藻類 Jpn. J. Phycol. (Sôrui) 66: 157-163, November 10, 2018

研究技術紹介

衣料繊維または粘着テープを支持体として用いた微細藻類生細胞の顕微鏡観察法

仲田崇志 *
慶應義塾大学先端生命科学研究所（〒 997-0052 山形県鶴岡市覚岸寺字水上 246-2）
慶應義塾大学大学院政策・メディア研究科先端生命科学研究会（〒 252-0882 神奈川県藤沢市遠藤 5322）

Takashi Nakada*: Methods for supporting cover slip during light microscopy of unfixed microalgae, using clothing fibers or adhesive tapes. Jpn. J. Phycol. (Sôrui) 66: 157–163, November 10, 2018

Cells of unfixed microalgae are easily flattened by the cover slip for light microscopy. To ease the pressure of cover slip, clothing chemical fibers (of stockings, pantyhoses, and drain nets) and single- and double-face adhesive tapes were compared as separators between cover slips and slides. Given their thickness, common adhesive tapes were suitable for large algal cells or colonial individuals (> 50 μm thick), clothing fibers for medium-sized cells (ca. 10–50 μm thick), and super-thin film tapes for smaller cells (< 10 μm thick). The preparation methods are described with illustrations.

Key Index Words: adhesive tape, chemical fiber, light microscopy, microalgae, slide preparation, unfixed cells

Institute for Advanced Biosciences, Keio University, Tsuruoka, Yamagata 997-0052, Japan.
Systems Biology Program, Graduate School of Media and Governance, Keio University, Fujisawa, Kanagawa 252-0882, Japan.
*Author for correspondence: naktak@ttck.keio.ac.jp

微細藻類の細胞を光学顕微鏡観察する場合，化学固定による細胞構造への影響を避けるため，あるいは収縮胞など動的な構造を観察するため，固定されていない生細胞を用いることも多い。遊走細胞を観察する場合には細胞の動きを抑える必要があり，しばしばカバーガラスとスライドガラスで弱く挟む方法が用いられる。しかしこの方法では数分程度の観察でも細胞が潰れて変形してしまう。比較的大型の単細胞藻類や群体性微細藻類の観察には，ホールスライドガラスや，穴を開けたビニルテープをカバーガラスとスライドガラスの間に挟む手法（ビニル／ビニールテープ法；野崎 1999，丸岡 2003 など）が用いられるが，小型の単細胞藻類（幅 5–30 μm）に対してはホールの深さ（0.5 mm 程度）もビニルテープの厚み（0.2 mm 程度）も過大である。ゾウリムシ類（幅 40–80 μm）の観察方法として脱脂綿やティッシュペーパー繊維を挟む方法も知られるが（見上 1983a，丸岡 2004），分量の調整に経験が必要で，より小型の細胞への使用は難しいだろう。

カバーガラスで細胞を押さえる場合，楕円体の細胞は横倒しになるため側面から観察できる（図 1a）。一方，一部の鞭毛性藻類はしばしば鞭毛でカバーガラスに貼り付くため，カバーガラスとスライドガラスの間に十分な間隔があれば，細胞を頂面から観察することもできる（図 1b）。しかし間隔が厚すぎると視野絞り像が標本面に結像できず，最適なケーラー照明ができなくなる。そこで細胞の大きさや観察目的に応じた厚さのプレパラート作製法が望まれる。

本稿では簡便なプレパラート作製法として，筆者らが鞭毛性単細胞緑藻類の観察に用いている（例えば Nakada *et al.* 2018），ストッキングや水切りネットに使われる化学繊維，または工業用極薄フィルム両面テープを支持体に用いたプレパラート作製法を紹介する。

本稿でのプレパラート作製には，いずれもスライドグラス白縁磨 No. 1（76 × 26 × 0.8–1.0 mm，松浪硝子工業），角カバーグラス 18 × 18 No. 1（18 × 18 × 0.12–0.17 mm，松浪硝子工業）を用いた。支持体には，2018 年 3 月から 7 月の間に購入した製品（表 1 脚注）の本体部（ストッキングは膝から腿の部分，水切りネットはネット部分）の繊維，またはテープを使用した。スライドガラスとカバーガラスの間隔の測定には VHX-5000 デジタルマイクロスコープ（キーエンス，大阪）を用い，2 枚のガラスの縁を揃えた上で適量の水を隙間に加えてカバーガラスを固定した。その他，ストッキング生地や藻類細胞の撮影にはノマルスキー微分干渉装置（Leica，ヴェッツラー，ドイツ）と Olympus DP71 デジタ

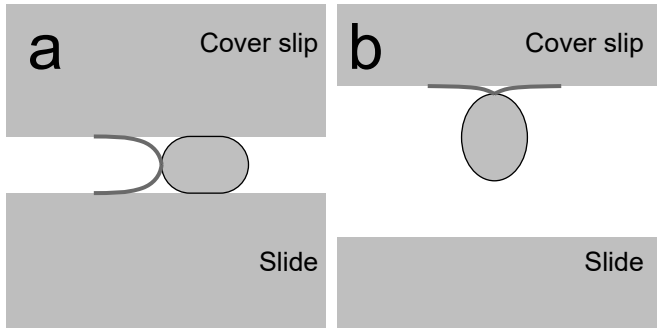

図 1．プレパラートの厚みと細胞の状態。a. 動きを止められた横倒しの細胞。b. 鞭毛でカバーガラスに付着した細胞。
Fig. 1. Thickness of preparation and algal cell direction. a. an immobilized cell lying sideways. b. a cell attaching to the cover slip with its flagella.

