

<資料論文>

## 紫外線硬化樹脂を用いたマイクロ液浸標本の作製

西川洋史

埼玉県立進修館高等学校

Preparation of micro immersion specimens by using UV curable resin

Hirofumi Nishikawa

Saitama Prefectural Sinsyukan High School

キーワード：永久プレパラート標本，液浸標本，紫外線硬化樹脂

KEYWORDS: immersion specimen, permanent slide specimen, ultraviolet curable resin.

### 抄録

教材用として入手可能な動植物プランクトンの永久プレパラート標本は、実物の調達が困難な際に極めて効果的な教材である。しかし、その種類は限られている。永久プレパラート標本を作製するには細胞・組織の固定や脱水・染色など様々な工程があるため、その準備は容易ではない。手芸用品店などで購入可能な紫外線硬化樹脂は、UVA波長（315～400 nm）の照射によって数分間で硬化する液体樹脂であり、初心者でも使いやすい素材である。本研究では、ホルマリン固定されたウニ幼生の液浸標本を紫外線硬化樹脂でプレパラートに封入し、その耐久性について評価した。その結果、約1か月にわたって蒸発が抑えられることを確認した。また、授業における演示用プレパラートとして使用することができた。本手法によるプレパラート標本は、微小な液浸標本を封入したものであるため「マイクロ液浸標本」と命名する。

### Abstract

Permanent specimens of zooplankton that can be obtained as teaching materials are extremely effective teaching materials when it is difficult to obtain the actual specimens. However, the kinds of plankton are limited. It is not easy to prepare permanent preparations because there are various steps such as fixation, dehydration, and staining of cells and tissues. UV curable resin is a liquid resin that cures in a few minutes when irradiated with UVA wavelengths (315-400 nm). This resin can be purchased at handicraft stores and is an easy material for beginners to handle. In this

study, I investigated the durability of formalin-fixed specimen preparations by sealing with ultraviolet curable resin. As a result, it was confirmed that evaporation was suppressed for about a month. Moreover, it was able to be used as a slide for presentation in class. Since the specimens produced by this method contain a small amount of formalin immersion specimen, I named them "micro immersion specimens".

## 1. はじめに

新学習指導要領の実施により、小学校ではメダカの餌生物としてプランクトンを観察する項目が加わった。これに即して、水中における食物連鎖に関連付けたプランクトンの教材化が報告されている(田口・林山, 2020)。プランクトンの観察は、小中学校での顕微鏡観察の授業において最初に実施されることが多く、肉眼では確認することができない生物が存在することを知る上で重要な学習活動である。プランクトンは極めて種類が多く、生物多様性に関連付けた実験としても展開することが可能である。しかし、プランクトンを生きた状態で観察できる条件が学校に必ずしも整っているわけではなく、永久プレパラート標本で代用した方がよいケースもある。また、プレパラート標本は観察する対象が限定されているので、顕微鏡のピント合わせやスケッチの練習など実験観察技術の上達を目的として使うことも可能である。学校教材として入手できるプランクトンのプレパラート標本には、ミジンコ、ミカヅキモ、ミドリムシ、カニの幼生、ウニの幼生、ボルボックス、ケイソウなどがラインアップされている。しかし、これ以外の原生物や各種動物の幼生を入手することは困難である。例えば、赤潮の原因である渦鞭毛藻類や様々な海洋生物の幼生などの海洋プランクトンが挙げられよう。我が国が海洋国家であることを踏まえると、海洋プランクトンの観察は意義があり(和田ら, 2020a)、学校教育のいずれかの段階で児童・生徒に観察させたいものである。

永久プレパラート標本の作製は、様々な薬品と時間を必要とするため、学校現場では容易に取り組むことができない。簡易封入方法としてはマニキュアによるカバーガラスのシーリングがよく知られているが、標本の乾燥が問題にならない試料では紫外線硬化樹脂の活用事例がある。例えば山口(2020)は、コケ植物のプレパラート標本作製に関する技術として、サンプルを押さえているカバーガラスの4隅をUVレジンで止める方法を提案しており、コケ植物の観察では十分に使えることを報告している。一方、西川(2020)は、数種類の紫外線硬化樹脂を用いたプレパラート標本の液体封入を試みており、マニキュアによる封入よりも蒸発を防ぐ能力が高いことを明らかにした。しかし、使用しているのは平板スライドガラスであり、ミジンコなどのやや大きめのプランクトンの観察に適したホールスライドガラスでは検討していない。また、紫外線硬化樹脂による実際の生物標本の封入や授業活用には至っていない。

