

名札番号		氏名	
------	--	----	--

実験試験（植物）問題冊子

（平成 21 年 8 月 17 日 14 時～17 時）

- 1 机には、問題冊子および解答用紙 5 枚が配布されています。
- 2 説明が始まるまで、問題冊子を開いてはいけません。
- 3 解答開始の合図の後、すべての解答用紙に名札番号と氏名を記入しなさい。また、このページの右上の欄にも名札番号と氏名を記入しなさい。
- 4 解答用紙がばらばらにならないように、解答を書くとき以外は、試験室で配られた広島大学のクリアファイルに入れて置いてください。このクリアファイルは明日も使いますので、持ってきてください。
- 5 試験の途中で、気分が悪くなったり、用便のために外に出たりする場合は、手を上げて指示に従ってください。
- 6 試験の解答終了時刻は、最初の説明のあとに黒板に掲示されますので、よく注意しておいてください。
- 7 そのほかの注意などは、試験室内のモニターに映し出されますので、時々モニターを見てください。
- 8 解答終了後、問題の説明を行います。問題の説明が終了したら、問題冊子は持ち帰ってください。
- 9 問題冊子の最初に、切片の作り方と顕微鏡操作法の説明文があります。問題を解く前にこの説明文に目を通してください。
- 10 椅子の高さはレバーで上下が調節できます。よい位置に調節してください。
- 11 机の上の袋に入っているピンセット 1 本とハサミ 1 本は皆さんに差し上げます。次の日も使うので、忘れずに持ってきてください。
- 12 机の上の鉛筆、消しゴム、定規、その他の実験用具などは自由に使ってください。試験終了後は元の位置に戻して置いてください。

植物の形態と生殖

【準備されているもの】

ゼニゴケ（雄株と雌株）、テッポウユリの花、光学顕微鏡、実体顕微鏡、スライドグラス（10

枚)、カバーガラス (1 ケース)、シャーレ (2 個)、水の入ったプラスチック容器 (植物体の水洗用) スポイト、水の入ったカップ (解剖、プレパレート作成用)、ピンセット (2 本)、眼科用ハサミ、剃刀の刃 (3 枚分)、竹串 (切片作成用)、キムワイプ、使用済みの剃刀の刃や割れたガラスを入れる容器、可燃ごみや不要になった試料を入れる袋、問題冊子 (p 1 ~6)、解答用紙 (p 1 ~ 5)

植物体を観察するときには、必要であれば剃刀の刃で切片を作成しなさい。試料や切片は、水で湿らせて乾燥しないようにします。植物体の切片をスライドガラスにおき、水を滴下してカバーガラスをかけてプレパレートを作成し、それを光学顕微鏡で観察します。

光学顕微鏡の接眼レンズには、マイクロメーターが装着されています。マイクロメーター 1 目盛の値は、 $\times 4$ 、 $\times 10$ 、 $\times 40$ の対物レンズに対してそれぞれ、 $25\ \mu\text{m}$ 、 $10\ \mu\text{m}$ 、 $2.5\ \mu\text{m}$ です。スケッチにはスケールバーを入れなさい。

実体顕微鏡で観察をするときは、ステージに直接試料を置かないでください。試料をスライドガラスまたはシャーレにのせて観察します。

ゼニゴケの体は下の図のようになっています。

ゼニゴケの雌株、雄株の形態が Schuster 1992 より一部改変した図により示され、それぞれの葉状体、雌株の雌器托、雌器托柄、雄株の杯状体、雄器托、雄器托柄がどの部分であるかがここに説明されていた。

切片のつくり方

きれいな切片を作成するには、実体顕微鏡下で慎重に行うとよいでしょう。薄く切ろうとするよりも、むしろきれいな断面になるように、一定の速さで、すばやく剃刀の刃をすべらせるのがコツです。あまり強く材料の植物体を押さえると、組織や細胞がつぶれてしまうので注意しましょう。

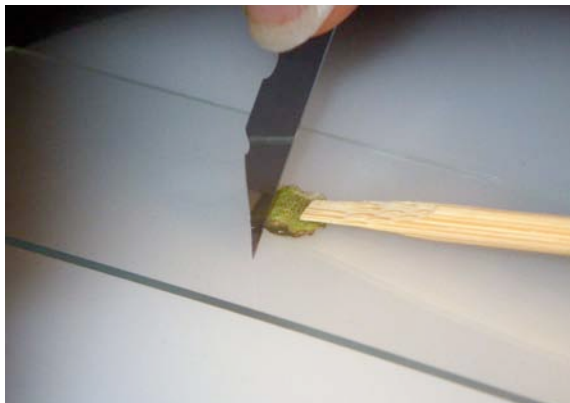
ゼニゴケの植物体を切ると、粘液状の物質が出てきます。その粘液状の物質が剃刀の刃に付くと切れ味がわるくなります。そのときは、新しい刃に取り換えてください。もし、剃刀の刃が足りなくなったら、手を挙げて知らせてください。使用済みの剃刀の刃は、専用の容器に入れてください。



1. 切片をつくるときには、実体顕微鏡下で行います。そのとき、切りたい部分に正確に刃をあてることが大切です。材料が大き過ぎる場合は、余分な部分を切り落としておきます。試料をスライドグラスに置いたら、試料に少し水をたらしておきます。



2. 試料を押しつぶさないように、やさしく、でもしっかりと押さえることが大切です。先をへら状にした竹串、ピンセット、カバーグラスなど、使いやすい道具を使って試料を押さえます。切り取った切片が乾かないように、試料のそばに水をたらしておき、切片をそこに入れるようにします。

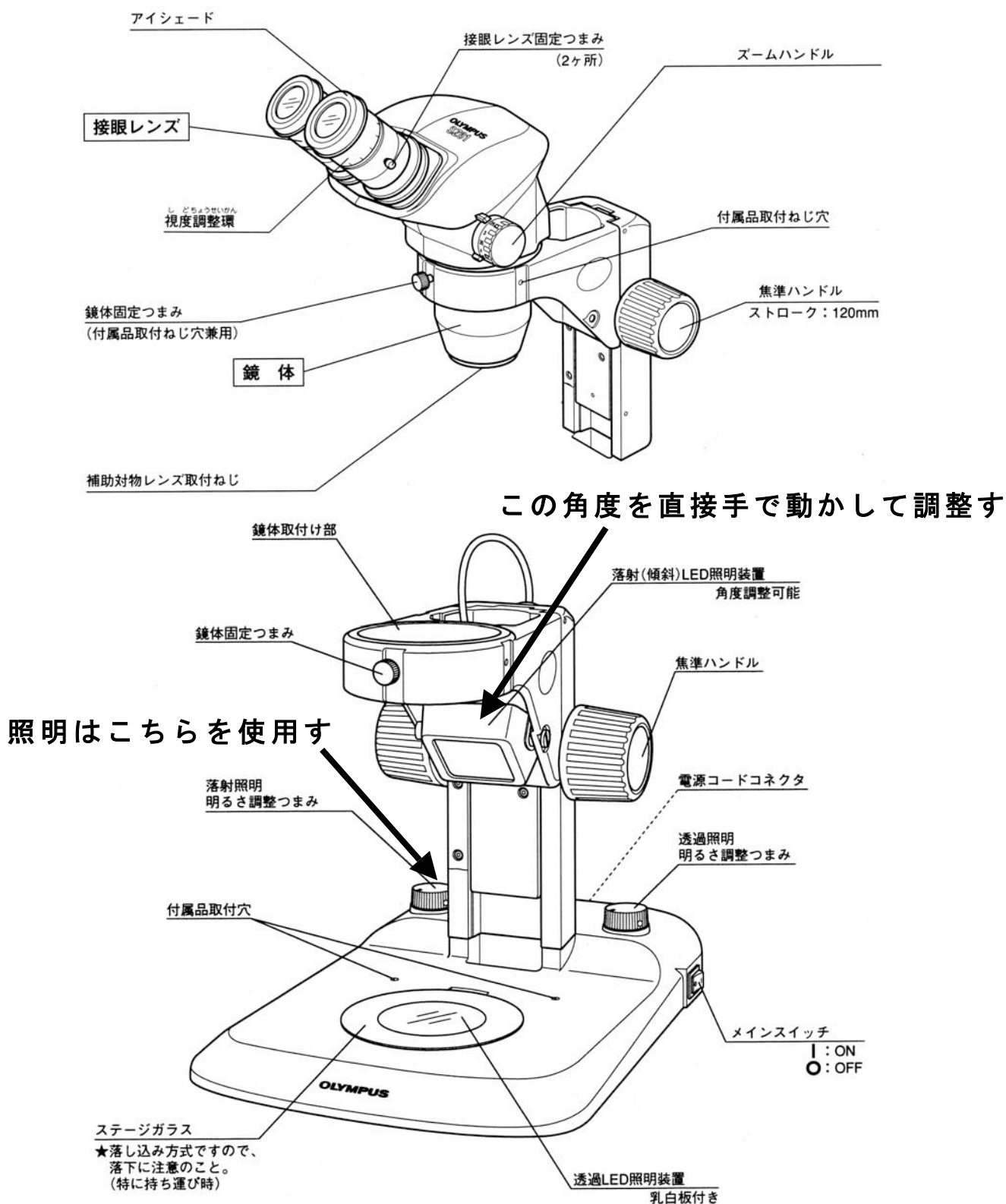


3. ゼニゴケの体はやわらかいので、軽く刃を当てるだけで切れます。先の尖った剃刀の刃の先をスライドグラスに軽く着け、そのまま一定の速さで引くようにして試料を切断します。このとき、剃刀の刃はガラス面に対して垂直になるようにします。