ルカメラ（オリンパス，東京）を備えたLeica DM2500顕微鏡を用いた。

繊維法

材料（表1）

ストッキング・水切りネット（ストッキングタイプ）などの化学繊維やその複合糸（サポート糸）。主にナイロン，ポリウレタン，ポリエステルを素材とする。

プレパラート作製手順（図2a）

1. ハサミやピンセットでストッキング生地の一部を破り，繊維をほぐす。
2. 目的の太さの繊維を引き出し，一端をセロハンテープ（スライドガラス幅より短く切る）に貼り付ける。
3. スライドガラスの一端に，繊維が逆側端を向いて出るようにテープを貼る（図2a$_1$）。
4. スライドガラスを横断するように繊維をぴんと張り，ガラスのもう一方の端にテープで固定する（図2a$_2$）。
5. スライドガラスの縁で余分な繊維を切る。
6. 手順2から手順5を繰り返し，2本（または3本）の繊維

表1．支持体の種類ごとの厚さ・太さ。テープ類の厚さは箱書きや製造元ウェブサイトの商品説明（通常mm単位）を参照し，衣料繊維の太さは光学顕微鏡下で測定した。
Table 1. Separators and their approximate thickness. Thicknesses of tapes are from packaging labels or the makers' website, and those of fibers were measured under a light microscope.

支持体 Separators		
製品 Product	素材 Material	厚さ・太さ Thickness
繊維類 Fibers		
ストッキング（ナイロン100%）*1 Stockings/pantyhoses (100% nylon) *1	ナイロン Nylon	15–20 μm
ストッキング（サポート糸使用）*2 Stockings/pantyhoses (combined yarns) *2	ナイロンとポリウレタン Naylon and polyurethane (spandex)	25–40 μm
ストッキング水切りネット *3 Expandible drain nets*3	ポリエステル Polyester	40–55 μm (and 15 μm*4)
両面テープ Double-face adhesive tapes		
工業用極薄フィルム両面テープ *5 Super-thin double-face adhesive film tapes*5	ポリエステル Polyester	6 μm, 10 μm
市販両面テープ *6 Commercial double-face adhesive tapes*6	再生紙 Recycled paper	90 μm
片面テープ Single-face adhesive tapes		
ビニルテープ *7 Vinyl tapes*7	塩化ビニル Polyvinyl chloride	200 μm
梱包用透明テープ *8 OPP tapes*8	ポリプロピレン Polypropylene	70 μm

*1 涼感パンティストッキング "Cool-feeling pantyhose"（大創産業 Daiso Industries）；ノーサポートパンティストッキング "Covered-yarn free pantyhose"（ディノス・セシール Dinos Cecile）；ガーターフリーストッキング "Garterless stocking"（グンゼ Gunze）
*2 アスティーグ・肌 ASTIGU "Hada"（アツギ Atsugi）；アスティーグ・圧 ASTIGU "Atsu"（アツギ Atsugi）；サブリナ・ナチュラル SABRINA Natural（グンゼ Gunze）
*3 水切りネット　ストッキング・浅型 "Shallow-type expandible drain net"（大創産業 Daiso Industries）；浅型排水口用水切りゴミ袋 "Shallow-type expandible drain net"（三山 Miyama）；ごみシャット　細型排水口用 "Narrow-type drain net"（ボンスター販売 Bonstar）；抗菌ストッキング水切りネット浅型 "Shallow-type antibacterial expandible drain net"（ストリックス　デザイン Strix Design）
*4 水切りネット　ストッキング・浅型 "Shallow-type expandible drain net"（大創産業 Daiso Industries）
*5 フィルム両面テープ No. 7054W Double-coated adhesive film tape No. 7054W（6 μm；寺岡製作所 Teraoka Seisakusho）；フィルム両面テープ No. 7070W Double-coated adhesive film tape No. 7070W（10 μm；寺岡製作所 Teraoka Seisakusho）
*6 ナイスタック一般タイプ NICETACK™ for general use（ニチバン Nichiban）
*7 ビニルテープ No. 21 黄 Vinyl Tape No. 21, Yellow（ニトムズ Nitoms）
*8 透明梱包用テープ No. 3303 OPP Packaging Tape No. 3303（ニトムズ Nitoms）

