

## 接合ゾウリムシ

本キットはゾウリムシの接合を誘導する為、A, B, 2系統のゾウリムシを急速増殖し飢餓状態にしてあります。その為、到着後**約3日**以内に実験を行ってください。輸送中の気温やその他の条件で4日後～1週間位まで接合の可能性がありますが日数の経過と共に接合能力が低下します。

### [ キット内容 ]

ゾウリムシ	A	1ビン
ゾウリムシ	B	1ビン
微生物観察用リング (大)		5枚
セロフィル		1g
餌用バクテリア (寒天培地)		1本



### [ 実験法 ]

- 1、ピペットを3本用意し各々にA, B, C, の目印付ける。  
A印のピペットはA type, B印のピペットはB type, C印のピペットは混合時のシャーレに各々専用にする。
- 2、6 cm 位のシャーレを1個用意し、クラス数に応じて目測でA, Bのゾウリムシが大体等量になる様に各2～4cc A, B, 専用のピペットで入れる。  
この際、シャーレ内の混合した液には必ずA, B専用のピペットで触れない様に注意してください。  
(尚永く培養する場合は各々のゾウリムシを少量ビンの中に残して下さい)
- 3、シャーレ内で混合されたゾウリムシは通常15～30分位で接合を開始しますが時には2～3時間後に接合する場合があります。接合の状態をシャーレで検鏡し確認して下さい。
- 4、水分や油分のないスライドグラスに観察用リングを置きその接着面に空気の層がないのを確認してシャーレ内の接合したゾウリムシをC印のピペットでリングの上面より少し盛り上がる様に入れ、気泡が入らない様にカバーグラスを載せ各グループに配布して下さい

### 注意

一度混合されたゾウリムシはA, B type のビンに残っているゾウリムシと絶対に混合しない様にして下さい。

この実験で接合しない場合、また株を保存し繰り返し実験される場合は、次の方法により培養、実験して下さい。

### 培養液の作り方

セロフィル 0.5g を蒸留水 100cc に入れ 10 分～15 分煮沸し、冷却後ろ過し、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (リン酸二ナトリウム) 0.1g を溶解する。試験管に 図 1 の要領で分注し綿栓をしてオートクレープや圧力釜などで約 15 分間滅菌する。それぞれ使用する 1 日前にアルコールランプなどの炎で赤く焼き滅菌した白金耳でバクテリアを移植しておき 1 日経ってバクテリアが増殖してから使用する。

(バクテリアの増殖の確認は培養液が軽く濁った状態です)

A, B の印を付けた“準備用”の試験管にバクテリアを移植し約 25℃恒温器中に一夜置く。これに A, B 各 type のゾウリムシを A, B 各専用のピペットでゾウリムシをできるだけ多く吸うようにして 5 cc とり A, B の準備用試験管に移植する。25℃～27℃恒温器の中で 1 日～3 日で高密度になる。

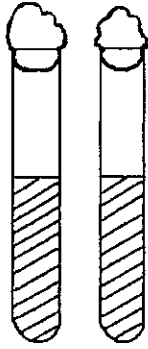
### 接合培養 (図 2 参照)

- 第一日目 準備用試験管で高密度になったら A, B 各ゾウリムシを数滴づつ 図 1 の No 1 各 2 cc の試験管に各専用のピペットを使って入れる。ピペットは使用前に熱湯を吸って消毒し冷ましてから使用する。(A のピペットは A のゾウリムシ、B のピペットは B のゾウリムシに使用し、A と B を絶対混ぜない様にする)。
- 第二日目 25℃～27℃の恒温器に一昼夜置き、これに 図 1、No 2 各 4 cc の培養液を追加する。
- 第三日目 一昼夜置いてこの上に 図 1、No 3 各 10cc の培養液を追加する。
- 第四日目 さらに一昼夜後、図 1、No 4 各 10cc の培養液を追加する。
- 第六日目 A と B のゾウリムシを個体数が大体同じになる様に混ぜる。  
(培養液が透明になった日の翌日に接合能力が最高になります。接合能力は約 3 日～1 週間持続し午後の方が接合する可能性が高いです)。

注意 各培養液 No 1～4 は前日にバクテリアを移植しておく。

圖 1

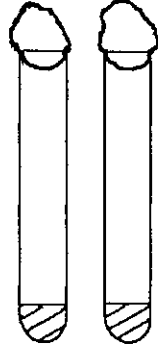
A B



各 10cc

準備用

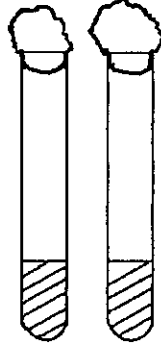
A B



各 2 cc

No 1

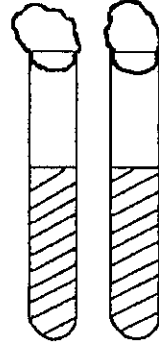
A B



各 4 cc

No 2

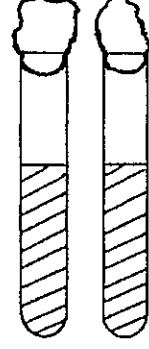
A B



各 10cc

No 3

A B



各 10cc

No 4

図 2 接合培養の方法

