

10

体細胞分裂の観察（タマネギ）

難易度	可能時期	教材の入手日数	準備時間	実施時間
★★☆	一年中	1週間～	3日～	40分

目的と内容

根端分裂組織を用いて、核や染色体を染色することによって、体細胞分裂の各時期を観察し、体細胞分裂でDNAが分配されることを理解する。

生徒達は、中学校で根の細胞のようすを観察しているが、分裂期の細胞を観察できないままに終わっているケースがかなりあると思われる。プレパレート作成と顕微鏡操作の技能がともに必要であるが、分裂像を見付けられたときの感動は大きい。

以前はタマネギの鱗茎から発根させる方法が主流だったが、ここでは数が揃えやすく、根端が見分けやすいタマネギの種子から発根させる方法とした。観察時間の確保のため固定処理まで準備し、解離処理から生徒に操作させる。

既習
事項

中学校：生命の連続性

体細胞分裂の過程で染色体が複製されることについて学習している。

中学校でも体細胞分裂の観察を行っている。

留意点

【指導面】

- ・「DNAが複製され分配されることにより。遺伝情報が伝えられることを理解すること」がこの単元の目標である。体細胞分裂の前後で遺伝情報の同一性が保たれることを理解させることを意識して指導する。
- ・核や染色体を染色することによって、体細胞分裂の各時期を観察し、体細胞分裂でDNAが分配されることを理解することがねらいであるので、少なくとも手順③～手順⑥は生徒に実習させたい。解離処理の手順①，手順②を直前に済ませたものを配付すると時間短縮が可能である。染色時間を十分に確保する必要があるため実験前の手順説明を最小限にし、染色をしている間に詳しい説明をするなど時間の使い方を工夫するとよい。

-
- ・生物の体は細胞が集まって出来ている。「分裂で増えるときに均等にわかれているのだろうか」「細胞の大きさはどうなっているのだろうか」「分裂の様子はどうなっているのだろうか」「分裂期の各期は同じように観察されるだろうか」など導入を工夫し、生徒自身が疑問をもち主体的に実験に取り組むように指導する。
 - ・「なぜ固定するのか」「なぜ解離するのか」「なぜ水洗いする必要があるのか」「なぜ染色するのか」「どうして染色できるのか」「なぜ押しつぶすのか」「操作の中で、やってはいけないこと（勢いよく水で洗う、カバーガラスをずらすなど）の理由は何か」など操作の意味を生徒が理解するように指導する。
 - ・「解離の操作や塩酸の除去を行っているか」「根端の分裂組織を取り出しているか」「染色はしっかりと行っているか」「押しつぶしは適切に行っているか」「顕微鏡の操作を手際よく行っているか」「細胞や核を見付け観察しているか」「体細胞分裂を見付け観察しているか」などの体細胞分裂の観察にかかわる操作ができているか、スケッチはスケッチの仕方に従って描いているか、プリントやレポートなどに過程や結果の記録、整理をしているかなどを机間巡視して適宜指導する。

【安全面】

- ・塩酸を皮膚や衣服に付着させないように注意する。
- ・カバーガラスを割らないように注意する。

【その他】

- ・染色液は落ちにくいので、染色液が皮膚や衣服に付着しないように注意する。
- ・可能な限り、少人数の班を構成し、一人一人の生徒が実験に取り組めるようにする。
- ・事前に体細胞分裂が観察できるプレパラートをつくり、顕微鏡でピントを合わせたものを用意しておき、投影するなど例を示すとよい。

◎準備

準備の流れ

1ヶ月前～

(発注, 調製, 代替の検討時間含む)