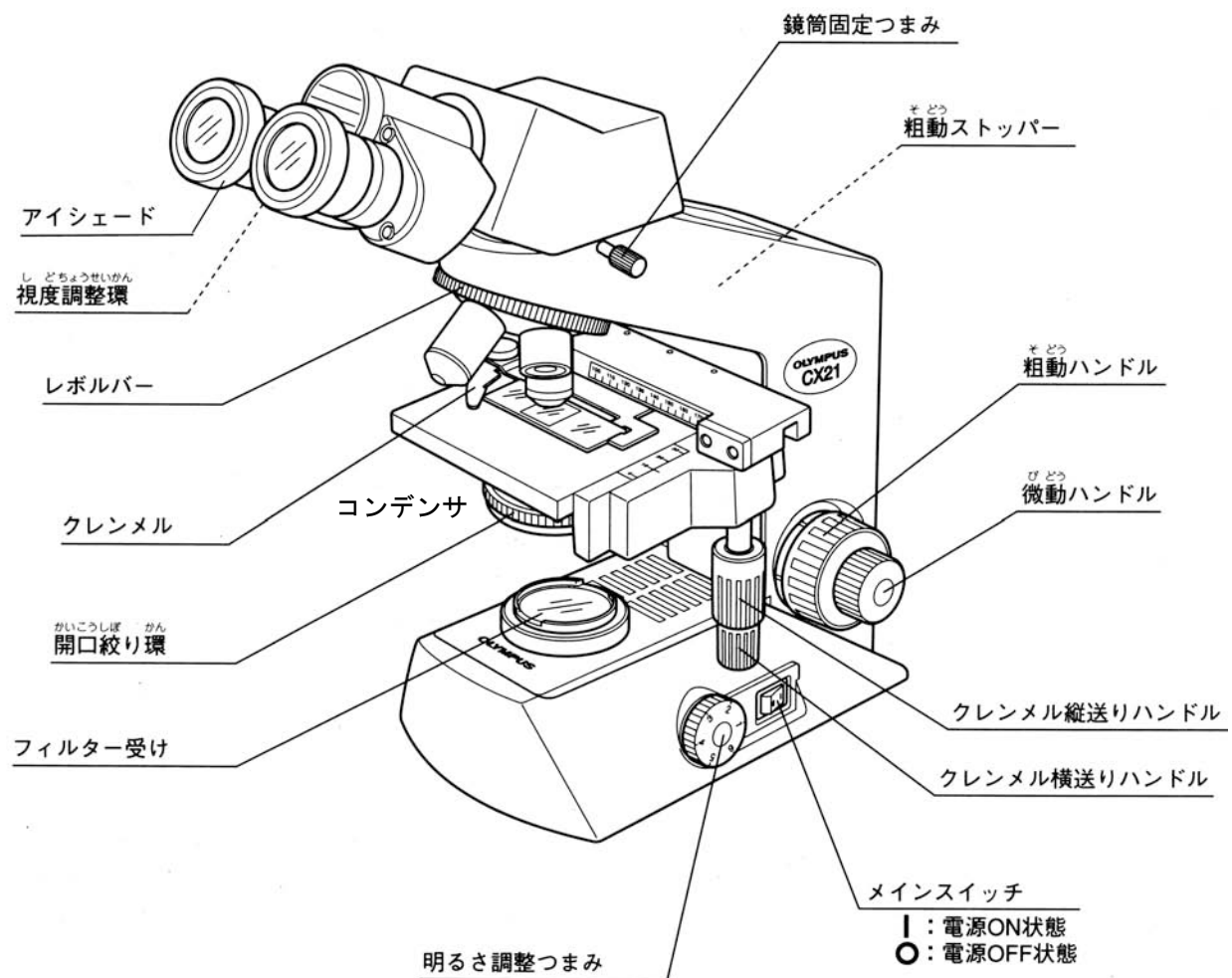
4. 葉状体の一部（左）から切片（右）を切り出したところ。試料が大きい場合は、あらかじめ一部を切り取り、スライドグラスにおきます。一度に10枚程度の切片を切り出し、うまくできた切片を数枚選んで、新しいスライドグラスに載せ、プレパラートを作成します。

実体顕微鏡操作法（各部の名称）



- ★背筋を伸ばして観察できるように椅子の高さを調整すること。
- ★ステージに直接試料をのせないこと。
- ★接眼レンズの視度調整をすること。
- ★観察や切片作成のときは、落射照明（左側の調整つまみ）を使用すること。この観察では普通透過照明は使いません。
- ★落射照明の角度を調整して、試料に光が十分当たるようにすること。
- ★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こと。

生物顕微鏡操作法（各部の名称）



- ★背筋を伸ばして観察できるように椅子の高さを調整すること。
- ★接眼レンズの視度調整をすること。
- ★コンデンサ（ステージの裏にあるレンズで上下に可動）は一番上にセットすれば、ほとんどの場合最適な像が得られます。見にくい場合は、コンデンサを上下させたり、開口絞りを調整すること。
- ★粗動ストッパーはさわらないこと。
- ★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こと。

ゼニゴケの観察

ゼニゴケの各部を観察し、指定されたスケッチを行うとともに、設問に答えなさい。スケッチと設問に対する解答は、解答用紙に描画、記入しなさい。スケッチにはその大きさを示すスケールバーを記しなさい。

観察 1. ゼニゴケの葉状体の腹面（下面）には仮根が生えています。仮根は、太さと細胞壁の模様から大きく 2 種類に分けられます。実体顕微鏡下で、仮根と仮根の生え方を観察しなさい。また、2 種類の仮根を光学顕微鏡で観察し、解答用紙にスケッチしなさい。仮根の観察には雄株、雌株のどちらを使ってもよい。（10 点）

【問題 1】 仮根は葉状体からどのように生えていましたか。仮根の生え方を記述しなさい。また、仮根の形態や生え方から考えて、仮根のはたらきについて記述しなさい。

（5 × 2 = 10 点）

観察 2. ゼニゴケは効率よく光合成を行うために、コケ植物の中でも特殊に分化した体のつくりをもっています。その「効率よく光合成を行うための体のつくり」が分かるように、葉状体の表面と断面を解答用紙にスケッチしなさい。葉状体の観察には雄株、雌株のどちらを使ってもよい。（20 点）

【問題 2】 スケッチで示した体の構造は、光合成をするうえでどのように効率が良いのでしょうか。解答用紙に記述しなさい。（5 点）

観察 3. ゼニゴケの雄器托には造精器が、雌器托には造卵器が形成されます。実体顕微鏡下で雄器托／雌器托の縦断切片をつくり、その断面を生物顕微鏡下で観察して、造精器／造卵器を見つけなさい。造精器は卵形で、造卵器はとっくり形（ボウリングのピンのような形）です。造卵器は受精後に形や大きさが変化します。

対物レンズを 40 倍にして、生物顕微鏡の視野の中央で造精器、造卵器が確認できたときは、手を挙げて付近のスタッフを呼んでください。造精器または造卵器が視野の中央で確認できた場合にのみ、スタッフは解答欄の右下にサインをします。視野の中央に見えた場合でも、器官の一部が欠けていたり、他の組織がじゃまをして見にくい場合は、時間があれば、もっとよいプレパラートを作成するとよいでしょう。スタッフはサインをしなかった場合は、もう一度プレパラートの他の場所を探るか、プレパラートを作り直して、再度スタッフを呼びなさい。スタッフがサインをしたら、造精器／造卵器を一つずつそれぞれの解答欄にスケッチしなさい。造精器／造卵器の確認は別々に行います。

造精器、造卵器が観察できた時には必ずスタッフの確認を受けてください。スタッフのサインがない場合は、減点の対象となります。（10 × 2 = 20 点）

【問題 3】 雌器托・雌器托柄の成長と造卵器の発生には、どのような関係が見られますか。解答用紙に記述しなさい。(7 点)

【問題 4】 あなたがスケッチした造卵器は次のどの発生段階のものですか。記号で答えなさい。(5 点)

- ア. 造卵器の形にはなっているが、卵がまだ未成熟の段階
- イ. 卵が成熟し、精子を受け入れるか、あるいは受精直後の段階
- ウ. 造卵器内で胚発生が始まった段階（造卵器の腹部の形は残っているが頸部は変色している）
- エ. 造卵器の内部で胞子体が成長し、造卵器全体がふくらんだ段階

【問題 5】 ゼニゴケの体は雄株と雌株に分かれていて、これを雌雄異株と呼んでいます。種子をつくる植物にも、たとえばイチヨウのように雌雄異株のものがあり、果実は雌株にしか実りません。同じ雌雄異株という呼び方ですが、ゼニゴケとイチヨウの雌雄性は生物学的な意味が異なります。それを説明する下の文章の（ ）内に適切な用語を入れ、文章を完成させなさい。用語は下の語群から選び、記号で答えなさい。(1 × 3 = 3 点)

ゼニゴケの雄株と雌株は（ ① ）にもとづくものであり、イチヨウの雄株と雌株は（ ② ）にもとづくものである。したがって、一つの花におしべとめしべが存在するサクラのような植物も、ゼニゴケと同じように（ ① ）からみれば、雌雄性は（ ③ ）ということになる。

