

体細胞分裂の観察をとおりて、生物の成長のしくみを理解します  
体細胞分裂を観察しよう プチニンクを材料として

体細胞分裂の過程での染色体の動態は、生物の成長や遺伝のしくみを理解するうえで、非常に重要です。新学習指導要領においては、体細胞分裂を染色体の複製と関連付けて扱うことが示されました。その意味でも、分裂前後の核の大きさの比較などを含め、体細胞分裂は是非とも生徒に行わせたい観察の1つです。

しかし、体細胞分裂の観察は、材料である根端を集めることの難しさや、染色液の問題など様々な要因で、なかなか思い通りには見るできません。そこで、ここでは廉価で発根の容易な中国産のプチニンクを材料にして根端を集め、あらかじめ教師の側で染色までの操作を済ませておく方法を紹介します。

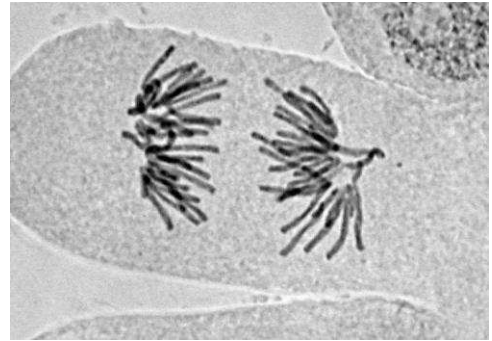


図1 体細胞分裂後期

## 1 プチニンクの発根

**準備** プチニンク、円形水槽等の大型容器、金魚用エアープンプ、発泡スチロールピンセット、カッターナイフ

**材料について** プチニンク

中国産1片種ニンク。7～8個入りで100円程度。一年を通して販売されている。普通のニンク、タマネギ、小タマネギ(ペコロス)でも同様な実験が可能であるが、プチニンクは発根数も多く、値段、大きさ等を考えると使い勝手がよい。プチニンクは、根の伸長部の観察の材料としても適している。

**操作**

プチニンクの外皮を除去する。ピンセットがあると、皮をむきやすい。(図2,図3)



図2 プチニンク



図3 外皮を除去した状態

一辺の長さ7～8cm、厚さ1cm程度の発泡スチロールの板を用意し、カッターナイフで丸く穴を開ける(図4)。

穴のあいた発泡スチロールにプチニンクをのせて、横から見たとき、鱗茎の下部が少し出る程度に穴の大きさを再調節する(図5)。



図4 穴を開けた発泡スチロール

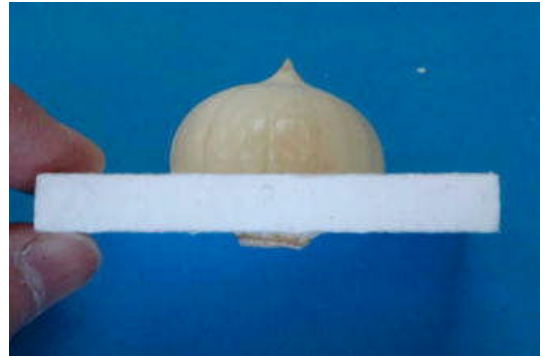


図5 プチニンニクをのせた状態

水槽などに水をはり，外皮を除去したプチニンニクを浮かべる。金魚用のポンプでエアレーションする（図6）。直径30cmの円形水槽で，7～8個（1袋分）を同時に浮かべることができる。この方法では水槽の水が減り，鱗茎の底部に届かなくなる心配はいらない。



