

<単位「細胞」を基軸とした動物体の成り立ち>

: 魚類培養細胞による形態形成に関する基礎実験 (通称: お絵描き実験)

担当: 東京海洋大学 海洋科学部 羽曾部正豪 Tel:03-5463-0550, e-mail: hasobe@kaiyodai.ac.jp

HP-URL <http://www2.kaiyodai.ac.jp/~hasobe/index.html>

.....

Ch.1 序論 編 (約 15 分)

本章「序論」は通読項目である。言わば「準備体操」。実験講義を始める前に通読し、学習に対するイメージを掴む。

<□ 1-1 (命題 1) 科学と共有命題>

□ 1) 定義と論理性

科学を特徴付ける事項 (定義) とは、一般に下記のような項目を満たすことである。

- 1) 論理的、2) 客観的、3) 実証的 (再現性)、4) 予測的 (因果性)、5) 数量的、6) 知識累積性、など。

科学は物事を論理的に (明快に) 説明する。では、下記のセンテンスを科学はどのように説明するのだろうか。生物関連の命題は 5 項目であるが、特に 3)-5) のようなテーマは科学の主題 (共有命題) として妥当であろうか。試しに、下記を「単位の性質」に基づき考えてみよう。(詳しくは、実験講義が終了した後の協議として取り扱おう。)

<input type="checkbox"/> 1) リンゴが木から落ちた (らどうなるか?)	・ ・ 物理学
<input type="checkbox"/> 2) 塩の塊を水中に入れた (らどうなるか?)	・ ・ 化学
<input type="checkbox"/> 3) 細胞をシャーレに入れた (らどうなるか?)	・ ・ 生物学 1 (細胞学)
<input type="checkbox"/> 4) 体の薄切りを 2 色で染めた (らどうなるか?)	・ ・ 生物学 2 (組織学)
<input type="checkbox"/> 5) ネコの前にサカナを置いた (らどうなるか?)	・ ・ 生物学 3 (解剖学)
<input type="checkbox"/> 6) 仔牛が草を食べた (らどうなるか?)	・ ・ 生物学 4 (生理生化学)
<input type="checkbox"/> 7) 細胞は何をしている?	・ ・ 生物学 5 (細胞生物学)

□ 2) 生物学とは (器官系の名称)

生物学は一面「図説解説/用語項目/箇条書き」式でもあり、暗記ものと思っている人も多い。では、生物学とは何なのか。取りあえずの説明であるが、生物学とは

「物言わぬ生物進化 (地球進化) の成果物に代わりに、その成り立ちを代弁 (翻訳/通訳) すること」

と考えても差し支えはない。解り易く説明する事である。

論理性や合理性に乏しく思えるのは「経験科学」の側面に強く拘束されるため。つまり、自分自身で確かめたことのない事でも「そう決まっている」と信じて進める方が無難である、という経緯にあるため (無視して進むのは苦労が多過ぎる)。まるで探検隊のような学問である。よって、重要な事項はできるだけ「論理的な枠組み」に支持されていると都合が良い。ロジックが必要である。

例えば、生物学学習の必須項目? に「器官系」がある。一般的には 10 あるいは 11 区分とされるが、それらの名称をすらすらと言える人は、意外ではあるが、そう多くはない。下記は、思いつくまま羅列したが、その 11 項目である (A~K)。では、それらの名称を覚えることは必要なのだろうか。

<体の体制を支える器官系 : 11 区分>

- A. 泌尿器系、B. 循環系、C. 外皮系、D. 筋肉系、E. 呼吸器系、F. 消化器系、
G. 感覚器系、H. 骨格系、I. 神経系、J. 生殖器系、K. 内分泌器系、
(排出系とは「A. 泌尿系+J. 生殖系」のこと)

これら器官系 11 区分には「論理性」はあるのか。A から K を合理的な繋がり (順列や配列) として考えてみよう (下記の下線部に適当なアルファベットを記入してみよう)。

1. _____ → 2. _____ → 3. _____ → 4. _____ → 5. _____
→ 6. _____ → 7. _____ → 8. _____ → 9. _____ → 10. _____ → 11. _____

<□ 1-2 (命題 2) 実験学習の枠組み>

□ 1) 体の成り立ち : (図 1.1)

