

## 9

## DNAの抽出（ブロッコリー）

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日	前日 50分	40分

## 目的と内容

DNAの性質を利用して、実際に生物の細胞から遺伝子の本体であるDNAを抽出し、観察する。また、抽出した物体がDNAであることを確かめる。

生徒はDNAを、とうてい肉眼では見られないものという印象をもちやすいが、エタノールによって沈殿したDNAは、十分肉眼で見たり触ったりすることができ、物質としてDNAを認識できる。多様なすべての生物は、共通した物質であるDNAが遺伝情報を担っているという、「共通性と多様性」を実際に感じることができる実験である。

DNAは核に多く含まれるため、少量の材料からDNAを目に見えるくらいの収量を得るためには、十分な数の核を必要とする。核は同じ生物であれば大きさはあまり変わらないため、細胞が小さいほうが材料中の核の割合が高くなる。さらに、植物はDNA抽出の妨げになりやすいタンパク質が少ないため、簡易的な方法でも再現性が高い。ここでは、細胞が小さく入手も容易なブロッコリーを材料として用いる。

既習事項

中学校：生命の連続性

遺伝子の本体がDNAであること、遺伝子に変化が起きて形質が変化することがあることについて学習している。

中学校の教科書にはブロッコリーから抽出したDNAの写真が掲載されている。

## 留意点

### 【指導面】

- ・「遺伝情報を担う物質としてのDNAの特徴について理解すること」がこの単元の目標である。遺伝子は情報であり、DNAは物質である。遺伝子とDNAの違いを意識して指導する。
- ・細胞から遺伝子の本体であるDNAを抽出し、観察することがねらいであるので、手順①～手順⑥は生徒に実習させたい。手順⑦は演示で時間短縮が可能である。

- 
- ・DNAは見ることができるか、DNAの色・形はどうかを発言させるなど導入を工夫し、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。
  - ・「DNAは1～2mol/Lの塩化ナトリウム水溶液に良く溶ける」「中性洗剤は細胞膜や核膜を破壊する」「常温ではDNA分解酵素がはたらく」「静かにかき混ぜないと、DNAが切断される」「DNAは冷えたエタノールに沈殿する」ことなど、操作の意味を生徒が理解するように指導する。
  - ・「花芽のつぶしが十分か、手際よく手早く行っているか」「抽出液を入れてからの操作が丁寧か」「アルコールを入れる操作で、上手に2層に分けられているか」「繊維状のDNAを得ることができたか」「DNAの確認操作を手際よく行っているか」などのDNAの抽出にかかわる操作ができているか、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】

- ・材料をすりつぶす際に、乳鉢をしっかりと押さえ、手を滑らせないように注意を促す。
- ・高純度のエタノールを使うので、火気に注意する。

### 【その他】

- ・染色液は落ちにくいので、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。

### トピック

DNAの太さや長さほどのくらい？

DNAの太さは0.2nm、塩基間の距離は0.34nmである。(1nm=10<sup>-9</sup>m)

ヒトの体細胞1つに含まれる総塩基対は約60億対(=ゲノム約30億対×2組)なので、長さを計算する(※1)と、約2mになる。また、ヒトの染色体数は2n=46だから、1つの染色体に含まれるDNAの長さは平均約4.4cm(=204cm÷46)になる。

DNAの太さを髪の毛(0.1mm)に例えると、核の大きさ(直径)は約5～10μmなので、直径25cm～50cmのバスケットボールくらいの中に100kmの長さのひもが入っている計算になる(※2)。

ブロッコリーの体細胞1つに含まれる総塩基対は約12億対(=ゲノム約6億対×2組)なので、長さを計算する(※3)と、約41cmになる。また、ブロッコリーの染色体数は2n=18だから、1つの染色体に含まれるDNAの長さは平均約2.3cm(=41cm÷18)になる。

※1 60億×0.34nm=6.0×10<sup>9</sup>×0.34×10<sup>-9</sup>m=2.04m

※2 DNA:髪の毛=0.2nm:0.1mm=2m:100km=核:ボール=5μm:25cm=10μm:50cm

※3 12億×0.34nm=1.2×10<sup>9</sup>×0.34×10<sup>-9</sup>m=0.408m=40.8cm

実験で析出したDNAはそれらがからまった集まりなので肉眼で確認できるが、光学顕微鏡では観察できない。

## ◎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
- 塩化ナトリウム (食塩), エタノール, 中性洗剤, 染色液の在庫確認
- 実験室の備品確認

#### ～前日

- ブロッコリーの購入, 小分け, 冷凍
- 実験プリント作成・印刷
- 無水エタノールの小分け, 冷凍庫保管

#### 当日

- 器具・教材・薬品の分配
- 熱湯の準備

## ☆教材の入手方法

### ・ブロッコリーの入手方法

- ①スーパーマーケットで年中入手できる。大きさによるが1株で約2～4袋分の花芽が得られる。季節毎で値段の差が大きい。1株 80～300円程度
- ②種から育てる(岩手県)。春まきでは, 3月中旬～4月中旬に種をまき, 7月から収穫できる。夏まきでは, 7月に種をまき, 10月下旬から収穫できる。



ブロッコリー

### 教材の情報

#### ・ブロッコリー

ブロッコリーの蕾には小さい細胞が多く存在するために, 同質量の他の部位に比べ核が多いためDNAも多く, 抽出の材料として適している。

アブラナ科アブラナ属のヤセイカンラン

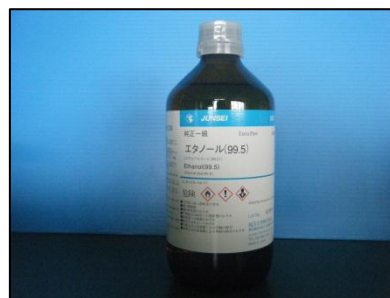
キャベツの変種の1つで, 別変種としてカリフラワーがある。

ブロッコリーは頂花蕾だけでなく, 側枝からも収穫できるのに対し, カリフラワーは頂花蕾だけを食用とできる。ブロッコリーは結球がカリフラワーほど密集しておらず, 伸びた茎の先端に密集した蕾をつくるのに対して, カリフラワーは蕾が一つの塊のように堅く結び付いている。

### 薬品の情報

#### ・無水エタノール

無水エタノールは冷凍庫に入れても融点が $-114.3^{\circ}\text{C}$ のため凍らない。エタノールが低温のほうがDNAは溶解度が下がり, DNA収率が上がる。



無水エタノール

#### ・染色液

酢酸カーミン染色液, 酢酸オルセイン染色液, ヘマトキシリン染色液など, 細胞観察で染色体を染色する液があれば調製する必要はない。

## 準備

### 当日のセット

☆生徒用

<input type="checkbox"/> ブロccoli	約 30 g (1/4~1/2 株分)
<input type="checkbox"/> 無水エタノール (冷凍庫で冷やしたもの)	100mL
<input type="checkbox"/> 塩化ナトリウム	4.0 g
<input type="checkbox"/> スポイト (または割箸)	1つ
<input type="checkbox"/> ろ紙	1枚/人
<input type="checkbox"/> 100mL ビーカー	1つ
<input type="checkbox"/> 水 (水道水で可)	50mL
<input type="checkbox"/> 中性洗剤	1つ
<input type="checkbox"/> 乳鉢・乳棒	1組
<input type="checkbox"/> 茶こし (またはガーゼ)	1つ
<input type="checkbox"/> ガラス棒 (またはピペット)	1つ
<input type="checkbox"/> ピンセット	1つ
<input type="checkbox"/> 9 cm ペトリ皿	1組
<input type="checkbox"/> 染色液	1つ
<input type="checkbox"/> キッチンペーパー (または新聞紙)	1枚

★教員用

<input type="checkbox"/> 熱湯	適量
<input type="checkbox"/> ドライヤー	



### 準備に必要な用具

- ・切ったブロッコリーを入れる袋
- ・解剖ばさみなど蕾部分を切るもの
- ・はかり
- ・冷凍庫
- ・冷凍庫
- ・プラスチック容器
- ・薬さじ
- ・薬包紙
- ・はかり
- ・50mL ビーカー
- ・ラップ
- ・熱湯
- ・くぎ
- ・はさみ

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




容器, 抽出液を得るための用具, エタノールを入れる用具, DNAを取り出す用具, 乾かしやすくするための用具などは代わりになるものを工夫してかまわない。

## ①前日まで

ブロッコリー、無水エタノール、塩化ナトリウム（食塩）、中性洗剤、染色液、ろ紙を用意する。

 茎部分は少ない方が細胞を粉碎しやすいため、ブロッコリーの蕾部分を切り取り、約 30g ずつ小分けして冷凍する。



 凍らせることで乳棒で細胞が壊れやすくなり、また、DNA分解酵素のはたらきを抑えることができる。




ブロッコリーの蕾部分の切り取り



ブロッコリーの冷凍

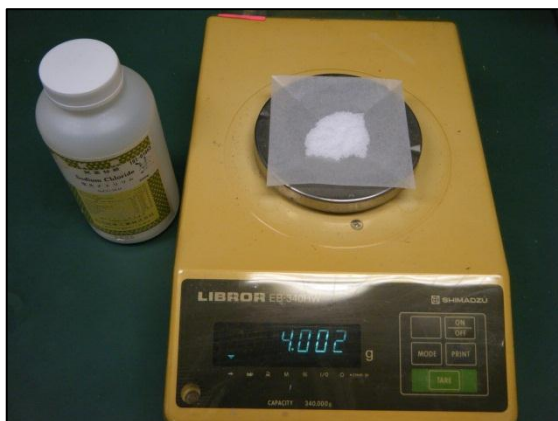
 無水エタノール（99.5%）は容量の少ないポリ容器に約 100mL ずつ分けて、実験の直前まで冷凍庫（普通-20℃程度）でよく冷やしておく。  ガラス容器に入れてしまうと冷たくて持てない。