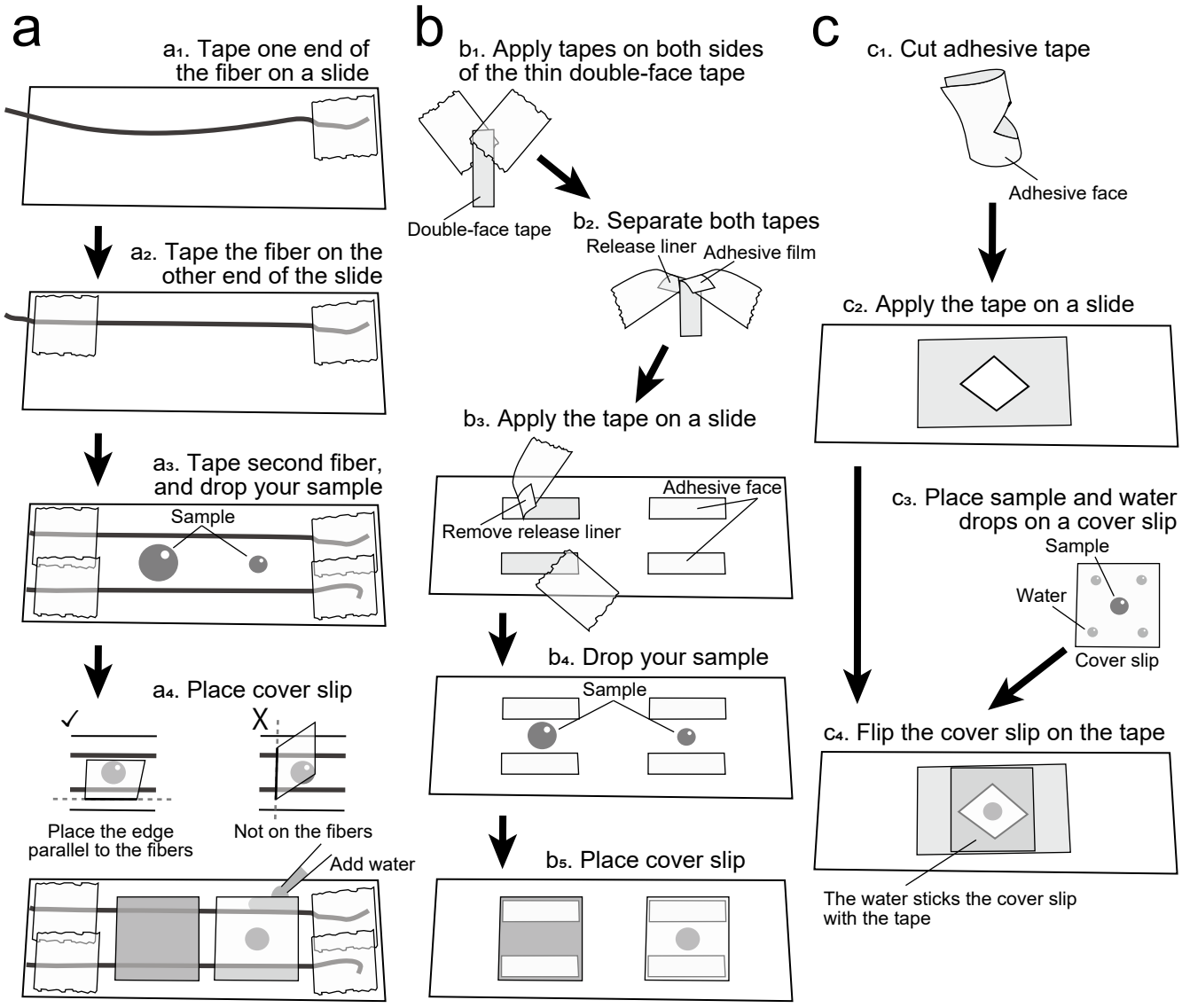

図 2. 支持体を用いたプレパラート作製法。a. 繊維法，b. 細型テープ法，c. 切抜テープ法。
Fig. 2. Preparations using separators. a. fiber method, b. narrow tape method, c. holed tape method.

を平行に張る。

7. 繊維の間（または繊維を挟んだ数ヶ所）に適量（数 μL）の試料を滴下する（図 $2a_3$）。

＊カバーガラスが 18 × 18 mm で厚さ 15 μm の場合，5–6 μL。太めの繊維を使用する場合（細胞の頂面観を観察する場合など）や，繊維と試料の接触を避けたい場合，中心部のみに液滴を作ってもよい（例えば太さ 40 μm に対して約 0.5 μL）。

8. 繊維と平行にカバーガラスの縁を置き，そこから倒すようにして試料にかぶせる（図 $2a_4$）。

＊カバーガラスを繊維の上に立てると，細い繊維が切れることがある。

＊試料を中心部のみに置く場合，繊維より外側を水で満たすことでカバーガラスを固定する必要がある。

備考

ナイロン繊維のみで編まれたストッキング（“ウーリータイプ”；図 3a）や水切りネットからは比較的容易に繊維が引き出せた。素材にポリウレタンとナイロンを含むストッキングには，ポリウレタン繊維にナイロン繊維を巻き付けたサポート糸を使用していた（図 3b）。サポート糸を引き出してそのまま支持体に使用することは難しくないが，サポート糸からナイロン繊維やポリウレタン繊維を切れないように分離することは非常に難しかった。

