

「細胞分裂の観察」のための染色時間短縮の検討

自然系(理科)コース 白石 奈那
自然系(理科)コース MAKOKA KIZITO
教育臨床コース 春木 幸恵

1. はじめに

「細胞分裂の観察」は教科書でも定番の生徒実験でありながら、実際には通常の授業時間内では実施が困難であったり、成否のむらが多く（半本 2000）、現場の教師を悩ませている。昨年度の課題探究（理科）で、幸泉・田村は、試料作りにおける固定・解離・染色について検討を行った。その結果、固定・解離・染色を同時に行う酢酸ダーリア染色液を使用し、細胞分裂の観察を簡便で確実なものとした。今回は、さらに時間短縮を図り、通常の授業時間内（50分）で「細胞分裂の観察」を実施する方法を検討した。

2. 従来の方法との比較

啓林館（H8）新訂理科2分野（下）の細胞分裂の方法と今回の方法を比較した。（表1）

表1 教科書の方法との比較

	教科書の方法	今回の方法
材料	2~3cmにのびたタマネギの根	発芽し、5~20mmにのびたタマネギの根
使用部分	タマネギの根の先端3~5mm	タマネギの根端部約1mm
解離	60℃にあたためたうすい塩酸（1分間）	解離・染色を同時に行う 酢酸ダーリア液と1規定塩酸を7:3の割合で混合した液に5分間材料を浸す (35℃)*1
染色	酢酸カーミン液(酢酸オルセイン液)を一滴落とす	
押しつぶし	・えつき針で細かくくずす ・カバーガラスをかけ、そのうえをろ紙でおおって、親指で静かに根を押しつぶす	・鉛筆削りで削った割り箸やつまようじでらせんを描くように材料をたたき広げていく ・ろ紙でおおい、親指で押しつぶす

*1 幸泉・田村は解離・染色時間を室温で15分とした。

3. 実験方法の検討

(1) 材料

タマネギ又はネギの発芽種子

シャーレにろ紙を敷いて水で湿らせそれぞれタマネギとネギの種子をまき、20℃、4日間培養した。ネギは発芽が遅かったため、今回はタマネギを使用した。

(2) 染色液と実験方法

ア. 酢酸オルセイン溶液又は酢酸カーミン溶液

- ①45%酢酸を用いて、10℃以下、15分間、固定した。
- ②1N塩酸と45%酢酸を2:1の割合で混合した解離液で、60℃、30秒間、解離した。
- ③酢酸オルセイン又は酢酸カーミンで20分間染色した。
- ④スライドガラスの上に試料の根端部約1mmの部分を残した。カバーガラスをかぶせ、先を削った割り箸などでカバーガラスの上かららせんを描くようにたたき細胞を広げた。ろ紙でスライドガラスとカバーガラスを挟んでカバーガラスがずれないようにし、指で押しつぶした。
- ⑤長期保存のためマニキュアでカバーガラスの周囲を封じた。

イ. 酢酸ダーリア溶液

0.5% 酢酸ダーリア溶液と1N塩酸の7:3の混合液。

方法①

混合液をフィルムケースに少量入れ、これに発芽種子の根端を浸して、30℃の保温器で5分間または10分間染色をし、その後2分間の水洗いをした。

方法②

混合液をフィルムケースに少量入れ、あらかじめ35℃にあたため、(中学校には保温器がないので湯せんで行った)タマネギの発芽種子をこのフィルムケースに入れ、再び35℃の湯せんにつけ5分間染色し、その後2分間の水洗いをした。

それぞれスライドガラス上に試料の根端部約1mmの部分を取り、その上に50%グリセリン溶液を滴下し、カバーガラスをかぶせた。先を削った割り箸などでカバーガラスの上かららせんを描くようにたたき細胞を広げた。ろ紙でスライドガラスとカバーガラスを挟んでカバーガラスがずれないようにし、指で押しつぶした。

4. 結果と考察

(1) 酢酸オルセイン溶液又は酢酸カーミン溶液

酢酸カーミン溶液は20分間染色しても核がぼんやりと見えるぐらいではっきりと見えなかった。これは酢酸カーミンでの染色時間が短かったためと考えられる。酢酸オルセイン染色では見やすく染まったがこれも染色時間が20分間必要であり、すべての時間を含めて考えると1時間ぐらいかかってしまうため、50分の授業中に行うことは難しい。

(2) 酢酸ダーリア溶液

方法①での5分間染色で染まっていたが細胞が硬く広げにくかった。また、10分間染色は5分間染色に比べると細胞はより柔らかくなっていた。方法②はしっかり染まっていて、方法①で行った時よりも細胞は柔らかくきれいに分裂が見られた。

