

理科実験体験活動における染色体観察の一工夫

— 中学・高校生のゲノム伝達理解のために —

小倉 久和

Protocols of a chromosome observation method described by Iwanami and Moriwaki were introduced. By contrast, the writer proposed an improved method of chromosome observation and explained how to make karyotype by microphotographs of chromosomes. Examples of chromosome spread and karyotype were here presented and it was indicated that karyotype analysis is still a useful tool to understand genome transmission.

Keywords : chromosome observation, karyotype, genome transmission, biological education

1. はじめに

筆者は2002年6月には教育学部附属中学校2年生を対象として、2003年8月には岡山県下の中学1～3年生を対象としてネギ属植物の体細胞分裂と染色体の観察実験を行った[1, 2]。また、2006年度はSSH校の指定を受けた倉敷天城高校・理数科の課題研究を連携して行うことになり、そのプログラムにも「タンポポの染色体分析」が含まれている。これらの実験体験活動では、タマネギ、ニンニク等を材料にした体細胞分裂観察のための実験準備と受講学生に根端分裂組織を用いたプレパレーションを作らせることは比較的容易であるが、細胞分裂の各時期の観察ではなく、体細胞中期染色体そのものの数と形の観察と染色体像の顕微鏡写真撮影はかなり困難であるという声が多かったので、ここでは中学校、高等学校での生物実験における植物の体細胞中期染色体の観察のための工夫を中心に述べてみたい。また、染色体標本が作成できるようになれば、良い標本を基にして、核型の作成もさせることが望ましい。生物雑種がその両親の染色体を半分ずつもっていることを理解させるには、核型の作成と核型分析は極めて有効な手段である。

以下、II. 岩波と森脇による従来の染色体観察法[3]、III. 筆者による染色体観察の改良法および、

核型と核型分析（キク科植物を例として）の順に簡単に紹介する。

II. 従来の染色体観察法（岩波と森脇 1983による[3]、図1参照）

タマネギの根の先端（根端）を材料とした染色体観察のためのプレパレーション作成の通常の手順を図1に模式的に示し、その手順の説明を以下に箇条にて記す。

1. タマネギの下部が水につかるようにしておくと、発根する（2～3週間後）
2. 伸びてきた根の先端部を約5 mmの長さに切り取る
3. それをピンセットではさんで酢酸カーミン液の中に入れる
4. 酢酸カーミン中に2日間入れておく
5. 試験管に45%の酢酸液を取り、その中に染色した根の先端を入れ、煮沸しない程度に加熱する
6. 根の先端をスライドガラスの上にのせ、針で縦にひきさく
7. 酢酸液を加えてカバーガラスをかけ、指先で押しつぶすようにする
8. 顕微鏡で観察する

岡山大学教育学部理科教育講座 700 - 8530 岡山市津島中3 - 1 - 1

Chromosome Observation Experiments in Hands-on Experience Programs in Science

— How to Teach “Genome Transmission” to Junior-high and High School Students —

Hisakazu OGURA

Department of Science Education, Faculty of Education, Okayama University, 3-1-1 Tsushima-naka, Okayama 700-8530