塩化ナトリウムは 50mL ビーカーの中に 4.0g ずつ取り分けておく。吸湿性があるため、ラップ等で上部を覆う。  実験直前に水溶液にしたほうがつくり置きした水溶液よりDNAとヒストンタンパク質が離れやすい。

染色液がなければ、調製（巻末資料「調製集」を参照）後、小分けする。

ろ紙をはさみで2つに切っておく。

スポイトでDNAを取り出す場合、温めた釘をスポイトの吸い口に入れて内径を広げておくと、DNAを吸い取りやすく便利である。



塩化ナトリウムの計量



無水エタノールの冷却

## ②当日

器具・薬品を分配してセットを用意する。冷凍庫に入れているブロッコリー、エタノールはセットに入れない。熱湯の準備をする。

ブロッコリー、エタノールは実際に使う直前に冷凍庫から取り出し、配付する。



## ◎観察, 実験

### 観察, 実験の流れ

#### □導入

- ・ DNA を見ることができるか 答) エタノール沈殿によって見るができる
- ・ 色・形はどうか 答) 溶解しているときは無色透明, エタノールによって白い繊維状で析出する
- ・ なぜブロッコリーを材料に使うのか 答) 細胞が多いためDNAが得やすい,  
DNA抽出の妨げになるタンパク質が少ない
- ・ DNAを確認する方法はどんなものがあるか 答) 酢酸オルセイン染色液などを使う,  
ジフェニルアミン反応などで検出する

#### ・既習事項の確認

#### □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
- ・ 安全面への注意
- ・ DNAを抽出し, DNAであることを確認させる(本実験)

#### □結果のまとめ, 考察

- ・ 観察からわかったこと
- ・ タンパク質の多い動物でDNAを抽出するにはどのようにすればいいか  
答) タンパク質分解酵素や熱などによる変性を利用して, タンパク質を除去して抽出する


#### □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「09 DNAの抽出.pptx」を参照

### ① 抽出液の作成 (3分)

塩化ナトリウム (食塩) 4.0g が入った 50mL ビーカーに水 50mL を溶かし, 中性洗剤を 2 滴ほど加える。  → 状態 1 の原因 3 (p. 111)



**1 ~ 2 mol/L の塩化ナトリウム水溶液がDNAをよく溶かす。** DNAは染色体の中でヒストンタンパク質と結合しているが, この濃度で離れやすくなる。水 50mL に塩化ナトリウム 4.0g を溶かすと, 約 1.4 mol/L の塩化ナトリウム水溶液になる。



**中性洗剤は細胞膜や核膜を破壊する。** DNAは細胞内の核にあり, 細胞膜や核膜の主成分はリン脂質であるため, 中性洗剤中の界面活性剤のはたらきで膜が壊れる。



## ② 細胞の粉碎（5分）

凍ったままのブロッコリーの蕾部分を乳鉢に入れ、蕾が確認できないくらいまで乳棒ですりつぶす。



常温ではDNA分解酵素がはたたくので、手順


②～⑤の操作を15分以内に行う。



→状態2の原因1 (p. 111)



## ③ DNAの抽出（1分）

②に①の抽出液を加え、乳棒で静かにかき混ぜる。 →状態2の原因2 (p. 111)



静かにかき混ぜないと、DNAが切断されるので注意する。



## ④ DNAの抽出液のろ過（3分）

茶こし（なければガーゼ）で③をろ過する。


ろ液の中にDNAが含まれている。多少の混入は気にせず、乳棒で上から軽く押すようにして多くのろ液を得たほうがよい。



→状態1の原因1 (p. 111)



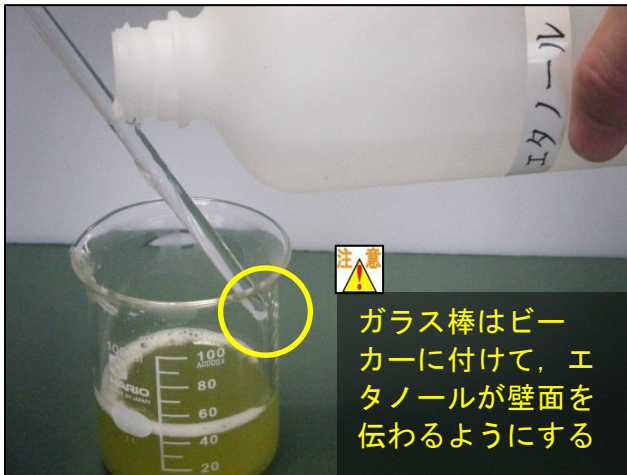
### ⑤ DNAの析出（5分）

ガラス棒を使って、④のろ液にろ液と同量程度の冷エタノールを、エタノールの層がろ液の上部にできるように静かに注ぐ。  →状態3の原因1 (p. 111)



付録資料のスライド17

動画ファイル「エタノール入れ」に動画あり



**DNAは冷えたエタノールに難溶性で析出、沈殿する。**析出したDNAは白い物質である。

エタノールは水より比重が軽いいため、静かに注ぐと、上からエタノールと水の2層になり、ろ液との接触面からDNAが析出し、エタノール層に沈殿が浮かんでくる。エタノールは高価なため同量程度としたが、加える量は多くてもよい。

DNAが析出する際、気泡を含んだものが現れることがある。この気泡は、エタノールにもともと溶けていた空気が、水と混合した際に溶けきれなくなったものがDNAに付いたものである。



生徒の技量に応じて、エタノールを壁面にピペットを使って静かに加えてもよい。

### ⑥ DNAの回収（5分）

白い繊維状になったDNAをスポイトや割箸などで取り出す。




教科書ではガラス棒で巻き取るものが多いが、ガラス棒では絡みにくいため取り出しにくい。

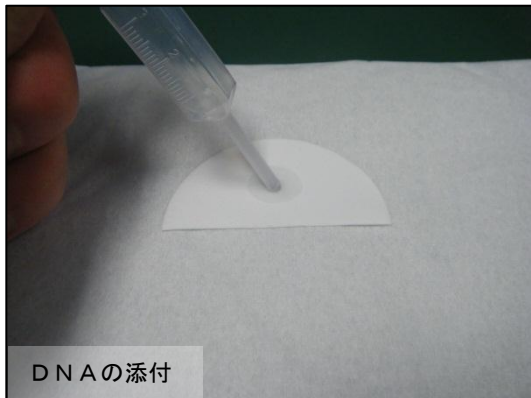
スポイトはDNAを回収しやすい、次の手順で思った所に置きやすいというメリットがある反面、エタノールを含みやすいため、ろ紙が乾きにくい。割箸はガラス棒よりDNAを回収しやすい、エタノールをあまり含まないというメリットがある反面、DNAを置く位置が思い通りになりにくい。





⑦ DNAの確認 (18分) 

取り出したDNAをろ紙の上に置き、ドライヤーなどで風を送ってエタノールをとばす。ろ紙の下にキッチンペーパーを敷いた方が乾きやすい。乾燥後、染色液に3分程度浸してから、ペトリ皿の中に、ろ紙に直接かからないように熱湯を注ぎ、ろ紙を静かにゆするよう脱色して確認する。



DNAの添付



染色




脱色



DNAが染色されたもの



**注意** 熱湯は、ろ紙に直接かけないこと。

生徒実験でのDNA検出方法として、酢酸カーミン染色液や酢酸オルセイン染色液などでの染色がある。核や染色体の染色液として生徒も使っているため、理解しやすい。ろ紙にDNAを置くとき、●や▲などの記号や簡単な字を書かせるとよい。スポイトの場合、吸い取りやすいがにじみやすいので細かいものは難しい。水を交換し脱色を念入りしてから乾かすと差がわかりやすい。

## まとめ

- ① DNAは1~2 mol/Lの塩化ナトリウム水溶液に溶けやすい、冷えたエタノールには難溶性で白く沈殿するなどの性質を利用して、遺伝子の本体であるDNAを生物の細胞から抽出できた。
- ② また、核を染める染色液を利用した方法で、抽出できたものがDNAであることを確認できた。

## ◎後片付け

### ■後片付けのさせ方

- ・流しに捨てて問題になる薬品を使用していないので、ビーカーのろ液などは洗い流してよい。ただし、細かいブロッコリーが残ると悪臭の原因になるため、しっかり水で流させる。
- ・茶こしの中のブロッコリーの粉碎物は、生ゴミとして捨てさせる。教卓に回収容器を準備しておくとうよい。ろ紙は、燃えるゴミに捨てさせる。
- ・解剖ばさみ、ビーカー、乳鉢、乳棒、茶こし(ガーゼ)、ガラス棒、スポイトなどは水で洗わせる。
- ・洗った器具は回収し、洗い方が不十分なものは再提出させる。