図6 円形水槽に浮かべエアレーションする

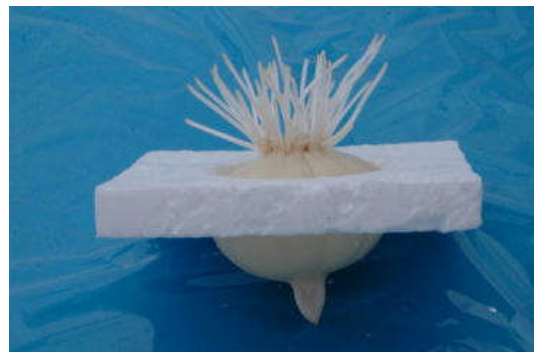


図7 セット後3日目の発根した状態  
根はこの程度の長さがほしい

### 普通のニンニクを使用して

プチニンニクではなく普通のニンニクを用いてもよい。国産と中国産のニンニクの発根の状況はあまり変わらない。しかし，国産ニンニクは1個300円以上する。これに対し，中国産のものは3個100円で購入できる。国産ニンニクを使用するのは現実的ではない。国産ニンニクは1個が5～6片にしか分離しないのに対し，中国産のニンニクは1個が10～15片くらいに分離するのが特徴である。

1片ごとにばらし，外皮を除去する。底の堅い部分も取りのぞく（図8）。

発泡スチロールに1片ずつ針で刺す。それぞれの断片の底部が少しだけ水に浸るようにバランスをとって浮かべる（図9）。

根が2cm程度になったら根端を集める。1個のニンニクから200本以上の根端を集めることができる。ただし，根が細い（図10）。



図8 底の固い部分を除去



図9 発泡スチロールに刺す



図10 発根した状態

## 2 根端の固定と保存

### 根端を採取する時間について

根の長さ5 mm程度が分裂頻度が最も高いという報告もあるが、採取のしやすさや、扱いやすさを考慮すると2 cmくらいのびてからでよい。根のどの部分が分裂しているかを調べるためにも少なくとも1.5 cm以上の長さが欲しい。伸びすぎると、分裂頻度が低下するので、適した長さに達したら採取する。気温や時期にもよるが、セットしてから2 ~ 4日くらいで採取できる状態になる。プチニンク1個で30 ~ 70本程度の根端を採取することができる。必要に応じてセットする数を決める。

採取時刻は午前10時 ~ 11時ころがよいとされている。観察前日のこの時間に採取可能ならば、保存処理を行わずに、直接染色液に浸してもよい。

**準備** 発根させたプチニンク、はさみ(解剖ばさみがよい)、ピンセット、  
保存用ビン(冷蔵保存するのでしっかりしたふたが必要)、小型ペトリ皿、  
45%酢酸(または、酢酸:エタノール=1:3混合液)、70%エタノール

### 操作

根をはさみで先端から2 cm程度の長さで切る。(最低1.5 cm)

採取した根を小型ペトリ皿に入れて、45%酢酸中に10 ~ 15分程度浸す。(酢酸・エタノール混合液では30分 ~ 24時間)

70%エタノールで2 ~ 3回洗った後(酢酸臭が消えるまで)、70%エタノールで冷蔵保存する。1年以上保存可能。長期保存したものは使用時に水洗したほうがよい。

## 3 解離及び染色 酢酸オルセイン・塩酸法

事前に解離、染色を同時に行う方法である。生徒に、染色や解離の作業をさせられないが、しっかりと染色することができ、染色むらも無くなる。

**準備** 発根させたプチニンク、サンプルびん  
2%酢酸オルセインと1 mol/L塩酸の混合液(7:3, 作り置き可能)

### 操作

2%酢酸オルセインと1 mol/L塩酸の混合液(7:3)をサンプルビンに入れ、根端を入れて室温で12 ~ 24時間放置する。保存時はびんをアルミホイルでおおう。

酢酸オルセインは試薬としてオルセイン粉末を購入し作製するのがよい。

酢酸(原液)45 mLを温めながら、これにオルセイン粉末2 gを加えて溶かす。

冷めた後に水55 mLを加えてろ過する。

染色液として販売されている酢酸オルセイン液は濃度が低くきれいに染色できないものが多い。濃度も1%程度なので、これを購入しても2%にはできない。

## 4 観察の授業時間における作業

**準備** 染色したプチニンクの根、顕微鏡、スライドガラス、カバーガラス、柄つき針  
ピンセット、かみそり、ろ紙、50%グリセリン(または45%酢酸)

## 操作

染色液から根を取り出し，水の入ったペトリ皿に入れ余分な染色液を落とす。（2～3分以上）ここまでは，教師が行うと良い。

右図のように先端部，先端部より5 mm離れた部位，さらに5 mm離れた部位の3カ所からそれぞれ2 mm程度とる。尖っている方が根の先端である。先端がどちらか間違えないように注意する。

