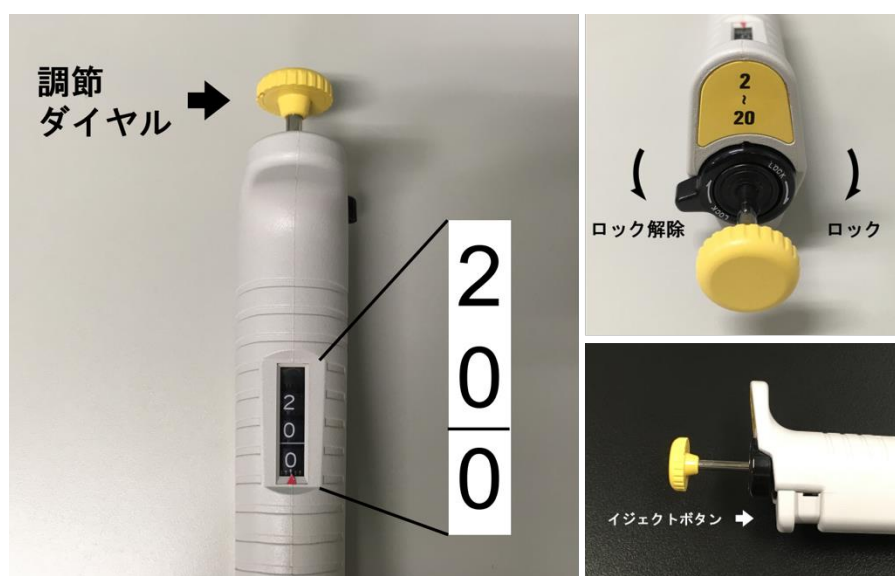


図 1. マイクロピペットの取り扱い

1. ピペット本体にチップをしっかりと装着する。
2. チップイジェクトボタンを手の平側にして片手で本体を握り、プッシュボタンの上に親指の腹を乗せて準備する。
3. プッシュボタンを第 1 ストップまで押し込み、その状態のままチップの先端を量り取りたい液につけ（図 2-①）、ゆっくりとプッシュボタンを初期位置まで戻して設定した量の液をチップ内に吸い上げる（図 2-②）。チップの外側に液滴が付かないよう、注意する。
4. チップ内に液を吸った状態で、液を排出する容器にピペット本体を移動する（図 2-③）。プッシュボタンを第 2 ストップまで押し込んで、チップ内の液を全て排出する（図 2-④、⑤）。チップ内に溶液が残らないように、排出操作は急がず確実に行うこと。
5. 液の排出後、プッシュボタンを押したままでチップの先端が排出した溶液外（空中）にあることを確認してから、プッシュボタンを初期位置まで戻す（図 2-⑤、⑥）。
6. チップイジェクトボタンを押し、チップを外して捨てる（図 2-⑥）。

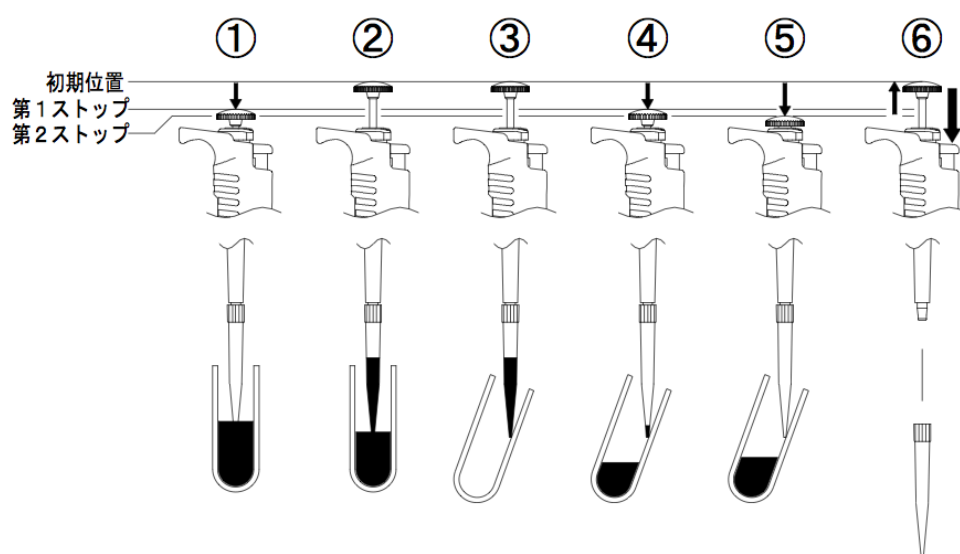


図 2. マイクロピペット操作法（ニチリョー社 ピペット取扱説明書より転載）

マイクロピペットの操作の練習

水とグリセロール溶液が入ったマイクロチューブ 2 種類と、空の 4 連チューブが実験台に用意してある。マイクロピペットを使って、水とグリセロール溶液を 4 連チューブに移し替える練習をしなさい。マイクロピペットの設定容量は $2.0 \sim 20.0 \mu\text{l}$ の範囲で自由に設定してよい。また、4 連チューブのフタを閉める練習も行ふこと。