### ■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、所定の器具置き場に戻す。

## 失敗例

### ●状態1 最後に何も出てこない

#### 原因1 収量が少なすぎる

最大の原因はDNAが途中で無くなってしまうことである。純度よりも収量を多くすることを目指すことよい。

- (1) 部位：茎の部分をあまり入れず、花芽を多くする。
- (2) 総量：すりつぶす材料を多くする。
- (3) 操作：実験手順③で、しっかりすりつぶす。（しかし、時間をかけ過ぎない。）
- (4) 操作：実験手順④で、しっかり抽出液を取り出す。

#### 原因2 温度が高すぎる

エタノールによるDNAの沈殿は温度が高いとうまくいかないの、エタノールをよく冷やしておくこと。さらに、DNA抽出液も冷やすとよい。

#### 原因3 食塩水濃度が下がりすぎる

1～2mol/Lの食塩水がDNAを良く溶かすので、食塩水の終濃度が1mol/Lより下がらないように食塩の量を調整すること。

#### 原因4 実験操作を間違えている

中性洗剤を入れたか、エタノールを十分加えたかなど確認すること。

### ●状態2 白く濁って、糸状のものが出てこない

#### 原因1 最初にすりつぶすときに時間をかけすぎる

DNA分解酵素がはたらくので、時間をかけすぎると分解されてしまう。長くても10分以内にする。

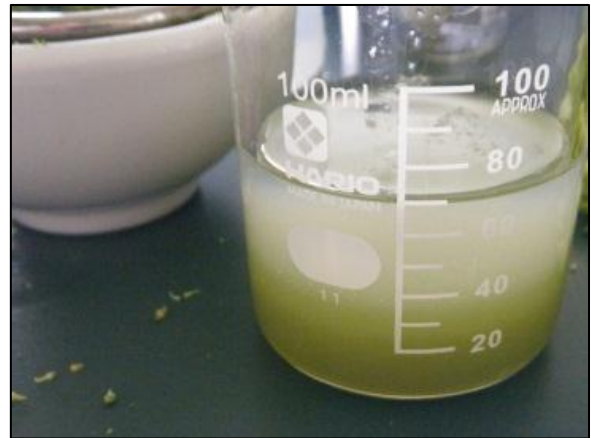
DNA分解酵素がはたらきにくいように、また、細胞を破壊しやすいように、材料を凍らせること。

#### 原因2 抽出液を入れてから強くかき混ぜすぎる

抽出液を入れると、DNAを守るように結合しているヒストンというタンパク質が離れるために、DNAが切れやすくなっている。

抽出液を入れてからは、静かに優しくかき混ぜること。

※生徒がDNAを判別できないだけの場合もあるので、確認すること。



断片になり白く見えるDNA

### ●状態3 DNAがどれか分らない

#### 原因 ろ液とエタノールを混合させた

ろ液に勢いよくエタノールを注ぐと、ろ液とエタノールが混合する。エタノール量を増やすとDNAは沈殿するが、DNAにブロッコリーの組織片がからまりわかりにくくなる。

エタノールをろ液の上に層になるように注ぐと、ろ液との接触面からDNAが析出し、エタノール層に沈殿が浮かんでくる。

## 別法 ※別法②については、概略のみ掲載（別ファイルに詳しく記述）

### 別法①

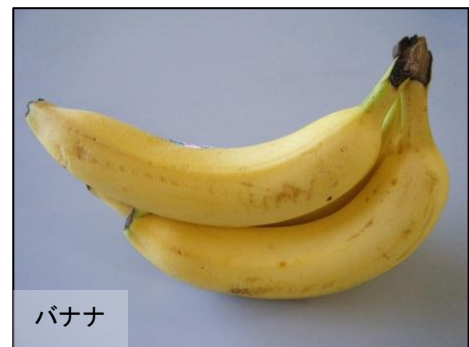
- ・材料に同じくブロッコリーを使うが、乳鉢、乳棒を使わず、ミキサーを利用するもの
- ・材料にタマネギなどを使い、ミキサーを利用するもの
- ・材料にバナナを利用するもの

ミキサーを粉砕用を使う場合、材料を氷とともに粉砕する。このペースト状のものを数班に分け、生徒は抽出液作成、DNAの抽出、ろ液の収集、DNAの沈殿、DNAの確認を行う。抽出液の塩化ナトリウム濃度は最終濃度が1～2 mol/Lになるように、少し高濃度の抽出液をつくる必要がある。

バナナは、細胞間の結びつきが弱くすりつぶしやすいが、細胞が大きいため量が必要なこと、ペースト状になるためろ過は重ねたガーゼを使うことや後片付けが手間なこと、糖度が高いため器具の水洗いや実験台の清掃を念入りにする必要がある。




タマネギ



バナナ

### 別法②

- ・動物性のトリのレバーを材料とするもの
- ・魚（タラなど）の白子を材料とするもの
- ・口腔上皮細胞を材料とするもの

動物性の材料をDNA抽出に使う場合、タンパク質が多いためタンパク質分解酵素（ コンタクトレンズ用タンパク除去剤）を使い、DNA分解酵素があるため加熱して熱変性させ、その後DNA沈殿のためろ液を冷やすなど、手間が多いため1単位時間には収まりにくい。また、ブロッコリーに比べ臭いが強い。

2時間続きの実験とし、植物と動物のDNAを抽出する探究活動として取り組ませるとよい。

## 器具の取り扱い

### ・解剖ばさみ（準備で使用）

生物実験で、生物の組織を切るための器具。留め金が固定されているタイプと分離するタイプがある。普通のはさみと同様に使うが、生物の組織を切るため、洗浄後に水気をしっかり取らないとサビの原因となる。分離するタイプでは、ペアを間違えると切れないことがあるので、注意する。



### ・乳鉢、乳棒

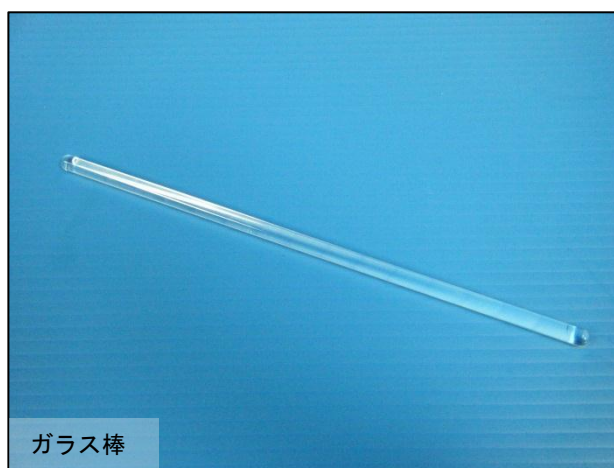
試料を細かくすりつぶしたり、混ぜ合わせたりするための器具。壊れやすいので、乳棒をたたきつけるなどはしない。試料を押し付けるように回転を加え、圧搾粉碎する。乳鉢を直接、机の上に置かず、ゴムマットや本の上などにおいて使ったほうがよい。

9 cm のもので実験できる分量にしたが、大きい乳鉢のほうがつぶしやすい。



### ・ガラス棒

エタノールを注ぐ際に、ビーカーのろ液より上部の壁面にガラス棒を付け、静かにガラス棒に伝えるようにする。抽出液の上層にエタノールの層をつくると、境界付近から比較的純度の高いDNAが沈殿してくる。





## 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

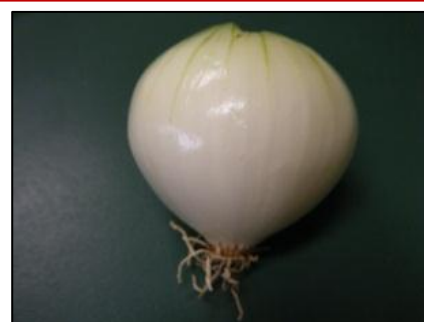
### ・タマネギの入手方法

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 |
| <br>   |        |
| <input type="checkbox"/> 1 mol/L 塩酸              | 1つ     |
| <br>   |        |
| <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な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らいっている。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）

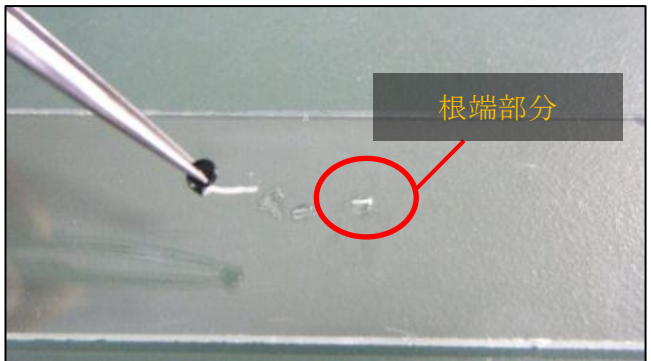
根が流れないように塩酸を捨てる。ビーカーに静かに水道水を加え、軽くゆすってから水を捨てる作業を、2回繰り返し、根を洗う。→状態1の原因3 (p.123)