繊維の太さは顕微鏡下で測定し，記録して使い分けの参考にするとよい。ただし繊維の断面は円形とは限らず，扁平や星型のものもある。また繊維の素材によっては伸張・収縮によって繊維の太さが大きく変化する。サポート糸は太めの繊維としては有用だが構成繊維のポリウレタンは経年劣化するため，購入日も記録しておくとよい。

表 2. 支持体の種類と特性
Table 2. Separators and its characteristics

	繊維類 Fibers	極薄両面テープ Super-thin double-face adhesive tapes		市販両面テープ Commercial double-face adhesive tapes		片面テープ Single-face adhesive tapes
厚さ・太さ Thickness	15–55 μm	≥ 5 μm		e.g. 90 μm		70–200 μm
種類 Variation	多い Many	多い Many		少ない Few		少ない Few
入手 Availability	容易 High	やや困難 Slightly low		容易 High		容易 High
取扱い Handling	容易 Easy	やや難しい Slightly difficult		容易 Easy		容易 Easy
プレパラート作製法 Preparation method	繊維法 Fiber	細型テープ法 Narrow tape	切抜テープ法 Holed tape	細型テープ法 Narrow tape	切抜テープ法 Holed tape	切抜テープ法 Holed tape
乾燥 Drying	早い Rapid	早い Rapid	遅い Slow	早い Rapid	遅い Slow	遅い Slow

細型テープ法

材料（表 1）

工業用の極薄ポリエステルフィルム両面テープや市販の紙製両面テープ。幅 5–10 mm のもの（幅 20 mm 以上の市販両面テープは，後述の切抜テープ法に適している）。

プレパラート作製手順（図 2b）

1. 両面テープ 2 枚を，カバーガラスと同程度の長さに切り出す。太いものは幅 5 mm 程度に切る。
2. 両面テープの一端の両面に，粘着面同士が付かないよう互いに逆向きに 2 枚のセロハンテープを貼る（図 $2b_1$）。

＊剥離紙が容易に剥がれる市販の両面テープの場合，手順 2・3・5 は簡略化できる。

3. セロハンテープ同士を引き離して片側の剥離フィルムを剥がす（図 $2b_2$）。内側を軽くなぞって剥離フィルムと粘着フィルムを区別する。
4. 皺ができないよう注意して，スライドガラス長辺と平行に（セロハンテープを貼ったまま）2 枚の両面テープを貼り付け，よく押しつける（図 $2b_3$）。
5. （セロハンテープを使って）残りの剥離フィルムを剥がす。うまく剥がれなければ，新しいセロハンテープを貼り直して再度剥がす（図 $2b_3$）。
6. 両面テープの間に試料を適量滴下し（図 $2b_4$），カバーガラスをかけて指で密着させる（図 $2b_5$）。

＊両面テープの間隔が 8 mm，厚さ 10 μm の場合，2–3 μL 程度。厚い市販の両面テープを使用する場合，中心部のみに液滴を作るとよい（繊維法参照；厚さ 90 μm に対して 1.0–1.5 μL）。

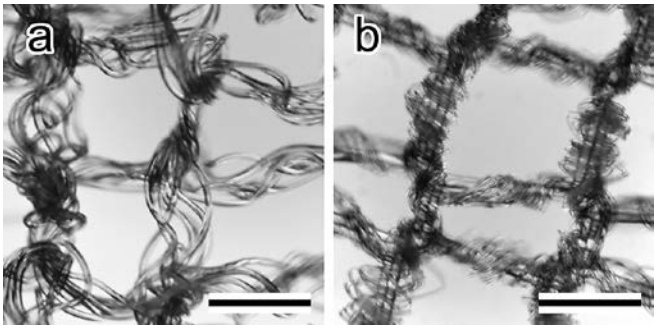

図 3. ストッキングの拡大写真。いずれも伸ばした状態で撮影。a. ナイロン繊維のみのもの（涼感パンティストッキング，大創産業）。b. ナイロン繊維（細い繊維）をポリウレタン繊維（太い繊維）に巻き付けたサポート糸を使用したもの（アスティーグ・圧，アツギ）。スケールバー：0.3 mm。

Fig. 3. Close-up photographs of stretched pantyhoses. a. 100% nylon pantyhose (“Cool-feeling pantyhose”, Daiso Industries). b. pantyhose using combined yarns of thick core polyuretane (spandex) and thin winding nylon fibers (ASTIGU “Atsu”, Atsugi). Scale bars: 0.3 mm.

