

簡易ミクロトームを用いた軟骨細胞の観察

金本 吉泰

動物に関する観察・実験を通して体のつくりや働きを理解させるために、動物の細胞並びに組織の観察は不可欠である。今回、これまではあまり観察に用いられることが多くなかった軟骨細胞について、市販のニワトリ軟骨を用いて比較的簡便に観察できる方法を紹介する。

[キーワード] 簡易ミクロトーム 軟骨細胞 細胞の観察 結合組織

はじめに

中学校や高等学校においては、頬粘膜上皮細胞や血球などが観察に用いられる。しかし、上皮組織、結合組織、筋組織、神経組織という組織の学びにつなげるためには、組織の中に見られる細胞を観察できる方が望ましい。

今回は材料の入手のしやすさにも考慮して、ニワトリの軟骨を用いた軟骨組織の観察方法について紹介する。組織の観察においては、切片の制作作業が観察結果に大きく影響するため、当センターで葉の組織観察に以前から使用している簡易ミクロトームを用いた徒手切片作成法を利用した。

1 軟骨切片作成用簡易ミクロトームの作成

【材料】

角材（750×30×9 mm）× 2，スライドガラス× 4，両面テープ（強力タイプ），クッションテープ，両刃カミソリ，ビニールテープ

【方法】

- ① 図1に示すように、角材の2面に両面テープを用いてスライドガラスを貼り付ける。

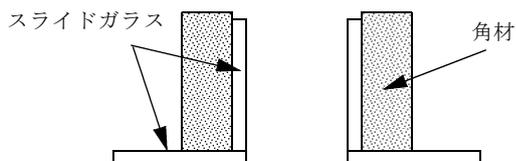


図1 スライドガラスの貼り付け方
(真横から見た図)

- ② 葉の切片作成の場合は、作成した2つの部品にそのまま葉を挟んで目玉クリップで固定して用いるが、軟骨を扱う場合はガラス面で滑ってしまいうまく固定できないため、図2のように内側になる面にクッションテープを貼り付ける。

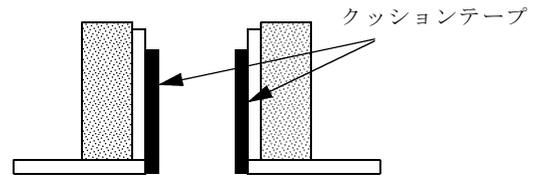


図2 クッションテープの貼り付け方

- ③ 切片作成用カミソリについては、一方の刃をビニールテープで覆った両刃カミソリを用いる。

2 軟骨材料の調整

【材料】

スーパーなどで購入できるニワトリの軟骨（やげん）を用いる（図3）。この部分はニワトリの剣状軟骨であり、深胸筋（ささみ）が付着している。



図3 材料に用いるニワトリ軟骨

【方法】

- ① ニワトリの軟骨周辺に付着している筋肉（深胸筋）を可能な限りきれいに除去する（図4）。



図4 軟骨周りの筋肉の除去

- ② カッターナイフを用いて、図5のような棒状の軟骨を作成する。このとき、幅をできるだけ薄く（3mm程度）作成できると、その後の作業がしやすい。



図5 作成した棒状軟骨

3 軟骨切片の作成

- ① 作成した棒状の軟骨を、図6のように簡易マイクロトームに挟む。このとき、軟骨が滑りやすく簡易マイクロトームから外れやすいため、できるだけ中心部分で挟むようにする。



図6 簡易マイクロトームに挟む

- ② 簡易マイクロトームの両側を少し押し、軟骨を強く挟むようにすると、圧力によ

って軟骨が少しだけ外に出てくるので、挟む力を調節しながら、カミソリで可能な限り薄い切片を作成する（図7）。このとき、カミソリの刃を斜めに当てると、薄い切片が作成しやすい。



図7 徒手切片作成の様子

- ③ 作成した切片をスライドガラスに載せ（図8）、メチレンブルー溶液をかけて1分ほど染色し、カバーガラスをかけて顕微鏡で観察する。



図8 作成した切片

おわりに

今回紹介した方法を用いて、中学校理科研修講座において先生方による切片作成を行っていただいた。しかし、やはり徒手切片作成のためにはある程度の技術的な熟練が必要であると感じた。また、軟組織の切断に適した簡易マイクロトームの開発が必要であり、今後検討したい。

研修講座に参加いただいた先生方には、この手法の検証にあたって多くの示唆をいただいた。この場を借りて感謝申し上げる。

（かなもと よしひろ 生物研究班）