紫外線硬化樹脂は波長 400 nm 前後の紫外線によって数分以内に硬化する特性があり、工業材料として密封や接着、表面のコーティングなどに用いられている。紫外線硬化樹脂

は硬化する際に過熱を必要とせず、かつ硬化時の発熱も低いため、高温に弱い生物標本の封入にも適用できる。紫外線硬化樹脂を使った教材用標本の作製として、例えば北海道周辺海域で採取された2 mm以上の比較的大型の動物プランクトン（嶋田，2021）や透明骨格標本（加藤，2016）の封入を挙げることができる。しかし、いずれもアルコールによる脱水やグリセリン置換などの作業を必要とし、現場の教員が取り組むには難しい側面がある。また、それらの生物標本はルーペや実体顕微鏡で観察するのが適当なサイズであり、通常の生物顕微鏡で観察するのが適切なマイクロサイズのプランクトンを対象とした研究は少ない。小学校から高等学校の生物分野では顕微鏡観察をすることが必須のため、微小なプランクトンなどをプレパラート標本にして観察することは多いだろう。そこで本研究では、ホルマリン溶液に保存されたウニ幼生を試料として紫外線硬化樹脂によるプレパラート標本作製を検討した。また、授業では他のプレパラート標本と同じように観察に用いることができたので、これを報告する。

## 2. 研究・実践方法

### 2. 1 材料および器具・機器

プレパラート標本作製するにあたりカバーガラス（18×18 mm，厚さ0.13～0.17 mm），1穴ホールスライドガラス（14～15 φ×0.6 mm）（松浪硝子工業株式会社，大阪）を準備した。液浸標本の封入剤として紫外線硬化樹脂「星の雫」（株式会社パジコ，静岡）（図1A），マニキュア「ルアン・ネイルエナメル99」（株式会社マツモトキヨシ，東京）を準備した。紫外線硬化はLEDブラックライト「PW-UV343H-03L」（株式会社コンテック，大阪）（図1B）で行った。本研究ではウニ発生段階材料セット「ウニの卵割と発生」（内田洋行，東京）（図1C）のバフンウニ *Hemicentrotus pulcherrimus* 幼生標本を用いた。



図1 実験に用いた器具・機器及び試料

A：紫外線硬化樹脂，B：LEDブラックライト（ピーク波長375 nm），C：ウニ発生段階材料セット「ウニの卵割と発生」

## 2. 2 プレパラート標本の作製及び耐久試験

プレパラート標本の作製方法を図2に示す(液体の動きを明確に示すために図中ではメチレンブルー水溶液を使っている)。ホールスライドガラスは食器用洗剤「マジカ」(ライオン株式会社, 東京)でスポンジによる擦り洗いをした後に, 水道水で洗い流し, イオン交換水ですすいでから乾燥させた。ガラス小瓶底に沈殿しているウニ幼生標本をスポイトで再懸濁し, スライドガラスのホール部分に2滴滴下してから, 幼生が底面に沈むまで約2分間静置した(図2A)。次にカバーガラスをホール部分の横に置き(図2B), ピンセットでホール側にゆっくりスライドさせた(図2C)。カバーガラスの縁を液滴に触れさせ, カバーガラスとスライドガラスの間が溶液に満たされるまで約3秒間静置した(図2D, E)。気泡が入らないように注意しながら, スライドガラスのホール全体が覆われるようにゆっくりとカバーガラスをスライドさせた(図2F)。余計なホルマリン溶液はろ紙で吸い取った(図2G)。ガラス表面に残るホルマリン溶液もなるべく吸い取り, カバーガラスとスライドガラスの間に気泡が入らない程度に表面を乾燥させた(図2H)。紫外線硬化樹脂をカバーガラスの4隅に滴下し(図2I, J), 紫外線を3分間照射して硬化した(図2K)。カバーガラスを固定後, 4辺に紫外線硬化樹脂を厚さ1 mm程度となるよう塗布し(図2L), 同様に紫外線を照射した(図2M)。この作業を連続的に10枚のホールスライドガラスで行ったものを1セットとし, 8セットのプレパラート標本集を作製した。マニキュアによる封入も同様の手順で行い, カバーガラスの4辺をコーティング後に室温で乾燥させた。作製は理科実験室で行い, 作業時の室温は31.5℃であった。なお, 保管期間における日中の室温は29.5~35.0℃であった。ホール内の溶液が乾燥して生じた気泡は, 観察する角度によっては図3のように白い空間として確認することができた。この白い空間の有無を封入が保たれているかどうかの判断基準とした。ホール中に液体が残っているプレパラート標本の1セット中での割合を保存率とし, 8セットの平均と標準偏差を求めた。