- ア. 配偶体 イ. 胞子体 ウ. 雌雄同株 エ. 雌雄異株

観察 4. もう一度、ゼニゴケの体全体を肉眼あるいは実体顕微鏡で観察して、次の問いに答えなさい。

【問題 6】 雄器托や雌器托の構造から考えて、野外ではどのように受精が起こっていると考えられますか。解答用紙に記述しなさい。(5 点)

【問題 7】 ゼニゴケ類の葉状体の内部には、シアノバクテリア（らん藻）が共生していることがあります。また、ツノゴケ類は常にシアノバクテリアを共生させています。コケ植物にとって、シアノバクテリアを共生させる利点を解答用紙に記述しなさい。(5 点)

テッポウユリの花の観察

観察 5. テッポウユリの花を実体顕微鏡または光学顕微鏡で観察し、ゼニゴケの体（雄株と雌株）に相当する部分を解答用紙にスケッチで示し、その名称をスケッチ上に記入しなさい。(10 点)

観察 1

スケッチ（2種類の仮根）

問題 1（仮根の生え方）

（仮根のはたらき）

名札番号_____

氏名_____

観察 2

スケッチ（ゼニゴケの体のつくり 葉状体の表面と断面）

問題 2

観察 3

スケッチ（造精器）

TA サイン : _____

スケッチ（造卵器）

TA サイン : _____

観察 3 (つづき)

問題 3					
	問題 4	問題 5	①	②	③

観察 4

問題 6	
問題 7	

観察 5

スケッチ（テッポウユリの花の中でコケの雄株と雌株に相当する部分）

名札番号		氏名	
------	--	----	--

実験試験（動物）問題冊子

（平成 21 年 8 月 18 日）

- 1 机には、問題冊子および解答用紙 5 枚が配布されています。
- 2 説明が始まるまで、問題冊子を開いてはいけません。
- 3 解答開始の合図の後、すべての解答用紙に名札番号と氏名を記入しなさい。また、このページの右上の欄にも名札番号と氏名を記入しなさい。
- 4 解答用紙がばらばらにならないように、解答を書くとき以外は、昨日に配った広島大学のクリアファイルに入れて置いてください。
- 5 試験の途中で、気分が悪くなったり、用便のために外に出たりする場合は、手を上げて指示に従ってください。
- 6 試験の解答終了時刻は、最初の説明のあとで黒板に掲示されますので、よく注意しておいてください。
- 7 そのほかの注意などは、試験室内のモニターに映し出されますので、時々モニターを見てください。
- 8 解答終了後、解答用紙をすべて回収したあと、問題の説明を行います。問題の説明が終了したら、午前の試験のみ問題冊子は回収します。回収した問題冊子は午後の試験終了後に返却します。
- 9 この試験が終了したあと、昨日配布したピンセット 1 本とハサミは袋に入れて携帯し試験室を出てください。
- 10 机の上の鉛筆、消しゴム、定規、解剖バサミ、その他の実験用具などは自由に使ってください。試験終了後は元の位置に戻して置いてください。

動物の観察

【準備されているもの】

フタホシコオロギ（オス4匹，メス2匹、チャック付ポリ袋に入っている），バッタ類（1個冷凍したもの），アメリカザリガニ（1個体冷凍したもの），酢酸オルセイン，光学顕微鏡，実体顕微鏡，バット（中にゴム板あり），スライドグラス，カバーグラス，シャーレ，ビーカー，ピンセット，解剖バサミ，柄つき針，虫ピン，ろ紙，キムワイプ，キムタオル，ウエットティッシュ，水，問題用紙，解答用紙
足りなくなったものは手を上げてT Aに請求してください。

- ・フタホシコオロギを観察して解剖しなさい。また，指定のスケッチを行うとともに，設問に答えなさい。いずれも，解答用紙の指定位置に記入しなさい。なお，スケッチの内容や設問に関する質問は原則として受け付けない。
- ・解剖はゴム板の上で行い、虫ピンを使ったほうがよいでしょう。
- ・解剖顕微鏡のステージの上に直接コオロギを置き解剖をしないで下さい。シャーレかゴム板の上で行って下さい。

課題 1 【フタホシコオロギの観察と解剖】

フタホシコオロギの雌雄を配布しているのでそれらを観察しなさい。

チャック付ポリ袋の中のフタホシコオロギは脱脂綿に含ませたジエチルエーテルで麻酔させているので、フタホシコオロギを取り出したら直にチャックをしめて下さい。

麻酔が覚めてきて動き出したら再度チャック付ポリ袋に入れて下さい。麻酔が効かなくなっている人は手を上げて T A に知らせて下さい。ジエチルエーテルを注ぎ足します。

問 1. コオロギ雌雄を観察し、次の問に答えなさい。(5 点)

雌雄の外部形態の大きな違いはどのようなものか、次のうちから正しいものをすべて選び解答欄に記号を記入しなさい。

- A) メスは後翅がやわらかく先端が鋭いが、オスはしっかりと折りたたまれ先端が丸い。
- B) メスはオスに比べて後肢が長く太い。
- C) メスの前翅は翅脈が翅の先端に向かって平行に走っているが、オスの前翅は翅脈が複雑な形態である。
- D) メスは長い産卵管があるが、オスにはない。
- E) メスはオスに比べて大きな顎を持つ。

問 2. 外骨格について次のうちから正しいものを 1 つ選び解答欄に記号を記入しなさい。(5 点)

- A) 外骨格は石灰質で表皮から分泌されている無機的な外皮である。石灰質はほとんど炭酸カルシウムであり非常に硬い。
- B) 外骨格は炭酸カルシウムの結晶とコンキオリンと総称されるタンパク質を主とする間基質からなる。その構造は、多数の結晶が間基質によってつなぎ合わされたものである。
- C) 外骨格はリン酸カルシウム的一种であるハイドロキシアパタイトからできている。ハイドロキシアパタイトが約70%を占めている。

- D) 外骨格は表皮の角質が変化し硬化してできた板状の皮膚の付属器官のことをいう。主にタンパク質の一種であるケラチンから構成されている。
- E) 外骨格はクチクラでできている。クチクラの30～50%の成分はキチンで、これは多糖類の一種である。
- F) 外骨格はコラーゲン線維でできた線維層の上に硬い骨質層が重なっている重層した構造を基本とする。

スケッチ 1：コオロギの雌を頭部が左になるように置き体の左側面を観察しなさい。観察は以下のA～Jの構造と形態がわかるようにスケッチをしなさい。スケッチは必要に応じて複数の図を描いてよい（ただし、指定場所におさめること）。（10点）

A：触角 B：単眼 C：複眼 D：大顎（だいがく） E：小顎鬚（しょうがくしゅ） F：耳 G：後肢 H：前翅 I：気門 J：産卵管

問 3. 昆虫の単眼と複眼の形態と機能についての説明で次のうちから正しいものすべてを選び、解答欄に記号を記入しなさい。（5点）

- A) 昆虫の単眼はカメラと似た原理で働き焦点を結び白黒の像を形成する。
- B) 昆虫の単眼はカメラと似た原理で働き焦点を結びカラーの像を形成する。
- C) 昆虫の単眼は明暗を感じるだけである。
- D) 昆虫の複眼は数千にのぼる単眼からなる。個々の単眼に入ってくる光の強さの違いがモザイク像をつくる。昆虫の脳がその視覚情報を統合する時像を鮮明化すると考えられている。多くは色覚を持っている。
- E) 昆虫の複眼は数千にのぼる個眼からなる。個々の個眼に入ってくる光の強さの違いがモザイク像をつくる。昆虫の脳がその視覚情報を統合する時像を鮮明化すると考えられている。色覚を持っている種類もある。
- F) 昆虫の複眼は数千にのぼる個眼からなる。個々の個眼に入ってくる光の強さの違いがモザイク像をつくる。昆虫の脳がその視覚情報を統合する時像を鮮明化すると考えられている。色覚は全くもっていない。

問4. コオロギのオスは音をだす。その様子について次のうちから正しいものを一つ選び、解答欄に記号を記入しなさい。(5点)

- A) 左右の前翅を個別に震えさせ、その振動で音をだしている。
- B) 左右の後翅を個別に震えさせ、その振動で音をだしている。
- C) 左右の前翅を交差させ翅をこすりあわせその振動で音をだしている。
- D) 左右の後翅を交差させ翅をこすりあわせその振動で音をだしている。
- E) 胸部基部にある一対の発音筋に連なる発音膜を振動させ、さらに腹部の共鳴室で音を増幅して大きな音にしている。
- F) 腹部基部にある二対の発音筋に連なる発音膜を振動させ、さらに腹部の共鳴室で音を増幅して大きな音にしている。

スケッチ2: フタホシコオロギを解剖器具を用いて体を切開し、以下の消化器系A～Dと心臓Eの位置と形態がわかるように示しなさい。体全体の図は解答用紙に描いているのでその中に記入すること。(10点)

A: 前腸(素囊), B: 中腸, C: 後腸, D: マルピーギ管, E: 心臓

問5. 昆虫類などの陸生の節足動物には、含窒素老廃物を除去し、浸透圧調節にも機能するマルピーギ管と呼ばれる器官がある。マルピーギ管の仕組みについて記述している次の文章のA～D中に最適な語を解答欄に記入しなさい。(10点)