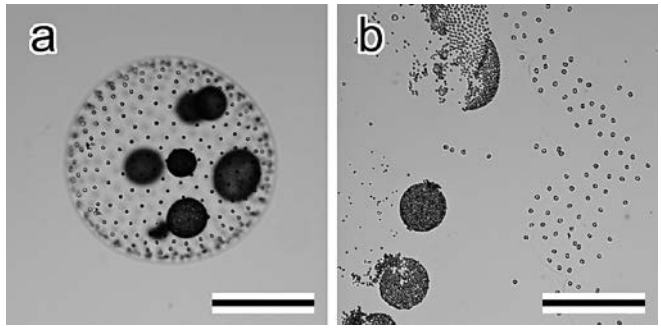

図 4. *Volvox tertius* Art. Meyer NIES-544（緑藻綱，オオヒゲマワリ目）。a. 切抜テープ法（ビニルテープ，厚さ 200 μm，2 枚重ね）を用いて動きを止めた栄養群体。b. 支持体を使用せず，潰れた栄養群体の一部。スケールバー：300 μm。

Fig. 4. *Volvox tertius* Art. Meyer NIES-544 (Volvocales, Chlorophyceae). a. a vegetative colony immobilized using holed tape method (double stacked vinyl tape, 200 μm thick). b. part of a punctured vegetative colony without using supporters. Scale bars: 300 μm.

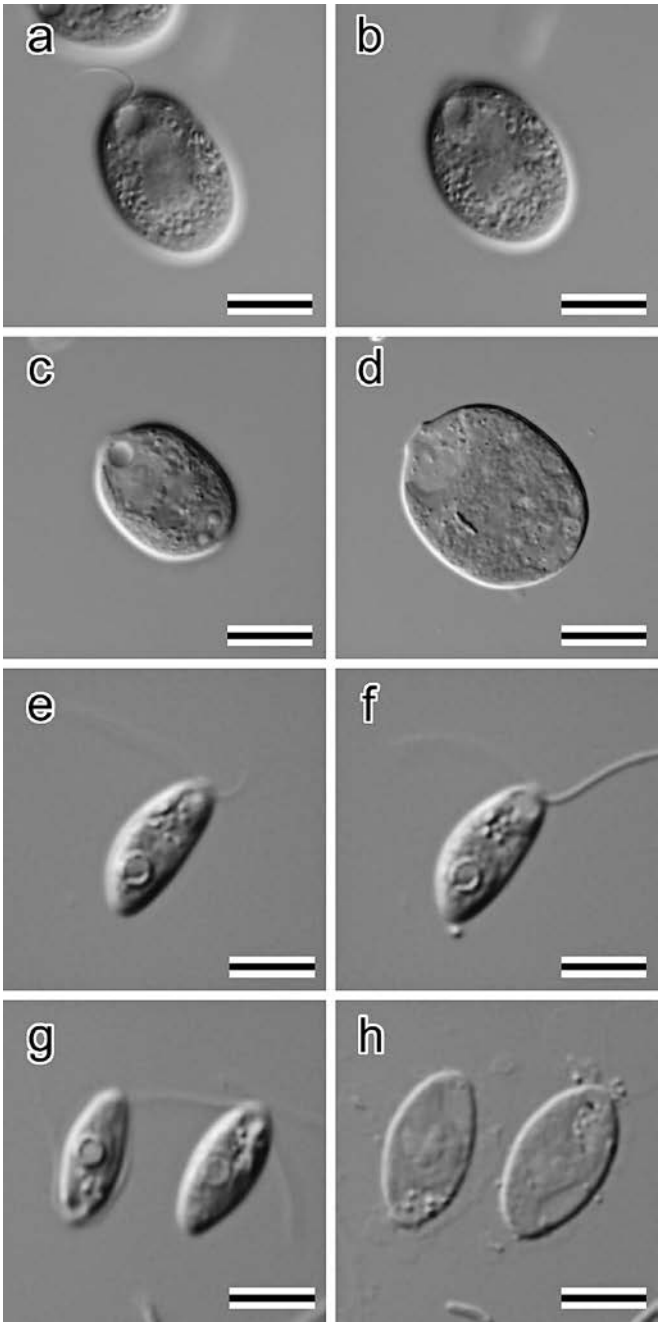

図 5．支持体の有無と細胞形態の変化（a, c, e, g，プレパラート作製直後；b, d, f, h，10 分後）。a–d．*Microglena monadina* Ehrenberg SAG 55.72（緑藻綱，オオヒゲマワリ目）。a, b．繊維法（ポリエステル繊維，太さ 15 μm，試料 5 μL）を使用。c, d．支持体なし（試料 5 μL）。e–h．*Chlamydomonas perpusilla* Gerloff SkCr-10（= NIES-1849；緑藻綱，オオヒゲマワリ目）。e, f．細型テープ法（ポリエステルフィルム，厚さ 6 μm, 試料 1.5 μL）を使用。g, h．支持体なし（試料 3 μL）。スケールバー：a–d，10 μm；e–h，5 μm。

Fig. 5. Algal cell observations with (a, b, e, f) or without (c, d, g, h) using separators (a, c, e, g, just after preparations; b, d, f, h, 10 min after preparations). a–d. *Microglena monadina* Ehrenberg SAG 55.72 (Volvocales, Chlorophyceae). a, b. fiber method (polyester fiber, 15 μm thick, 5 μL sample). c, d. no separators (5 μL sample). e–h. *Chlamydomonas perpusilla* Gerloff SkCr-10 (= NIES-1849; Volvocales, Chlorophyceae). e, f. narrow tape method (polyester film tape, 6 μm thick, 1.5 μL sample). g, h. no separators (3 μL sample). Scale bars: 10 μm (a–d), 5 μm (e–h).