体の基本単位は細胞であり、体は受精卵という 1 細胞を起源とする。細胞分裂を繰り返し、発生過程で 3 胚葉として概念化された細胞集団は、形態的に 4 大組織からなる器官を形成し、運動や代謝などの役割を担う。その系統 (器官系) は例えば 11 区分とされる。総じて、体は細胞と細胞間物質から構成され、全ての細胞や細胞間物質は細胞から生じる。一般的に、体はその形態的な構成区分から「個体・器官系・器官・組織・細胞・細胞小器官・生体分子」という階層性 (階層構造) で認知される。生物とは「形」あるものであり、その「形」は常に物質代謝を行なう事により維持される。(上記の生物学用語に関連した模式図/画像を「生物資料集」などを参照し探してみよう)



□ 2) 実験学習の概要 : (図 1.2)

生きている動物細胞「魚類の培養細胞」と身近な生体由来の物質「ゼラチンやアルブミン」を材料に細胞培養実験を行なう。最終的に、培養シャーレの中に微小な細胞で大きな「形」を作る。なぜ細胞で簡単に「形」ができるのか、その理由を細胞や材料の性質や特徴から考える。更に、生体の組織細胞との類似性から考察する。結果的に「動物体の成り立ち」に対する基本的な視点の構築を目的とする。なお、本実験は「動物培養細胞による形態形成に関する基礎実験」であるが、通称は「お絵描き実験」である。補足:「細胞で形を作る」と記したが、本当は「細胞が形を作る」の方が適切である。

<目的: 培養細胞実験に基づく生体の理解>

- 1. 細胞で「形」を作る (お絵描き実験: 形態形成に関する基礎実験)。
- 2. 細胞や生体物質の性質や役割を考える (実験検証: 対照実験・検証実験)。
- 3. 細胞の基本的な性質を理解する (動物細胞の定義)。
- 4. 培養細胞と生体の組織細胞との類似性を考察する (発展考察)。
- 5. 足場依存性や細胞シートの性質から体内構造の基本的な視点を構築する (演習)。

<□ 1-3 (要約 1) 実験学習の目標>

本実験講義では、以下のような事項について理解を深めるため「お絵描き実験」を行なう。必要に応じて「体の成り立ち」に対する新たな視点や事項を付加してほしい。一読したら実技実験を始めよう。(ちなみに、「命題とは「それ本当?」と疑っても良いこと、と思っても良い。)

<実験学習の命題 (課題) >

- 1) 細胞は体の「1」であり、体は「2と3」でできている。
- 2) 動物細胞の基本的な性質 (特徴) は「4」であり、実験的には、細胞は5 (足場) に接着・伸展し、更に、移動・配列を経て、自律的に「6」を形成する。
- 3) 体表や内蔵器官などの表面や内腔面は7 細胞シートである。つまり、8 からできている。
- 4) 上皮組織とは「9 側の細胞層」を意味し、その直下 (10 側との境界) には細胞が接着結合する「11」がある。
- 5) 基底膜 (足場) を基準とし区分される「12」の極性は体内構造の認知に明瞭な指針を与える。

選択肢: ①基本単位、②細胞と③細胞間物質、④足場依存性、⑤基質、⑥細胞シート、⑦切れ目のない、⑧上皮組織、⑨オモテ、⑩ウラ、⑪基底膜、⑫オモテ・ウラ

Ch.2 導入(1)・(約 45 分)

<2-1 (解説 1) 基本実験 (Exp. A : お絵描き実験) >

□ 1) 概要とロジック : 図 1.3

基本実験「お絵描き実験」とは？

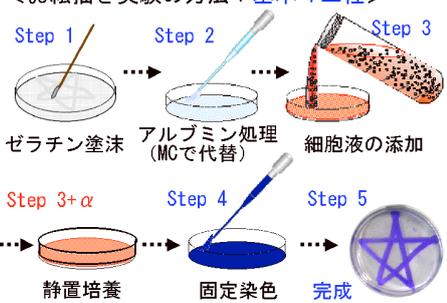
自分自身がその昔たった 1 粒の細胞だったことを想像すると不思議な気がします。本当に体は細胞からできているのか疑ってしまいそうです。生物の教科書には動物細胞の事がたくさん書いてありますが、皆さんは実物の動物細胞を見たことがありますか？ 百聞は一見に如かずです。今日は魚類の培養細胞を用い、「**生きている細胞をシャーレに入れたらどうなるか**」というテーマで細胞の話を進めます。動物細胞の単純な振る舞いを実験観察し、組織形成や体の成り立ちの基本を一緒に考えてみたいと思います。生物学基幹実験と位置付けてみます。

お絵描き実験のロジック

- 1) 体は「_____」からできてくる。2) 体は「_____と_____」でできている。
↓それなら、
- 3) 生きてる_____と_____の_____ (細胞間物質)があれば「形」ができるはず。
- 4) それらの性質や役割が解れば「_____」ができるはず。5) _____としてできるはず。
↓それなら、
- 6) 「_____ : 動物培養細胞による形態形成の基礎実験」をしてみよう。
- 7) 実験とはともかく何かを確かめること。君は何を確かめたい？