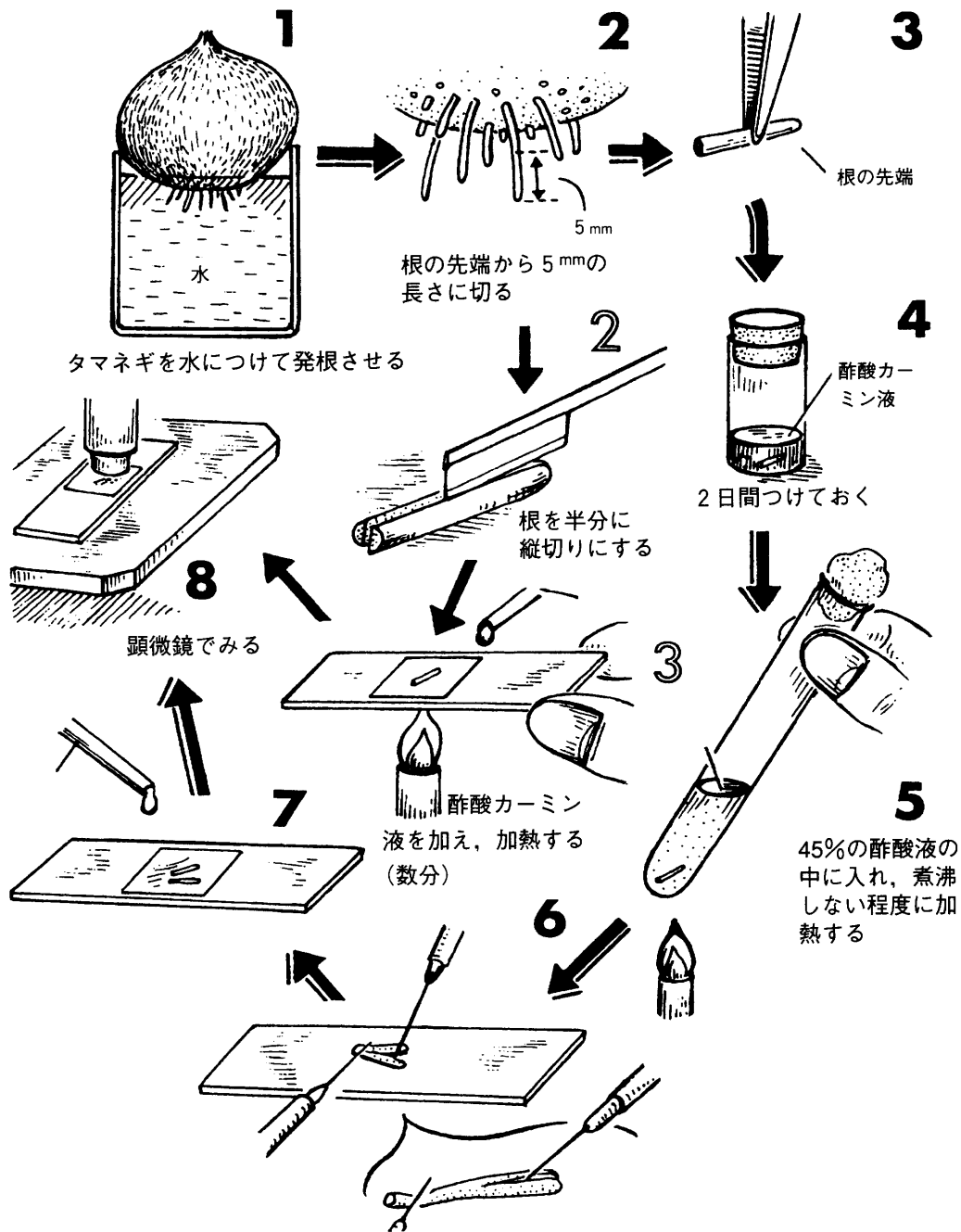


図1 タマネギの根の先端を用いた染色体観察の一方法 (岩波と森脇 1983, (株) 講談社より許可を受けて掲載)

図1には3~7の手順を省略して、いきなり手順2から8にいたる簡便法も出ているが、筆者の経験に基づいた改良法の手順を以下に記す。また改良法の注意点については、箇条書きの手順のあとに別に記す。

III. 筆者による染色体観察の改良法の手順と注意点

1. 小タマネギが無ければ、ニンニク球根(正しくは鱗茎)を用いるのが良い(輸入されている中国産ニンニクはよく発根、発芽し、安価に入

- 手できる)。ニンニクを鱗茎のまま、あるいは小鱗茎にバラしてから水につけて発根させる
2. 発根した根を先端から1cmの長さに切り取る。
3. (細胞分裂中期の細胞を増加させるために) 切りとった根の先端(根端)を 2×10^{-3} モルの8-ヒドロオキシキノリン溶液に約3時間浸漬する
4. 根端をエチルアルコール:氷酢酸 = 3:1の固定液に入れて室温で貯蔵する
5. 根端をピンセットではさんで、60℃の1モ