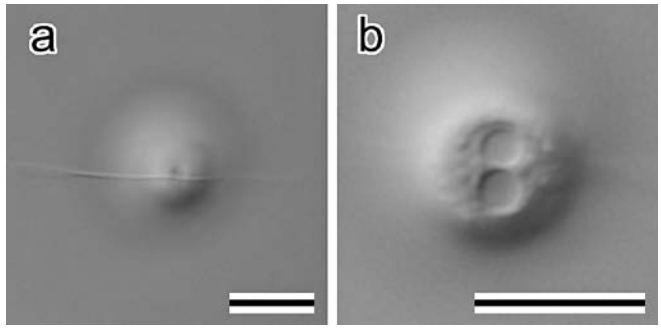

図 6．*Microglena monadina* Ehrenberg SAG 55.72（緑藻綱，オオヒゲマワリ目）の頂面観。繊維法（ポリエステル繊維，太さ 42–45 μm，試料 0.5 μL）を使用。a. 2 本の鞭毛でカバーガラスに付着した栄養細胞。b. 細胞前部に見られる 2 個の収縮胞。スケールバー：10 μm。

Fig. 6. *Microglena monadina* Ehrenberg SAG 55.72 (Volvocales, Chlorophyceae). Fiber method (polyester fiber, 42–45 μm thick, 0.5 μL sample). a. a vegetative cell attached to the cover slip with two flagella. b. two contractile vacuols at the apex of the cell. Scale bars: 10 μm.

備考

電子部品の固定などに使用される極薄のポリエステルフィルム両面テープには厚さ 5–10 μm のものがあり，寺岡製作所，日東電工，3M などで製造されている。一般向けにはほとんど流通していないが, 一部インターネット通販（Amazon.co.jp，モノタロウ，その他両面テープ専門店など）で入手できるものもあった。

切抜テープ法

材料（表 1）

市販のビニルテープや延伸プロピレンテープ，紙製両面テープなど。幅 20 mm 以上のもの（穴を開けられないような細いものには，前述の細型テープ法が適している）。幅の広い工業用の極薄ポリエステルフィルム両面テープにも応用できるが，皺や気泡ができやすく，細型テープ法よりも操作が難しいかもしれない。なおセロハンテープは水を吸って皺が寄るため支持体には適さない。

プレパラート作製手順（図 2c；野崎 1999 を改変）

1. カバーガラスより長めに切ったテープを粘着面を外側にして折り，折り目をハサミでくの字に切り取る（テープを開くと菱形の穴になる；図 2c_1）。

＊穴の大きさはカバーガラスよりもやや小さく。

＊穴開けパンチなどで小さく穴を開け，十分な試料で満たす方法もある（丸岡 2003）。

2. 皺ができないよう注意して，テープをスライドガラスに貼り付ける（図 2c_2）。
3. カバーガラスの中心付近に少量（厚さ 70–200 μm の場合，1–3 μL）の試料を，四隅に各 0.5 μL 程度の水を滴下する（図 2c_3）。

＊両面テープを用いる場合，四隅の水滴は不要。

＊液滴がテープに接すると試料が穴の縁に沿って広がり観察が困難になるため，試料はテープに接しないようにする。

四隅の水滴はテープとの密着性を高めてカバーガラスのずれと試料の乾燥を防ぐ。

4. カバーガラスを裏返してテープに乗せる（ゆっくり乗せると試料が端に動くため，弱くはじくようにして伏せる）。軽く押さえてカバーガラスとテープを密着させる（図 $2c_4$）。

備考

野崎（1999）や丸岡（2003）では支持体としてビニルテープを，野崎（1999）ではまた梱包テープ（おそらく延伸ポリプロピレンテープ）を使用する方法が紹介されている。ここでは液量やカバーガラスの固定法を補足した。

各手法の使い分け

製品や伸ばし方による差もあるが，ウーリータイプのストッキングからは太さ 15–20 μm 程度の繊維を，サポート糸を用いたストッキングからは太さ 25–40 μm 程度の糸を，水切りネットからは通常 40–55 μm 程度の繊維を（水切りネット・ストッキング・浅型，大創産業からは 15 μm 繊維も）それぞれ容易に引き出せた（表 1）。サポート糸を構成する繊維には太さ 10 μm 程度のもの（アスティーグ･圧，アツギ；図 3b）もあったが，切らずに構成繊維を分離することは至難であった。