スライドガラスの数が十分にあるならば，それぞれの部位の観察に別々のスライドガラスを使っても構わない。

採取した部位を寝かせた柄付き針で軽くたたき，スライドガラス上に拡げる（図11）。

50%グリセリン（または45%酢酸）を1滴垂らしてからカバーガラスをかける。

カバーガラスの一端を指で固定しておき，柄付き針の柄で軽くたたき，更に拡げる。強くたたきすぎるとカバーガラスが割れるので注意する。中央から外に拡げていくようにたたくと良い（図12，13）。

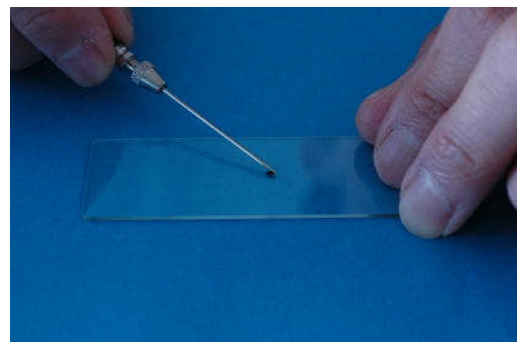
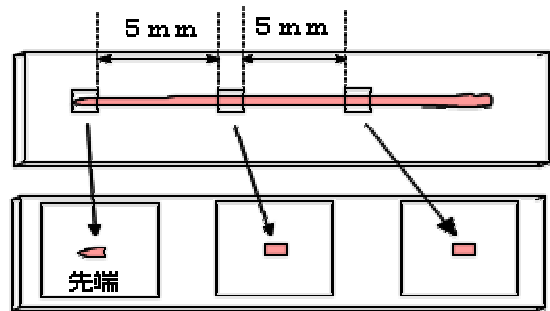


図11 寝かせた柄付き針で軽くたたく



図12 柄付き針の柄でたたく

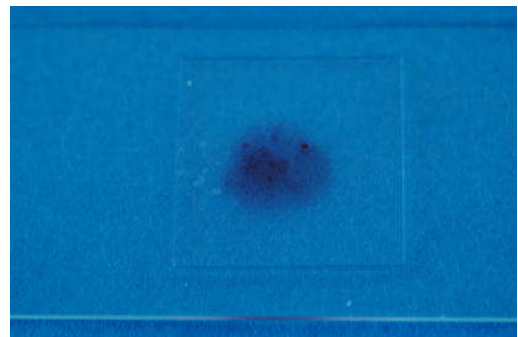


図13 たたいた後の状態

ろ紙をカバーガラスの上へのせ，全体重をかけて親指の腹で押しつぶす。力のかけ方が足りないと，十分に細胞が広がらない。生徒はカバーガラスやスライドガラスが割れると思いたくなく力を入れられないので，教師が実演すると良い。

（この操作を行うときには，カバーガラスをずらさないように十分注意する。）

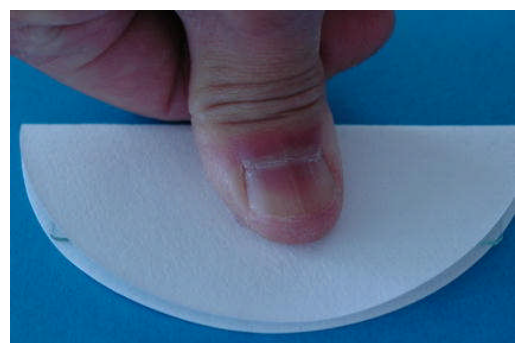


図14 ろ紙ではさんでつぶす



先端部をまず40倍で観察し、小さな四角い細胞が集まっているところを探す。小さな細胞が集まっていて、かつ、細胞が重なっていないところを視野の中心におく。

40倍では染色体がよく見えないので100倍に倍率を上げ分裂像を探す。分裂像を見つけたらさらに倍率を400倍に上げて観察する。

凹面鏡を使用し(光源ランプの場合は非常に強くする)、絞りを少し絞る。

分裂の様々な段階を探して観察する。このとき、分裂後の細胞の核は分裂前のものより小さいことも確認する。

先端部から5 mm離れた部位と、さらに5 mm離れた部位も観察する。細胞の大きさや形、道管の分化などいろいろな視点で比較をさせ、根の伸長について考える(図16)。