□ 2) 実験方法の概要 (基本 4 工程) : 図 2.1, 2.2

「お絵描き実験」の方法は基本 4 工程である。一般に、細胞培養実験には専門性 (技術や装置) が不可欠であるが、本実験では、魚類由来の株化細胞による細胞実験キットを用いるため、迅速簡便な取り扱いで行なう。しかし、生細胞を取り扱う視点とその対応は同じである。具体的な実験操作法については、別様「実技図解集」を参照する。
*用いる培養細胞はファッドヘッド ミノー (アメリカ産の温水性魚類) という小魚に由来する株化細胞 (不死化細胞) で FHLS 細胞という名称の細胞である。サカナの細胞であるが、他の脊椎動物細胞と同様に考えて支障はない。

<p><お絵描き実験の方法 : 基本 4 工程></p>  <p>Step 1: ゼラチン塗抹 Step 2: アルブミン処理 (MCで代替) Step 3: 細胞液の添加 Step 3+α: 静置培養 Step 4: 固定染色 Step 5: 完成</p> <p>図 2.1 : ◎、○、△、×</p>	<p><お絵描き実験の方法 : 基本 4 工程></p> <p>Step1. _____ を綿棒に付け、シャーレに [絵文字] を描く。完全に乾燥させる (透明になる)。 Step2. 血清 _____ (BSA/A1b) でシャーレ底面を濡らす (1分程度)。 : _____ (MC) で代替可能。 Step3. _____ 液を加え培養 (最低45分) Step4. [絵文字] が出現。固定/染色。</p> <p>細胞実験キットを使えば、迅速簡便な「お絵描き実験」</p> <p>図 2.2 : ◎、○、△、×</p>	<p><生体成分/物質とは? : 細胞間物質></p> <p>Q: ゼラチン、アルブミンって何?</p> <p>Exp1. 生体成分を食べてみよう ゼラチン菓子って何?</p>  <p>Exp2. 骨は何からできている その成分を除いた骨はどんな形?</p> <p>Exp3. 板ゼラチン/粉末アルブミンの加熱実験 水中で加温するとどうなるか?</p> <p>(体を作る物質/蛋白化学の視点)</p> <p>図 2.3 : ◎、○、△、×</p>
--	--	---

□ 3) 培養時間の取り扱い

細胞培養実験には「培養時間」が不可欠である。単純に言えば「待ち時間」であるが、細胞自身にとっては「自律的な活動時間」である (重要である)。本実験では、この観点から培養時間に観察や操作を加え、理解を深める。詳細は実技図解集を参照。

<□ 2-2 (Exp. A) 実技 Step1 (ゼラチン塗抹) >

実技図解集とデモンストレーションに基づき、要点を確認した後、実技を行なう。時刻 (工程開始時刻) や気づいた事は図解集の下段空欄などに記入する。メモ : _____

<□ 2-3 (協議 1) Q1. 身近な生体物質 : 図 2.3 >

- 1) 骨は何からできている? : _____
- 2) その成分を除いたらどんな形 : _____
- 3) 骨を切る方法は : _____
- 4) 加熱実験 : _____
- 5) 変性とは : _____

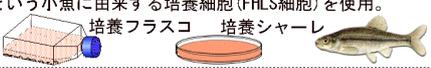
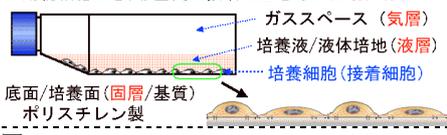
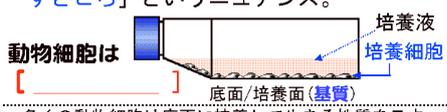
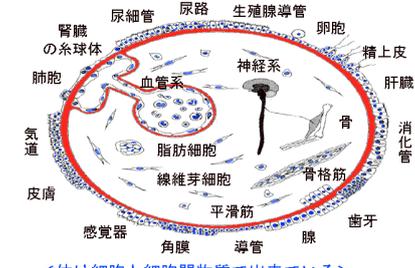
<□ 2-4 (学習 1) 実験材料の基本的な性質>