極薄のフィルム両面テープは厚さ 5 μm のものから製造されているようだが，今回は厚さ 6 μm と 10 μm のものが入手できた（表 1）。市販の両面テープは厚さ 90 μm と梱包用透明テープ（70 μm）と同程度で，ビニルテープ（200 μm）の半分程度であった（表 1）。

前述の手順に沿ってプレパラートを作製した場合，作製直後のスライドガラスとカバーガラスの間隔は支持体の厚さ・太さに比べて広くも狭くもなった。太めの糸・繊維（≥ 30 μm 程度）を使用した繊維法では，しばしば糸や繊維の太さよりも 5–20 μm 程度ほど広くなったが，より細い繊維（≤ 25 μm）を使用した場合にはむしろ 5 μm ほど狭くなる傾向があった。テープを使用した場合，細型テープ法であれ切抜テープ法であれ，厚みとほぼ同じか，5–10 μm ほど広くなった。

ただし支持体を使用した場合，カバーガラスのたわみにより，しばしば中央付近でスライドガラスとの間隔が狭まる。水分の蒸発が進むとたわみはより強くなり，中心部分の細胞が潰れることもある。支持体同士の間隔を狭めることで，あるいは繊維法では 3 本の繊維を用いることでカバーガラスのたわみを抑えることもできるが，たわみを利用して支持体より細い細胞を弱く押さえることもできる。支持体付近ではたわみの影響が少ないため，カバーガラスの中心から支持体付近の間で細胞の動きと潰れ具合の兼ね合いが取れる場所を探すとよい。

以上より，大型の細胞や群体性の細胞に対しては市販のテープを用いた細型ないし切抜テープ法が，幅 10–50 μm 程度の細胞にはストッキング繊維または糸を用いた繊維法が，5–15 μm 程度の細胞には極薄のフィルム両面テープを用いた細型テープ法が，それぞれ適していると考えられた。製品ごとの差も考慮すれば，さらに細かい選択も可能であろう。鞭毛性単細胞緑藻類の観察において筆者らは主に，厚さ 6 μm と 10 μm のフィルム両面テープ（寺岡製作所）と，水切りネット（大創産業）から取り出せる太さ 15 μm と 42–45 μm のポリエステル繊維を使用している。

その他，入手や取扱いの容易さ，試料の密閉性（繊維法や細型テープ法は密閉性が低く，試料の蒸発が進みやすい）なども支持体や手法を選ぶ際の参考になるだろう（表 2）。また，繊維法において太さの異なる 2 本の繊維を使用する（あるいは 1 本しか用いない）ことで試料の厚みに勾配をつけたり，細型・切抜テープ法でテープを重ね貼りして厚みを調節したり，さらなる工夫の余地もあるだろう。

用例と応用

繊維法も細型・切抜テープ法もカバーガラスを物理的に支えることを意図しており，細胞の大きさに合わせた繊維･テープを選択することで幅広い微細藻類に活用できると考えられる。一部の衣料用繊維で使用される抗菌・防臭剤やテープの接着剤が感受性の高い藻類細胞に影響する可能性は否定できないが，いくつかの単細胞緑藻類（主にオオヒゲマワリ目）で観察した限り，淡水・海水を問わず，培地中への顕著な溶出や藻類への影響は認められなかった。感受性の高い藻類を観察する場合には，試料の液量を支持体に接しない程度に抑えることで（図 2）影響を防げるだろう。

切抜テープ法は（時にビニル／ビニールテープ法として）野崎（1999）や丸岡（2003）などで紹介されている。直径数百 μm の群体を形成するオオヒゲマワリ属（*Volvox*）を観察する場合，支持体がなければ群体が潰れてしまうが，ビニルテープを 2 枚重ねた切抜テープ法では良好に観察できた（図 4）。単細胞性緑藻類の観察においては，繊維法や細型テープ法（極薄フィルムテープ使用時）を使用した場合も，支持体を使用しなかった場合も同様に良好な写真を撮影できた（図 5a, c, e, g）。しかし支持体を使用しなかった場合には細胞が潰れるまでの間隔が短かった一方で，支持体を使用した場合には 10 分以上経過した後も形態を維持した個体が（特に支持体付近で）多く見られた（図 5b, d, f, h）。ただし小型の細胞（幅 10 μm 以下）の場合，支持体を使用しなくてもプレパラートの状態や位置によっては長時間形態を保つ細胞が見られた（気泡が支持体の役割を果たすこともある）。比較的大型（> 20 μm）の細胞は小型細胞に比べて潰れやすいため，繊維法や切抜・細型テープ法はより有用であろう。Nakada *et al*. (2018) では，太さ 15 μm の繊維を用いて幅 9–16 μm の細胞の収縮胞を 10 分以上にわたって観察し，太さ 22 μm の繊維を用いてほぼ潰れていない幅 20 μm の大型細胞の直径を測定した。細胞をより長時間観察する場合には片面テープ（あるいはホールスライドガラス）を用い