マルピーギ管は、に浸され、消化管に開くである。マルピーギ管内層の輸送上皮が、含窒素老廃物を含む特定の溶質をからマルピーギ管の内腔に分泌する。水が浸透によって溶質に付随してマルピーギ管に入り、溶液はに移動し、そこでほとんどの溶質がに吸い戻される。水が再び溶質に伴って吸収されるので、主として不溶性のである含窒素老廃物はほとんど乾燥した物質として糞便とともに除去される。

問6. 昆虫の主な神経系の構築について説明している文章について、次のうちから正しいものを一つ選び、解答欄に記号を記入しなさい。(10点)

- A) 神経系は体全体に神経網で構成されている。
- B) 動物の中でもっとも単純な中枢神経系は脳と縦走する神経索から構成されている。
- C) 神経系は脳神経節，足神経節，内臓神経節から主に構成されている。
- D) 中枢神経系は脳，各節ごとにニューロンが集まった神経節，から構成されている。
- E) 中枢神経系は脳と多様な機能をするところにある多くの神経節で構成されている。
- F) 中枢神経系は脳と脊髄で構成されている。

問7. コオロギは開放血管系である。血液が器官を直接浸している。昆虫の開放血管系について説明している文章について、次のうちから正しいものを一つ選び、解答欄に記号を記入しなさい。(10点)

- A) 心臓は，血リンパを血脈洞に押し出す。押し出された血リンパは化学物質交換をし，静脈血と呼ばれる。静脈血は心臓が収縮する時に閉じる弁を備えた心門を経て心臓に戻る。
- B) 心臓は，血リンパを血脈洞に押し出す。押し出された血リンパは化学物質交換を行い静脈血と呼ばれる。静脈血は心臓が弛緩する時に閉じる弁を備えた心門を経て心臓に戻る。
- C) 心臓は，血リンパを血脈洞に押し出す。血リンパは，心臓が収縮する時に閉じる弁を備えた心門を経て心臓に戻る。
- D) 心臓は，血リンパを血脈洞に押し出す。血リンパは，心臓が弛緩する時に閉じる弁を備えた心門を経て心臓に戻る。
- E) 心臓は，血リンパを血脈洞に押し出す。血リンパは，心臓が収縮する時に閉じる弁を備えた心門を経て心臓に戻る。開放血管系は血液を細胞間に押し出すので閉鎖血管系の動物と同じくらい圧力が高い。

F) 心臓は、血リンパを血脈洞に押し出す。血リンパは、心臓が弛緩する時に閉じる弁を備えた心門を経て心臓に戻る。開放血管系は血液を細胞間に押し出すので閉鎖血管系の動物より圧力が低い。

課題2 【フタホシコオロギの雄を用いた減数分裂の観察】(10点)

薬品と器具は机上にセットしているものを用いて下さい。

方法

- (1) エチルエーテルで麻酔され動かなくなったフタホシコオロギを取り出し、下側から腹部を親指と人差し指でつまみ、フタホシコオロギ背側正中線のところを尾部から外骨格だけを切り開くつもりでハサミを使用して切り開く。
- (2) ピンセットで切り口を広げると、左右1対の精巣が消化管の側面にある。それを摘出する。
- (3) 摘出した精巣を蒸留水で洗う。薄い膜や余分な脂肪等がついてきた場合には、ピンセットで取り除く。精巣の中から半透明でバナナの房状をしたものを数個取り出す。
- (4) 取り出した房状のものを2～3本に小分けし、スライドグラス上にのせる。酢酸オルセインを滴下し約5分間染色する。染色した精巣の上にカバーグラスをかける。カバーグラスの上にもろ紙を載せてその上から親指の腹で体重をかけるつもりで一気に押しつぶし検鏡する。二度も三度も押しつぶさないほうが良い。プレパラートの作成は何度試みても良い。
- (5) 減数分裂中の染色体を確認できたら挙手しTAの確認を取って下さい。この時染色体のプレパラートをステージにのせ、視野の中心に染色体を観察できるようにし、染色体にフォーカスを合わせ、対物レンズを×40にし、絞りをほぼ最適な条件に調整しておきなさい。ここでTAを呼び、良い状態で観察できているか、確認してもらう。なお、確認は1度のみとする。

課題3 【フタホシコオロギとバッタ類との比較】(10点)

フタホシコオロギは歩き回ったり飛び跳ねたりして行動する、一方バッタ類

は歩き回ったり飛び跳ねたりさらに飛翔するという行動をとる。この行動を考慮した上で次の質問に答えなさい。

なお、解剖器具を使用してそれぞれの種を自由に解剖して良い。

問 8. 両者を比べて、飛翔によりよく適応しているのはバッタ類であるが、飛翔を可能にしている形態を一つあげて両者の違いについて説明しなさい。

問 9. 両者を比べて、硬い植物を食べるのによりよく適応しているのはバッタ類であるが、それを可能にしていると考えられる形態を一つ上げて両者の違いについて説明しなさい。

問 10. バッタ類の種類の中で植上性であるものは植物上を歩いたり、しがみついたりする。この特徴を説明できる部位をフタホシコオロギの同じ部位との比較で説明しなさい。

問 11. バッタ類は昼行動し、フタホシコオロギは夜行動することが知られている。この行動する上で特徴的な形態を記しその理由を説明しなさい。

課題 4 【フタホシコオロギとアメリカザリガニの比較】(10点)

フタホシコオロギとアメリカザリガニの外部形態を比較した上で次の質問に答えなさい。(10点)

なお、解剖器具を使用してそれぞれを自由に解剖して良い。

問 12. フタホシコオロギとアメリカザリガニに共通に見られる形態を次の A～X から選びすべてを解答欄に記入しなさい。

問 13. フタホシコオロギにだけ見られる形態を次の A～X から選びすべてを解答欄に記入しなさい。

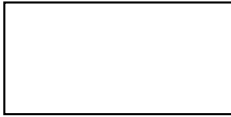
問 1 4. アメリカザリガニにだけ見られる形態を次の A ~ X から選びすべてを解答欄に記入しなさい。

- A : 体制は左右相称である
- B : 体制は放射相称である
- C : 体節をもたない
- D : 体節は頭胸部と腹部に分かれる
- E : 体節は頭部, 胸部, 腹部に分かれる
- F : 眼は単眼だけである
- G : 眼は複眼だけである
- H : 眼は単眼と複眼の両方もつ
- I : 歩脚は 3 対である
- J : 歩脚は 4 対である
- K : 歩脚は 5 対である
- L : 心臓は体の中心より背中側にある
- M : 心臓は体の中心部にある
- N : 心臓は体の中心より腹側にある
- O : 血液は赤色である
- P : 血液は紫色である
- Q : 血液は無色である
- R : 神経系は体の中心より背中側にある
- S : 神経系は体の中心部にある
- T : 神経系は体の中心より腹側にある
- U : 呼吸は体表で行う
- V : 呼吸は鰓で行う
- W : 呼吸は肺で行う
- X : 呼吸は気門で行う