<主要な細胞間物質 (生体物質) : 実験材料>		
	ゼラチン : _____ の変性物	血清アルブミン
所在	体全体 : _____ の成分 (____ や ____ など)	血液 (_____ 成分)
含量、形	最大含量の _____ タンパク質。 _____ 状	最大含量の _____ タンパク質。 _____ 状
役割	細胞層の間を埋める	脂質や鉄などの運搬
利用	食品、化粧品、工芸品、医薬品など	食品、医薬品など
物性	加熱で可溶	加熱で凝固
補足	どんな動物にもある重要なタンパク質。 「コラーゲン」と「アルブミン」の物性は _____ 性質	類似物質は _____ や _____ にも多量含まれる

<□ 2-5 (学習 2) 動物細胞と培養技術>

□ 1) 培養細胞・細胞培養・3層構造 : 図 2.4, 2.5

本実験学習の主役は動物細胞であるが、「細胞」とは体に属する自然物であり、そこそこに落ちているものではない。しかし、体の中の細胞も「細胞培養技術」に従えば「培養細胞」として取り扱うことができる。つまり、**培養細胞**とは「生体組織から摘出されシャーレなどで人為的に生かされる細胞」のこと。細胞培養とは簡単に言えば「生体組織の細胞が生きるその存在様式(微小環境)を人為的にシャーレなどに再現する」ことである。一般的に、培養細胞は容器(培養フラスコ)のなかで「3層構造」で維持管理される。つまり「固層、液層、気層」を必要とする。

<p><培養細胞/細胞培養 : 足場依存性> 体の細胞(体細胞)はシャーレやフラスコの中で飼育することができる。それら細胞を培養細胞と言い、その行為を細胞培養と言う。今回は「ファッドヘッドミノー」という小魚に由来する培養細胞(FHLS細胞)を使用。</p>  <p><細胞培養3層構造> *動物細胞は底面/基質に接着して生きる: 足場依存性* ガススペース(気層) 培養液/液体培地(液層) 底面/培養面(固層/基質) ポリスチレン製</p>  <p>図 2.4 :</p>	<p><用語解説> 1) 細胞が張り付くこと : _____、_____ 2) 細胞が接着する部分/物質 : _____ 3) 基質の類似語 : 培養基質、接着基質、matrix : _____、_____ 4) 基質/マトリックスとは「何かを生み出すところ」というニュアンス。</p>  <p>動物細胞は [] 底面/培養面(基質) 多くの動物細胞は底面に接着して生きる性質を示す。</p> <p>図 2.5 :</p>	<p>動物体を概念化するとこんな模式図も可能。 どのような視点があれば納得できるのか?</p>  <p><体は細胞と細胞間物質で出来ている></p> <p>図 2.6 :</p>
---	---	---

□ 2) 培養細胞の特徴(細胞接着と足場依存性) : 図 2.5

細胞培養には「培養フラスコ」や「培養シャーレ」が必要であるが、その特徴は細胞が張り付くに適した材質でできていることにある。つまり、培養細胞は一般的な特徴として底面に**接着(接着結合)**する。模式図は側面図なので、細胞は平たい扁平な形で描かれている。体細胞も含め、細胞のこの性質を「**足場依存性**」と呼ぶ。

<□ 2-6 (要約 1) 生体物質の基本区分>

図 2.6 : 生体成分を区分すると「細胞と細胞間物質」になる。細胞間物質には「構造型物質と液性物質」がある。構造型物質の主要な成分は「コラーゲン、エラスチン、糖タンパク、リン酸カルシウム」である。ちなみに、細胞を区分すると「固定性細胞と遊走性細胞」であり、細胞内の物質は「構造型成分と液性成分」に区分できる。

Ch.3 実験観察・(約 150 分 : 90 分、昼休み、60 分)

<□ 3-1 (Exp. A) 実技 Step2, Step3-1 (血清アルブミン処理、細胞液の添加/培養)>

実技図解集とデモンストレーションに基づき、要点を確認した後、実技を行なう。時刻(工程開始時刻)や気づいた事は図解集の下段空欄などに記入する。メモ : _____

<□ 3-2 (協議 2) Q2. 実験観察「再生医学」: 映像実験「耳ネズミ」との類似性>

図 3.1 : NHK 放映 VTR 「自己再生の力」の一部「耳ネズミの作り方」は、現在進行中の「お絵描き実験」と類似した考え方や方法である。どこが同じでどう違うのか、映像を見ながら考えてみよう。

類似項目： _____
 疑問項目： _____

<□ 3-3 (Exp. B) 生細胞の顕微鏡観察 (スリット培養法) >

図 3.2, 3.3 : 実技図解集とデモンストレーションに基づき、要点を確認した後、実技を行なう。時刻 (工程開始時刻) や気づいた事は図解集の下端空欄などに記入する。

