

だ腺染色体の観察
 ～最適な実験方法の確立～
 3班 古川綾音 須釜稜太 安倍和花奈
 中山勇冴 須田幸彩 二見花梨

1. 研究の動機および仮説

動機

1年次の実験で、アカムシのだ腺染色体をはっきり観察できた人が少なかった。教科書や図説を調べたところ、だ腺の取り出しや固定などの方法に違いがあることがわかった。それぞれの方法を試して最適な方法を確立しようと思った。

仮説

観察できない原因として、だ腺の取り出しがうまくいかない、だ腺と他の組織を見分けることができないという技術的な課題と、だ腺が染色されない、DNAとRNAが染め分けられないという固定・染色条件が考えられる。これらを解決することで、うまく観察できるのではないかと考え、その方法を見つけることにした。

2. 研究の方法と経過

(1) 他校の実態調査

9つの高校に通う友人に聞き取り調査を行い、使用している教科書の種類とだ腺染色体の実験の有無や時期などを調べた。実験を実施していない学校も4校あり、全員が観察できたという学校は無かった。

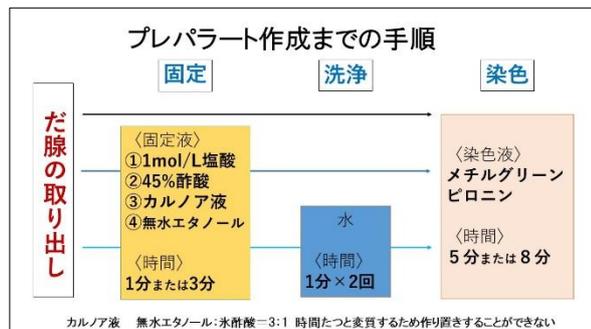
(2) 実験方法を調べる

次の①～③の項目について教科書と図説を調べた。

① だ腺の取り出し

- ・体節をピンセットで押さえ、柄付き針などで頭部を引き抜く (実教出版・浜島書店)
- ・頭部を柄付き針で押さえ、ピンセットで体節を引き抜く (数研出版)
- ・頭部を引き抜く (啓林館・東京書籍)
- ・記載なし (第一学習社)

② 固定・染色



さまざまな方法を試したが、次のa～eの5つの方法についてプレパラートを作成し観察することにした。染色液は、いずれもメチルグリーン・ピロ

ニン溶液を用いた。メチルグリーンはDNAを青緑にピロニンがRNAを赤桃色に染めるので、パフが赤桃色に染め分けられる。

- a 固定なし染色8分
- b 45%酢酸1分固定・洗浄なし染色5分
- c 45%酢酸1分固定・洗浄2回染色5分
- d 1mol/L塩酸1分固定・洗浄なし染色5分
- e 1mol/L塩酸1分固定・洗浄2回染色5分

③ 押しつぶし

- ・プレパラートの上にもろ紙を置き、親指で押しつぶす(実教出版・第一学習社)
- ・カバーガラスをかけて押しつぶす(浜島書店)
- ・プレパラートを2つに折ったろ紙にはさみ、親指の腹で上から静かに押しつぶす(数研出版)
- ・ろ紙をのせて軽く押しつぶす(啓林館・東京書籍)

(3) アンケート調査

自分たちが試した方法でうまく観察できたかアンケート調査を行う。

3. 研究の結果

①～③の項目について最適な方法を確認し実験プリントを作成した。選択生物を履修している3年生に協力してもらい実験を行った。観察できない原因として、だ腺を取り出すことができないことやだ腺を見分けることができずに別の組織を染色していることが分かった。このため、実験操作についての動画を作成し、だ腺の取り出しや見分け方がうまくできるよう工夫した。

①だ腺の取り出しと見分け方

(取り出し)

白い紙の上で、利き手側に柄付き針をもち頭部を引き抜く方法が最も取り出しやすい。



(見分け方)