- 器具の在庫確認
- 染色液の在庫確認
- 実験室の備品確認

～1週間

- タマネギの入手, 発根

発根後

- 固定液の作成, 根の固定, 根の保存

～前日

- 実験プリント作成・印刷
- 塩酸, 染色液の小分け
- 根の小分け

当日

- 器具・教材・薬品の分配

☆教材の入手方法

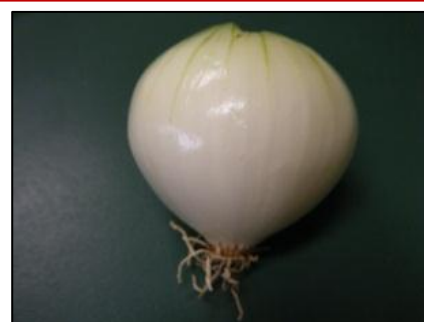
・タマネギの入手方法

①タマネギの種子は、夏～秋にホームセンターなどで入手できる。しかし、時期がずれるとまったく入手できなくなる。

1袋 300円前後



タマネギの種子



タマネギ

②タマネギはスーパーマーケットでほぼ年中入手可能。体細胞分裂を観察する場合、新タマネギは発根しにくく、一番外の皮が茶色になってから使える。 1個 30円前後

・ネギの入手方法

タマネギの種子が入手できない時期は、ネギ類の種子がホームセンターなどでほぼ年中入手でき代用可能である。発根させたときの細胞の大きさはタマネギの細胞より少し小さいといわれているが、染色体数は同じ $2n=16$ であり、顕微鏡観察ではタマネギと同様に観察できる。 1袋 300円前後

・種子の発根方法

ペトリ皿に数枚のろ紙を敷いて、その上に種子をまき、水を吸わせる。日をずらして種子をまくと、適当なものを毎日得やすい。まいた種子が水没したり乾燥したりしないように水加減に注意する。蓋をして温かい暗所に置き、毎日水を適度に与え、発根を待つ。20℃前後では、種をまいてから3、4日すると適度に発根した種子が現れる。固定する直前に、固定液（ファーマー液やカルノア液）を調製する。固定する時間帯は、午前9時前後に分裂が盛んなため適しているといわれており、午前中に根が1～2cm程度発根したものを固定する。

・固定及び保存方法

固定液で10分以上固定する。そのまま数日おけるが、固定液が変質するため長くはおけない。70%エタノールに材料を移して保管すると1年間は使える。時間のある温かい季節に多量に発根させ、観察に適した長さに伸びた根を固定し保存しておく、必要なときにすぐ使える。

準備

当日のセット

☆生徒用

- | | |
|--|--------|
| <input type="checkbox"/> 検鏡セット | 1組 |
| <input type="checkbox"/> 光源装置 | 1台 |
| <input type="checkbox"/> 両刃カミソリ | 1つ |
| <input type="checkbox"/> 爪楊枝またはマッチ棒 | 1つ以上 |
| <input type="checkbox"/> 9 cm ペトリ皿 | 1組 |
| <input type="checkbox"/> 500mL ビーカー | 1つ |
| <input type="checkbox"/> ろ紙 (2つまたは4つ切り) | 多め |
| <input type="checkbox"/> タマネギの根端 | 約 10 個 |
|
 | |
| <input type="checkbox"/> 1 mol/L 塩酸 | 1つ |
|
 | |
| <input type="checkbox"/> 染色液 (酢酸カーミン, 酢酸オルセインなど) | 1つ |

★教員用

- | | | |
|------------------------------------|----|---------------------------------|
| <input type="checkbox"/> 生徒用と同じもの | 1組 | |
| <input type="checkbox"/> 熱湯を入れたポット | 適量 | ・ 熱湯 ・ ポット |



準備に必要な用具

※検鏡セット

- | | |
|-----------|----|
| ・ 光学顕微鏡 | 1台 |
| ・ スライドガラス | 1組 |
| ・ カバーガラス | 1箱 |
| ・ 先尖ピンセット | 1つ |
| ・ 柄付き針 | 1つ |

- | | |
|-----------------|-------------|
| ・ はさみ | |
| ・ タマネギの種 | ・ 9 cm ペトリ皿 |
| ・ ろ紙 | ・ 水 |
| ・ 氷酢酸 | ・ 無水エタノール |
| ・ ビーカー | ・ メスシリンダー |
| ・ ピンセット | ・ 管ビン |
| ・ 50mL ビーカー | ・ パラフィルム |
| ・ ビーカー | ・ メスシリンダー |
| ・ 蒸留水 | ・ 駒込ピペット |
| ・ 試薬ビン | ・ ラベル |
| ・ 駒込ピペット | ・ ラベル |
| ・ プチボトルまたはスポイト瓶 | |