- ル塩酸が入った管瓶に入れて加水分解を行う
6. 加水分解した根端を蒸留水で洗ってから、口紙で水分を取り除いた後、柔らかくなった根端を酢酸オルセイン液の入った管瓶に1～2時間入れておく
 7. 根端をスライドガラスの上ののせ、安全カミソリで先端から0.5～1 mm 輪切りにする
 8. 45%酢酸液を加えて、カバーグラスをかけ、カバーグラスのいずれかの端に安全カミソリをはさんで浮かし、カバーグラスをずらさないように口紙を折りたたんだもので押さえてから、ピンセットの背中又はつまようじで軽くたたく (根端の組織、細胞を散らせるため)
 9. ずらさないように安全カミソリをはずし、アルコールランプの炎で (沸騰させない程度に) あぶり、カバーグラスをずらさないように口紙を折りたたんだもので押さえてから、親指で押しつぶすようにする (力は真下に入れて、5～10秒保つ)
 10. カバーグラスの周囲を封縁剤で封じる
 11. 顕微鏡で観察して、重なるの少ない良い染色体像をもつ細胞をさがす

(染色体観察の改良法における注意点)

手順1でタマネギを材料にする場合は、鱗茎を用いるよりも市販のタマネギ種子を播いて得られる根端を用いるほうが良い。鱗茎には芽止めの処理がされている場合がある。手順3の8-ヒドロオキシキノリン溶液への浸漬は、この化学物質が細胞分裂時の紡錘体形成を阻害し、分裂期の細胞に存在する染色体が両極に移動することを妨げるので、細胞分裂中期の細胞が増加する。さらに、8-ヒドロオキシキノリンは分裂中期染色体の長さを短縮させるので、比較的長い染色体をもつ生物の染色体観察には有効である。2×10⁻³モルの8-ヒドロオキシキノリン溶液は、290.3mgの粉末を蒸留水に溶かして1リットルにメスアップして作成する。2×10⁻³モルの8-ヒドロオキシキノリン溶液は褐色瓶に入れて、冷蔵庫で4℃で保存すれば、約1年は使用できる。手順4のエチルアルコール：氷酢酸=3：1の固定液は、固定直前に作成して使用する。手順5では、60℃の湯を入れた大型ガラス器具中に針金でとめた小型ビーカーに1モル塩酸を入れて使用することで、60℃の恒温装置の代用ができる。また、染色液については従来法では酢酸カーミン液をあげているが、酢酸カーミン液は、酢酸とカーミン色素の混合後、何度も煮沸しなければならないなど、作成が容易ではないので、この改良法で

は酢酸オルセイン液を染色液として薦める。手順6の酢酸オルセイン液は45%酢酸にオルセイン色素が1%となるように混合し、口紙とロートでろ過すればすぐ使用でき、作成が容易である。手順7では根端の最先端部分1～2 mm (根冠) は分裂組織ではないので、安全カミソリで切り捨てる。残りの根端のよく染色された部分を、少量使用するのが、良い染色体標本を得るためのコツである。また、手順8のカバーグラスの端に安全カミソリをはさんで浮かし、細胞を散らせるテクニックは、文献にはほとんど出ていないが、極めて重要なコツである。

IV. 核型と核型分析 (キク科植物を例として)

この酢酸オルセイン押しつぶし法で作成した染色体標本の顕微鏡写真を図2に示す。図2Aはキク科植物の1種、ホソバノセイタカギクで、Bは日本固有のキク、ハマギクであり、それぞれ2n=18の染色体数をしめしている。これらの染色体写真をもとにして、個々の染色体を大きさの順に並べたもの(あるいは染色体を数と形態であらわしたものを核型(karyotype)と言い、核型に基づいて、生物の類縁関係や系統分化等を解析する方法を核型分析(karyotype analysis)と呼ぶ。染色体実験では、良い染色体写真が得られた場合は核型の作成まで行うことが望ましい。核型はそれぞれの種に固有のものであるので、ゲノム(=1セットの染色体組)の理解のためには有効な手段の一つである[4, 5, 6]。図3に、ホソバノセイタカギク(A)、ハマギク(B)、ホソバノセイタカギクとハマギクの雑種(C)の核型を示す。この図のCの1～9までの染色体がホソバノセイタカギク由来で、10～18までの染色体がハマギク由来であることが一目で理解できる。すなわち、Cの雑種はホソバノセイタカギクゲノムとハマギクゲノムとを1セットずつ持っていることがよく分かる(Aはホソバノセイタカギクゲノムを2セット[2n]、Bはハマギクゲノムを2セット[2n]持っている)。現代はDNA生物学の時代であるが、中学生、高校生たちに、1セットの染色体組がゲノムに相当することを理解させるためには、核型分析は依然として極めて有効であると思われる。ゲノムを「ある生物のもつすべての遺伝情報」と教えることは現代的ではあるが、ある生物のもつすべての遺伝情報が、1セットの染色体組(n)に含まれているので、以前からのゲノムの定義「ある生物の2セットの染色体組(2n)の半分=ある生物の1セットの染色体組(n)」は、ゲノムとゲノムの伝達を教えるときには、現代的なゲノムの定義よりも理解し易いという利点がある。