て周辺を水で閉じるか, 超低温融解アガロース包埋法（Reize & Melkonian 1989, 野崎 1999）などを用いるとよいだろう。鞭毛細胞の頂面観を観察する場合（図 1b），細胞長よりも太め・厚めの支持体（またはホールスライドガラス）を使用する。この場合，プレパラートの中心に直径 3–4 mm 程度の液滴を挟むとよい。Nakada *et al*.（2016）や Nakada & Tomita（2017）などでは，深さ 0.6 mm のホールスライドガラスと 5 μL の試料を用いてパピラの頂面観や収縮胞の個数と配置を観察したが，この場合，ガラスの厚さのため視野絞り像が標本面に結像できず，最適なケーラー照明ができなかった（ホールスライドガラスは通常のスライドガラスよりも厚い）。一方で太め（例えば太さ 42–45 μm）の繊維と少量（0.5 μL）の試料を用いた場合には良好なケーラー照明の下で観察が可能であった（図 6）。なお液滴をカバーガラスのみに付着させる懸滴法（hanging drop preparation；微生物研究法懇談会 1975，pp. 134–135）も知られるが，やはり照明上の問題がある（観察した細胞を再回収する場合には有用）。

支持体を用いた観察方法は, 0.1–50 mM の Ni^{2+}（塩化ニッケルまたは硫酸ニッケル）で鞭毛運動を抑制する Ni^{2+} 麻酔法（桧垣 1968，楠元 1980a, b，見上 1983b，丸岡 2003，2004），試料に 2–10% のメチルセルロースなど高粘度物質を加える方法（見上 1983c，丸岡 2003，2004）と併用することもできるだろう。細胞サイズを正確に測定する際には化学固定も細胞の圧迫も好ましくないため，細胞へのダメージの少ない運動抑制手法と支持体の併用は特に有効と考えられる。

謝辞

測定機器の使用に便宜を図っていただいた荒川和晴博士（慶應義塾大学），本稿の英文をご確認いただいた Josephine Galipon 博士（慶應義塾大学），実験の一部をお手伝いいただいた慶應義塾大学先端生命科学研究所・高校生研究助手（山形県立鶴岡中央高校）の髙橋駿介さん・秋野利帆さん，および研究全般をご支援いただいた冨田勝教授に感謝申し上げます。また本研究の一部には山形県および鶴岡市からの助成を活用しました。

引用文献

微生物研究法懇談会 編 1975．微生物学実験法．講談社．東京．

桧垣守宏 1968．ゾウリムシの実験．科学の実験 19: 392–395.

楠元守 1980a．$NiCl_2$ 溶液による *Paramecium*, *Euglena* 及び *Pleodorina* の繊毛・鞭毛運動の抑制．神奈川県立教育センター研究紀要 1: 29–36.

楠元守 1980b．$NiCl_2$ 溶液による微小生物の繊毛・鞭毛運動の抑制．遺伝 34(8): 59–66.

丸岡禎 2003．教材としての原生動物（1）．原生動物学雑誌 36: 113–122.

丸岡禎 2004．教材としての原生動物（2）―ゾウリムシ I．原生動物学雑誌 37: 19–30.

見上一幸 1983a．動物の細胞（【教材生物】ゾウリムシ, ヒメゾウリムシ）．石原勝敏・山上健次郎（監修）図説教材生物　上．pp. 58–60．共立出版．東京．

見上一幸 1983b．原形質流動（【教材生物】ゾウリムシ, ヒメゾウリムシ, ミドリゾウリムシ）．石原勝敏・山上健次郎（監修）図説教材生物　上．pp. 63–64．共立出版．東京．

見上一幸 1983c．繊毛運動（【教材生物】ゾウリムシ，ヒメゾウリムシ，ミドリゾウリムシ）．石原勝敏・山上健次郎（監修）図説教材生物　上．pp. 224–225．共立出版．東京．

Nakada, T., Takahashi, S. & Tomita, M. 2018. *Microglena redcarensis* sp. nov. (Volvocales, Chlorophyceae), a brackish water chlamydomonad with contractile vacuoles. Phycol. Res. 66:310–317.

Nakada, T. & Tomita, M. 2017. Morphology and phylogeny of a new wall-less freshwater volvocalean flagellate, *Hapalochloris nozakii* gen. et sp. nov. (Volvocales, Chlorophyceae). J. Phycol. 53: 108–117.

Nakada, T., Tomita, M., Wu, J.-T. & Nozaki, H. 2016. Taxonomic revision of *Chlamydomonas* subg. *Amphichloris* (Volvocales, Chlorophyceae), with resurrection of the genus *Dangeardinia* and descriptions of *Ixipapillifera* gen. nov. and *Rhysamphichloris* gen. nov. J. Phycol. 52: 283–304.

野崎久義 1999. 光学顕微鏡観察. 杉山純多・渡辺信・大和田紘一・黒岩常祥・高橋秀夫・徳田元（編）新版　微生物学実験法．pp. 60–66．講談社．東京．

Reize, I. B. & Melkonian, M. 1989. A new way to investigating living flagellated/ciliated cells in the light microscope: immobilization of cells in agarose. Bot. Acta 102: 145–151.