光源, 根端を切る用具, 展開の用具, 容器などは代わりにするものを工夫してかまわない。

サポート資料の見方

顕微鏡の使い方

生物の特徴

遺伝子とDNA

生物の体内環境の維持

生物の多様性と生態系

巻末資料

教材の情報

・タマネギ

根端分裂組織は体細胞分裂の観察の材料としてよく使われる。タマネギから発根させたものは太く扱いやすい反面、数を集めるのが大変で、種を発根させる方法が主流となってきている。

ネギ科ネギ属 *Allium cepa* ($2n=16$)

りん茎の内側の表皮細胞がはがしやすいため、細胞の観察がしやすい。しぼりを上手く調節するとミトコンドリアが流れて原形質流動も観察できる。

原形質流動は、循環型と呼ばれる液胞内を原形質が細い糸のように貫いて循環する。ムラサキツユクサなどでも見られる。

・ネギ

タマネギ ($2n=16$) と同属のため、体細胞分裂の観察の材料として使用できる。

ネギ科ネギ属 *Allium fistulosum* ($2n=16$)

ネギの花を「ねぎ坊主」といい、減数分裂の観察に利用できる。この場合、包皮がまだ破けていない状態のものを取って(4~5月)固定しておくといよい。

薬品の情報

・1 mol/L 塩酸

濃塩酸は、劇物なので取り扱いには十分に注意する。特に、蓋を開けた際に塩化水素が揮発する危険性が高いので、ドラフト内で作業する。質量パーセント濃度 37%、密度 1.19g/mL であることから、モル濃度は約 12mol/L である。蒸留水 110mL に塩酸 10mL の割合で希釈すると 1 mol/L 塩酸が得られる。毒物及び劇物取締法により 10%を超える塩酸は劇物に指定される。

塩酸 (NaRiKa 500mL 1,300 円) 劇物



塩酸

・染色液

オルセイン (メルク 5 g 27,400 円, NaRiKa 1 g 4,200 円)

カーミン (メルク 5 g 21,100 円, 合成 NaRiKa 25 g 3,400 円)

ゲンチアナバイオレット (和光純薬 25 g 3,700 円)

※調製法について、詳しくは巻末資料「調製集」を参照。

①〜一週間前

タマネギの根を発根させる。




ペトリ皿に2枚のろ紙を敷いて、その上にタマネギの種子をまく。まいた種子が水没したり乾燥したりしないように水加減に注意し、ペトリ皿に水を加える。蓋をして温かい暗所に置き、毎日水を適度に与え、発根を待つ。20℃前後では、種をまいてから3、4日すると1~2 cm 程度発根した種子が現れる。日をずらして同様に別のペトリ皿に種子をまくと、適当なものを毎日得ることができる。



タマネギの種子をまいたもの

②発根後



固定は生きているときに近い状態で細胞のはたらきを止めるための処理である。根が1~2 cm 程度発根したものを固定液に入れて10分以上固定する。  →状態1の原因1 (p.123)

固定する直前に、固定液(カルノア液やファーマー液)を調製する。固定する時間帯は、午前9時前後に分裂が盛んなため適しているといわれており、少なくとも午前中に行う。固定したものはそのまま数日

おけるが、固定液が変質するため長くはおけない。70%エタノールに材料を移して保管すると1年間は使える。

・固定液（カルノア液、ファーマー液など）の調製

固定液は、調製しておいたものは変質しやすいため、固定する直前に調製する。ファーマー液がクロロホルムを使用しておらず、調製しやすい。

※ファーマー液（酢酸アルコール）の一般的な組成

無水エタノール：氷酢酸＝3：1

カルノア液の一般的な組成

無水エタノール：クロロホルム：氷酢酸＝6：3：1

・保存液（70%エタノール）の調製

濃度を厳密にする必要はないので、蒸留水 30mL に無水エタノール 70mL の割合で希釈して 70%エタノールにする。



ファーマー液

③前日まで

固定した根、塩酸、染色液を用意し、1 mol/L 塩酸、染色液をそれぞれ小分けする。ろ紙を切る。

固定済みの発根した根は 50mL ビーカーに 70%エタノールとともに小分けし、蒸発しないようにパラフィルムなどで覆っておく。

1 mol/L 塩酸を試薬ビンに小分けする。濃度を厳密にする必要はないので、蒸留水 110mL に濃塩酸 10mL の割合で希釈して 1 mol/L 塩酸にする。