日本生物学オリンピック 2017 本選 広島



実験試験Ⅲ 動物生理学 予備体験冊子 (30 分)

1. 机には、予備体験冊子（5 ページ）が配布されている。
2. 説明が始まるまでは、冊子を開かずに、このページをよく読んでおくこと。また、実験机の上の機器にも触れないこと。
3. 椅子の高さはレバーで調節できる。各自、適切な位置に調節しなさい。椅子の高さが低すぎて合わない人は、挙手をする事。
4. 試験の途中で、気分が悪くなったり、トイレ等のためにやむを得ず途中退室を希望したりする場合は、挙手をする事。
5. 実験中は、必ず白衣を着用すること。また、実験用手袋は必要に応じて着用し、試料等が眼、口、皮膚などに直接触れないよう注意すること。
6. 予備体験冊子にメモを取ってもかまわない。
7. この予備体験冊子は、予備体験終了後、持ち帰ること。
8. 実験机の上の実験道具は自由に使ってかまわない。実験中は位置も自由に動かしてかまわない。予備体験終了後は元の位置に戻しておくこと。
9. 顕微鏡のレンズが汚れていて観察に支障がある場合は、挙手して補助員に連絡すること。

サンプルと器具類

サンプル

- ☐ 等張液に浸かった組織片

試薬

- ☐ 酢酸オルセイン液（染色液） 1 本

器具

- ☐ ハサミ 1 本
- ☐ ピンセット 2 本
- ☐ 柄付き針 1 本
- ☐ スライドガラス 5 枚
- ☐ カバーガラス 10 枚
- ☐ ろ紙 4 枚
- ☐ マニキュア 1 本
- ☐ 生物顕微鏡 1 台
- ☐ 実験用手袋 M 1 組

3つのプラスチックビーカーは、プラスチック用、金属用とガラス用のゴミ箱として使用する。燃えるゴミは机の脇の袋に捨てること。ゴミの分別は確実に行うこと。

注意

- ・ 予備体験中に顕微鏡の光源がつかなくなったり、顕微鏡のレンズが汚れたりしたら、速やかに申し出ること。
- ・ スライドガラス、カバーガラスは足りなくなったら挙手をして合図する。
- ・ ガラスを割った場合は挙手をして合図する。
- ・ プレパラートは、そのままガラスゴミ用のプラスチックビーカーに廃棄する。その際、カバーガラスをスライドガラスから外す必要はない。

＜押しつぶし法による染色体標本のつくりかた＞

1. シャーレ内の組織片から 2 mm 程度の塊を切り出し、ピンセットでスライドガラスの中央にのせる。組織塊の上方から酢酸オルセイン液 2 滴を滴下し、5 分間染色する。

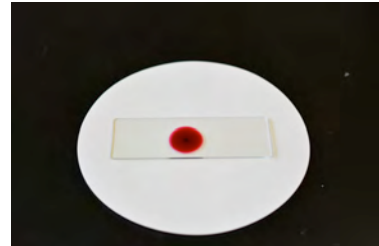


図 1

2. 染色した組織塊の上にカバーガラス 1 枚を静かに乗せる。ろ紙を半分に折り畳み、その間にスライドガラスを置く。はさみ込んだろ紙の上から軽く抑えて余分な染色液を吸い取る。



図 2

3. 次に、スライドガラスの位置を横にずらし、今度は親指に体重をかけて、ろ紙の真上からカバーガラスを一気に強く押しつぶす。
※ カバーガラスが動かないように注意する。