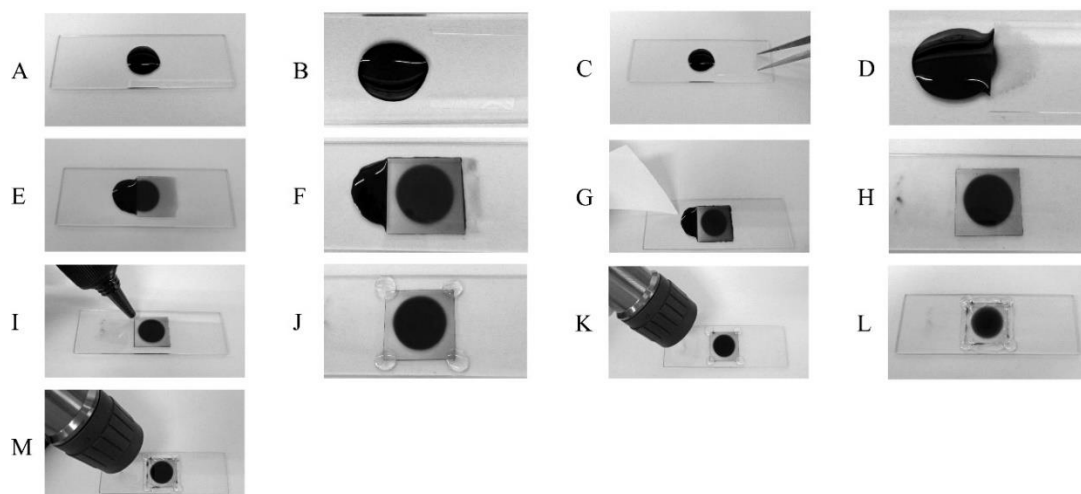


図2 紫外線硬化樹脂による液浸標本の封入手順

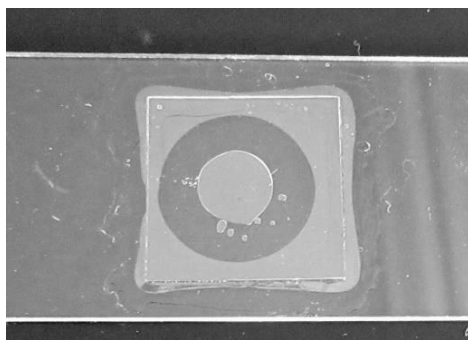


図3 封入した溶液が蒸発したプレパラート標本

### 3. 結果

マニキュアで封入したプレパラート標本ではすぐに溶液が蒸発し始め、翌日の保存率は $90 \pm 9.3\%$ であった。その後も直線的に保存率が低下し、20日目には $39 \pm 14\%$ となった(図4A)。一方、紫外線硬化樹脂で封入したプレパラート標本は15日目まですべての標本で蒸発が見られず、20日目に $91 \pm 14\%$ となった(図4B)。なお、図には提示していないが一回り大きい $22 \times 22 \text{ mm}$ のカバーガラスで作製した10個の標本では、20日目に蒸発は見られなかった。本手法によって作製したプレパラート標本を高校生物の授業において使用したところ、ウニ幼生の形態変化と立体構造について生徒らへの提示は問題なく行うことができた(図5A, B)。