 **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）

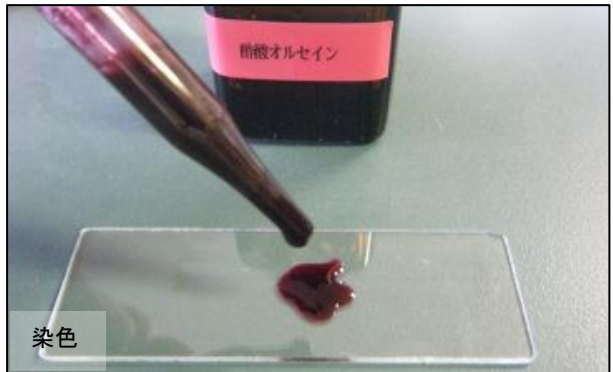
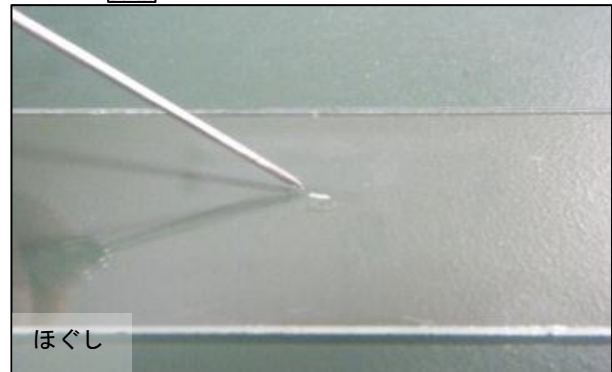
洗った根を1つ選び、スライドガラスに載せる。根の先端から2mm程度（白く濁った部分）を切り取る。種子側は取り除く。




 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。



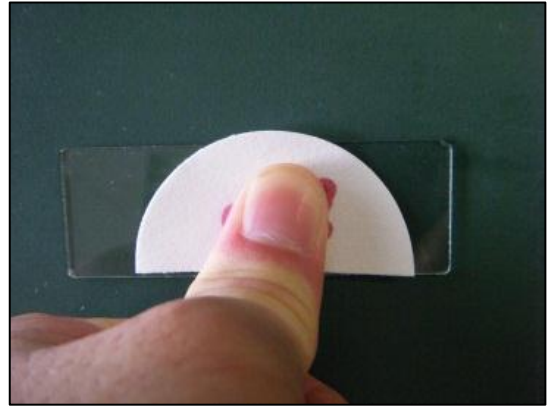
⑤ 押しつぶし（4分）

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）



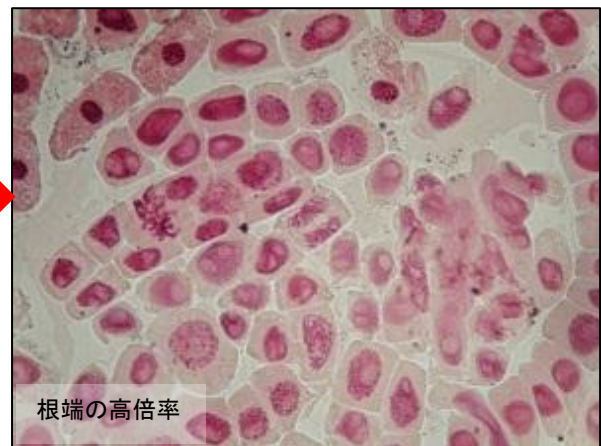
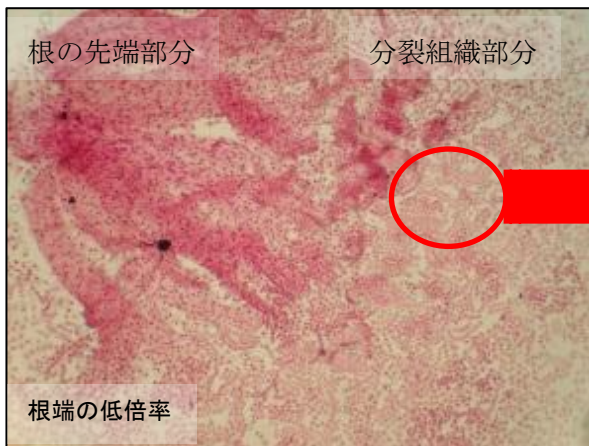
**押しつぶしは重なった細胞を広げ観察しやすくするために行う。**押しつぶしが弱いと染色体が広がらない。逆に、強すぎたり、カバーガラスをずらしたりすると細胞が壊れてしまう。

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。





## 11

## 細胞周期の推測（体細胞分裂の写真）

難易度	可能時期	教材の入手日数	準備時間	実施時間
★★☆	10の実験後	1日	30分	40分

## 目的と内容

各期の細胞の数と各期に要する時間がほぼ比例することを理解し、体細胞分裂の各時期を観察した写真を利用して、各期に要する時間を推測する。

教室で実施できる発展的内容になる。根端分裂組織の細胞を観察（サポート資料「10 体細胞分裂の観察」）して写真を撮っていることが条件になる。

生徒達は、分裂期の細胞を観察し、各期の細胞のうち間期が多く存在することはわかっているが、各期の細胞の数と各期に要する時間がほぼ比例すると考えているものは少ない。

分裂が同調していない場合、各期の細胞の数と各期に要する時間がほぼ比例することを実験で確認し、根端分裂組織の細胞の様子を観察した写真から各期の細胞数から各期に要する時間を推測する。

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。
- ・各期の細胞の数と各期に要する時間がほぼ比例することを理解し、体細胞分裂の各時期を観察した写真を利用して、各期に要する時間を推測することがねらいであるので、すべての手順を生徒に実習させたい。検証プリントの測定数を減らす、体細胞分裂の計測する分類を間期と分裂期にする、体細胞分裂の写真を拡大して含まれる細胞数を減らすなどで時間短縮が可能である。

- 
- ・「体細胞分裂の各期の長さを知るにはどうすればいいだろうか」「細胞数の割合と分裂期の長さとの関係はどうなっているだろうか」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。
  - ・プリントやレポートなどに過程や結果の記録、整理がしているかなどを机間巡視して適宜指導する。

### 【安全面】

特になし

### 【その他】

- ・正しく数え計算することの必要性とともに、状況による誤差や人為的な誤差があることを伝える。
- ・細かい作業で目が疲れるため、時々遠くを眺めさせるなどの配慮をする。

## ◎準備

### 準備の流れ

#### ～前日

- 実験プリント作成・印刷
- 体細胞分裂写真の準備, 印刷
- 検証プリントの作成・印刷

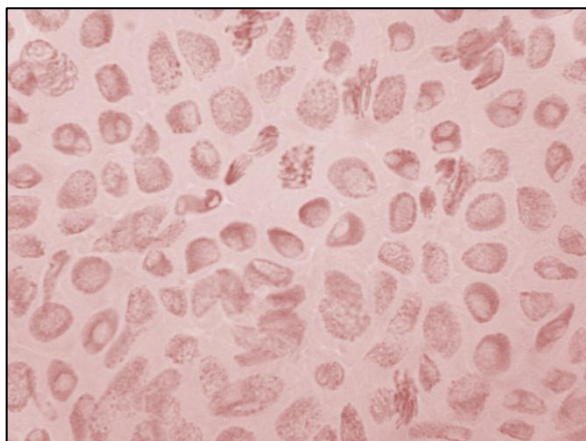
## ☆教材の入手方法

### ・体細胞分裂の写真

体細胞分裂の観察を行った際に、分裂像を写真などに記録しておく。各班で異なる写真だと望ましい。

### ・検証プリント

分裂が同調していない場合、各期の細胞の数と各期に要する時間がほぼ比例することを実験で確認するため、モデル化実験を行うためにコンピュータなどで作成する



体細胞分裂の写真

検証プリントの作成

## 準備

### 当日のセット

#### ☆生徒用

- |                                     |      |
|-------------------------------------|------|
| <input type="checkbox"/> 検証プリント     | 1枚/人 |
| <input type="checkbox"/> 分裂像写真の印刷物  | 1枚   |
| <input type="checkbox"/> 色ペン (生徒持参) | 2色   |
| <input type="checkbox"/> 定規 (生徒持参)  | 1つ   |

### 準備に必要な用具

- ・表計算ソフトウェア
- ・パソコン
- ・カメラ
- ・プリンター
- ・プリンター

## ①前日まで

体細胞分裂の観察を行った際に、分裂像を写真などに記録しておく。

表計算ソフトを利用して作成し印刷する。例として作成した検証プリントは p.133 に掲載した。これは、細胞周期が3つの時期に分けられると仮定して、「1」「2」「3」で示した。また、「1」の時期が4時間、「2」の時期が6時間、「3」の時期が8時間と仮定した。各行が各細胞に、各列が各時間帯のそれぞれの細胞の時期にあたる。

※詳しい作成過程は付録「1 1 細胞周期の推測.pptx」を参照

(1) 列幅を20ピクセルに狭め、行の上下に罫線を入れておく。1行目のセルの一つずつに1を4つ、2を6つ、3を8つ並べる。数字毎に網掛けの種類を変えておくと、各時期が区別しやすい。

(3) 行のコピー

(2) 入力した18個のセルをコピーし、同じ行の続き(S1のセル)に貼り付ける。

(3) 1行目をコピーし18行まで貼り付ける。

(4) 行の最後の3の数字が階段状になるように左側のセルを削除する。

(4) セルの削除

(5) 印刷設定を横方向にしておく。A1~R18までをコピーし、重ならないように周りの領域に順序よく貼り付ける。

(6) 作成した行をランダムに並べる。この例で使った入れ変える方法は、列の最初に新たな列を挿入してから、それぞれの行の先頭に1~36までの数字を重ならないようにランダムに入力し、昇順で並べた。