染色液（酢酸オルセイン、酢酸カーミンなど）を用意し、プチボトルまたはスポイト瓶に小分けする。

④当日

器具・教材・薬品を分配してセットを用意する。

トピック

染色体の豆知識

生物によって染色体の数は決まっている。また、分裂時に見られるそれぞれの染色体の形や大きさも、生物によって決まっている。これを核型といい、コルヒチンなどの薬品を使って紡錘体の形成を阻害して細胞分裂を中期で止めることで、核型を調べるのに適した染色体が観察できる。植物の場合は根端分裂組織が、動物の場合は骨髄が、分裂が盛んなため利用されることが多い。

間期では染色体が分散してクロマチン繊維の状態で、すべてのDNAが切れたり絡まったりせず核内に収まっている。ヒトでは、直径5～10μmの核に総計2mのDNAが収まっている。前期のわずかな時間に、それぞれの染色体に収納されていく。

動物の多くは、遺伝子量補償という雌雄の遺伝子量の調節がはたっている。例えば、哺乳類では性染色体が雄はXY、雌はXXであり、雄では1本しかないX染色体で生存に必要な遺伝子を発現させている。一方、雌では2本のX染色体からの過剰な量の遺伝子の発現を避けるために片方のX染色体を不活性化している。

黒と茶のまだらの猫は雌で、黒と茶を決める遺伝子がそれぞれX染色体にある対立遺伝子であり、細胞毎に一方のX染色体がランダムに不活性化される。

観察，実験

観察，実験の流れ

□導入

- ・既習事項の確認
- ・一番多く観察できるのはどの時期か，次に多く観察できるのはどの時期か
答) 一番多く観察できるのは間期，次に多く観察できるのは前期
- ・染色体は，分裂によって数や形はどうなっているか
答) 染色体は，分裂によって数は変わらないが，それぞれ二つに分かれて娘細胞に分配される

□目的を理解させる

□観察，実験

- ・実験手順の指導
- ・生徒へのアドバイス
- ・安全面の注意
- ・核や染色体を染色することによって，体細胞分裂の各時期を観察する（本実験）

□結果のまとめ，考察

- ・観察からわかったこと
- ・各期の長さを正しくはかるにはどうしたらよいか
答) 生きている分裂組織の細胞を追跡して実測する

□後片付けの指示

手順 時間のめど（およそ 40 分）

※詳しい手順は付録「10 体細胞分裂の観察.pptx」を参照

① 塩酸による解離処理（5分）

固定した根を水道水で洗い，小ビーカーに根だけを残す。大きめのビーカーにお湯（80℃程度）を2cm程度の深さに注ぐ。小ビーカーが倒れない程度の量の1mol/L（約3.5%）塩酸を浸し，2分湯せんする。




解離は細胞間の結合を弱めるための処理である。解離に適した温度は60℃である。ポットに熱湯を入れておき，以上の処理をすると1mol/L塩酸の入ったビーカーは約60℃になる。加熱はしない。

解離時間が短いと細胞間の結合が強くなり，染色液が内部に入りにくい，押しつぶしがしにくいなどの原因になる。逆に，解離時間が長くと塩酸が抜けにくくなり，染色されにくくなる。




→状態1原因2 (p. 123)

② 塩酸の除去（2分）

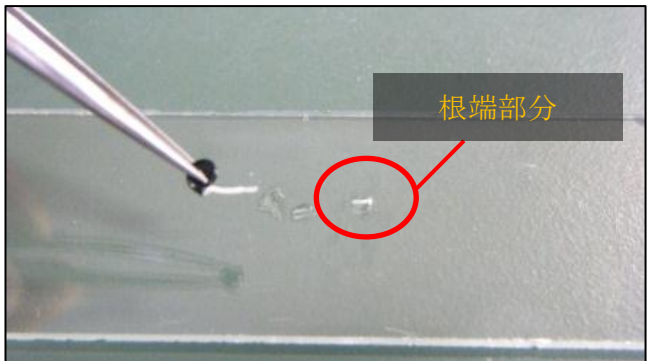
根が流れないように塩酸を捨てる。ビーカーに静かに水道水を加え、軽くゆすってから水を捨てる作業を、2回繰り返し、根を洗う。→状態1の原因3 (p.123)