5. 結論

酢酸ダーリア溶液で染色をする時、塩酸を混合しておくことで固定、解離、染色を同時に行うことができ、また35℃の湯せんにかけて染色を行うことで染色時間を5分に短縮することが出来た。この染色時間は授業中に行う観察実験として適当な時間と考えられる。

6. 注意事項

- ①市販されているタマネギは発根の抑制処理がしてあるものがあるので、材料としては市販の種子を利用すると生徒の分も十分用意することができる。
- ②教科書にはタマネギの根の先3~5mmを切り取って染色するとされているが、発芽した種子の根端部約1mmぐらいが細胞分裂を観察しやすい。
- ③教科書には記載されていないが、先を削った割り箸などでカバーガラスの上から、らせんを描くようにたたいて細胞を広げる作業が重要である。

なお、本課題探求を行うにあたり、米澤 義彦教授に助言いただいたので、記して感謝する。

7. 引用文献

- 半本秀博, 2000. 体細胞分裂の観察を確実にを行う簡易染色法と条件. 遺伝, 54 : 50-54
米澤義彦, 田中隆荘, A.S.チョードリ, 池田秀雄, 1981. 体細胞分裂とDNA観察. 遺伝, 35 : 16-21
米澤義彦, 1984. 減数分裂の観察材料の再検討. 生物教育, 25 : 50-55

