

簡単にできる唾液腺染色体の観察

—いつでも、安価に入手できるサシを用いて—

小島 晶夫

釣具屋で一年を通して安価に入手できるサシを用いて、唾液腺染色体の観察を検討した。唾液腺の取り出しは肉眼で行うことができ、ピンセットを用いて容易に引き抜くことができた。また、唾液腺を塩酸で処理をした後に酢酸オルセインで染色することにより、唾液腺染色体を安定して観察することができたので紹介した。

【キーワード】 中学校理科 高等学校理科 サシ 唾液腺染色体 バンド

はじめに

唾液腺染色体の観察には、ショウジョウバエの終齢幼虫やユスリカの幼虫であるアカムシの唾液腺が一般的に用いられる。しかし、動物材料ごとに一長一短があり、ショウジョウバエの場合は通年の観察が可能という利点があるが、飼育の煩雑さと、唾液腺が極めて小さく取り出しが難しいという問題がある。また、アカムシは唾液腺が大きくて取り出しが容易なうえ、染色体が広がりやすく縞模様やパフの観察には適した優れた素材であるが、入手の時期が冬期間に限定されてしまうという問題がある。

そこで、釣具屋で一年を通して安価に入手できるサシ（ウジ）を用いて、唾液腺を取り出す方法と、染色、押しつぶしの方法を検討したところ、容易に唾液腺が取り出せ、染色体を観察することができたのでここに紹介する。

1 準備

A 動物材料

サシ（図1）は釣具屋で入手する。1袋（50～100匹入り）100円程度で一年を通して購入できる。購入後は、室温で放置するとすぐに蛹になってしまうので、袋ごと冷蔵庫に入れて保存すると2ヶ月ぐらい使用できる。また、実験直前まで冷蔵庫に入れておくことにより、サシの動きをかなり鈍らせることができる。



図1 サシ

B 薬品と器具

ハエ用生理食塩水（0.75%食塩水）、1 M塩酸、酢酸オルセイン、45%酢酸、ピンセット、柄付き針、カミソリ、時計皿、スポイト、ろ紙

2 方法

A 唾液腺の取り出し

(1) 一方のピンセットでサシの頭部の先をしっかりはさみ、次にもう一方のピンセットで体の中央部をはさむ（図2）。



図2 ピンセットの使い方

- (2) 体の中央部を固定して動かさないようにし、頭部側を引く。頭部の付け根の部分が破けたら、ゆっくりと慎重に引いて、頭部とそれにつながる唾液腺を引き抜く（図3）。



図3 唾液腺の引き抜き

- (3) 透明な1対の唾液腺が取れていることを確認する（図4）。この時、唾液腺にハエ用生理食塩水（0.75%食塩水）を1滴かけると確認しやすい。



図4 サシの唾液腺

- (4) 柄付き針やカミソリを使って唾液腺のみを取り外し、他の部分は捨てる。

B 唾液腺の塩酸処理と染色

- (1) 対になった唾液腺を切り離し、時計皿に取った1M塩酸に3分～5分浸し、塩酸処理をする（図5）。



図5 唾液腺の塩酸処理

- (2) 唾液腺を柄付き針で取り出し、縦にできるだけまっすぐ伸ばすようにしてスライドガラスにのせ、唾液腺に酢酸オルセインをかけ、7分～10分間染色する。

C 脱色と押しつぶし

- (1) 酢酸オルセインをろ紙で吸い取り、45%酢酸を1滴かける。
(2) カバーガラスの上でろ紙をおき、丸い鉛筆を軽くプレパラートに押しつけながら転がし、押しつぶす（図6）。