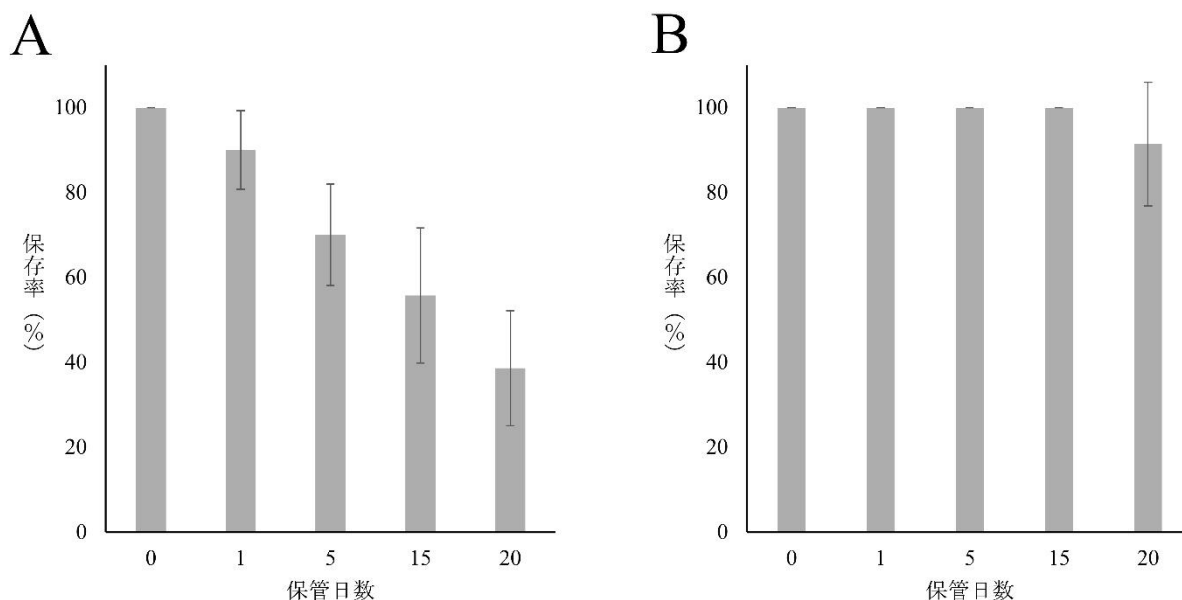


図4 ホルマリン固定されたウニ幼生プレパラート標本における保存率の経時変化

(A) マニキュアで封入したプレパラート標本。(B) 紫外線硬化樹脂で封入したプレパラート標本。プレパラート標本は10個で1セットとし、8セット準備した。結果は平均値±標準偏差で示している。