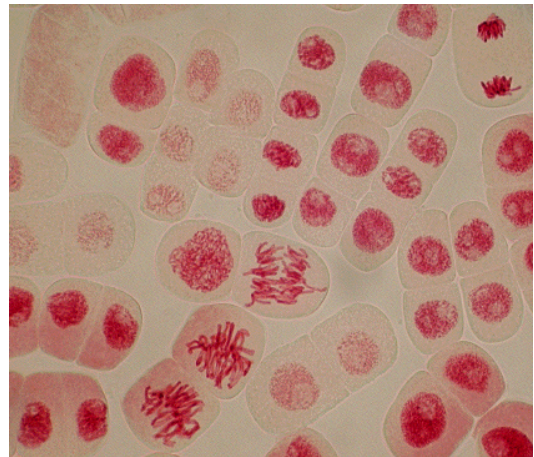
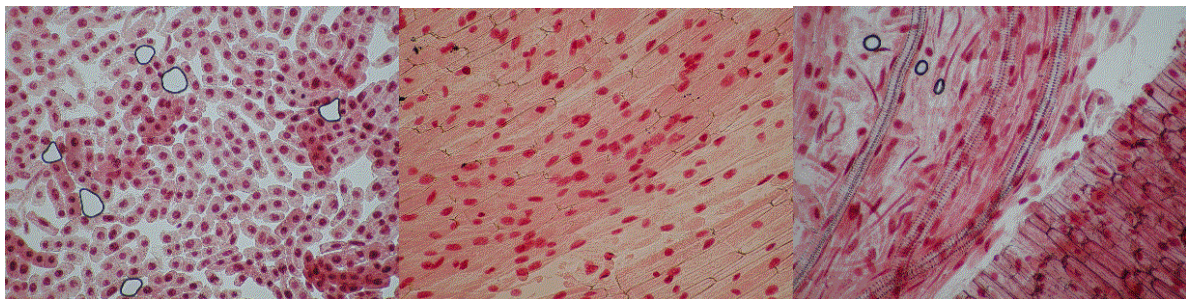


図15 400倍で観察した像



先端部

先端部から5 mm離れた部位

さらに5 mm離れた部位

図16 根の先端からの距離による細胞の違い

## 5 留意点

- 酢酸オルセインやカバーガラスをかける際に滴下する酢酸のため、鼻をつく臭いが立ちこめるので、観察中は換気をしっかりと行う。
- この実験では、生徒はニンニクの発根した状態を観察できない。プチニンで根の伸長の観察等の実験を行っている場合を除き、実験に合わせて発根させたものを用意し、生徒に見せると良い。材料がどのようなものか分からずに観察・実験を行っても、実感は得られない。
- これまでの学習指導要領では体細胞分裂について、生物の成長との関わりに重点が置かれていた。しかし、新学習指導要領では、中心は成長との関わりから、染色体の複製との関連づけや分裂前後の細胞の遺伝的同等性に移っている。この目標を達成するためには、十分な観察時間を確保し、分裂中の様々な時期を観察するとともに、分裂前後の核の大きさを比較することは必須である。余裕があれば、根のどの部分で分裂が起きているのかを確認する。
- 固定、解離を行う目的は次の通りである。

固定：核などの細胞内の器官が自己消化により破壊されないように、生きたままに近い姿で細胞を殺すため。

解離：植物細胞どうしを接着しているペクチンを塩酸によって分解し細胞間の結合をゆるめるため。これにより、押しつぶしを行う際に細胞を拡げやすくなる。

## 6 授業における「体細胞分裂の観察」の現状

### なかなか思い通りの結果がでない実験・観察

国立教育政策研究所が平成18年に実施した「中学校理科教員の生物領域における観察・実験に関する意識調査研究」によると、「体細胞分裂の観察」は、うまくいかないと答えた教師が41.5%あり、思わしい結果が出ない観察・実験のトップになっている。（調査は全国の中学校の理科担当教員678名からの回答をまとめたものである）