図6 押しつぶし

D 観察

- (1) つぶれた唾液腺を50倍から100倍の低倍率で観察し、染色状態がよく、比較的広がった染色体を探す。
(2) さらに高倍率で染色体を観察する。

3 結果と考察

A 唾液腺の取り出し

サシは表皮が固く、柄付き針を使って頭部を引き抜くのは困難だが、ピンセットを使うとうまく頭部を引き抜くことができ、それに続く唾液腺をきれいに取り出せる。この点では、他の動物材料であるショウジョウバエやアカムシよりも容易に、しかも確実に唾液腺を取り出すことができる。この時用いるピンセットは、先があまいと滑ってうまくいかないもので、先がしっかりしたものを選んで使うようにする。また、サシが動き回るとピンセットではさみづらいので、前述したように直前まで冷蔵庫に入れておくか、氷水に入れて冷凍麻酔（図7）をかけると動きが鈍くなる。サシは、氷水に浮かべた状



図7 サシの冷凍麻酔

態で10分程度は死なない。唾液腺の取り出しの別法としてカミソリで頭部に切れ目を入れる方法があるが、唾液腺の他に消化管等も吐出し、唾液腺のみを取り出すのに手間がかかる。

取り出した唾液腺は透明で、ハエ用生理食塩水をかけるとよく広がって観察しやすい。唾液腺が広がって伸びた状態で、まず細い消化管を切り離し、次に乳白色の脂肪を取り去り、最後に頭部を切り離すときれいに唾液腺が取り出せる。この時に唾液腺を傷つけると粘性の高い唾液が出て、この後の操作に支障をきたすので気をつける。

B 唾液腺の塩酸処理と染色

塩酸につけると透明だった唾液腺が白濁するが、この処理によって酢酸オルセインの染まりがよくなる。塩酸処理の時間と染色状態の関係は表1のようになり、3分～5分の塩酸処理が有効であることがわかる（塩酸処理はタンパク質を変性させて固くする作用があるため、処理時間が長すぎると押しつぶしがうまくいかなくなる）。また、本稿では時計皿で塩酸処理を行う方法を紹介したが、この操作はスライドガラス上で行うこともできる。

表1 塩酸処理時間と染色状態（染色10分）

処理時間	観 察 結 果
0分	非常に染色薄く、観察に不適
1分	染色は薄いですが、観察可能
3分	よい染色状態で観察に適
5分	やや過染ぎみだが観察に適

C 脱色と押しつぶし

45%酢酸には、酢酸オルセインを脱色し、過染を防止する作用がある。45%酢酸処理をしなかった場合は、細胞質も赤く染まってしまう、唾液腺染色体が観察しづらくなる。

押しつぶしの操作は、ショウジョウバエやアカムシでは指で行う。しかし、サシは染色体数が多い（ $2n=12$ ）うえに1本の腕が長いいため、指での押しつぶし操作では染色体が広がりにくい（図8）。

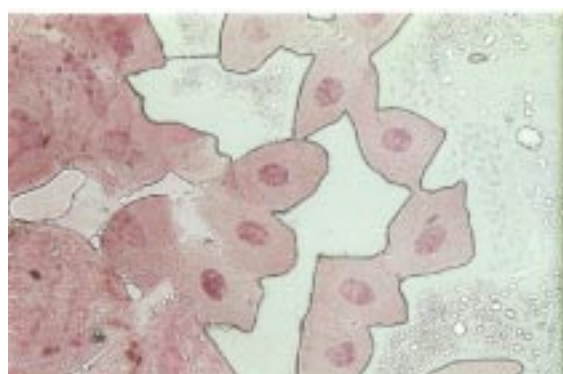


図8 広がらなかった染色体

唾液腺染色体をよく観察するためには丸まった染色体を少しでも広げる必要があるが、丸い鉛筆を軽くプレパラートに押しつけながら転がして押し広げると、指で押しつぶした時よりも染色体が広がる（図9）。この時、転がす方向を唾液腺の長軸に対して直角方向にとると、唾液腺を効率よく押し広げることができる。ただし、押しつける力が強すぎると染色体が切れてバラバラになってしまう（図10）ので、何度かの試行で力加減を会得する必要がある。