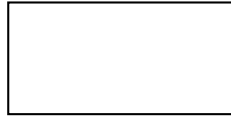
名札番号 _____ 氏名 _____

課題 1 【フタホシコオロギの観察と解剖】

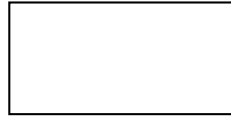
問 1



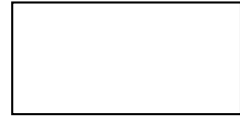
問 2



問 3

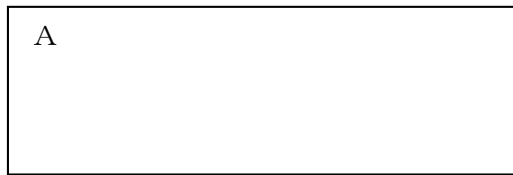


問 4

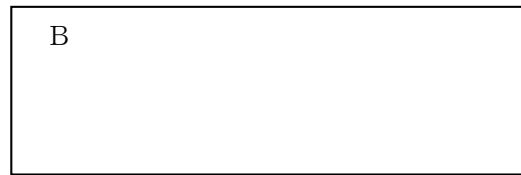


問 5

A



B



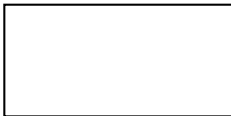
C



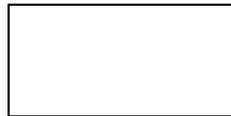
D



問 6

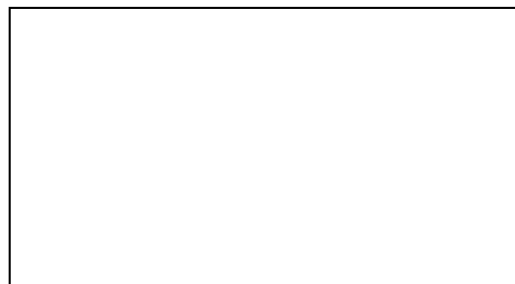


問 7



課題 2 【フタホシコオロギの雄を用いた減数分裂の観察】

チェック欄



名札番号 _____ 氏名 _____

課題 3 【フタホシコオロギとバッタ類との比較】

問 8

問 9

問 1 0

問 1 1

名札番号 _____ 氏名 _____

課題 4 【フタホシコオロギとアメリカザリガニの比較】

問 1 2

--

問 1 3

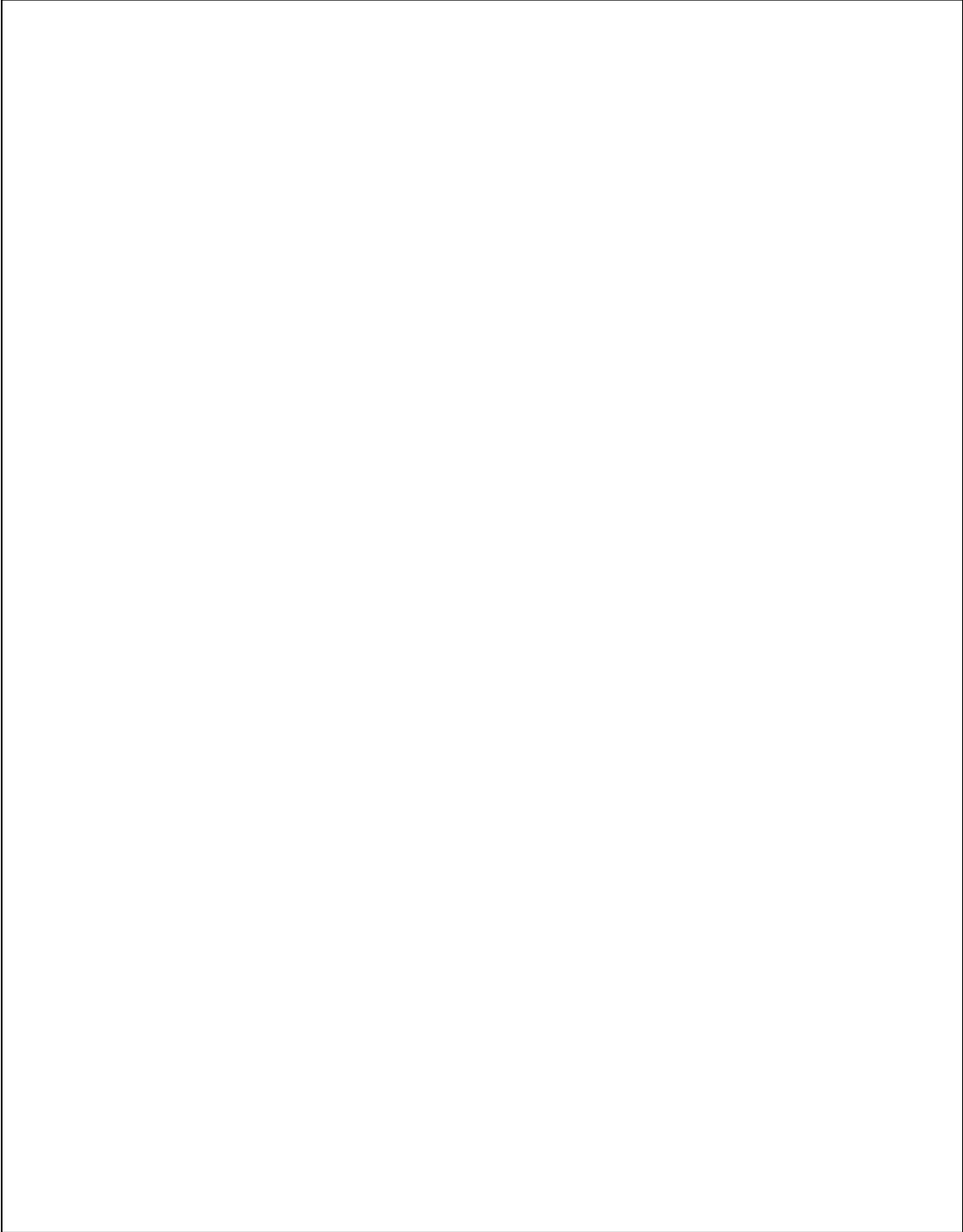
--

問 1 4

--

名札番号 _____ 氏名 _____

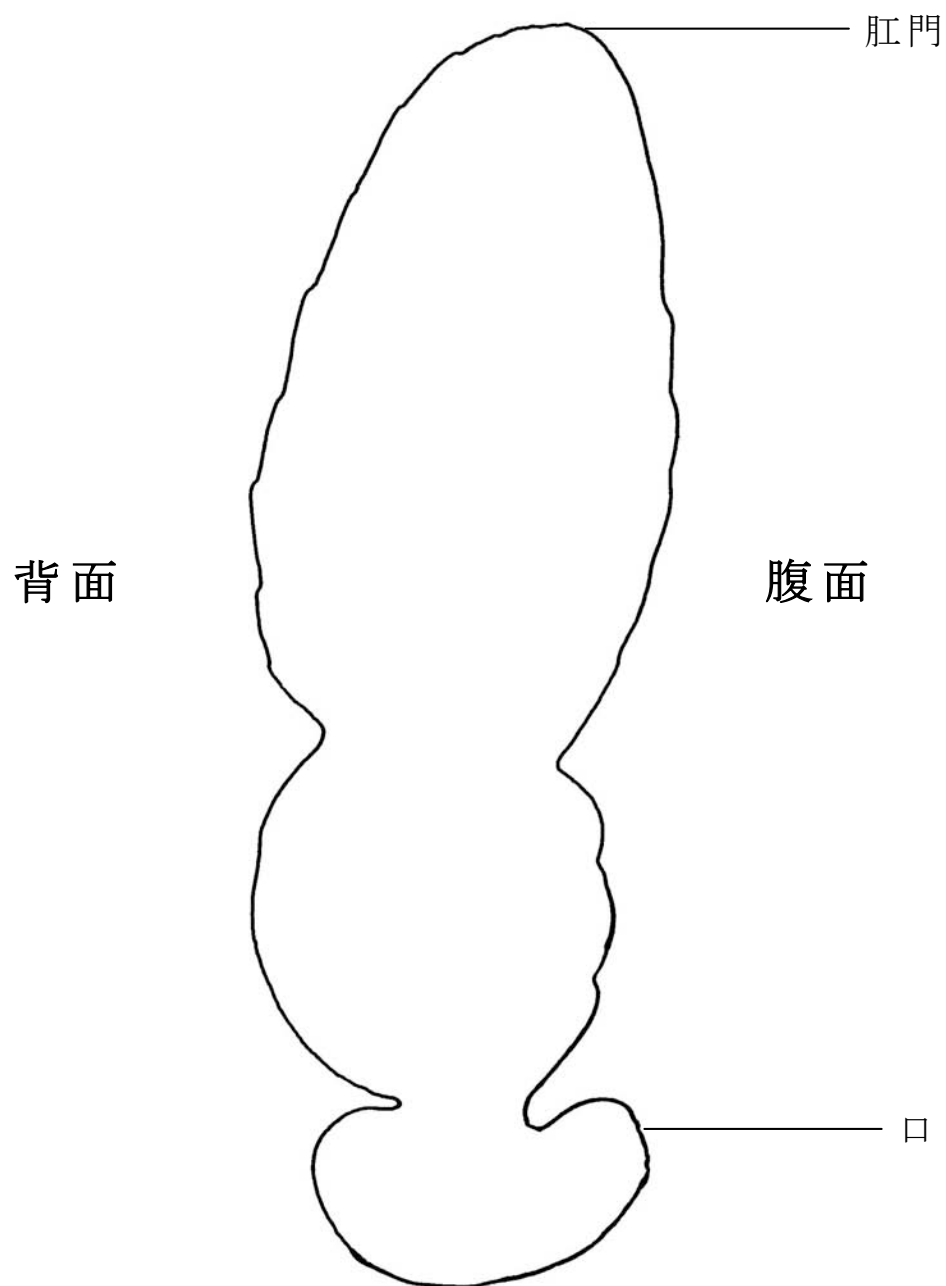
スケッチ 課題 1

A large, empty rectangular box with a thin black border, intended for a sketch. It occupies the majority of the page below the header and title.

名札番号 _____ 氏名 _____

スケッチ 課題 2

【フタボシコオロギの縦断面】



名札番号		氏名	
------	--	----	--

実験試験（生化学）問題用紙

（平成 21 年 8 月 18 日）

- 1 机には、問題冊子、解答用紙 3 枚および別紙（1－5）が配布されています。
- 2 説明が始まるまで、問題用紙を開いてはいけません。
- 3 解答開始の合図の後、すべての解答用紙に名札番号と氏名を記入しなさい。また、このページの右上の欄、および別紙の 1 枚目にも名札番号と氏名を記入しなさい。
- 4 解答用紙がばらばらにならないように、解答を書くとき以外は、昨日に配った広島大学のクリアファイルに入れて置いてください。
- 5 試験の途中で、気分が悪くなったり、用便のために外に出たりする場合は、手を上げて指示に従ってください。
- 6 試験の解答終了時刻は、最初の説明のあとに黒板に掲示されますので、よく注意しておいてください。
- 7 そのほかの注意などは、試験室内のモニターに映し出されますので、時々モニターを見てください。
- 8 解答終了後、解答用紙をすべて回収したあと、問題の説明を行います。問題の説明が終了したら、午前の試験のみ問題用紙および別紙は回収します。回収した問題用紙および別紙は午後の試験終了後に返却します。
- 9 机の上の鉛筆、消しゴムなどは自由に使ってください。試験終了後は元の位置に戻して置いてください。