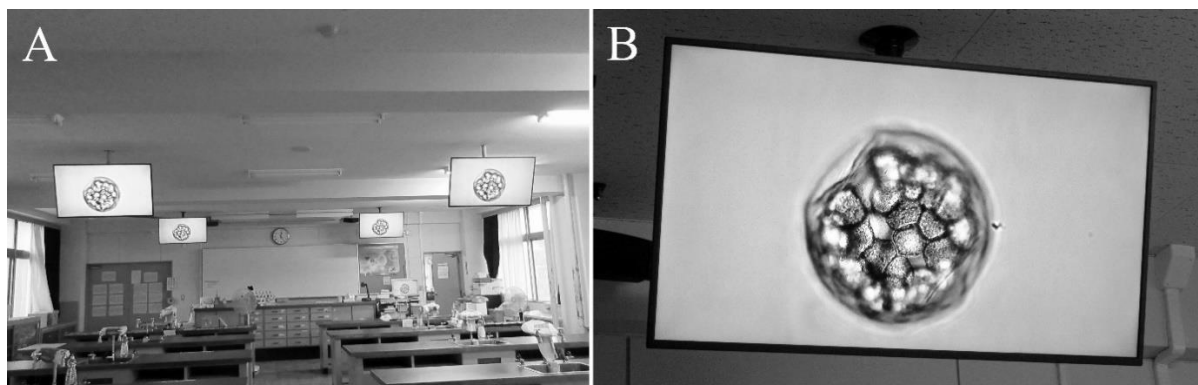


図5 ユニ幼生プレパラート標本の授業時の提示  
 (A) 教室全体の様子。(B) 画面に映し出された桑実胚標本。

#### 4. 考察

永久プレパラート標本は理科の様々な学習項目で使うことができるが、生物種によって作製方法が異なり多種多様である。植物プランクトンの一種であるケイソウは、環境指標生物として利用でき、生物から環境を把握する手法を学ぶことができる。例えば河川教育（里見ら，2018）や海洋教育（和田ら，2020b）において、出現するケイソウの種類・量の変化を時系列でとらえ、その生態と関連付けることで環境の遷移を考察していくプログラムが提案・実施されている。ガラス質のケイソウ殻は保存しやすく、その永久プレパラート標本の作製は学校現場での実施例がある。その工程は、過酸化水素による有機物の分解や塩酸による水酸化鉄コロイドの分解を経て、砂粒の沈殿後に浮上したケイソウ殻を回収して行われる。ケイソウ殻の封入はプルーラックスやカナダバルサムなどを使用する（松居ら，2017）。植物の構造を学ぶには植物組織切片の永久プレパラートが役立つ。植物染色体標本の永久プレパラート作製でも、エタノールによる脱水やキシレンによる透徹作業を行った後、カナダバルサムまたはオイキットで封入後2日間かけて乾燥させるなどと手間がかかる（山代ら，2018）。小中学校ではあまりなじみがないが、木材の永久プレパラート標本はエタノール・グリセリンに1か月漬けて軟化処理後、エタノールによる脱水やキシレンによる透徹を経て作製される（能城，2014）。このように永久プレパラート標本の作製では、数種類の薬品が必要であることや多数の工程を経るため、多忙な学校現場では時間的に実施しにくい。

顕微鏡観察は小学校から実施されるが、初学者のためにプレパラート標本を活用する機会が多いと考えられる。市販されているプレパラート標本は種類に限りがあるため、地域環境の特性を踏まえた自然科学の授業や児童・生徒に興味関心を高める授業を展開するには教員自身がオリジナルのプレパラート標本を作製できることが望ましい。しかし、理科を専攻してこなかった小学校教員が上記のような永久プレパラート標本の作製に取り組むことは障壁が高いと考えられる。実際、平成23年1月に科学技術振興機構が行なった「小学校理科教育実態調査」によると、小学校においては大学で教育（理科選修）系及び理学、

工学，農学等自然科学系を専攻した教員の割合は13%であり，なかでも教育（理科選修）系及び理学，工学，農学等自然科学系の大学院を修了した教員の割合は2%に留まるとされる。また，教員免許を取得する際に大学の授業で小学校教科書に掲載されている主な観察・実験に関する実習を「受講しなかった」と回答した教員の割合は56%に上った。同報告書には理科の授業に関する知識・技能について，観察・実験についての知識・技能では，「高い」と回答した教員の割合は，理科系の大学院を修了している教員が最も高く20%，次いで理科系の学部を専攻した教員が12%である反面，理科系以外の大学・大学院出身の教員は1~2%と極めて低い。このように大学所属時の専攻分野によっては，小学校で実施される理科実験に苦手意識を持つ教員が多数いることを踏まえると，誰もが簡単に実施できるよう作業の簡素化が求められると言えよう。その意味では本研究の手法はこの要件を満たしうる。

本研究では，教材として市販されているウニ発生段階材料セットを試料とし，紫外線硬化樹脂封入によるプレパラート標本の作製と授業での活用を試みた。その結果，約1か月間にわたり封入状態を保ち，授業で生徒らに提示したり，生徒が観察可能な状態が維持された。ウニの受精卵は透明であり，比較的早く発生が進むことから理科の実験で使われることは多い。これまでは受精からプルテウス幼生までの観察に留まっていたが，現在は小さな容器で飼育を1か月程度続けることで棘の生えたウニにまで生育させることが可能となり，さらに教材としての魅力が高まっている（小川，2017）。親ウニは採捕禁止区域以外の磯であれば容易に採集することができる。しかし，採集後の搬入や親ウニの維持管理などの作業量を踏まえると，海から離れた地域では生きたウニを授業で扱うことにハードルがある。親ウニは大学の臨海実習施設に依頼したり，教材会社から購入したりすることも可能であるが，成熟したウニは水質変動によって放卵・放精することがある。そのため搬入したウニを理科室の水槽に移動した直後に放卵・放精が起こり，授業に用いることができないこともある（私信）。その場合に備え，代替としてプレパラート標本の活用も考えておかなければならない。市販のプレパラート標本では3次元構造を把握するのが難しいため，ウニの幼生標本を使用することも一つの方法である。また，そのほうが生徒にとってリアリティもあろう。ただし，本研究で用いたような市販教材を使う場合，観察のためにプレパラート標本にした幼生を授業毎に元の小ビンに回収することはほぼ不可能である。必然的に使い捨てとなってしまうが，全生徒各自が観察をするにはそれなりの量が必要となる。例えばホールスライドガラスでプレパラートを作製するには約40  $\mu\text{L}$  必要であり，40人学級が10クラスあると16 mL 必要になる。使用量を減らすためには，保存液の蒸発を防いだプレパラート標本の作製が必要不可欠であり，本手法はそれに応えるものと言えよう。