(6) 行のランダム化

(7) 細胞周期(この例では18)の倍数と同じ行数であれば、 $1 \cdot 2 \cdot 3$ の分離比はどの時間帯に測定しても、 $2 : 3 : 4$ になる。モデル実験で多少のばらつきを与えるためには、細胞周期の倍数から数行多く又は少なくしたプリントを作成するとよい。



## ◎観察，実験

### 観察，実験の流れ

#### □導入

- ・既習事項の確認
- ・体細胞分裂の各期の長さを知るにはどうすればいいだろうか  
答) 生きている分裂組織の細胞を追跡して実測する  
観察した各期の細胞数の割合から推測する など
- ・細胞数の割合と分裂期の長さとの関係はどうなっているだろうか  
答) 体細胞分裂が同調していなければ，比例の関係にある

#### □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
- ・モデル実験で，細胞数と分裂期の長さとの関係を検証した後，体細胞分裂像から各期の長さを推測する（本実験）

#### □結果のまとめ，考察

- ・実験からわかったこと
- ・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方法を考える  
(プロトプラストにして追跡，薬品で同調させてから時間をずらして固定し観察 など)

## 手順 時間のめど (およそ 40 分)

※詳しい手順は付録「1 1 細胞周期の推測.pptx」を参照

### ① 検証プリントの確認 (3分)

例のプリントは各行 (細胞に相当) が 18 の周期で，「1」が 4 つ，「2」が 6 つ，「3」が 8 つを繰り返していることを確認する。

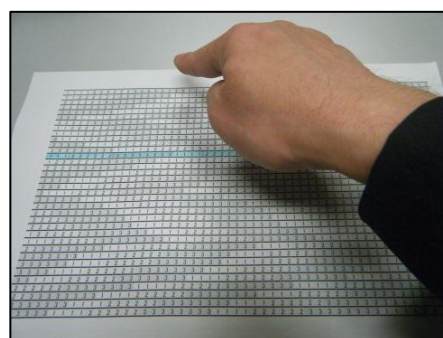
配付したプリントの好きな行をペンでなぞらせ，列はランダムに配置されているが，各行は周期的になっていることを確認させる。  
相対値にばらつきを与えるため，行数は 35 のものを使った。



### ② 計測地点の決定 (2分)

ランダムに生徒が指を動かして，合図のあったとき指さしていた場所を，計測地点とし，ペンで印をする。

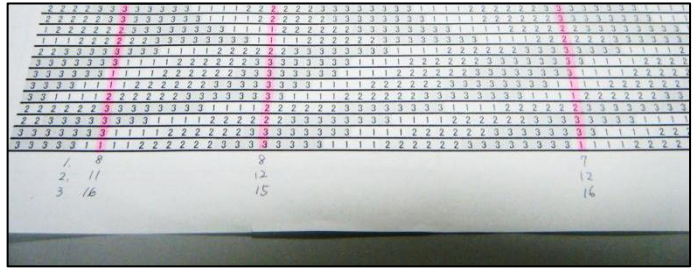
無作為に計測地点を選ぶように，プリントの上のあたりを左右に動かして，3点ほど観測地点を決める。  
生徒を指名し，合図をさせてもよい。



③ 各期の計測 (5分)


それぞれの地点について、「1」、「2」、  
「3」の数を数える。

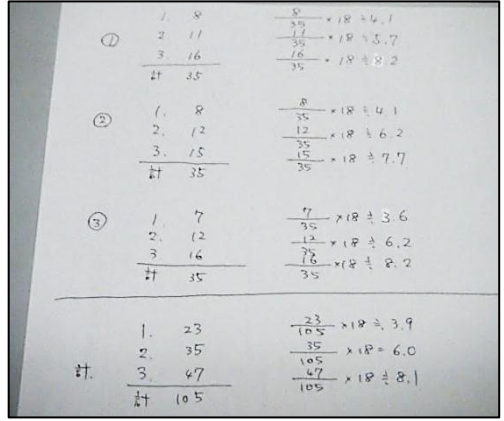
このプリントでは、各期の合計が  
35になるので、それぞれの数を求め  
たら足して確認する。




④ 相対値の計算 (5分)


相対値を計算し、実際の周期と比較する。相対値は実測  
値を合計 (このプリントでは 35) で割り、全体の細胞周期  
(このプリントでは 18) をかけて求める。

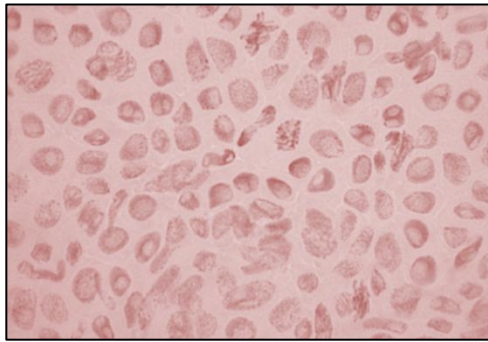
 このプリントでの実際の周期は、1が4、2が  
6、3が8、合計18である。  
相対値を求めると、3カ所それぞれにずれがある  
が、ほぼ実際の細胞周期の値と同じになる。  
さらに3カ所の合計から相対値を求めることで、  
測定する数を増やすことによって、より実際の値に  
近づくことに気付かせる。



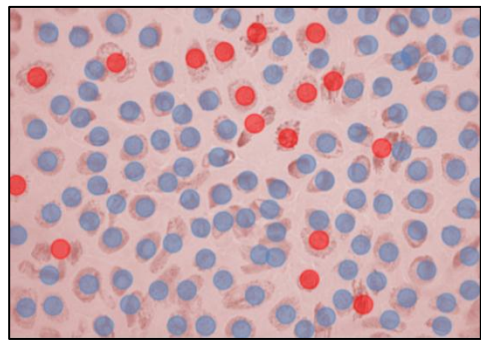
⑤ 体細胞分裂の各期の計測 (20分)

写真の中の分裂期と間期の細胞に印を付ける。  →状態1 (p. 132)

 誤差が大きくなるように細胞数は多い方がよいが、写真に含まれる細胞の数は時間と  
生徒の能力を配慮して適切なものを用意する。分裂期を、前期、中期、後期、終期と分ける  
と難易度が上がるため、ここでは分裂期と間期の2つに分けた。



体細胞分裂の写真



分裂期・間期の分類

⑥ 分裂期の長さの推測 (5分)

細胞周期を24時間とし、間期と分裂期を数えそれぞれの長さを推定する。

この例の場合、分裂期17、間期118、全細胞135より、間期約21時間、分裂期約3時間の  
計算になる。

まとめ

- ①各期の細胞の数と各期に要する時間がほぼ比例することを理解できた。
- ②体細胞分裂の写真を利用して、各期に要する時間を推測できた。

◎後片付け

特になし

## 失敗例

### ●状態 時期を判断できない

#### 原因1 写真に問題がある

分裂像がはっきりとわかるように、大きく、ピントの合ったものを用意する。

#### 原因2 生徒の知識が不足している

間期や分裂期の各期の特徴を確認する。分類する範囲を、間期と分裂期と大きく分けてもよい。細胞や核の大きさ、形などから、間期かどうかを判断し、間期ではない場合、染色体の状態から分裂期の時期を決めていく。

## 別法

### 別法①

- ・ウニの受精卵を使って細胞周期を調べるもの（東京書籍の探究で採用）

ウニの卵割の様子を動画で撮影しながら連続的に観察することで、細胞周期を調べる。細胞周期が90～120分程なのを、撮影したものを再生して観察する。生物基礎から「発生」が外れているため、生物のときに発生の観察とともに実施するのが妥当である。実際に生徒に実施するには、まとめて時間が確保できる学校に限る。