メモ： _____

<p><「耳ネズミ」の作り方></p> <p>① _____ の _____ で耳型を作る</p> <p>② 繊維塊に細胞 (_____) を滴下/培養</p> <p>③ _____ と _____</p> <p>④ 摘出。が完成</p> <p>ヌードマウスって何?</p> <p>お絵描き実験と耳ネズミ実験は同じような概念/方法で行われている。何が同じでどう違うのか、考えてほしい。</p>	<p><Exp.B: 細胞のライブ観察と染色標本></p> <p>1) フィルムバッダFHL細胞</p> <p>FHL細胞のライブ観察</p> <p>2) 細胞の単離分散</p> <p>倒立観察</p> <p>スリット培養/観察</p> <p>固定染色標本像</p>	<p><細胞の形態変化: キングサーモンOHL細胞></p> <p>5分後 10分後 15分後</p> <p>30分後 40分後 50分後</p> <p>培養時間に依存し突起/接着斑/仮足などが変化する</p>
<p>図 3.1 : _____</p>	<p>図 3.2 : _____</p>	<p>図 3.3 : _____</p>

<□ 3-4 (Exp. A) 実技 Step3-2 (底面状態の確認) >

実技図解集とデモンストレーションに基づき、要点を確認した後、実技を行なう。時刻 (工程開始時刻) や気づいた事は図解集の下端空欄などに記入する。メモ： _____

* シャーレ底面には「形」が現れたでしょうか。では、どうして「形」になったのだろうか。その理由を考えてみよう。(実験とはともかく何かを確かめること。君は何を確かめたい?)

<□ 3-5 (解説 2) 細胞の形態変化: 接着・伸展と足場依存性>

図 3.4 : 細胞はシャーレの中で自律的な行動 (様式) を示す。シャーレに入れた細胞は、最初は球状であるが底面に接触すると運動を開始する。さて、どのような説明が可能か。顕微鏡写真/画像を参照し協議してみよう。

(細胞は _____ を認識し → _____ し → _____ し → _____ する。)

<p>動物細胞の形態変化 (マウス繊維芽細胞: SEM像)</p> <p>球状 (接着) 30分後</p> <p>ドーム状 (伸展中) 60分後</p> <p>細胞は _____ を認識し → _____ し → _____ し → _____ する</p> <p>扁平状 (伸展) 2時間後</p> <p>線維芽細胞の形態 (移動中) 24時間後</p> <p>カーブ分子細胞生物学 (第1版p233)</p>	<p>細胞の形態変化: 上段を培養すると下段になる</p> <p>1粒の細胞 2粒の細胞 3粒の細胞</p> <p>Q: この形態変化に規則性はあるか?</p>	<p>細胞が動ける理由: 細胞膜のウラ側には、_____ が数珠状に連結 (重合) したアクチン繊維 (細胞骨格の1種類) がある。細胞はアクチンの「_____ や _____」を繰り返して形を変える。細胞骨格は足場となる基質と部分的に結合している。重合したアクチン: _____ アクチン蛍光像</p> <p>アクチン繊維の層 波打ち膜</p> <p>基質</p> <p>新たなアクチン重合で先端膜が突き出す</p> <p>結合が切れ収縮する</p> <p>接着斑/インテグリン</p>
<p>図 3.4 : _____</p>	<p>図 3.5 : _____</p>	<p>図 3.6 : _____</p>

<□ 3-6 (協議 3) Q3. 「1粒 2粒 3粒」の細胞: Nature、Science、Cell>

図 3.5 : 繰り返しとなるが、細胞をシャーレに入れると自律的に接着伸展する。では、その行動に規則性はあるのだろうか。例えば、模式図 3.5 の「1粒・2粒・3粒の細胞の動き」で考えてみよう。これは重要な課題です (Nature、Science、Cell)。どう説明しよう。

① 細胞は _____ な形へ変化し (_____) し、その周縁部には _____ (斑) が観察される。② 伸展する時、細胞は隣り合う細胞と _____ ように先端部 (_____) を伸ばす。③ 隣り合う場合、その境界は互いに少し _____ ような状態で並ぶ。④ その境界には接着部が観察されない。

<□ 3-7 (学習 3) 細胞運動の仕組み>

図 3.6 : (用語: 足場、接着装置、細胞骨格/アクチン、仮足)

細胞が形を変え運動する仕組みは、細胞にも「手足や骨格」のような構造があるため、もちろん、「足場」も必要である。専門的には、接着基質（または細胞外マトリックス）、インテグリン、細胞骨格、アクチン繊維、などの用語を用いて説明する。しかし「筋肉」という用語は使わない。筋肉がない細胞がなぜ動けるのか、説明してみよう。