図 3

4. ろ紙を開き、カバーガラスの四方をマニキュアを塗って封入する。

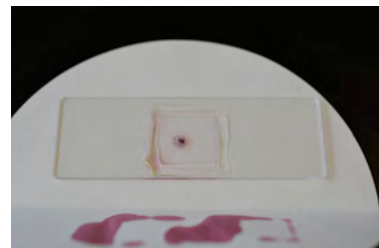


図 4

5. マニキュアが乾くまでの間、押しつぶし標本をもう 1 枚作製する。マニキュアが乾いたら生物顕微鏡で観察する。赤く染色された細胞核は 10 倍～40 倍の対物レンズで観察することができる。

図 5 に示すように、細胞の核が赤く染まっていることを確認できた選手は挙手し、補助員に連絡する。

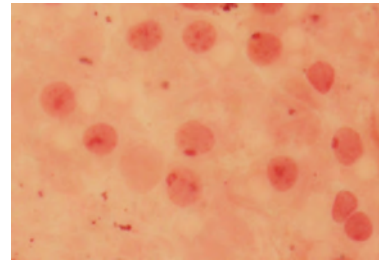


図 5

6. 観察が終了したスライドガラスはゴミ箱に入れる。

日本生物学オリンピック 2017 本選 広島



実験試験Ⅳ 系統・分類学 予備体験冊子 (30 分)

1. 机には、予備体験冊子（5 ページ）が配布されている。
2. 合図があるまでは、冊子を開かずに、このページをよく読んでおくこと。また、実験机の上の機器にも触れないこと。
3. 椅子の高さはレバーで調節できる。各自、適切な位置に調節しなさい。椅子の高さが低すぎて合わない人は、挙手をする事。
4. 試験の途中で、気分が悪くなったり、トイレ等のためにやむを得ず途中退室を希望したりする場合は、挙手をする事。
5. 実験中は、必ず白衣を着用すること。
6. 予備体験冊子にメモを取ってもかまわない。
7. 予備体験終了後、この冊子は持ち帰ること。
8. 実験机の上の実験道具は自由に使ってかまわない。実験中は位置も自由に動かしてかまわない。予備体験終了後は元の位置に戻しておくこと。
9. 顕微鏡のレンズが汚れていて観察に支障がある場合は、挙手して補助員に連絡すること。

実体顕微鏡の基本操作（図 1 を参照）

1. 電源コードをコンセントにさしなさい。
2. 背筋を伸ばして観察できるように椅子の高さを調整しなさい。
3. ステージの中程にスライドガラスを置き、さらにスライドガラスの上に観察対象を置きなさい。ステージに直接試料をのせないこと。スライドガラスを使用して、その上で作業すること。
4. 接眼レンズの眼幅、視度調整を行うこと。眼鏡をかけて検鏡するときは、アイシェードのゴムを折り返して短くする。実体顕微鏡には左右に視度調整環があり、はじめは左右とも 0 の位置に併せること。あとは生物顕微鏡と同様の方法で調整すること。
5. 観察や切片作製のときは、落射照明（左側の照明調整つまみ）を使用すること。調整つまみが最小になっていることを確認した上で電源スイッチを入れ、調整つまみで光量を適当な明るさに調整する。落射照明は角度を調整して、試料に光が十分当たるようにすること。本日の実験では透過照明は使用しない。
6. 顕微鏡の接眼レンズをのぞきながら、^{しやうじゆん}焦準ハンドルを少しずつ回してピントをあわせる。必要に応じてズームハンドルを回して倍率を変え、適宜ピントをあわせること。
7. 観察後、観察対象をステージからおろし、照明調整つまみを回して光量を最小にした上で電源スイッチを切る。

注意事項

- 眼幅や視度は個人ごとに違いがあるため、調整が必要。
- 眼幅については、接眼レンズを左右に動かして調整を行い、自分の眼幅にあった状態で観察すること。
- 視度については、右目で観察した対象にピントをあわせた後、焦準はさわらずに、左目の接眼レンズの視度調整環を回転させてピントをあわせること。これで左右のピントがあった状態になる。
- 機器の使用法でわからない点があれば、補助員に質問すること。
- 使用中レンズが汚れたり、実験中に器具が破損した場合には、補助員が対応するので挙手すること。