### 別法②

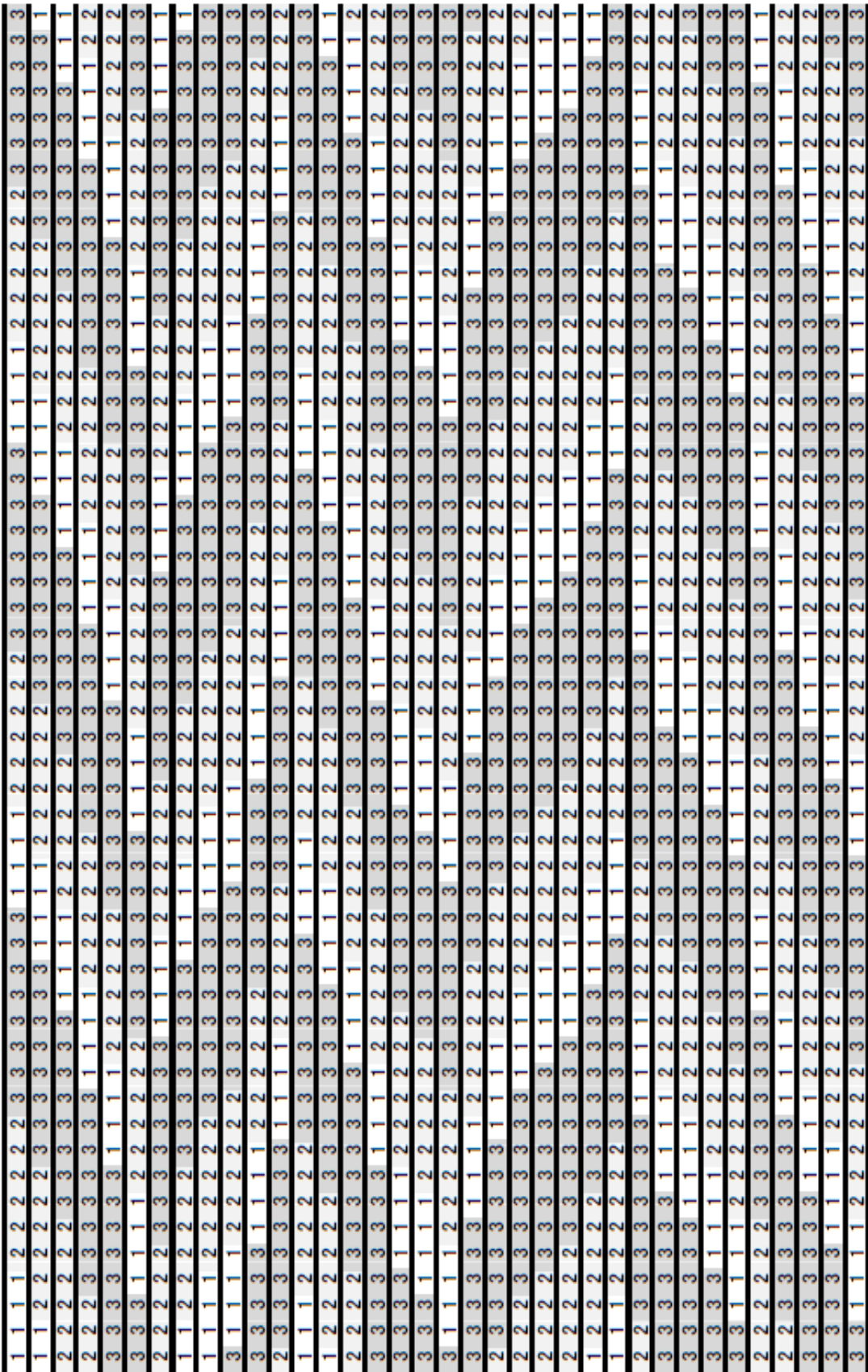
- ・ミズヒラタムシを使って細胞周期を調べるもの（啓林館の探究で採用）

ミズヒラタムシ（ユープロテス）は池などにすむ単細胞生物で、ゾウリムシと同じ繊毛虫の仲間である。核の形が細胞周期の時期によって異なる特徴を利用して細胞周期における各時期に要する時間の割合を推定する。核の特徴が、なじみのある動物細胞や植物細胞のものと全く異なるため、生徒によっては混乱させる可能性がある。ミズヒラタムシはなじみが薄く、採集できても単離培養の技術が必要になる。細胞周期観察実験キット（マイクロ生物館）が1,575円で販売されている。観察手順は、ミズヒラタムシ浮遊液1滴にファーマー液と酢酸オルセイン溶液を1：1で混合した固定染色液を加えてプレパラートをつくり観察する。

## 器具の取り扱い

実験器具は使用しない。





検証プリントの例



## 12

## パフの観察（ユスリカ）

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～	30分	40分

## 目的と内容

巨大染色体であるだ腺染色体を利用して、DNAとRNAを染め分けし、パフとそれ以外の部分の染色の様子を観察し、RNA合成がパフで盛んであることを理解する。

生徒達は、DNAが遺伝子の本体であること、細胞の核の中にある染色体に存在することを学習している。このDNAからRNAが転写されていくという遺伝情報の発現の道筋を、染色体の観察によって感じることができる実験である。

昆虫の双翅（ハエ）目の幼虫のだ腺細胞に見られるだ腺染色体は、通常の染色体の100～150倍の大きさがある巨大染色体で、観察しやすい。個体の大きさが手頃なユスリカが材料として適している。

既習  
事項

なし

## 留意点

### 【指導面】

- ・「DNAの情報に基づいてタンパク質が合成されることを理解すること」がこの単元の目標である。DNAは真核細胞の場合、核内の染色体にある。遺伝情報をもつDNAの二重らせんがほどけたところで、DNAからmRNAが合成（転写）され、mRNAの塩基配列からアミノ酸配列に変換（翻訳）されタンパク質が合成されることを意識して指導する。
- ・DNAとRNAを染め分けし、パフとそれ以外の部分の染色の様子を観察し、RNA合成がパフで盛んであることを理解することがねらいであるので、手順①、手順④～手順⑥は生徒に実習させたい。手順②、手順③はきれいに染色するための作業なので、省略することで時間短縮が可能である。

- 
- ・「細胞の中で特定の遺伝子だけが発現している様子を観察するのは難しいが、だ腺染色体という特別な染色体では観察できる」などこの実験の意義に触れるように導入を工夫し、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。
  - ・「だ腺染色体は何本観察できるか」「RNAはどこで観察されるか」「パフでは何が行われているか」など観察の視点に触れ、生徒自身が目的意識をもって実験に取り組むように指導する。
  - ・「なぜ固定するのか」「どうして固定できるのか」「なぜ水で洗浄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（だ腺以外を残す、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。
  - ・「頭部と尾部は間違っていないか」「だ腺を上手に取り出しているか」「固定や洗浄はしっかりと行っているか」「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」「だ腺染色体を見付け観察しているか」「パフを見付け観察しているか」などのパフの観察にかかわる操作ができていないか、スケッチはスケッチの仕方から見て描いているか、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】

- ・動物に触れた後は必ず手を洗うように注意する。
- ・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】

- ・見た目や生きた生物を扱うために、嫌悪感や抵抗感をもつ生徒もでるが、あまり騒がず、巨大染色体の不思議や自分で観察できた時の感動に触れながら進めていくと、大抵の生徒は実習に自然と参加する。
- ・メチルグリーン・ピロニン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。

## ◎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
- メチルグリーン・ピロニン染色液の在庫確認
- 実験室の備品確認

#### 1週間～

- ユスリカの入手

#### ～前日

- ユスリカの小分け
- 実験プリント作成・印刷
- 塩酸, メチルグリーン・ピロニン染色液の小分け

#### 当日

- 器具・教材・薬品の分配

## ☆教材の入手方法

### ・ユスリカの入手方法

#### (アカムシユスリカ)

冷凍アカムシが魚の餌としてあるが, 生徒用には難しい。生きたものを使う。

①釣具屋で入手する。ワカサギ釣りのシーズンは店頭にある。それ以外は取り寄せ(2～7日必要)になるがほぼ年中手に入る。 10g (300匹～) 210円程度

②教材会社から購入する。高価だが, 状態のいいものが一週間程度で手に入る。

150匹 (酢酸カーミン 10mL 付き) 3,800円程度 (ケニス)

#### (セスジユスリカ)

②春～秋にかけて田や水路から採集する。

生活排水などにより, 富栄養化が進んだ河川や水路の底泥に生息することが多い。数や大きさの点で, 9月くらいに採集した方が観察に適している。アカムシユスリカに比べ, 小さく細い。

### ・ユスリカの保管方法

短期間であれば, 湿らせた新聞紙にくるみ冷蔵庫で保管する。長期間であれば, 空気と触れる面の大きなバットなどに入れ, 冷蔵庫で保管し, 2, 3日に一度水をかえる。死んだ個体は取り除く。エサはなくても1ヶ月は生き残るものが多い。微量のヨーグルトを水で溶いたものを与えてもよい。



アカムシユスリカ



セスジユスリカ

### 教材の情報

- ・アカムシユスリカ *Propiloscerus akamusi* (染色体数  $2n=6$ ) の幼虫

#### 双翅目ユスリカ科

岩手県では自然にはあまり生息していない(岩洞湖などでワカサギ釣りのエサとして使った残りを放棄したものが生き残り, 生息していることがある)。「エリスロクルオリン」という, ヘモグロビンのような色素タンパク質を体液に含むため, 赤色に見える。

- ・セスジユスリカ *Chironomus yoshimatsui* (染色体数  $2n=8$ ) の幼虫

#### 双翅目ユスリカ科

岩手県では汚濁した河川, 用水路などで普通に見られ, 幼虫の体長は約8～10mm程度になる。

多くのユスリカ科全体に共通した特徴として, 成虫は蚊によく似た大きさや姿をしているが刺すことはない。また蚊のような鱗粉も持たないため, 黒っぽい粉のようなものが肌に付くことはない。しばしば川や池の近くで蚊柱と呼ばれる群れをつくる。

## 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。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



1 mol/L 塩酸

### ・ メチルグリーン・ピロニン染色液

メチルグリーンはDNAを青緑色に、ピロニンがRNAを赤桃色に染色する。メチルグリーン・ピロニン染色液は1ヶ月程度で染色力が落ちるなど保存が利かないので、調製されたものをその都度買うよりは、粉末のそれぞれの試薬を買って、調製した方が長い目で見ると経済的である。

メチルグリーン (ケニス 10g 21,400 円)

ピロニンG (ケニス 10g 18,300 円)