細胞が動ける理由：細胞膜のウラ側には、_____状のタンパク_____が数珠（ジュズ）状に連結（重合）した「アクチン繊維」（細胞骨格の1種類）が配列している。細胞はアクチンの「_____や_____」を繰り返し、繊維の長さを変え、形を変える。細胞骨格は足場となる基質と、「インテグリン」を介して部分的に結合している。

<□ 3-8 (要約 3) 生きているとは (時間と自律性)>

培養細胞のイメージ：1) 培養細胞は生きています。2) 容器の中で生きています。3) 底に張り付き生きています。4) 形を変えつつ生きています。5) 自律・協調・戦略的に生きています。6) 細胞社会で生きています。

<□ 3-9 (Exp. A) Step3-3 (培養液の交換)>

実技図解集とデモンストレーションに基づき、要点を確認した後、実技を行なう。時刻（工程開始時刻）や気づいた事は図解集の下段空欄などに記入する。メモ：_____

* シャーレの中には底面に残った細胞と浮遊した細胞があるが、なぜこのような違いが生じたのだろうか。浮遊している細胞は元気のない細胞なのだろうか。必要があれば、次の工程 Step3-3 で回収するそれらの細胞を使って、何か実験を考えてみよう。

.....

Ch.4 実験考察・・・(約 60 分)

<□ 4-1 (協議 4) Q4. 実験条件の考察：基質状態と細胞接着の関係>

図 4.1：放置しただけのシャーレに、なぜ「形」が現れたのか。実験手順や材料の役割から説明してみよう。

Q4. 細胞が接着できる物質はどれ？：選択肢：①シャーレ、②ゼラチン、③血清アルブミン（またはMC）、④他

図 4.2：もう一度、実験について考えてみる。そのため、図 4.2 を参照しクイズを行なってみよう。

<□ 4-2 (学習 4) 実験の仕組みと材料の役割 (Col, Alb, Ca²⁺)>

* 細胞は、シャーレやゼラチンに_____する。血清アルブミンやMCには_____しない。
(シャーレやゼラチンは_____である。血清アルブミンやMCは_____を阻害する)

<p>合格</p> <p>実験方法と最終結果から材料の役割や性質を考えてみよう (Q: 次の材料は細胞とどんな関係か) 細胞が接着できる物質はどれ? ①シャーレ、②ゼラチン、③血清アルブミン (またはMC)</p> <p>図 4.1:</p>	<p>【1~3】の底面状態に細胞を加え培養・染色すると下段のどれになるか・何故か?</p> <p>(1) NONE 何もしない (2) GEL 塗抹 ゼラチン (3) BSA/MC アルブミン</p> <p>A B C</p> <p>図 4.2:</p>	<p>ゼラチン部分もアルブミン液で濡らしたはずなのに、なぜ?</p> <p>シャーレ→ゼラチン→アルブミン→細胞</p> <p>ゼラチンも染まると思うけど!!? 予定調和的には進まない生物実験 科学実験とは「何かを確かめること」 < 必要性 ></p> <p>図 4.3:</p>
◎、○、△、×	◎、○、△、×	◎、○、△、×

<□ 4-3 (協議 5) Q5. 何が疑問? : 科学実験とは?>

図 4.3：上記（例えば図 4.3）を考えた時、疑問に思った事を箇条書きにしてみよう。更に、解決したい。どうする?

- 疑問 1: _____
- 疑問 2: _____
- 疑問 3: _____

対応策 (疑問に答えるにはどうすれば良いか?): _____

(* 実験とはともかく何かを確かめる事。君は何を確かめたい?。_____ 実験を設計、計画してみよう)

<□ 4-4 (協議 6) Q6. 高密度細胞培養の行方 (自律、協調、戦略的)>

図 4.5：例えば、シャーレに高密度で大量の細胞を入れて培養するとどうなるだろう。答えは、この次に行なう「4-5

(Exp. A) 実技 Step3-4」で解るかも。

＜科学実験の必要性：実験計画 A＞						
実験区：担当者を決め協議・結果を予想する						
操作	A(基本)	B()	C()	D()	E()	F()
Step1	GEL	A1b/MC	None	None	GEL	GEL
Step2	A1b/MC	None	A1b/MC	None	None	A1b/MC
Step3	Cell	Cell	Cell	Cell	None	Cell
Step4	染色	染色	染色	染色	染色	染色
結果	青図					
予想図						
分かる事は何						
GEL:ゼラチン, A1b:血清アルブミン, MC:メチルセルロース, Cell:細胞添加, 染色:クリスタル紫, None:何もしない						
図 4.4 :			図 4.5 :			
◎、○、△、×			◎、○、△、×			