 **組織がかなり柔らかくなっているので丁寧に作業を行う。**
塩酸が残っていると、染色液で染まりにくい。静かに、多めの水で根を洗う。水を捨てる際に流さないようにネットや茶こしなどを使ってもよい。


③ 根端分裂組織以外の除去（2分）

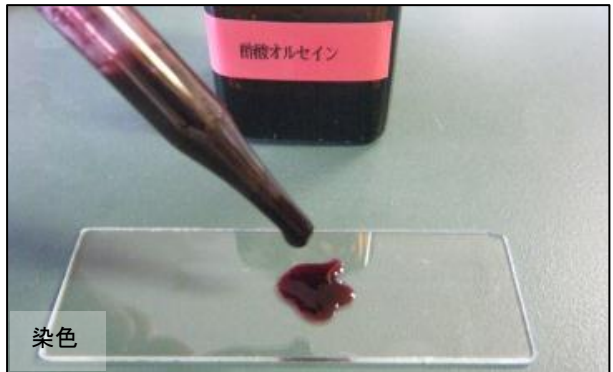
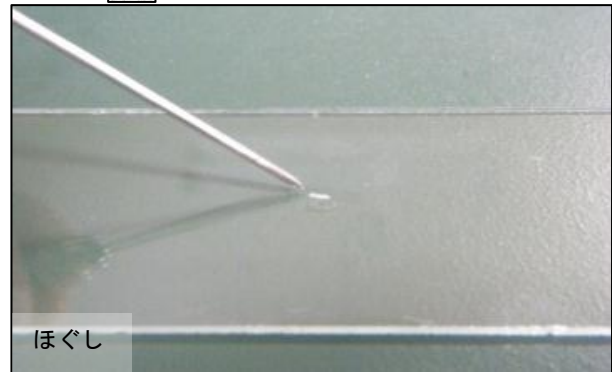
洗った根を1つ選び、スライドガラスに載せる。根の先端から2mm程度（白く濁った部分）を切り取る。種子側は取り除く。




 種皮を残した方が、根端がどちらか判別しやすい。分裂が盛んなところは細胞が集まって白く濁って見える。分裂像を探しやすいように2mm以上は残さない。
 →状態1の原因1 (p.123)

④ 染色（12分）

根端を柄付き針でほぐす。染色液を滴下し、10分置く。待つ間に、2枚分③④の行程を行い、予備をつくる。→状態1の原因4 (p.123)



 染色時間は長いほどよく、最低10分はかけたほうがよい。
染色液が内部に入り込むように、カバーガラスを載せ、上から軽く爪楊枝でたたく方法もある。

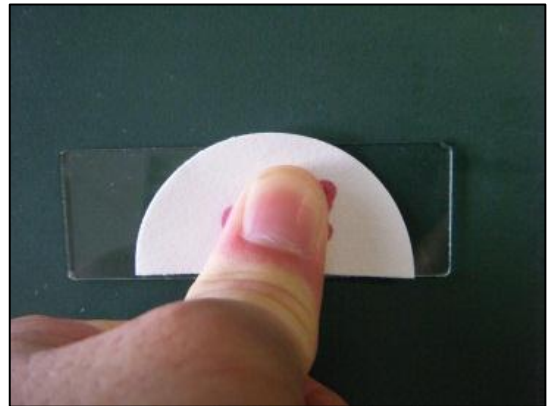
⑤ 押しつぶし（4分）

カバーガラスの一边をスライドガラスに付ける。ゆっくりカバーガラスを載せる。ろ紙を載せて指で押さえ、余分な染色液を除く。ろ紙を取り替え、指で垂直にゆっくりと強く押しつぶす。さらにカバーガラスを爪楊枝でたたいて、細胞を一層に広げる。予備2枚分も同様にする。失敗 → 状態1の原因5 (p.123)