メチルグリーン・ピロニン染色液 (UCHIDA 100mL 4,500 円)

※調製法について、詳しくは巻末資料「調製集」を参照。



メチルグリーン・ピロニン染色液

## トピック

### 「ネムリユスリカ」について

アフリカ中央部の半乾燥地帯に生息するネムリユスリカは、極度の乾燥条件に耐える能力、クリプトビオシス (Cryptobiosis, 隠された生命という意味) をもつ高等な大型生物である。

他に、自らが乾燥状態に反応してクリプトビオシスを行う生物として、ワムシ、センチュウ、クマムシ、イシクラゲなども知られる。

体内の水分が 3%以下になるまで乾燥するが、無代謝の状態で生き続けることが出来、吸水すると 1 時間程度で動き回る。

参考HP


「Sleeping Chironomid 【ネムリユスリカのHPによろこそ！】」



## 準備

### 当日のセット

☆生徒用

<input type="checkbox"/> 光学顕微鏡	1台
<input type="checkbox"/> スライドガラス	1組
<input type="checkbox"/> カバーガラス	1箱
<input type="checkbox"/> 光源装置	1台
<input type="checkbox"/> 先尖ピンセット	2つ  1つは柄付き
<input type="checkbox"/> 柄付き針	1つ 針でも可
<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"/> ろ紙 (2つまたは4つ切り)	多め
<input type="checkbox"/> ピペット (塩酸用)	1つ
<input type="checkbox"/> スポイト (水用)	1つ
<input type="checkbox"/> 50mL ビーカー	1つ
<input type="checkbox"/> アカムシユスリカ	約 10 匹
<input type="checkbox"/> 1 mol/L 塩酸	1つ
<input type="checkbox"/> メチルグリーン・ピロニン染色液	1つ

★教員用

生徒用と同じもの 1組



### 準備に必要な用具

・はさみ

- ・ピンセット
- ・容器 (小さなペトリ皿やビーカー)
- ・濃塩酸
- ・ビーカー
- ・メスフラスコ
- ・試薬ビン
- ・プチボトル
- ・駒込ピペット
- ・冷蔵庫
- ・水
- ・蒸留水
- ・メスシリンダー
- ・駒込ピペット
- ・ラベル
- ・調製済染色液 (※)
- ・ラベル



光源，ユスリカを押さえる用具，容器，液体を入れるビンなどは代わりになるものを工夫してかまわない。

※メチルグリーン・ピロニン染色液を調製する場合は、次の用具が必要になる。

- ・試薬（メチルグリーン、ピロニン）
- ・薬さじ           ・薬包紙           ・はかり           ・蒸留水
- ・ビーカー       ・三角フラスコ   ・加熱器（ガスバーナー）
- ・三脚            ・金網

（簡易法で作成する場合以下は不要）

- ・クロロホルム
- ・分液ろうと   ・スタンド       ・ろうと台



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


### ①前日まで

ユスリカ、塩酸、染色液、ろ紙を用意する。



10 匹前後ずつ小さな容器に小分けし、冷蔵庫で保管する。  アカムシの幼虫を冷蔵庫で冷やしておくと、暴れずに作業させやすい。

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。

メチルグリーン・ピロニン染色液を用意し、プチボトルに入れる。  新しい方がきれいに染色できるため、実験が近くなってから調製（巻末資料「調製集」を参照）して冷蔵庫で保管する。調製済みの製品も販売されている。

ろ紙をペトリ皿に入る大きさに 2 つまたは 4 つ切りにする。

### ②当日

器具・教材・薬品を分配してセットを用意する。

## ◎観察, 実験

### 観察, 実験の流れ

#### □導入

- ・前時までの確認
- ・だ腺染色体は何本観察できるか  
答) アカムシユスリカは3本, セスジユスリカは4本  
(相同染色体が対合しているため, 染色体数の半数見える)
- ・RNAはどこで観察されるか  
答) 核の核小体や染色体のパフ
- ・パフでは何が行われているか  
答) RNAがあることから転写が行われている

#### □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
- ・だ腺染色体を観察し, パフでRNAが合成されていることを確認させる (本実験)

#### □結果のまとめ, 考察

- ・観察からわかったこと
- ・観察するものによってパフの位置が異なっているが, パフの位置の違いは何を意味しているか  
答) 発現している遺伝子が異なっている

#### □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「1 2 パフの観察.pptx」を参照

### ① だ腺の取り出し (2分)

スライドガラスにユスリカの幼虫を載せ, 頭部の確認をする。胴体をピンセットでつかみ, 頭部をもう一つのピンセットでしっかりと押さえ引き抜く。だ腺以外の不要な部分を取り除く。



→状態1の原因1, 3 (p. 143)



**消化管に付いた2つの1mm程度の透明な塊がだ腺である。**消化管や脂肪は不透明なので, 色の付いた紙を下に敷くなどすると判断しやすい。

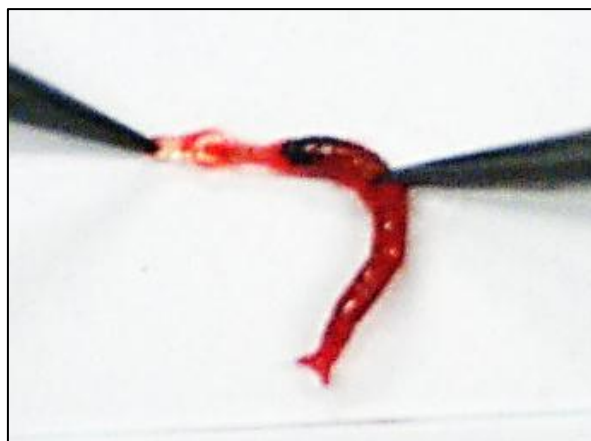


うまく引き出せずにだ腺を胴体に残した場合は, 柄付き針でしごいて中身を全て出し, 透明なだ腺を探す。失敗 →状態1の原因2 (p. 143)

頭部は非常に固く, 残すとカバーガラスが割れる原因になるので, 必ず取り除くようにする。



→状態2の原因1 (p. 143)



## ② 塩酸固定（2分）



だ腺を塩酸で1分固定した後、塩酸をろ紙で吸い取る。



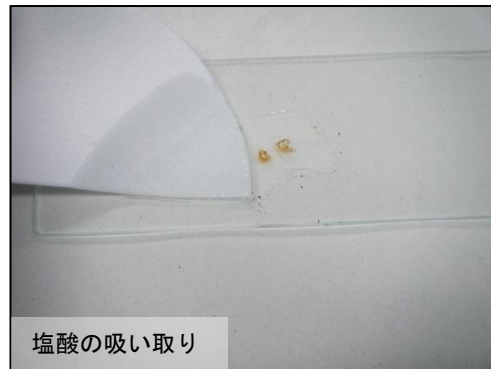
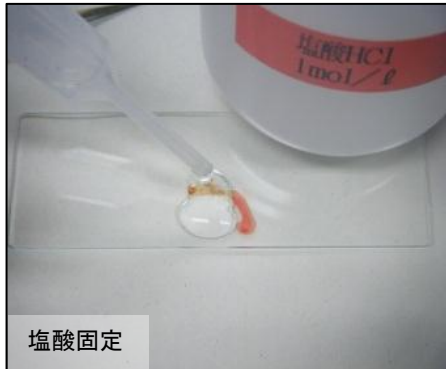
塩酸で固定すると、染色体が締まってきれいに染色される。



無水エタノール、ファーマー液で固定する例もあり、固定後に液をろ紙で吸い取るだけで簡単であるが、塩酸の方がきれいに観察できる。



固定しないと、横縞は不鮮明だがDNAとRNAの染め分けはできるため、省略可能である。



## ③ 塩酸の除去（2分）



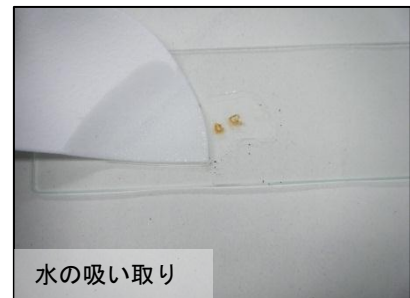
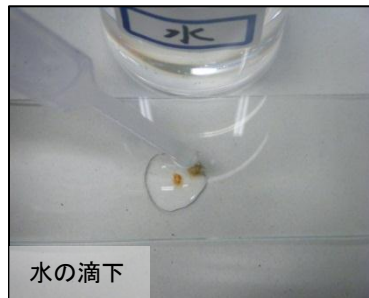
水をかけ、水をろ紙で吸い取る。  
2回以上繰り返す。