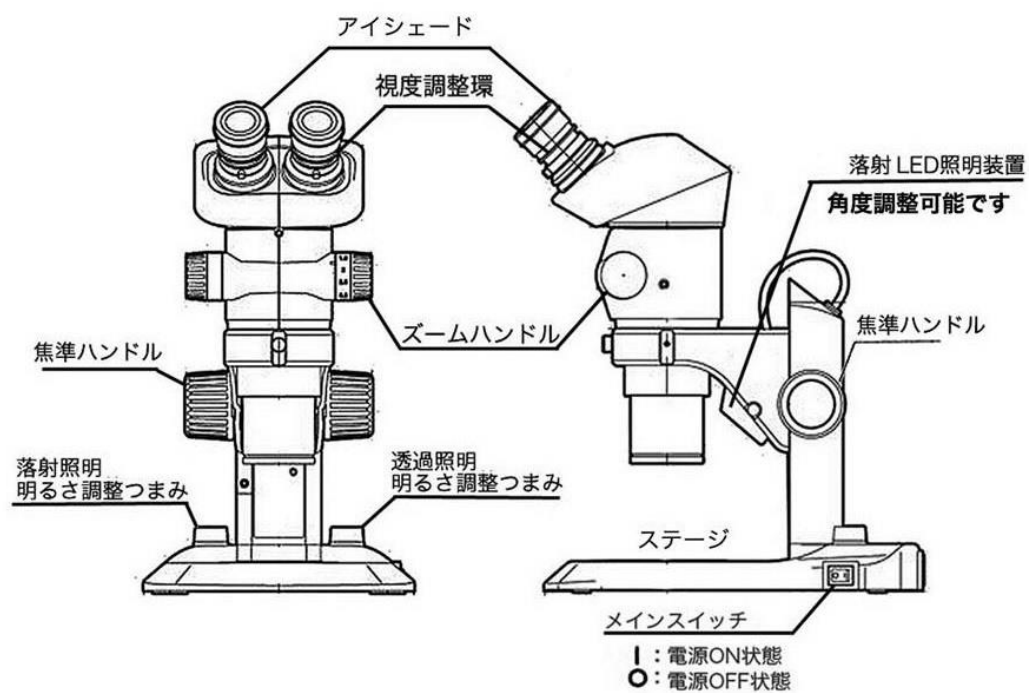


図 1. 実体顕微鏡各部名称（オリンパス社 顕微鏡取り扱い説明書より転載）

予備体験課題：葉の切片の作製

葉の切片を作製して、葉の断面の構造の観察を行う。

用意するもの

- ☐ 材料 植物の葉
- ☐ スライドガラス 5枚
- ☐ カバーガラス 1箱
- ☐ スポイト 1本
- ☐ 水
- ☐ ピンセット 2本
- ☐ カミソリ 2枚
- ☐ 実体顕微鏡 1台
- ☐ 生物顕微鏡 1台
- ☐ 接眼マイクロメーター 1枚（生物顕微鏡に装着済み）

注意事項

- 上に示した材料・装置・器具を用いる。足りないものがあったら挙手すること。
- 予備体験中に顕微鏡の光源がつかなくなったり、顕微鏡のレンズが汚れたりしたら、速やかに申し出ること。
- スライドガラス、カバーガラスは足りなくなったら挙手をして合図する。
- 実験中、カミソリやスライドガラスで手を切らないように注意すること。けがをした場合は挙手をして、すぐに知らせること。また、ガラスを割った場合も挙手をして合図すること。
- プレパラートは、そのままガラスゴミ用のプラスチックビーカーに廃棄する。その際、カバーガラスをスライドガラスから外す必要はない。

カミソリの準備

1. 両刃カミソリを袋に入った状態で、真ん中の切れ目に沿って2つに折る。
2. 袋に入った状態のまま、割れたカミソリのうち1枚をさらに尖らせるようにななめに折る。
3. カミソリを袋から取り出して、尖った部分を切片作製に使用する。切れ味が悪くなったら先端をわずかに折って使用する。

葉の切片の作製

1. 実体顕微鏡のステージ上にスライドガラスを1枚のせる。
2. 葉1枚を枝から外し、1で準備したスライドガラス上にのせて、3～5 mm×2～3 cm程度の短冊状に切る。この際、カミソリでステージを傷つけないように注意する。
3. 短冊状に切り取った葉をスライドガラスの中程に置き、指やピンセットで固定しながら、カミソリを使って、できる限り薄い葉の切片を作製する。厚さは細胞層が数層程度で、切片が濃緑色に見えない程度であれば観察が可能。
4. スライドガラスに水を1滴のせておき、そこに作製した切片をのせ、カバーガラスをかけて、プレパラートを作製する。
5. 作製したプレパラートを生物顕微鏡で観察する。最初は低倍率の対物レンズを使用して観察する。葉の表面の構造が見えた場合は切片が厚すぎるため、切片の作製をやり直す。葉の断面が観察できた場合には、補助員が確認を行うため、挙手により知らせること。