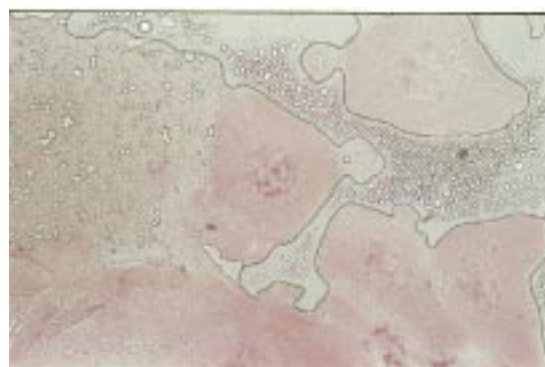


図9 鉛筆で軽く押しつぶした染色体

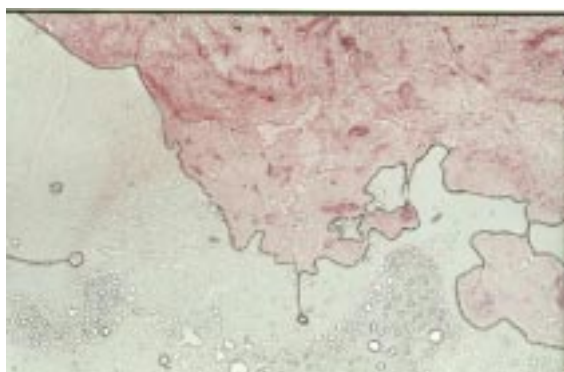


図10 鉛筆で強く押しつぶした染色体

D 観察

図11は高倍率（400倍）での唾液腺染色体の様子である。染色体がまっすぐに伸びないためピント合わせが難しいが、酢酸オルセインで染まった濃淡や太さの異なる横しま（バンド）がはっきりと確認できる。これらのバンドの配列順序は種によって一定であり、遺伝子の位置に対応している。観察の際にプレパラートを透明マニキュアで簡易封入しておくと、このバンドの観察は数日間可能となる。

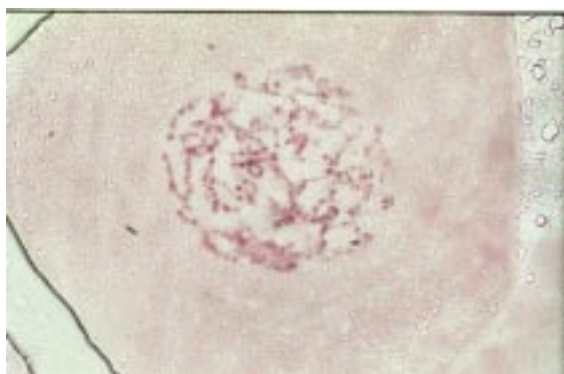


図11 サシの唾液腺染色体（高倍率）

また、特定のバンドは発生段階の特定時期に不連続にふくらみ、これをパフと呼ぶ。パフが見られる部分ではさかんにm-RNAが合成されており、パフを見つけることにより染色体上で遺伝子が活性化されている部分を知ることができる。サシでも染色体の伸びた部分を中心に注意深く探すとこのパフを見つけることができる。しかし、染色体数が多い上に大部分の染色体がからまりながら丸くなっているため、生徒が授業時間内でパフを見つけることは困難である。

この点では、染色体数が少なく広がりやすいアカムシの唾液腺染色体（図12）の方が観察に適しており、容易にパフを見つけることができる。



図12 アカムシの唾液腺染色体

おわりに

サシを用いた唾液腺染色体の観察は、ショウジョウバエの幼虫やアカムシと比べて唾液腺の取り出しがたいへん簡単で、50分の授業内で生徒に確実に染色体を観察させることができる。しかも、時期を選ばず実施することができるという利点もある。しかし、授業を単なる唾液腺染色体のバンドの観察にとどめず、パフや染色体突然変異の観察に発展させた場合、現在の方法では染色体を広げることが難しく、目標に到達することは困難となる。この点では、アカムシを用いた観察と比較して明らかに劣ってしまう。今後は、染色体を伸ばす操作を開発する必要がある。

参考文献

- 森脇大五郎 ショウジョウバエの遺伝実習 培風館 pp.133-136 1979
- 野々山清・上田博 フォイルゲン染色による唾液腺染色体の観察と永久プレパラート作製 生物教材ニュース pp.117-121 1983

（こじま あきお 生物研究室研究員）