実習解説：DNA、制限酵素、アガロースゲル電気泳動

ピペット・遠心機・フロート・電気泳動装置の操作手順

流れ（合計 180 分）

説明 20 分

正味の実験時間 135 分（2 時間 15 分）

作業 1 15 分

作業 2 20 分

作業 2 酵素反応 20 分

作業 3 電気泳動・ゲル撮影 50 分

解答時間 30 分

解答用紙回収（5 分？）

解説 10 分

問題用紙回収

片付け 5 分

ゲル板に蛍光ペンでラベル・セロハンテープでシール

生化学実験 問題用紙

課題 1 DNA の制限酵素切断と産物のアガロースゲルによる分離

制限酵素は、バクテリアが外部ウィルスなどの外来 DNA の侵入を防ぐために体内に保持しているものであり、多くの場合、回文構造をもった特定の 4～8 塩基対の構造を認識し、DNA を特異的に切断する酵素である。この制限酵素は、遺伝子工学などの分野で広く用いられている。本実験では、金属イオンが制限酵素活性に与える影響を *EcoR* I と *Sal* I の 2 つの制限酵素を用いて調べる。

用意されているもの

チューブに入っている試薬類

直線状 DNA(2700bp)、制限酵素 2 種(*EcoR* I と *Sal* I)(氷箱中)、ストック溶液(Tris, MgCl₂, NaCl, DTT)、水、EDTA、ローディング色素 (LD)、DNA サイズマーカー (M)

器具類

電気泳動装置 (名札番号がラベルされたアガロースゲルがセットされている)、マイクロピペット、プラスチック製チューブ (以下、チューブ)、チューブ立て、イエローチップ (以下、チップ)、チップケース、マーカーペン、フロート、廃チップ入れ (紙コップ)

遠心機 (2 人で 1 台を使用)

キムワイブ

共通で使用するもの (教室の前後の教卓上にある)

37℃インキュベーター (スタッフが操作)、ゲル撮影装置 (スタッフが操作)

<注意点>

- 途中で試薬類やチューブ・チップ類が無くなった場合はスタッフを呼ぶこと。ただし、アガロースゲルは電気泳動装置にセットされている 1 枚しか使用できない。
- 遠心機、マイクロピペット、フロート、電気泳動装置の使用方法は、別紙 1～4 および問題用紙 4 頁目の説明を参考にせよ。使い方が不明な場合や器具が不調な場合はスタッフを呼ぶこと。
- 以下の作業 1 及び作業 2 のバッファー (緩衝液) の調製と酵素反応は、すべてチューブを用いて行うこと。
- チップが溜まった廃チップ入れ (紙コップ) は途中でスタッフが空にする。
- 実験終了時刻までに電気泳動が完了しない場合でも、解答の解説中にゲル撮影を行うので時間内に進められるところまで実験を行うこと。

作業 1 : バッファーの調製

まず、実際の酵素反応の際に使用する濃度の 10 倍濃い濃度のバッファー（緩衝液）を調製する（x10 バッファーと呼ぶ。これを反応液に 1/10 量（体積比）加えることで適切な組成になる）。

以下の試薬がストック溶液（実際に使用する濃度よりも濃い溶液）として用意されている。

1 M Tris-HCl (pH7.5), 1 M MgCl₂, 4 M NaCl, 100 mM DTT (ジチオスレイトール)

なお、M とは体積モル濃度 mol/L を示す。

これらのストック溶液と水を用いて下の組成の 3 種類の x10 バッファーを 20 μ lずつ調製する。

【問 1】 それぞれのストック溶液からの分注量を解答欄に記入せよ。 (6 点)

この表にしたがって x10 バッファーを調製せよ。

また、チューブの蓋に x10 バッファーの種類が分かるようにマーカーペンで記入しておくこと。試薬類を入れた後は、指で軽くチューブをはじくことで液を混和し、遠心機で液をチューブの底に集めておくこと（遠心は数秒でよい）。なお、チップは試薬毎に交換し、使用後のチップは廃チップ入れ（紙コップ）に捨てること。x10 バッファーを調製し終わったら作業 2 へ進む。

3 種類の x10 バッファーの組成

- 1) x10 標準バッファー (x10 Buf.) : 100 mM Tris-HCl (pH7.5), 100 mM MgCl₂, 500 mM NaCl, 10 mM DTT
- 2) x10 Mg 未添加バッファー (x10-Mg) : 100 mM Tris-HCl (pH7.5), 500 mM NaCl, 10 mM DTT
- 3) x10 Na 未添加バッファー (x10-Na) : 100 mM Tris-HCl (pH7.5), 100 mM MgCl₂, 10 mM DTT

組成表（解答の下書きとして欄を使用してもよいが、解答用紙【問 1】に値を記入すること）

ストック チューブ ラベル 溶液等	1 M Tris-HCl (pH7.5)	1 M MgCl ₂	4 M NaCl	100 mM DTT	水	合計
x10 Buf.	μ l	μ l	μ l	μ l	μ l	20 μ l
x10-Mg	μ l	μ l	μ l	μ l	μ l	20 μ l
x10-Na	μ l	μ l	μ l	μ l	μ l	20 μ l

作業 2：酵素反応

作業 1 で調製した 3 種類の x10 バッファーを用いて *EcoR* I と *Sal* I の 2 種類の制限酵素で 2700bp の直線状の DNA を切断する反応を行う。チューブの蓋にマーカーペンで記入する番号は、電気泳動の際のウェル（穴）の番号と対応させるために以下の通り 3～10 とすること。

各チューブには DNA を 5 μl 、制限酵素を各種類 1 μl ずつ用い、最終反応液量を 20 μl とする。

下の組成表にある x10 バッファーと制限酵素の組み合わせで反応する。

【問2】 その際の分注量を解答欄に記入せよ。

(8 点)

この表にしたがって反応液を調製せよ。

試薬類を入れた後は、指で軽くチューブをはじくことで液を混和し、遠心機で液をチューブの底に集めておくこと（遠心は数秒でよい）。また、チップは試薬毎に交換し、使用後のチップは廃チップ入れ（紙コップ）に捨てること。なお、前述の通り、作業 1 で調製した x10 バッファーは反応液に 1/10 量（体積比）加えることで適切な組成になる。

液を作り終えたらチューブをフロートに差し込み（番号が書いているほうを上にする）、拳手をしてスタッフを呼び、フロートを手渡すこと。 スタッフが 37℃のインキュベーター（ウォーターバス）に入れに行く。

その後、各自で 15 分を計り、拳手をしてスタッフを呼び、酵素反応時間が終了したことを伝えること。 スタッフがチューブの回収に行くので、フロートの番号と名札番号が同じであることを確認して受け取り、作業 3 へ進む。

この 15 分の酵素反応中に課題 2 を行え。

組成表（解答の下書きとして欄を使用してもよいが、解答用紙【問 2】に値を記入すること）

チューブ 番号 試薬類	3	4	5	6	7	8	9	10
DNA	μl	μl	μl	μl	μl	μl	μl	μl
x10 バッ ファー	x10 Buf. μl	x10 Buf. μl	x10 Buf. μl	x10 Buf. μl	x10-Mg μl	x10-Mg μl	x10-Na μl	x10-Na μl
水	μl	μl	μl	μl	μl	μl	μl	μl
制限酵素 名と量	なし μl	<i>EcoR</i> I μl <i>Sal</i> I μl	<i>EcoR</i> I μl	<i>Sal</i> I μl	<i>EcoR</i> I μl	<i>Sal</i> I μl	<i>EcoR</i> I μl	<i>Sal</i> I μl
合計	20 μl	20 μl	20 μl	20 μl	20 μl	20 μl	20 μl	20 μl

作業 3：電気泳動

すべての反応チューブに EDTA を $2\ \mu\text{l}$ ずつ加え反応を停止させ、さらにローディング色素 (LD) を $2\ \mu\text{l}$ ずつ加える。試薬類を入れた後は、指で軽くチューブをはじくことで液を混和し、遠心機で液をチューブの底に集めておくこと (遠心は数秒でよい)。

その後、溶液から $20\ \mu\text{l}$ ずつとり電気泳動を行え。

電気泳動の手順を以下に示す。操作で不明な点や不具合があったらすぐにスタッフを呼ぶこと。

- 1) 本体の右上の穴に電源コードを差し込む (赤いランプが点灯する)。
- 2) 右上のボタンを緑のランプが点滅するまで長く押し、プレ電気泳動を行う (プレ電気泳動中は緑のランプは点滅し続ける)。2 分で自動停止する。終了時は赤色のランプが点滅しブザーが鳴るので、右上のボタンを押しブザーを止める (赤いランプが点灯する)。

注意！！ブザー音が鳴ったら、ただちにボタンを押し、ブザー音を消すこと。

プレ電気泳動が終了した時点で挙手をしてスタッフを呼ぶこと。スタッフがコーム (くし) を取り除く。なお、アガロースゲル中には発ガン性の臭化エチジウムが含まれているため、コームを取り除いた後に露出するウェル (穴) を素手で触らないこと。

- 3) 各ウェルに番号と対応した反応液を $20\ \mu\text{l}$ ずつ注入する。
- 4) ウェル番号 2 と 11 には、DNA サイズマーカー (M) を $20\ \mu\text{l}$ ずつ注入する。
- 5) ウェル番号 1 と 12 には、水を $20\ \mu\text{l}$ ずつ注入する。
- 6) 右上のボタンを緑のランプが点灯するように押し、電気泳動を行う (電気泳動中は緑のランプは点灯し続ける)。途中で泳動が進んでいるかを青色のローディング色素の移動により確認すること。約 30 分で自動停止する。終了時は赤色のランプが点滅しブザーが鳴るので、ボタンを押しブザーを止める (赤いランプが点灯する)。この電気泳動中に課題 2 を行え。
- 7) 電気泳動が終了したら、挙手をしてスタッフを呼び、ゲルの写真を撮ってもらう。写真はスタッフが持ってくるので着席したまま待つておくこと (課題 2 の続きを行っていてもよい)。