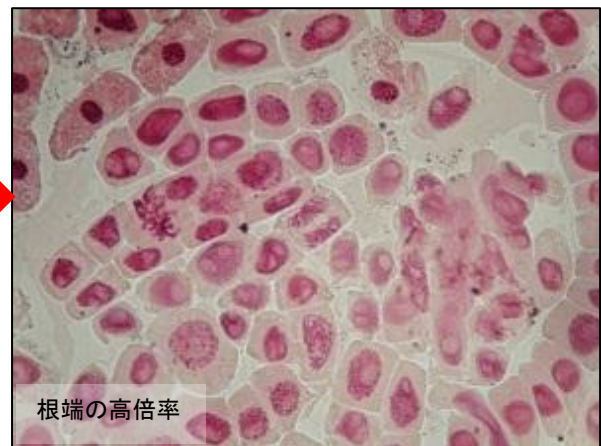
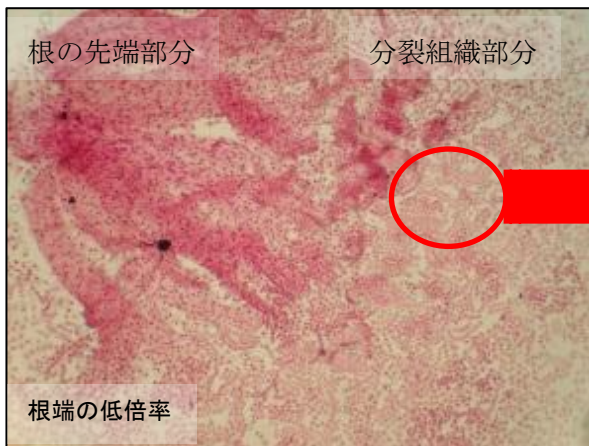
押しつぶしは重なった細胞を広げ観察しやすくするために行う。押しつぶしが弱いと染色体が広がらない。逆に、強すぎたり、カバーガラスをずらしたりすると細胞が壊れてしまう。

余分な染色液を追い出すことで、カバーガラスを滑りにくくする。検鏡後、展開が足りない場合はさらにたたいて展開するとよい。



⑥ 観察・スケッチ（15分）

低倍率（15×4）でピントを合わせる。中倍率（15×10）で分裂組織を探す。高倍率（15×40）で色々な時期の細胞を探し、スケッチする。失敗 → 状態1の原因6, 原因7 (p.123)



プレパラートが上手に出来ても探す場所が正しくないと、観察できない。基本に従って、低倍率から観察させる。小さい細胞が集まっているところが分裂組織である。染色や展開がよくない場合は、別のプレパラートを観察する。

まとめ

- ① 間期の細胞が多く、分裂期では前期の細胞が一番多いことが確認できた。
- ② 染色体の後期以降の様子から、均等に娘細胞に分配されていることが確認できた。

◎後片付け

■後片付けのさせ方

- ・ろ紙やタマネギの根端は、燃えるゴミに捨てさせる。
- ・スライドガラス、カバーガラスなどは洗剤で洗わせ、回収する。
- ・洗った器具は回収し、洗いが不十分なものは再提出させる。
- ・実験後、薬用石けんで手を洗わせる。

■器具等の管理

- ・回収したものは種類毎に分け、再点検した上で乾かし、それぞれの器具置き場に戻す。
- ・スライドガラスは染色液が除去できていない場合があるので、アルコールで拭いてから片付けるようにする。
- ・塩酸は実験室に放置せず、授業が終わったらすぐに薬品庫に戻す。
- ・染色液は、暗所に保管する。

失敗例

●状態 分裂像が見られない

原因1 材料に問題がある

①固定した時間帯が悪い

固定した時間帯によっては分裂が盛んではないため、見付けにくくなる。分裂が盛んといわれる午前中に固定をする。

②固定処理が悪い

固定液の調製は割合を正しく守り、毎回固定直前に行う。固定後は70%エタノールに移して保管する。

③根端ではないところを観察している

黒い種皮は根端分裂組織を取るまで残しておく、根端の位置がわかりやすい。水洗いの際に、根端がちぎれていることがあるので、先端が尖っている材料でプレパラートを作成する。

原因2 解離に問題がある

解離時間が短いと細胞間の結合が強くなり、染色液が内部に入りにくい、細胞が広がらないなどの原因になる。逆に、解離時間が長くと塩酸が抜けにくくなり、染色されにくい。

原因3 水洗いに問題がある

塩酸が残っているとうまく染色できないので、最低2回水洗いする。塩酸で柔らかくなっているため、ちぎれないように静かに洗う。

原因4 染色に問題がある

「別法」に示した、染色液を変える方法や固定・解離・染色を同時に行ってしまう方法なども検討するとよい。

①染色液に問題がある

染色液は古いと染色力が落ちることがあり、また、市販の調製済みの染色液は濃度が薄く、染色に時間が必要である。予備実験を行い、染色液が古くなって染色力が落ちていないか確認し、必要であれば作り直す。酢酸オルセインは酢酸カーミンより高価であるが染色がよい。