**塩酸を完全に取り去らないと、酸性で桃色にしかなかったら、水を吸い取る際、ろ紙がだ腺につかないように注意する。**



②を省略した場合、不要である。



## ④ 二重染色（12分）

メチルグリーン・ピロニン染色液を滴下し、8分前後置く。  
待つ間に、2枚分①～④の行程を行い、予備をつくる。



**染色時間が短いと、きれいに染色できないので注意する。濃く染まりすぎた場合は、ブタノールを滴下することで脱色することができるが脱色時間の判断が難しい。染色時間を調整する方が現実的である。**



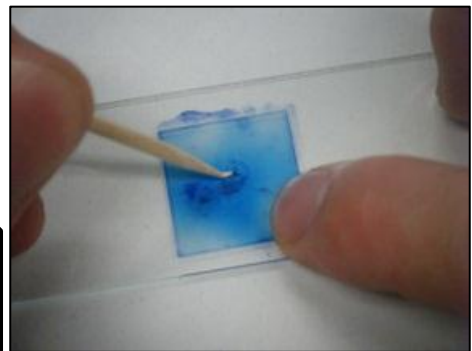
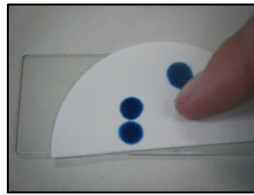
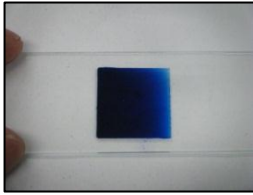
よいプレパラートが得られない可能性があるため、必ず予備のプレパラートを作成させる。






### ⑤ 染色体の展開（5分）

空気が入らないように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。カバーガラスを爪楊枝など比較的やわらかい素材で垂直にたたいて、染色体を展開する。予備2枚分も同様に展開する。



**注意** 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染色体が切れてしまう。余分な染色液を追い出すように押しつぶした後、だ腺のあった部分を展開する。 →状態2の原因2 (p.143)  
検鏡後、展開が足りなかった場合は、さらにたたいて展開するとよい。

### ⑥ 観察・スケッチ（17分）

低倍率で検鏡し、だ腺染色体を見付ける。だ腺染色体が広がっているものを探し、高倍率でパフや横縞の様子を観察・スケッチする。

**注意** だ腺染色体は多くの横縞が見られ、パフでは横縞が不鮮明になり膨らんでいる。メチルグリーンはDNAを青緑色に、ピロニンがRNAを赤桃色に染色する。組織が桃色に染まっているため、パフのピロニン染色されたRNAが目立ちにくいですが、横縞の状態と桃色の濃さで判断する。



## まとめ

- ① 巨大染色体であるだ腺染色体を利用して、パフを観察し、実際に染色体がほどけて横縞がはっきりせず膨らんでいることが確認できた。
- ② 二重染色によってだ腺染色体がメチルグリーンによって青緑色に、パフがピロニンで赤桃色に染色されたことから、パフでRNAが合成されていることを確認できた。

## ◎後片付け

### ■後片付けのさせ方

- ・使用しなかったユスリカは、ペトリ皿に入れたまま回収する。
- ・ろ紙やユスリカの残骸は、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、洗い方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

- ・残ったユスリカは、魚の餌にするなどして野外に流出させない。
- ・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取れていない場合があるので、70%エタノ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。
- ・メチルグリーン・ピロニン染色液は、冷蔵庫に保管する。

## 失敗例

### ●状態1 だ腺が得られない

原因1 頭部と尾部を間違っている

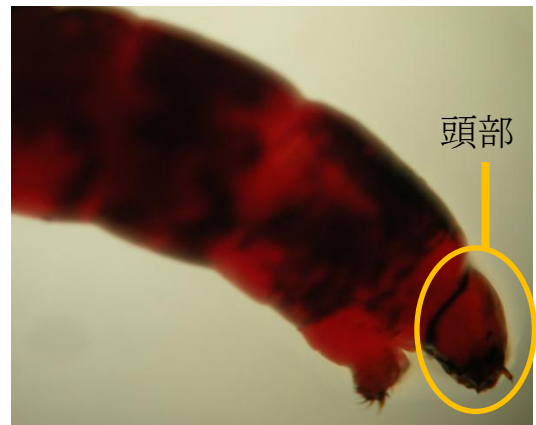
頭部と見誤って尾部を引っ張っても、だ腺は取り出せない。肉眼で判断が出来ない場合は、ルーペなどを使って頭部を確認した上で頭部を引き抜くとよい。

原因2 頭部が押さえられない、だ腺が胴体に残っている

頭部を上手く押さえられない場合、頭部近くをちぎり、胴体の5節目あたりから前方に柄付き針でしごいて中身を全て出し、透明なだ腺を探す方法を用いる。だ腺を胴体に残した場合も同様にする。

原因3 だ腺とそれ以外の区別がつかず、取り除いている

だ腺は、透明なハート型をしていて目立ちにくい。黒い紙などをスライドガラスの下に置く、光にかざすなどして他と区別する。



アカムシスリカの頭、胸部

### ●状態2 カバーガラスが割れてしまう

原因1 頭部が残っている

頭部は非常に固く、残すとカバーガラスが割れる原因になる。だ腺は透明なのに対し、頭部は丸く色が付いているため判断しやすい。必ず取り除くようにする。

原因2 固いもので展開した

一点に強い力がかかるとカバーガラスが割れてしまう。爪楊枝やマッチ棒の軸など柔らかい木材を使用し、カバーガラスをたたく前に角がないようにしてから展開するとよい。

### ●状態3 うまくだ腺染色体が観察できない

原因1 塩酸が残っている

酸性のままだと桃色にしか染色しないので、しっかりと水で塩酸を除去する。質は落ちるが簡単な固定方法の、無水エタノールで固定する方法や固定しないで染色する方法を用いる。

原因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3 押しつぶしが悪い

ずらさないようにスライドガラスの端を指で押さえた状態で、爪楊枝などで垂直に力を加えて展開する。

原因4 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。

## 別法

### 別法①

- ・ユスリカの幼虫ではなく、キイロショウジョウバエの幼虫，ギンバエの幼虫（サシ）などを使うもの  
キイロショウジョウバエは，遺伝の実験動物としてよく知られており，発生過程とパフの大きさと位置関係などよく研究されている。しかし，幼虫も2～3mmと小さいために，だ腺を得ることが難しい。  
サシは1cm程度と大きい，ギンバエの幼虫であるため生理的な拒絶が強い。また，脂肪が多く，だ腺を見付け出すのが難しい。  
ユスリカ以外の双翅類からもだ腺染色体が観察できるという，発展実験として扱う場合に実施するとよい。

### 別法②

- ・RNAが合成されている場所は確認出来なくても，パフや横縞の観察に重点を置くもの  
核や染色体を染色する，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などを用いる。単純に，パフや横縞を観察するだけであれば，これらの染色液での染色の方がパフや横縞が判断しやすく，操作も簡単である。  
生物基礎で扱う内容が「遺伝情報の発現」であるため，観察からパフでRNAが転写されていると推定できるメチルグリーン・ピロニン染色が望ましい。しかし，メチルグリーン・ピロニン染色液が手に入られなかった場合は，この方法でだ腺染色体の横縞とパフを観察させる。

## 器具の取り扱い

### ・メスフラスコ（準備で使用）

正確に定められた濃度と容量の溶液を調製するとき用いるフラスコ。メスフラスコの容量とは、標線まで液体を満したとき、その中にある液体の容量である。

溶液を調製するときは、フラスコ内で溶解するのではなく、あらかじめ別の容器で溶解してからメスフラスコに移す。少量の蒸留水を用いて試料溶液が入っていた容器を洗い、これもメスフラスコに入れる。

試料と蒸留水が混ざる際に体積変化が起こることがあるため、一度に標線の近くまで希釈すると体積が不正確になるおそれがある。

液面を標線に合わせた後、溶液全体を攪拌するときは左右に振るだけではよく混ざらない。転倒を繰り返してよく振り混ぜる。

メスフラスコもホールピペット、ビュレットと同じく加熱乾燥してはいけない。水溶液をつくるときは水で希釈するので、水で濡れていても問題はない。蒸留水で洗って、乾燥させることなくそのまま用いる。



メスフラスコ

### ・分液ろうと（試薬調製で使用）

上部投入口に栓を持ち、ろうとの足の付け根に二方コックがあるろうと。互いに交じり合わない液体を分離する為に使用される。ドラフト内または換気設備の整った場所で使用し、有機溶媒の蒸気を吸わないようにする。

使用手順は次の通りである。

- ① 栓やコック等のガラスの擦り合わせ部分は、あらかじめ水で濡らしてから使用する。コックが開いていたり、栓の孔と溝が合っていたりすると、内部の溶液がこぼれるので、注意すること。分液ろうとの下に三角フラスコ等の受け器を置く。コックが閉じていることを確認する。
- ② 試料溶液を分液ろうとに注ぐ。続いて有機溶媒を入れる。少量の溶媒を用いて試料溶液が入っていた容器を洗い、これも分液ろうとに入れる。分液ろうとに入れる溶液の全量は容積の6割程度までとする。これ以上入れると有機相と水相をよく混ぜ合わせることができない。
- ③ 圧力抜き穴を閉じる。手のひらで栓を押さえて逆さにし、直ちにコックを開けて内部の圧力を開放する。コックを開けるとき、内圧によって先端部から溶液が吹き飛ぶことがあるので、これを周りの人や自分に向けないこと。
- ④ 分液ろうとを振って溶液を混ぜ合わせる。内圧の上昇に注意し、時々コックを開けて内部の圧力を開放する。
- ⑤ 分液ろうとをろうと台に戻して静置し、有機相と水相がわかれたら栓を外す。比重が大きい溶媒が下になるので、有機溶媒の密度に注意し、間違えないようにする。
- ⑥ コックを開けて、下相を下の受け器に入れる。上相を上の方の口から別の容器に移す。



分液ろうと