設問：大過剰の細胞をシャーレに加えると細胞は ①, ②, ③ のどれになるのか？

① 球状のまま沈下し、上下に重なる。

② 最下層のみが接着し扁平状、その上の細胞は球状。

③ 全ての細胞が接着し、扁平状になる。上下に重層状態となる。

＜答えは後で＞

細胞膜には「手足」のような「**インテグリン**」という構造があり、細胞はこれを介して細胞外の基質 (ECM) と結合 (細胞内ではアクチン線維と結合)。

図 4.6 :

＜□ 4-5 (Exp. A) 実技 Step3-4 (接着強度の確認、顕微鏡観察) ＞

実技図解集とデモンストレーションに基づき、要点を確認した後、実技を行なう。時刻 (工程開始時刻) や気づいた事は図解集の下段空欄などに記入する。

メモ : _____

＜□ 4-6 (学習 5) 細胞接着の仕組み : ECM、膜蛋白/構造、インテグリン、Ca²⁺＞

図 4.6 : Step3-3 で培養液を交換した理由は、含まれるカルシウムイオンで細胞の接着結合を強化し安定化させるためである。* 微小な細胞も自律的に活動するとすごい力を示してくれる。接着する力はすごい。筋肉細胞で重い物が動かせる理由でもある。どんな仕組みでできているのだろうか。* カルシウムは生体元素として重要であり、これ以外にも幾つかの役割を担っている。その主要項目を列記してみよう。* 細胞は想像以上に基質に強く接着結合する。その仕組みを細胞構造として考えるため細胞の構造を模式図化 (概念化) してみよう。

*用語は「接着基質、細胞膜、インテグリン、Ca イオン、接着斑、細胞骨格、アクチン繊維、仮足、核」である。

.....

Ch.5 まとめ/考察・・(約 60 分)

＜□ 5-1 (要約 4) 細胞の基本的性質 : 接着/伸展/移動/配列 ＞

図 5.1 : 培養細胞は自律的に特定の行動を示した。つまり、動物細胞の基本的な性質である。では、その行動パターンを「まとめ」として箇条書きにしてみよう。ところで、高密度培養の結果は解ったかい？

<p>小まとめ：動物細胞の基本的性質(1)</p> <p>細胞は「基質」を認識し、</p> <p>① 接着/伸展し → ② 移動・配列し</p> <p>→ 条件があれば ③ 分裂増殖と接触阻害となり</p> <p>→ 単層の ④ 細胞シートを形成する</p> <p>→ 条件が整えば ⑤ 機能発現/分化</p> <p>図 5.1 :</p>	<p>＜顕微鏡観察したシャーレの底面＞</p> <p>コラーゲン/ゼラチン部</p> <p>未処理部</p> <p>なぜ細胞はこの様態を示すか：その必然性は？</p> <p>図 5.2 :</p>	<p>＜単位が組み合わせると・・「形」＞</p> <p>器官</p> <p>階層性</p> <p>組織</p> <p>細胞</p> <p>基底膜</p> <p>＜腸の断面＞</p> <p>上皮組織</p> <p>結合組織</p> <p>神経組織</p> <p>筋組織</p> <p>漿膜</p> <p>群> 個体> 器官> 組織> 細胞> 細胞小器官> 分子</p> <p>図 5.3 :</p>
◎、○、△、×	◎、○、△、×	◎、○、△、×

＜□ 5-2 (協議 7) Q7. 細胞の意義 : 単位の必然性と形＞

図 5.2 を参照し、その様子を分かりやすく表現してみよう。何と表現すれば良いか。また、細胞集団が示したその様態を専門的には何と言うか : _____。

- 顕微鏡観察するとシャーレに接着伸展した細胞は、隣接細胞と協調的に配列し平面的な広がりとなっている。
- ゼラチン領域の偏縁域 (エッジ) に接着伸展した細胞の形は、内側の細胞と少し違った形をしている。境界線に沿って自身の形を変形させているところが興味深い。繰り返しとなるが、その仕組みを説明してほしい。
- 結果として、細胞は平面的な単層の「細胞シート」を形成した。では、体の基本単位「細胞」はなぜこのよう

な性質を示すのか。どんな利点があるのだろうか。

Q. 性質の意味/意義 : _____。

<□ 5-3 (学習 6) 細胞シートと体構造 (上皮組織) : 体構造の概念化>

図 5.3, 5.4, 5.5 : 動物細胞は細胞シートを形成する (性質を示す)。では、動物体のどの部分が細胞シートなのだろう。ただし、教科書的には細胞シートではなく「上皮組織」という用語が適切である。上皮組織 英語で書けば「epithelial tissue エピセリアル ティッシュ」である。その意味を考えよう。なお、上皮組織 (その基本様態は 3 種類である) の更なる解説は「7-2」で行なう。