白い紙の上から黒い実験机の上にスライドガラスを移動すると透明なだ腺が見分けられる。



②固定・染色

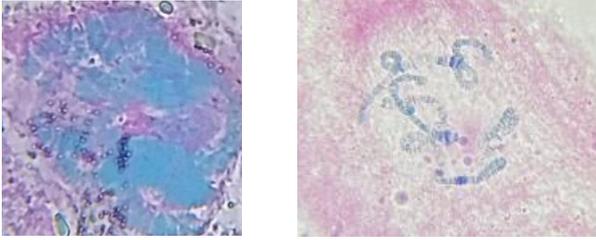
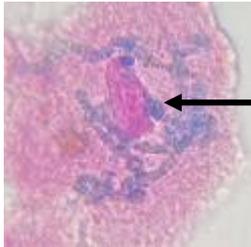


写真1 固定なし 写真2 塩酸固定（洗浄なし）



パフが赤桃色に染め分けられている

写真3 酢酸固定（洗浄なし）

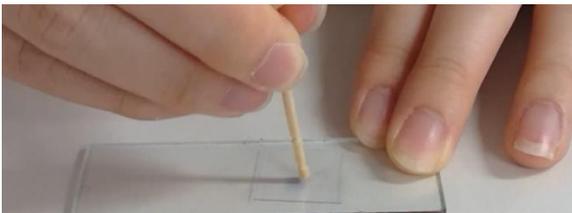
a～eの方法でプレパラートを作成・観察した結果、以下のことが分かった。

- ・固定したほうが染色体の輪郭や横縞がはっきり観察できる。
- ・酢酸よりも塩酸のほうが染色体の輪郭がはっきりするが、パフが染まりにくくなる。
- ・固定後に洗浄したが方が染まりやすいが、手順が複雑になり時間がかかる。

以上の結果から、b 45%酢酸 1分固定・洗浄なし 染色5分を最適な方法とした。

③押しつぶし

カバーガラスの上ろ紙をのせ、中心を親指で軽く押し広げる。ろ紙を外しカバーガラスの上からつまようじで中心から「の」の字を書くように細かくたたきながら押し広げていく。

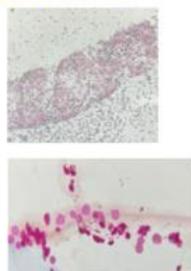


プレパラートが作成できても顕微鏡でだ腺染色体を探せない生徒がいた。だ腺の細胞と他の組織を見分けられるよう工夫した。

だ腺染色の観察
(観察倍率150倍)



だ腺以外の組織



アンケートの結果

1年1組～6組のアンケート結果

だ腺の取り出し

うまく取り出すことができた	98%
だ腺を見分けることができた	93%

観察

染色体が観察できた	100%
染色体の縞模様が確認できた	93%
DNAとRNAが染め分けられた	93%

実験プリント・動画

プリントは分かりやすかった	100%
動画があったほうが分かりやすい	100%

実験を行った先生の感想

- ・だ腺の取り出しが短時間でスムーズだった。
- ・別の組織を固定した生徒が少なかった。

4. 考察

- ・アンケート結果と先生の感想から、だ腺の取り出しと見分け方ができれば、ほとんどの生徒がうまく観察できることが分かった。動画で説明したことで操作方法を具体的に理解してもらうことができたので、失敗する生徒が少なかった。以上のことから、プリントだけでなく動画を使って説明するほうがより具体的にイメージが伝わり実験の成功率があがると考えた。

5. 反省と課題

同じ条件でも染色の状態に差が見られたが、その原因が何であるかは分からなかった。飼育環境や季節などアカムシの個体差によるものなのかそれ以外に要因があるのか確認したい。なお実験に用いるアカムシは新鮮なものが良いとされているが、飼育3か月以上でも問題なく観察できた。

実験では、45%酢酸を固定液として使用したが、固定液の濃度による違いは確認しなかった。今後、最も適した濃度を調べていきたい。

6. 参考文献

- 数研出版 「三訂版フォトサイエンス生物図録」
 第一学習社 「高等学校改訂新生物基礎」
 「九訂版スクエア最新図録生物」
 実教出版 「新訂版高校生物基礎」
 「四訂版サイエンスビュー生物総合資料」
 東京書籍 「改訂新編生物基礎」
 浜島書店 「ニューステージ生物図録」
 啓林館 「改訂版生物基礎」

7. 謝辞

ご指導くださった荒井先生、本田先生、ご協力いただいた皆さんに心から感謝申し上げます。