紫外線硬化樹脂による標本封入は，わずか数分で完了するため，例えば生徒が行くことが困難な場所で教員が採取したプランクトンをその場で固定・封入することもできるだろう。あるいは研修先で提供された動植物プランクトンをその場で教材化することもできる。

現場に持っていくものはホールスライドガラスとカバーガラス、固定液、紫外線硬化樹脂、紫外線ランプ、ピンセットなどと数少ないため携帯可能である。このように手間を要せず多種類の試料を得ることができるため、生物多様性をテーマとした教材づくりにも適していると考えられる。

生物の液浸標本は一般的に 10%中性ホルマリンで保管されているが、本研究で用いたウニ幼生標本は 5%ホルマリン溶液で固定・保存されたものである。濃度が半分である理由は、標本にする生物が微小であるためホルマリンの浸透・固定が容易だからである。したがって、本研究で作製したプレパラート標本はホルマリン液浸標本をそのまま封入したものと見え、小さな液浸標本に見立てることができる。そこで本プレパラート標本を「マイクロ液浸標本」と命名することにする。紫外線硬化樹脂はホームセンターや Web ショップでも購入することができ、理科素材というよりは手芸用品素材のほうが馴染み深く、作製の心理的ハードルも低い。本手法がマイクロ液浸標本というネーミングと共に広く活用されることを期待する。

## 引用文献

- 出口博則 (2020) 「UV レジンで簡易プレパラート作成」, 蘚苔類研究, 第 12 巻, 3 号, 81-82.
- 科学技術振興機構 理科教育支援センター (2012) 「平成 22 年度 小学校理科教育実態調査 集計結果」, Retrieved from [http://www.jst.go.jp/cpse/risushien/elementary/cpse\\_report\\_015A.pdf](http://www.jst.go.jp/cpse/risushien/elementary/cpse_report_015A.pdf)
- 加藤陽一郎 (2016) 「透明骨格標本プラスチックの開発と授業での活用」, 早稲田大学高等学院研究年誌, 第 60 号, 98-92.
- 松居誠一郎・小山祐佳・斎藤絢音 (2017) 「珪藻を示相化石教材として用いるための簡易な方法」, 宇都宮大学教育学部教育実践紀要, 第 3 号, 117-122.
- 西川洋史 (2020) 「紫外線硬化樹脂を用いたプレパラート標本封入の検討」, 教育実践学研究, 第 23 号, 37-44.
- 能城修一 (2014) 「木材プレパラート標本作製法 (植物分類学研究マニュアル 9)」, 分類, 第 14 号, 1 巻, 97-99.
- 小川博久 (2017) 「ウニの受精から成体まで-生命を実感するマイウニ飼育の実践」, 生物の科学『遺伝』, 第 71 巻, 4 号, 360-369.
- 里見研悟・真山茂樹・齋藤めぐみ (2018) 「多摩川における過去と現在の珪藻から示される水質の変化 珪藻を教材として河川環境の変化と人間活動の関係を学ぶ授業プログラムの開発に向けて」, 東京学芸大学紀要自然科学, 第 70 集, 31-53.
- 嶋田 宏 (2021) 「UV レジンを用いた動物プランクトン封入標本の製作法」, 日本プランクトン学会報, 第 68 巻, 1 号, 10-17.
- 田口瑞穂・林山晃大 (2020) 「小学校理科における水中の食物連鎖の教材開発」, 秋田大学



教育文化科学部教育実践研究紀要, 第42号, 49-54.

和田 薫・石丸 隆・宮嶋隆行 (2020a) 「『海洋教育パイオニアスクールプログラム 海のない地域における小中一貫体制による海洋教育体制の構築と推進』で開発された小学校4年から中学校3年までの観察実習プログラム」, 明星-明星大学明星教育センター研究紀要, 第10号, 53-66.

和田 薫・石丸 隆・大森紀幸・宮嶋隆行・熊谷香菜子 (2020b) 「珪藻化石を用いて大地と海の関係を理解する学習プログラムの開発と実践: 海洋教育パイオニアスクールプログラムで開発した新学習指導要領に対応した観察実習」, 明星大学教職センター年報, 第3号, 97-106.

山代一成・栢野彰秀・大谷修司 (2018) 「植物染色体標本の永久プレパラート作製法の検討」, 日本科学教育学会研究会研究報告, 第32巻, 9号, 23-26.