<p>体は細胞シートからできている!</p> <p>図 5.4 :</p>	<p><上皮細胞の形態と機能との関係: 覚え方></p> <p>オモテ側 (通路/トンネル/ドーム側)</p> <p>赤線: 基底膜</p> <table border="1"> <tr> <td>扁平上皮細胞</td> <td>立方上皮細胞 円柱上皮細胞</td> <td>重層上皮細胞</td> </tr> <tr> <td>ものが流れる所、 ものを透過する所</td> <td>実質機能の部分 吸収や分泌など</td> <td>傷つきやすい所</td> </tr> <tr> <td>血管内皮、肺胞上皮、 漿膜上皮、 ポウマン囊の内壁</td> <td>多くの臓器</td> <td>皮膚、口腔、 食道、直腸、 肛門</td> </tr> </table> <p>図 5.5 :</p>	扁平上皮細胞	立方上皮細胞 円柱上皮細胞	重層上皮細胞	ものが流れる所、 ものを透過する所	実質機能の部分 吸収や分泌など	傷つきやすい所	血管内皮、肺胞上皮、 漿膜上皮、 ポウマン囊の内壁	多くの臓器	皮膚、口腔、 食道、直腸、 肛門	<p>メモ :</p> <p>図 5.6 :</p>
扁平上皮細胞	立方上皮細胞 円柱上皮細胞	重層上皮細胞									
ものが流れる所、 ものを透過する所	実質機能の部分 吸収や分泌など	傷つきやすい所									
血管内皮、肺胞上皮、 漿膜上皮、 ポウマン囊の内壁	多くの臓器	皮膚、口腔、 食道、直腸、 肛門									

上皮組織 : Epithelial Tissue (エピセリアル ティッシュ) とは?
 Epi- (エピ) : _____ の、_____ の。 Thelia- (セリア) : _____。 Tissue (ティッシュ) : 組織
 * 英語圏の人は「Epithelial Tissue」を「オモテ側の細胞層」と理解する。つまり、「細胞シート」である。
 * 上皮組織 (細胞シート) の直下には、_____がある。

<□ 5-4 (解説 3) 発生過程のシート構造>

図 5.7 : 体は 1 粒の細胞からできてくる。発生過程は細胞シートの形成に基づき進行する
 * 胞胚 → 原腸胚 → 神経胚 → 咽頭胚 → 個体、* シート化 → (脱シート化 → 再シート化) → 分化

<p><形態の由来: 細胞シートからできてくる></p> <p>図 5.7 :</p>	<p>体構造の概念化: 球状 (胞状) 細胞シート: 赤線は何?</p> <p>図 5.8 :</p>	<p><お絵描き実験の役割と意義></p> <p>図 5.9 :</p>
--	--	---

<□ 5-5 (協議 8) 球状細胞シート (山科概念図) と体構造>

図 5.8 : 体の形を概念化すると胞状/球状のシート構造になる。何が変だ、何かが足りない。どうしよう。

<□ 5-6 (協議 9) Q8. レポートと実験科学論 : 論文形式 5 項目>

図 5.9 : 科学実験では必要に応じてレポートを作成する。実験とはともかく何かを確かめる事。多くの人が理解できるように配慮しながら、実験科学論に準じて、作成する事がポイントである。図のように、これまでに、自分の行った事や考えた事を大切にする事を忘れないでほしい。共有命題 Open Question であることも忘れないでほしい。「肯定のための否定作業も重要」ということも意識してほしい。

<□ 5-7 (Exp. A) 実技 Step4 (固定と染色) >

実技図解集とデモンストレーションに基づき、要点を確認した後、実技を行なう。時刻 (工程開始時刻) や気づい

た事は図解集の下段空欄などに記入する。メモ： _____

* 染色すれば「サイエンスアート」：見る視点や経験値は「アート」を見るに役に立つ。

下枠には本講義で特に気に入った模式図の概要を自分で描いてみる。肉体労働してください。

図 : _____ <div style="text-align: right; font-size: small;">◎、○、△、×</div>	図 : _____ <div style="text-align: right; font-size: small;">◎、○、△、×</div>
--	--

図 : _____ <div style="text-align: right; font-size: small;">◎、○、△、×</div>	図 : _____ <div style="text-align: right; font-size: small;">◎、○、△、×</div>
--	--

本実験講義で何が分かったか、また感想意見を記す： _____

・以上で終わり：9時45分～12時35分