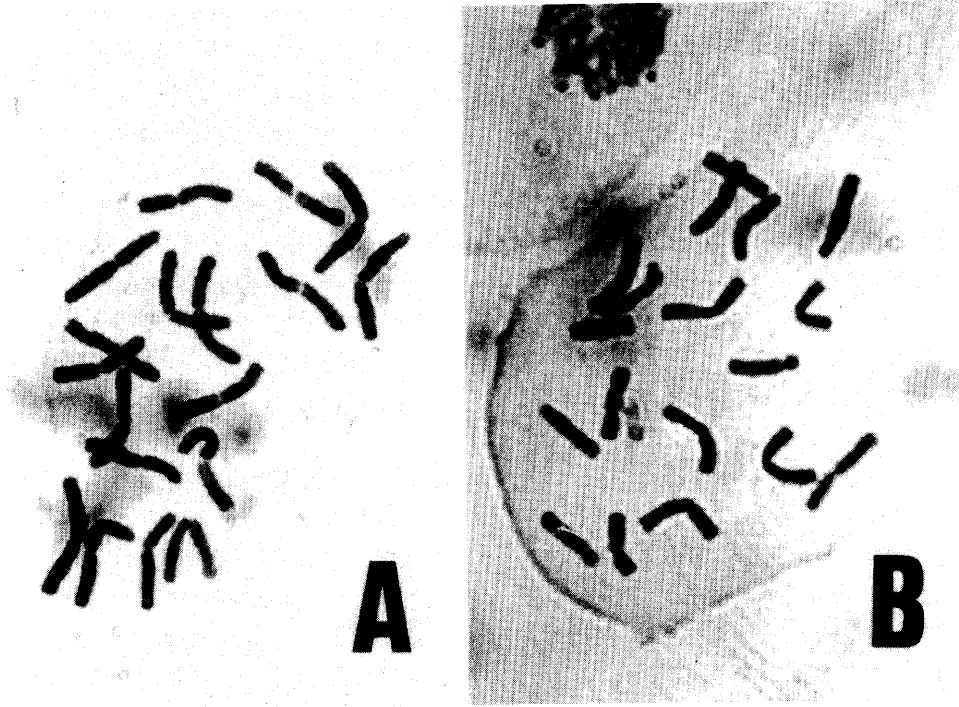


図2 酢酸オルセイン染色法によるキク科植物の体細胞分裂中期染色体像：
A. ホソバナセイタカギク ($2n=18$)， B. ハマギク ($2n=18$)
(小倉原図)