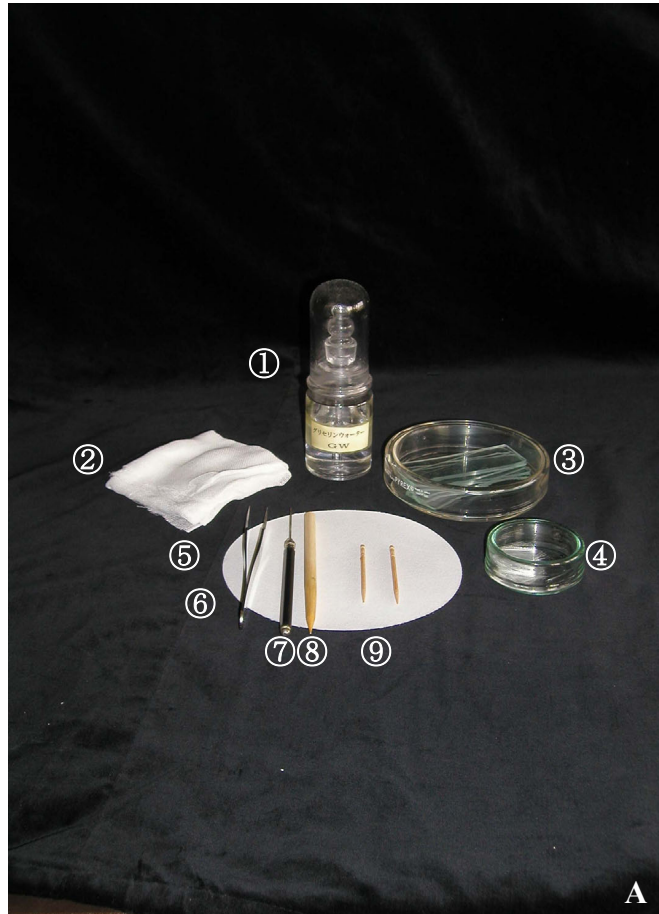


図 1. 酢酸ダーリア染色による細胞分裂の観察に使用した器具

A. ①50%グリセリン水、②ガーゼ、③スライドガラス、④カバーガラス、⑤ろ紙、⑥ピンセット、⑦柄付針、⑧たたき棒、⑨ようじ

B. ⑩温度計、⑪湯せんケース、⑫フィルムケース、⑬固定台

C. ⑭1規定(約3%)塩酸、⑮0.5%酢酸ダーリア液

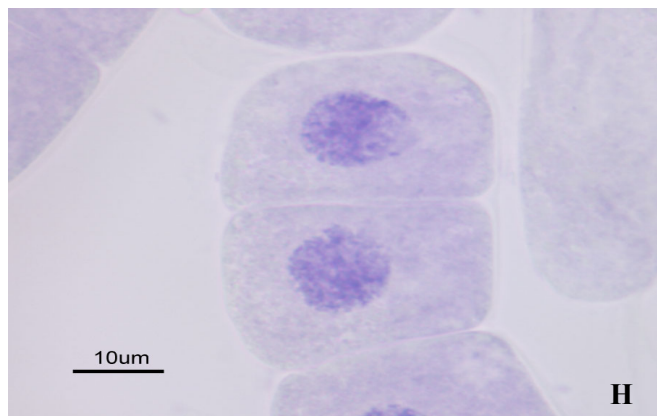
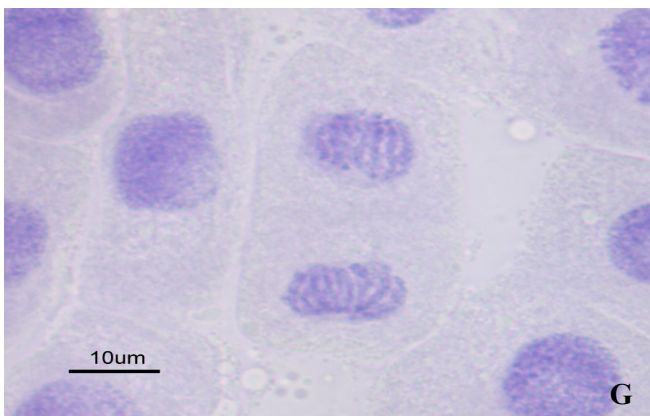
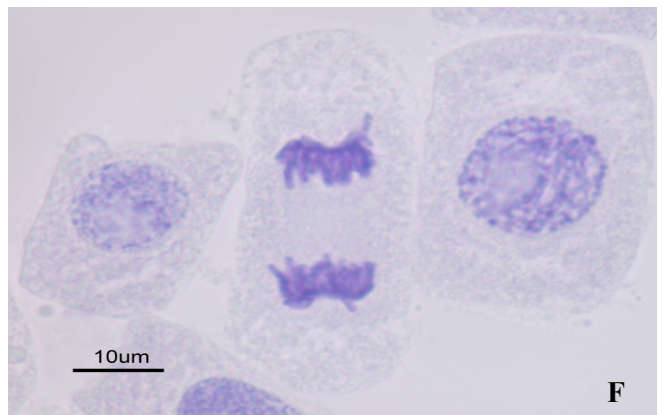
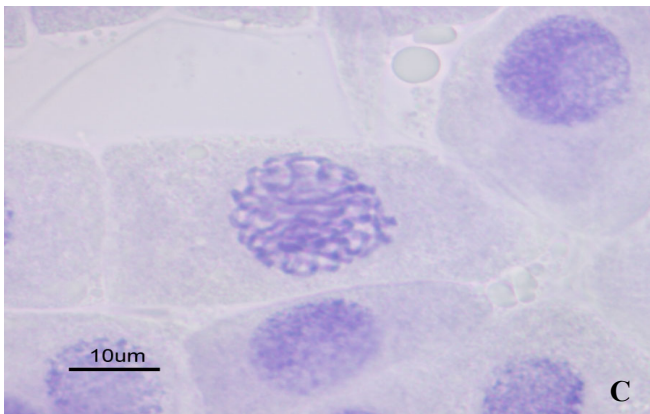
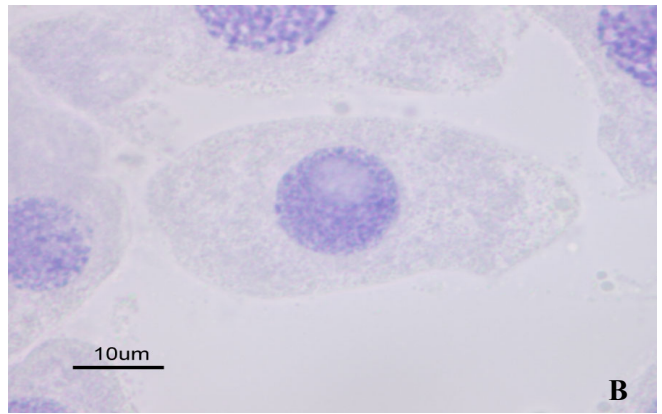
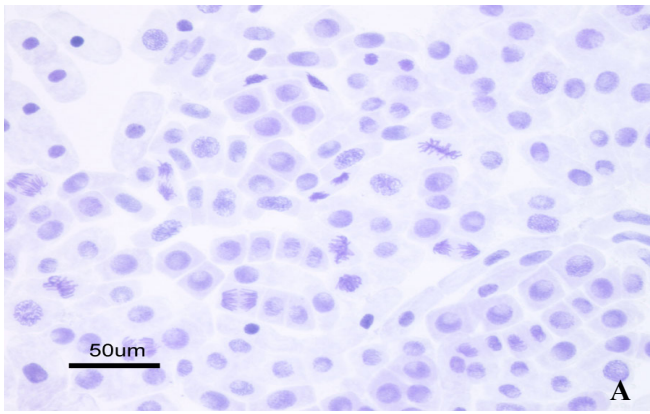


図2. 酢酸ダーリア染色によるタマネギ発芽種子の根端細胞における細胞分裂
A,低倍率、B,間期、C,前期、D,中期、E,後期、F,後期、G,終期、H,間期