

中学生でも失敗しない体細胞分裂の観察法

(1) 材料

タマネギ（又はネギ）の発芽種子（根の長さが 10 ～ 20 mm くらいのもの）：ペトリ皿に水を十分吸わせたろ紙などを敷き、これにタマネギの種子をまく。ペトリ皿は、乾燥を防ぐために、ラップフィルム等で包んでおく。

直径 9 cm のペトリ皿 1 枚で 100 ～ 200 粒の種子を扱うことができ、1 クラス分の材料を 1 枚のペトリ皿でまかなうことができる。

→恒温器を利用すれば、20℃では4日間、25℃では3日間で実験に使えるようになる。

→恒温器が利用できない場合は、直射日光が当たらない場所に置く。

(2) 必要な試薬類

① 0.5%酢酸ダーリア溶液*：のダーリアバイオレット（和光純薬）の粉末を、30%酢酸に 0.5%の割合で溶かしたもの。褐色びんに保存する。

→ポリ点眼びんに分注して使用する。

② 1 mol/L 塩酸（約 3 %塩化水素水）：市販の濃塩酸を 12 倍に希釈したもの。→同上

③ グリセリン水（GW）：グリセリンと水を 1：1 に混合したもの。→同上

* 最近ダーリアバイオレットが製造中止になりました。

代替品として、和光純薬のメチルバイオレット 2 B や東京化成のベーシックバイオレット 1 が、ダーリアバイオレットと同様の処方で使用可能です。



(3) 必要な器具類

ペトリ皿、ろ紙（発芽に用いる場合は、脱脂綿、ティッシュペーパーなどでも可。押しつぶしの際にも必要）、時計皿（2 枚）、つまようじ、キャップの色の異なるポリ点眼びん（できれば、赤、黄、白の 3 色。上図参照）

【35℃で染色する場合】

フィルムケース（2 個、1 個はペトリ皿でも可）、ビーカー、加熱器具（電気ポットで可）、温度計

(4) 一時プレパラートの作製方法

【室温で染色する場合】

① 一方の時計皿に、酢酸ダーリア液と 1 mol/L 塩酸を 7：3 の割合で入れて、よく混合する。

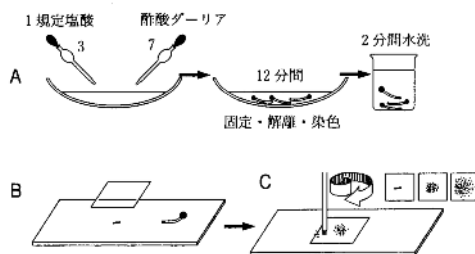


図 6 プレパラートの作製方法。A：染色と水洗，B：根端を残す，C：細胞を広げる（文献 7 より転載）。

② 染色液にタマネギの発芽種子の根端をつけ、10～15分間染色する。（室温によって染色時間を調節する。室温が 25℃の時は約 10 分、20℃の場合は 15 分染色する。）

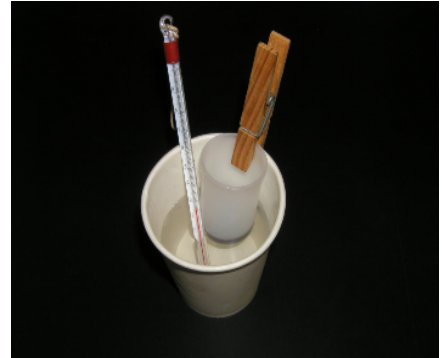
③ 染色が終わったら、もう一方の時計皿に入れた水で 2 分以上（～ 30 分）洗う。

④ スライドガラス上で、根端 1 mm 程度を切り取る。

- ⑤ 根端にグリセリン水を1滴かけ、カバーガラスをかける。
- ⑥ カバーガラスの端をろ紙で軽く押さえて、つまようじの先で軽くたたいて細胞を散らす。
- ⑦ 細胞がうまく散らばったら、プレパラートをろ紙の間にはさみ、カバーガラスがずれないように気をつけながら、親指の先で強く押しつぶす。
- ⑧ 顕微鏡で観察する。

【35℃で染色する場合】

- ① 一方のフィルムケースに、酢酸ダーリア液と1 mol/L 塩酸を7 : 3の割合で入れて、よく混合する。
- ② 染色液を35℃に温める。→湯に1～2分程度つける。
- ③ 染色液にタマネギの根端をつけ、5分間染色する。
→フィルムケースを湯につけて 35℃に保つこと！
- ④ 染色が終わったら、もう一方のフィルケース(または時計皿)に入れた水で2分以上(～30分)洗う。
- ⑤ (以下【室温で染色する場合】に同じ)



(5) 永久プレパラートの作製方法

- ①～④は、一時プレパラートの作製と同じ。
- ⑤ 根端に水を1滴かけ、カバーガラスをかける。
- ⑥, ⑦は、一時プレパラートの作製と同じ。
- ⑧ ドライアイス上で5分間凍結する。又は、液体窒素中で1分程度凍結する。
- ⑨ スライドガラスとカバーガラスの間にカミソリの刃を入れ、ピンとはじくようにカバーガラスをはがす。
- ⑩ スライド立てに立てて、十分乾燥させる。
- ⑪ 水分が完全に蒸発したら、100%エタノール及びキシロールをそれぞれ2回通して脱水する。この場合、ガラス製の染色バットを利用すると便利である。
- ⑫ 脱水が終わったら、直ちにカナダバルサム*等の封入剤を一滴かけ、気泡の入らないように気をつけながら、カバーガラスを載せる。この場合、カバーガラスをあらかじめキシロールでぬらしておくと気泡が入りにくい。
* カナダバルサムは固化に丸1日かかるが、合成の封入剤、例えばオイキットでは1時間で固化する。
- ⑬ 封入剤が固化したら、材料、染色方法等を記入したラベルをつける。

(6) 注意事項

- ① タマネギの種子を発芽させるときは、直射日光が当たらない場所にペトリ皿を置いておくこと。また、ろ紙が乾かないように、ラップフィルムなどで包んでおくこと。
- ② 染色時の温度を40℃以上にはしないこと。→核や染色体の形が崩れる。
- ④ 根端は決して多くを取らないこと。→教科書によっては、2～3 mm 程度切り取るように書いてあるが、発芽種子の場合は先端1 mmのみを切り取ること。
- ⑤ つまようじでカバーガラスをたたくときに、カバーガラスを強く押さえすぎると、かえって細胞が散らばらないので、軽く押さえる程度とすること。
- ⑥ 親指の先で押しつぶすときは、カバーガラスがずれないように注意すること。
- ⑦ 実験に用いる根の長さは根の長さは10～20 mm 位が適当なので、伸びすぎるとあれば、材料を冷蔵庫に保存しておくこと。→1週間は保存できる。
- ⑧ 一度使用した酢酸ダーリア液と塩酸の混合液は、再利用しないで廃棄する。→その都度、新しく調整すること。

(7) 参考文献

- 1) 高田博司 (1979). 体細胞分裂の手軽な観察法. 教材生物ニュース, 48:86-89.
- 2) 半本秀博 (1988). タマネギ及びソラマメの根端細胞における体細胞分裂の日周性. 生物教育, 28(1):52-55.
- 3) 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材料の条件. 遺伝, 54(6) : 50-54.
- 4) 米澤義彦・春木幸恵・白石奈那・マコバ エドモンド キジト(2006). 中学校における細胞分裂観察法の改良ー材料の保存と染色方法の工夫ー. 生物教育, 46(4):199-205.