#### 「体細胞分裂の観察」がうまくいかない要因について

体細胞分裂の観察がうまくいかない要因として次のようなことが考えられる。

材料であるタマネギ等の根端を大量に集めるのが難しい。  
染色液が悪い。染色時間が足りないため染色が不十分、あるいは染色むらがある。  
生徒が分裂している細胞を見つけることができない。  
押しつぶし方が足りずに細胞が重なっていてよく見えない。  
顕微鏡が老朽化している。あるいは整備不良である。

、 は教師サイドの問題である。使用する材料や染色液の選択は教師の判断によるが、「その他」の項も参考にしてもらいたい。染色時間の不足を解消するには、染色液の種類を含め、実験方法そのものを再検討する必要がある。

、 については、実験方法や生徒への指示をより適したものにすることで、かなり解消できる。例えば、分裂像を探するときには、顕微鏡の最低倍率である40倍ではなく、100倍で探させる。400倍で観察するときは、絞りを絞る。押しつぶしは何段階も行う。個々の押しつぶしは念入りに行うことなどである。

顕微鏡の老朽化は対処の仕様がいないが、手入れの有無によって、見え方はまったく違ったものになるので、年に最低1回は顕微鏡のクリーニングを行うようにしたい。

#### 教師が染色まで済ませておくことのメリット

すべての操作を生徒に行わせることは理想だが、結果的に観察がうまくいかないと、生徒にとって実験が楽しくなくなってしまう。授業中に解離、染色など多くの作業を生徒に行わせることには、次のような難点がある。

十分に染色するためには、最低30分以上(理想は12時間以上)の染色時間を必要とする。授業中に染色させる場合は5分間程度で済ませており、これがうまく観察できない大きな理由の1つである。

解離、染色の操作を授業内で行うと、スムーズに作業が進行したとしても、観察にあてることができる時間は15分程度になってしまう。顕微鏡の操作が得意でない生徒は、染色体を発見することさえできずに終わってしまう。

今回紹介する「酢酸オルセイン・塩酸法」は、染色まで教師が行っておくことにより、授業時間の大半を観察に当てることをねらったものである。通常の方法で、生徒に解離、染色の作業をさせるのであれば、2時間連続の授業を設定したい。

## 7 その他

### 体細胞分裂の観察の材料について

これまで、体細胞分裂の材料としてタマネギの鱗茎から発根させた根端が最もよく用いられてきたが、市販のタマネギは発根抑制処理がなされていて、うまく発根させられないケースが多かった。しかし、以前タマネギに使用されていた発根抑制剤(エルノー)は、発ガン性が疑われたため2002年秋より製造が中止されている。従って、現在はスーパー等で購入したタマネギでも容易に発根させることが可能である。いまだに、市販のタマネギは発根抑制処理が施されていると書かれている指導書があるが、これは誤りである。しかし、早生品種はあまり発根しないし、長期保存品種も購入時期によっては発根しにくい。また、品種改良や休眠を誘導する保存方法等も開発されている。事前に、予備実験を行い調査する必要がある。最近ではタマネギの鱗茎よりも手軽な材料がいろいろ紹介されている。

### タマネギやニンニクなどの鱗茎

タマネギ	細胞が大きく観察しやすい。なかなか発根しない場合もある。
ペコロス	発根は早いですが、採取できる根端の数は少ない。1個あたり25本程度。扱っていない店も多い。秋には発根しにくい。
ニンニク	染色体数もタマネギと同じであり、発根も容易で、発根数も多いので優れた材料である。中国産のものを使用すれば、安く大量に根端を集めることができる。国産のものは、値段が高く材料としては現実的ではない。 国産ニンニクは6片種だが、中国産は原種に近く10~15片くらいに分かれる。特に、プチニンニク(あるいは高原ニンニク)の名称で販売されている中国産1片種ニンニクは非常に使い勝手がよい。