②染色時間が短い

染色液の状態や気温によって染色時間を長くする。

原因5 押しつぶしが悪い

余分な染色液が多いとスライドガラスがずれやすい。軽くろ紙をあてて吸い取った後、ずらさないように強く押しつぶす。

原因6 顕微鏡の操作が未熟である

基本的な操作を確認した上で観察する。

原因7 顕微鏡が整備不良である

レンズ汚れの除去などの手入れは日頃から行う必要がある。特に、高倍率の対物レンズは汚れやすいため、カビや錆が発生しないように注意する。1年毎に業者に顕微鏡のクリーニングを頼んだ方がよい。

別法

別法①

・染色液を変えるもの

一般的な染色液である酢酸カーミン染色液、酢酸オルセイン染色液ではなく、酢酸ダーリアバイオレット染色液、酢酸ゲンチアナバイオレット染色液などを用いる。ただし、ダーリアバイオレットは製造中止になったため、在庫のある学校に限る。

これらの染色液は、染色力が強く細胞質まで染色されることがあるが、短時間（2～3分）で染色でき、染色による失敗が少ない。



酢酸ゲンチアナバイオレット染色液

別法②

・固定・解離・染色を同時に行うもの

酢酸オルセイン染色液：塩酸＝7：3混合液に30分以上浸した後、水で2分程度脱色する。根端を切り出し、柄付き針で解し、押しつぶし法で細胞を広げ観察する。

簡単に観察でき失敗は少ないが、実際の操作が本来のものとは異なるため、固定・解離・染色の操作の意味を理解させにくい。また、顕微鏡像も正しい手順によるものに比べるとしまりがない。うまく染色ができず、プレパラートがつかれない生徒に対する材料として用意してもよい。

発展

・間期と分裂期の時間を推定するもの（詳しくは「11 細胞周期の推測」）

体細胞分裂が同調しないで行われていると仮定すると、ある時間帯に観察した各期の細胞数の割合と細胞周期に占める各期の時間は比例の関係にある。そのため、細胞周期の時間がわかると、各期の細胞数の割合から、細胞周期に占める各期の時間が推定できる。

根端分裂組織の顕微鏡像を中倍率（15×10）以上の倍率でデジタルカメラなどで撮影する。その映像を基に間期と分裂期の細胞に印を付け、数を数える。全体数から間期と分裂期の割合を求める。

細胞周期は気温によって異なるため、資料集などから適当な時間（例：24h）を細胞周期の長さとして計算する。細胞周期と間期の割合をかけ合わせると間期の長さ（h）が、細胞周期と分裂期の割合をかけ合わせると分裂期の長さ（h）が求められる。

器具の取り扱い

・スポイト瓶

中にスポイトがついている染色液などを入れる瓶。光によって染色液が変質しないように遮光性のものを使用することが多い。容量が多いため、使用頻度の高い酢酸オルセイン染色液などの容器として適している。

染色液を滴下する際には、スポイトと容器が結合しているねじを回してから適量をスポイトで吸い取る。使用後にスポイトのねじを締めないと染色液がこぼれるため注意が必要である。



・プチボトル（点眼瓶）

目薬などを入れる容器。プラスチック製で遮光性ではないため、長期的に使う容器としては適さない。少量の試薬を多数に分けられ便利である。高価な染色液を使用するときや個人や少人数のグループに試薬を配りたいときの容器として適している。

染色液を滴下する際には、強く押しすぎないように注意する。



・柄付き針

生物の実験などに使う、持ちやすいように柄のついた針。解剖などの際に細かい部分を操作したり、広げて固定したりといった使い方がある。プレパラートをつくる時なども材料を移す、広げる、押さえる、取り出す、ほぐすなど様々な用途に使える。

プレパラートをつくる際には、利き手にはピンセットを、もう片方の手には柄付き針を持つ。利き手のピンセットでカバーガラスを軽くはさみ、柄付き針の先端でカバーガラスの1辺を支えながら、気泡を追い出すように試料の片側からカバーガラスを倒していく。