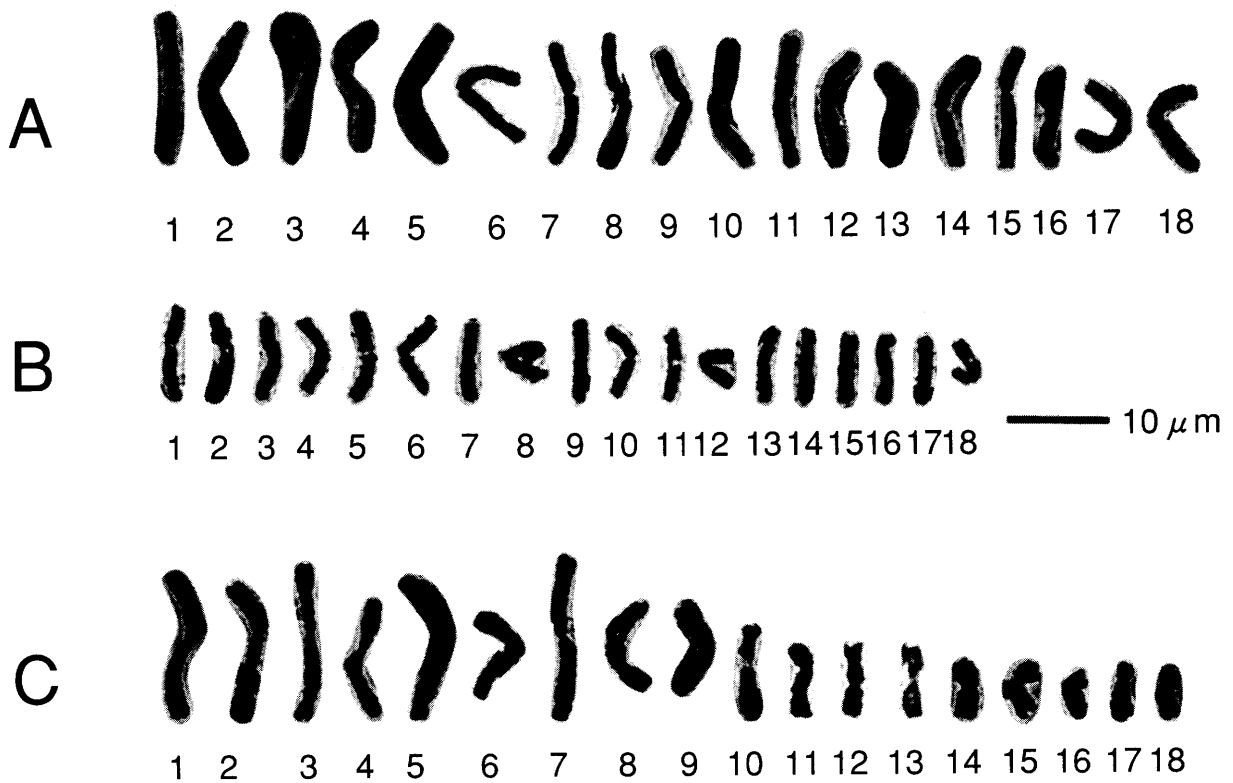


図3 キク科植物の核型の例： A. ホソバナセイタカギク ($2n=18$)，
B. ハマギク ($2n=18$)， C. ホソバナセイタカギクとハマギクの雑種
Cの雑種の核型はAの染色体セットの半分とBの染色体セットの半分を
持っていることが分かる (小倉原図)

V. おわりに

生物雑種のメス由来ゲノムとオス由来ゲノムを、それぞれ異なったカラーに染色できるゲノミック・イン・シチュ・ハイブリダイゼーション(GISH)法のことを本稿で紹介するつもりであったが[7], 赤色と黄色とに染め分けたはずのGISH写真のカラーの違いが鮮明でなかったため、通常の核型分析によるゲノム識別法の紹介となった。今後、良いGISH写真が入手できれば、GISH法による異なったカラーにゲノムを染め分ける方法についての報告をまとめたいと考えている。

キク科植物の核型分析とGISH実験を行うにあたり、広島大学理学研究科の近藤勝彦教授には丁寧なご指導を賜った。この場を借りて厚くお礼申し上げます。

VI. 文 献

- [1] 岡山大学教育学部附属中学校ホームページの教職員向けメニューの教科・教務の中の理科のホームページ「<http://www.fuzoku.okayama-u.ac.jp/ml/kyouka/science/index.html>」参照
- [2] 中尾安男他8名 科学実験体験活動(小, 中学生および高校生対象) 実践報告. 岡山大学教育実践総合センター紀要 5: 173-180 (2005).
- [3] 岩波洋造, 森脇美武 絵をみてできる生物実験. 株式会社講談社, 東京, pp. 210. (1983).
- [4] 田中隆荘 植物進化と染色体 遺伝 1976年9月号 掌華房, 東京 pp. 7-11 (1976).
- [5] Ogura, H., Kondo, K., Aizawa, T., Morimoto, M. and Miyamoto, T. Polyploidy distribution and karyotype variation in several wild populations of *Allium grayi* Regel (Liliaceae) in Okayama Prefecture, Japan. *Cytologia* 65: 419-427 (2000).
- [6] Ogura, H. Cytogenetics of *Allium grayi* (Liliaceae). In: *Recent Research Development in Genetics and Breeding 1.* (ed. Pandalai, S.G.), pp. 35-46, Research Signpost, India (2004).
- [7] Ogura, H. and Kondo, K. Application of genomic *in situ* hybridization to the chromosome complement of the intergeneric hybrid between *L. linearis* and *N. nipponicum*. *Chromosome Science* 2: 91-93 (1998).