参考に、タマネギ、ペコロス、プチニンニクの鱗茎から発根させ、得られる根の数を調査した結果を次に示す。

材 料	値 段	1個あたりの発根数(本)				100円で集められる根の数(本)
		調査数	最少	最大	平均	
タマネギ	1個 48円	3	16	63	42.0	87.5
ペコロス	5個 100円	5	16	39	25.6	128.0
ニンニク(中国)	3個 100円	7	102	258	188.8	566.5
ニンニク(青森)	1個 298円	1	142	142	142.0	47.7
プチニンニク(中国)	7~8個 100円	22	26	81	48.5	355.7

様々な材料の値段、及び採取できる根の数の調査(平成20年5月実施)

### タマネギやネギの種子

種子を、水を含ませたる紙(ペトリ皿などに入れる)の上に播く。一年中播種可能。温度は20~25が適温、播種後3~6日(0.6~3cm)で採取可能。根が鱗茎から生じたものに比べて細く、扱いにくい。ホームセンター等で購入できるが、秋以外は販売されていないことが多いので、前年の秋に購入しておかなければならない。

ペトリ皿に、水を含ませたる紙を敷き、その上に種をまく。直射日光の当たらないところにおく。ペトリ皿ごと食品用ラップでくるんでおくと、乾燥を防ぐことができる。

## 染色液について

細胞分裂の観察で使用される染色液には次のようなものがある。

酢酸オルセイン	酢酸カーミン	酢酸ダーリア	塩基性フクシン(シッフの試薬)
---------	--------	--------	-----------------

最もきれいに染色できるのは塩基性フクシンである。細胞質が染色されないため非常に鮮やかな像を得ることができる。高校の生物実験では使われることもあるが、操作が複雑なので中学校の教科書に出ている酢酸オルセインや酢酸カーミンを使う方が現実的であろう。両者を比較すると酢酸オルセインの方がきれいに染色できるが値段が高い。市販の酢酸オルセイン液、酢酸カーミン液は濃度が低くきれいに染色されないものが多いので、オルセインやカーミンの粉末を購入し、自ら調整した方がよい。最近、操作が楽で、値段的にも安い酢酸ダーリアという染色液も使われるようになってきている。

**カ ー ミ ン** エンジムシという熱帯昆虫から抽出したコヒネアールを精製したものであるが、最近では人為的に合成することもできる。主成分はカーミン酸であるが複雑な化合物となっていて、製造所によって染色が違う。

(合成 25 g ¥3,400)

**オ ル セ イ ン** 地衣類の1種から抽出した色素で、主成分はオルシン。

酢酸カーミンより染まりは良いが高価。(5 g ¥13,200)

しかし、5 g あれば2%酢酸オルセイン液を250mL作ることができる。

市販の酢酸オルセイン液は濃度が低い上に、25mLで4700円ほどする。

**ダ ー リ ア バ イ オ レ ッ ト** 粉末を酢酸に溶かし染色液(酢酸ダーリア)とする。短時間で染色可能であり、値段も安い。(25 g ¥5,250)

**塩基性フクシン** 塩基性色素で、合成色素である。強力な核染色色素であり、シッフ試薬としてアルデヒドの検出に使用される。細胞を1 mol/L塩酸、60で加水分解して、シッフ試薬を反応させると、プリン塩基の特異的遊離によって生じたデオキシリボースのアルデヒド基がフクシンと反応して核・染色体は赤紫色に染まりDNAの存在を示す。

### 「酢酸ダーリア・塩酸法」

操作手順は酢酸オルセイン・塩酸法とほぼ同じである。

酢酸ダーリア液の作製 ダーリアバイオレット0.5 gを100mLの30%酢酸に溶かす。褐色ビンに保存すれば数年間は使用できる。

酢酸ダーリア液と1 mol/L塩酸の混合液(7:3)をサンプルびんに入れ、これに根を入れて室温で10~15分間染色する。(この混合液は作り置きできない。使用したものは捨て、その都度新しく混合する。)

水で2分以上洗い、余分な染色液を落とす。

以後の操作は、酢酸オルセイン・塩酸法の「4 観察の授業時間における作業」と同じ。