注意！！ブザー音が鳴ったら、ただちにボタンを押し、ブザー音を消すこと。

【問 3】電気泳動写真を解答用紙の所定の位置に両面テープ (はくり紙を取る) で貼り付けよ。(20 点)

【問 3】の電気泳動写真を見て、以下の【問 4】～【問 7】に答えよ。

なお、解答はすべて解答欄に記入せよ。

【問 4】

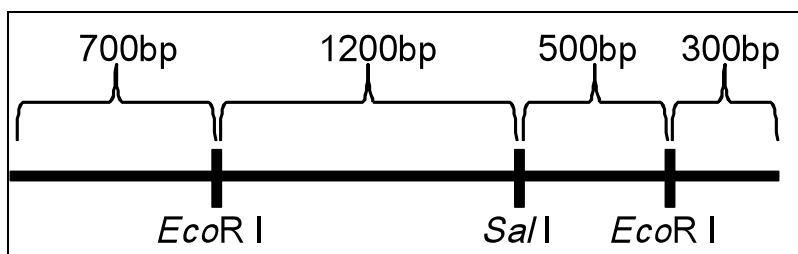
DNA サイズマーカーは、上から 5000bp, 3000bp, 2000bp, 1500bp, 1000bp, 750bp, 500bp, 250bp, 100bp である。1000bp のバンドは他のバンドの約 3 倍の強度で観察される。

まず、x10 標準バッファー (x10 Buf.) を用いた実験から、*EcoR* I と *Sal* I で切断される部位の数とそれぞれの制限酵素認識部位の位置が DNA のどこにあるかを推定せよ。解答は、以下の例にしたがって記入せよ。また、そのように推定した理由を説明せよ。

なお、この電気泳動では 100bp より小さい DNA 断片は検出されない。

(10 点)

例 長さ (bp) は DNA サイズマーカーと比較して判断し、大まかな数値でよい。



【問 5】

作業 3 で反応終了後に EDTA を加えるのは 2 価の金属イオンを吸着させ、酵素反応を停止させるためである。このことと x10 Mg 未添加バッファー (x10-Mg) を用いた実験から、両制限酵素における Mg イオンの働きについてどのようなことが考察できるかを述べよ。

(10 点)

【問 6】

両制限酵素において、x10 標準バッファー (x10 Buf.) の NaCl を KCl に変えても酵素活性に変化がないことを先行実験で確認している。また、NaCl や KCl をより高濃度にすると、両制限酵素ともに活性増加が見られた。このことと x10 Na 未添加バッファー (x10-Na) を用いた実験から、両制限酵素における Na イオンの働きについてどのようなことが考察できるかを述べよ。

(10 点)

【問 7】

今回の実験ではバッファーの金属イオン組成を変えて酵素反応を行ったが、これ以外に酵素活性に影響を与える条件について、知っていることを具体的な条件や酵素の例を挙げて述べよ。この場合の酵素は制限酵素に限る必要はない。

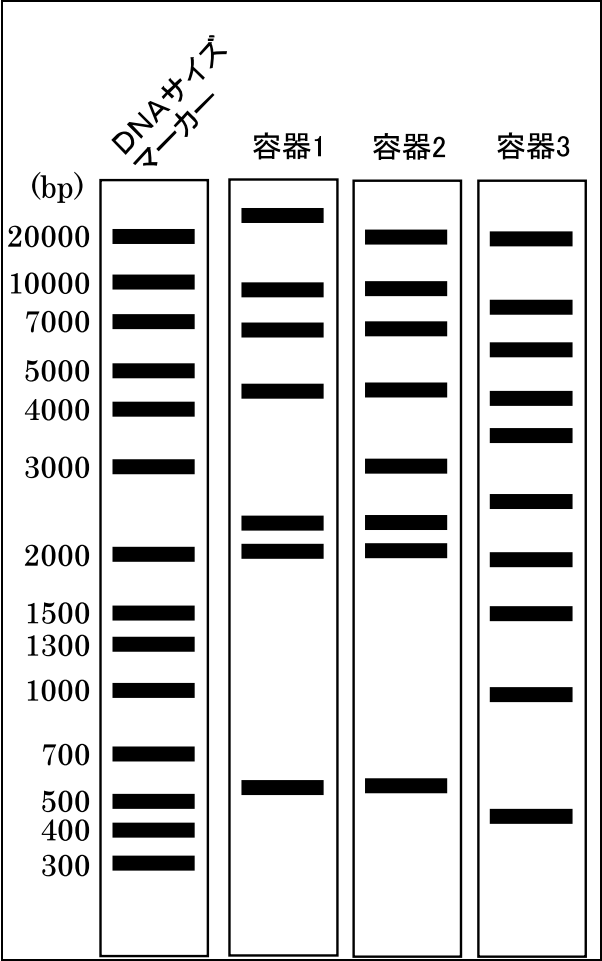
(10 点)

課題 2 制限酵素の解析

課題 1 の酵素反応中（15 分）および電気泳動中（約 30 分）に、以下の課題に答えよ。電気泳動が終了したら課題 1 に戻り、この課題 2 の続きは課題 1 のゲル撮影後に行っても構わない。

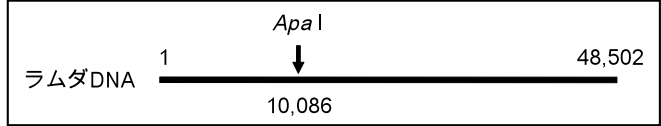
別紙 5 の表にあるいずれかの制限酵素を 1 種類ずつ入れていたはずの 3 本の容器のラベルが、保存中に何らかの原因で消えてしまった。それらの容器を仮に番号 1、2、3 と付け直し、容器中にどのような制限酵素が入っていたのかを解析するために、以下の実験を行った。

直線状の DNA であるラムダ DNA（48502bp）をそれぞれの容器中の制限酵素で切断後、電気泳動により分離することで以下のような電気泳動パターンを得た（模式的にバーで示してある）。下記の補足を踏まえた上で、以下の【問 8】～【問 11】に答えよ。なお、解答はすべて解答欄に記入せよ。



補足 1；この条件で電気泳動すると、200bp より小さい DNA 断片は検出することができなかった。

補足 2；別紙 5 の表は各制限酵素がラムダ DNA を切断する数と部位を示している。この表の見方の例を *Apa* I を用いて以下に説明する。



Apa I の“10,086”は、端 (1) から 10086bp の位置に *Apa* I で切れる部位が 1 ヶ所あることを示す。

【問 8】

容器 1 と容器 3 の制限酵素でそれぞれ処理した DNA の電気泳動パターンから判断して、それぞれの容器に入っていた制限酵素を表から選び、理由とともに記せ。(10 点)

【問 9】

容器 2 の制限酵素で処理した DNA の電気泳動パターンから判断すると、最初に 1 種類の制限酵素を入れておいたはずの容器 2 の中に、容器 1 の制限酵素が混入してしまったと考えられる。容器 2 に最初に入っていた制限酵素を表から選び、理由とともに記せ。(6 点)

【問 10】

この実験で用いたラムダ DNA は直線状であるが、仮にこれをすべて環状 DNA にしたものを用いた場合、制限酵素処理した後に電気泳動をすると、直線状 DNA を用いた場合と比較してバンドパターンにはどのような違いが見られるかを理由とともに記せ。(5 点)

【問 11】

今回の電気泳動パターンは模式的にバーで示してあるが、実際に観察される制限酵素で処理した DNA のバンドはバンドサイズによって染色具合が異なっている。どのように異なっているかを理由とともに記せ。(5 点)

制限酵素	切断数	切断部位													
<i>Apa</i> I	1	10,086													
<i>Nar</i> I	1	45,679													
<i>Nhe</i> I	1	34,679													
<i>Xba</i> I	1	24,508													
<i>Xho</i> I	1	33,498													
<i>Nae</i> I	1	20,040													
<i>Axy</i> I	2	26,717	34,318												
<i>Kpn</i> I	2	17,053	18,556												
<i>Pme</i> I	2	8,459	16,293												
<i>Sac</i> I	2	24,772	25,877												
<i>Sal</i> I	2	32,745	33,244												
<i>Tth</i> 111 I	2	11,202	36,120												
<i>Afl</i> II	3	6,540	12,618	42,630											
<i>Eco</i> 0109 I	3	2,815	28,797	48,473											
<i>Pvu</i> I	3	11,933	26,254	35,787											
<i>Sma</i> I	3	19,397	31,617	39,888											
<i>Alw</i> 44 I	4	5,619	21,798	27,173	40,216										
<i>Nco</i> I	4	19,329	23,901	27,868	44,248										
<i>Sac</i> II	4	20,320	20,530	21,606	40,386										
<i>Bam</i> H I	5	5,505	22,346	27,972	34,499	41,732									
<i>Eco</i> R I	5	21,226	26,104	31,747	39,168	44,972									
<i>Nru</i> I	5	4,590	28,050	31,703	32,407	41,808									
<i>Sca</i> I	5	16,421	18,684	25,685	27,263	32,802									
<i>Bgl</i> II	6	415	22,425	35,711	38,103	38,754	38,814								
<i>Bss</i> H II	6	3,522	4,126	5,627	14,815	16,649	28,008								
<i>Hind</i> III	6	23,130	25,157	27,479	36,895	37,459	44,141								
<i>Sph</i> I	6	2,212	12,002	23,942	24,371	27,374	39,418								
<i>Stu</i> I	6	12,434	31,478	32,997	39,992	40,596	40,614								
<i>Eco</i> T38 I	7	581	10,086	19,763	21,570	24,772	25,877	39,453							
<i>Mlu</i> I	7	458	5,548	15,372	17,791	19,996	20,952	22,220							
<i>Nde</i> I	7	27,630	29,883	33,679	36,112	36,668	38,357	40,131							
<i>Nsp</i> V	7	18,048	25,884	27,980	29,150	30,396	34,331	42,637							
<i>Ava</i> I	8	4,720	19,397	20,999	27,887	31,617	33,498	38,214	39,888						
<i>Bcl</i> I	8	8,844	9,361	13,820	32,729	37,352	43,682	46,366	47,942						
<i>Acc</i> I	9	2,190	15,260	18,834	19,473	31,301	32,745	33,244	40,201	42,921					
<i>Aat</i> II	10	5,105	9,394	11,243	14,974	29,036	40,806	41,113	42,247	45,563	45,592				
<i>Dra</i> III	10	2,954	5,613	6,635	8,999	14,477	30,365	31,909	41,479	47,312	48,434				
<i>Sty</i> I	10	19,329	21,211	23,901	24,322	24,396	27,868	28,793	35,016	36,505	44,248				
<i>Age</i> I	13	4,730	4,879	6,561	10,550	10,935	16,975	19,112	19,291	19,623	19,694	22,078	31,825	40,452	
<i>Bst</i> E II	13	5,687	7,058	8,322	9,024	13,348	13,572	13,689	16,012	17,941	25,183	30,005	36,374	40,049	
<i>Bst</i> X I	13	2,855	6,706	8,413	8,850	10,915	13,263	14,338	18,029	19,741	21,622	34,596	38,292	46,434	
<i>Dra</i> I	13	90	8,460	16,294	23,110	23,284	25,436	26,132	26,665	32,703	36,302	36,530	38,833	47,429	

遠心機の使い方

(チューブの壁に飛び散った溶液を底に集めるために数秒間遠心する)



ローター

カバー開閉ボタン(PUSH)

タイマーボタン

(5min, 10min, 30minの
どれでも可)

1. ローターにチューブを対称にセットする(下図参照)。
2. タイマーボタンのどれかを押し、ランプを点灯させる。
3. 蓋を閉め、3秒間程度でカバー開閉ボタン(PUSH)を押し。
4. 回転が完全に止まってからチューブを取り出す。

注意点)

- ・ 上記の1と2の手順が入れ替わっても問題ない(初めからランプが点灯していても可)。
- ・ 2人で1台を使用する。
- ・ 交代で使うこと。サンプルの取り違いがあってはいけないので、2人で同時に使わない。
- ・ チューブは1度に6本までしかセットできない。
- ・ うまく使えないときはスタッフを呼ぶ。

マイクロピペットの使い方 (溶液を正確に量りとるときに使う)



プッシュボタン(黄色)

ロックハンドル(黒)

エジェクタボタン

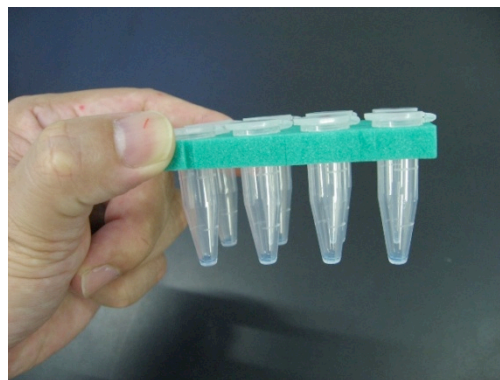
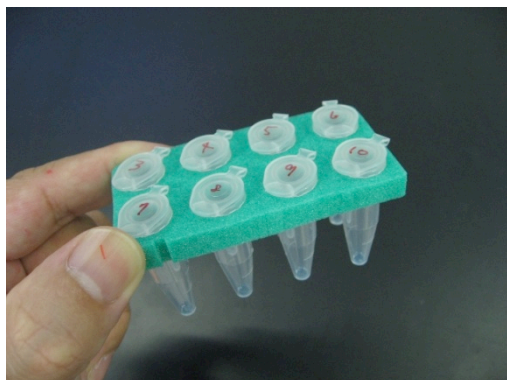
ノズル
チップ

1. ロックハンドルを解除し、量りとりたい容量に合わせ、ロックを締める。
2. ノズルにチップを装着する。
3. プッシュボタンを1段階目で止まるところまで押し下げる。
4. チップの先を液面に付け、ゆっくりとプッシュボタンを戻して溶液を吸引する。
5. 溶液を注入したい容器に挿入し、プッシュボタンをゆっくり押し下げて溶液を排出する。
1段階目から2段階目まで押し下げて全ての液を排出する。
6. エジェクタボタンを押してチップを廃チップ入れに捨てる。

注意点)

- ・ 試薬毎にチップを交換する。同じ試薬でもチップの先端が別の溶液と接触した場合は交換する。
- ・ 液量表示窓の数字の線が引かれた位置が小数点を意味する。
- ・ $1\mu\text{l}$ を量り取る際にもこのマイクロピペットを使用する。
- ・ うまく使えないときはスタッフを呼ぶ。

フロートの使い方 (作業2でチューブをインキュベーターにセットするときを使う)



1. チューブの蓋を完全に閉め、遠心(別紙1参照)する。
2. フロートに奥まで差し込む(上の写真参照)。
3. 挙手をしてスタッフを呼びフロートを渡す。
4. スタッフがインキュベーターへ。
5. 各自で15分を計った後、挙手をしてスタッフを呼び、酵素反応時間が終了したことを伝える。
6. スタッフがフロートを回収に行く。
7. フロートの番号と名札番号が同じであることを確認する。
8. 作業3へ



インキュベート中の様子

電気泳動装置

左側のボタン
には触らない ランプ ボタン(右上)



電源コード
作業3の最初に差し込む

ウェル(穴)
素手で触らないこと

コーム(くし)
プレ電気泳動後にスタッフが
取り除くため、拳手で知らせ
ること

ローディング色素(青色)
泳動中に移動することを確認する

ランプの状態

赤色点灯: スタンバイもしくは終了時

緑色点滅(ボタンを長く押す): プレ電気泳動開始および泳動中(2分で自動終了)

緑色点灯(ボタンを軽く押す): 電気泳動開始および泳動中(30分で自動終了)

赤色点滅: 泳動終了時にブザー音が鳴るので、ボタンを押し、ブザー音を消す

操作手順は問題用紙4頁目を参照

【問 1】

ストック 溶液等 チューブ ラベル	1 M Tris-HCl (pH7.5)	1 M MgCl ₂	4 M NaCl	100 mM DTT	水	合計
x10 Buf.	$\mu\ell$	$\mu\ell$	$\mu\ell$	$\mu\ell$	$\mu\ell$	20 $\mu\ell$
x10-Mg	$\mu\ell$	$\mu\ell$	$\mu\ell$	$\mu\ell$	$\mu\ell$	20 $\mu\ell$
x10-Na	$\mu\ell$	$\mu\ell$	$\mu\ell$	$\mu\ell$	$\mu\ell$	20 $\mu\ell$

【問 2】

チューブ 番号 試薬類	3	4	5	6	7	8	9	10
DNA	$\mu\ell$	$\mu\ell$	$\mu\ell$	$\mu\ell$	$\mu\ell$	$\mu\ell$	$\mu\ell$	$\mu\ell$
x10 バッ ファー	x10 Buf. $\mu\ell$	x10 Buf. $\mu\ell$	x10 Buf. $\mu\ell$	x10 Buf. $\mu\ell$	x10-Mg $\mu\ell$	x10-Mg $\mu\ell$	x10-Na $\mu\ell$	x10-Na $\mu\ell$
水	$\mu\ell$	$\mu\ell$	$\mu\ell$	$\mu\ell$	$\mu\ell$	$\mu\ell$	$\mu\ell$	$\mu\ell$
制限酵素 名と量	なし $\mu\ell$	<i>Eco</i> RI $\mu\ell$ <i>Sal</i> I $\mu\ell$	<i>Eco</i> RI $\mu\ell$	<i>Sal</i> I $\mu\ell$	<i>Eco</i> RI $\mu\ell$	<i>Sal</i> I $\mu\ell$	<i>Eco</i> RI $\mu\ell$	<i>Sal</i> I $\mu\ell$
合計	20 $\mu\ell$	20 $\mu\ell$	20 $\mu\ell$	20 $\mu\ell$	20 $\mu\ell$	20 $\mu\ell$	20 $\mu\ell$	20 $\mu\ell$

【問 3】

電気泳動写真を貼り付けよ（両面テープのはくり紙を取る）。

【問 4】

【問 5】

【問 6】

【問 7】

【問 8】

容器 1

容器 3

【問 9】

【問 10】

【問 11】