

「スライドガラス押しつぶし法」を用いた体細胞分裂観察方法の改善と 中学校における実践的研究

川上 昭 吾 (愛知教育大学 理科教育講座)
加藤 万 幸 (愛知教育大学大学院生)
(2003年11月28日受理)

Improvement of the experiment on the somatic cell division using "Squash method with slide glass" and its practical study in the junior high school

Shogo KAWAKAMI (Science Education, Aichi University of Education)
Mayu KATO (Graduate Student, Aichi University of Education)

要約 体細胞分裂の観察を行うには、固定・解離・染色・押しつぶしの作業過程がある。本研究で用いた「スライドガラス押しつぶし法」を染色する前に取り入れることで、より簡単に良好なプレパラートを作製することができた。さらに中学校の授業で検証したところ、中学生でも90%近くの高い確率で観察可能なプレパラートを作製できた。

Keywords: 体細胞分裂, スライドガラス押しつぶし法, 中学校理科

I はじめに

体細胞分裂の観察は、生物の基本単位である細胞が増えていく様子を観察することで、生物のつくりや仕組みを理解し、その巧みさ・素晴らしさを感じられる実験である。だからこそ、子どもたちの手でプレパラートを作製して、実物を観察することが望まれる。

現在までに、観察方法についての研究が様々になされ、方法も改善されてきた。しかし、教育現場では、体細胞分裂観察の困難さが指摘されている(藤島(1982)¹⁾、上田(1982)²⁾、中藤(1984)³⁾、藤島・西村(1991)⁴⁾など)。困難な理由として、上田(1982)²⁾では、体細胞分裂の観察は、材料の準備や、固定・解離・染色・押しつぶしの作業過程にコツを必要としていることを述べている。中学校理科で行われる実験の中でも、手間のわりに成功率が低い実験なのである。

現行の中学校理科の教科書に記載されているプレパラート作製方法は、従来からの「押しつぶし法」である。この方法では、細胞が重なってしまったり、うまく染色ができないことが多い(山極・及川(1978)⁵⁾。中藤(1984)³⁾では、高校生を対象に、染色する前に2枚のスライドガラスを十字状に交差させて根端組織を崩す方法(以下「スライドガラス押しつぶし法」とする)が紹介されている。この方法を用いることで、観察方法の簡易化がはかれると思われる。

そこで、本研究では、「スライドガラス押しつぶし法」を用いて、プレパラート作製方法を改善し、中学校の教材としての有効性を検討することを目的とす

る。

II 方法

1. 材料

中学校理科の教科書では、タマネギ(*Allium cepa* L.)の鱗茎からの根を用いた実験方法が一般的である。上田(1982)²⁾によれば、市場に売り出されているタマネギは、休眠していたり、発根しないよう処理されているもの、発根に時間のかかるものがみられる。したがって、購入したタマネギを発根させることは容易なことではない。

一方、園芸店で売られているタマネギの種子を用いた場合、種子をあらかじめ購入・保管しておけば、季節を問わず観察することができる。また、タマネギの種子は、同調的に発芽するので、実験を行う日時に合わせて播種すれば、体細胞分裂を観察できる根の準備が容易である。また、種皮がついた状態で、種子根の固定解離処理を行えば、種皮側と根の先端側を区別しやすい(藤島・西村(1991)⁴⁾)。よって、根端分裂組織を取り除く際に、根の先端部分がわかりやすい。このような点から、本研究では、タマネギの種子を用いた。

発根のさせ方は、直径9cmのペトリ皿に、脱脂綿を敷き、その上にろ紙を1枚敷き、水を含ませた。その後、ピンセットを用いて、一つのペトリ皿につき、50~100粒ほどの種子を等間隔に蒔いた。藤島(1982)¹⁾によれば、観察に適している根として、種皮からまっすぐに伸びた、若くて元気がある根がよい材料である

といわれている。観察には、1～2 cmに伸びた根を使用した。

2. 実験器具等

体細胞分裂の観察に必要な器具、薬品は次に示すとおりである。

固定：AAピンセット、スクリュー管、カルノア液（99.5%エタノール：氷酢酸＝3：1、使用前2時間前に作り冷蔵庫に入れておく）

解離：AAピンセット、加熱用金網、三脚、ガスバーナー、マッチ、ビーカー、秤量びん、温度計、4%塩酸、45%酢酸、ストップウォッチ

染色：AAピンセット、スライドガラス、カバーガラス、柄付き針、2%酢酸オルセイン、ストップウォッチ、割り箸、ろ紙、マニキュア

3. 方法

(1) 固定

細胞分裂が活発に行われている根の長さ、時間にあわせて、固定を行うことで、分裂像が多く得られる。半本（1988, 2000）^{6,7)}、半本・神宮・堀（1995）⁸⁾によれば、根は種子を播種して3～4日目ほどの根を用いると良い。根の長さは1～2 cmくらいのものを用いると良い。この長さであれば、固定解離染色の各行程を行う際に、根同士が巻き付くことが少なく、ピンセットで移動させたりする作業も行いやすい。

1) 固定液の作製方法

材料を固定するときに用いる溶液は、カルノア液である。カルノア液は、99.5%エタノールと氷酢酸を3：1の割合で混ぜて作製する。カルノア液は、材料を固定する約2時間前に作製し、スクリュー管などふたのできる容器に入れて、冷蔵庫に保存しておく。

2) 固定開始時刻と固定時間

半本（1988）⁶⁾は、タマネギは午前10時から12時の間、細胞分裂が活発に行われていると述べ、固定を行う時間はこの時間内が良いとしている。本研究では、午前11時に固定を行った。

固定時間は、30分から1時間ほどである。なお、タマネギの種子からの根をカルノア液で固定した場合、カルノア液に入れた状態で長期間保存することもできる。

(2) 解離

1) 解離液

解離に用いる溶液は4%塩酸である。

2) 解離の温度・時間

解離に適した温度は、60℃である。60℃より高温になりすぎると植物体を構成するタンパク質が熱変性してしまう。また、低温であると、細胞一つ一つをバラバラにすることができない。解離が十分に行われていないと、細胞が重なってしまい観察しやすい像が得ら

れにくい。60℃に保ち続けることが解離のポイントである。

図1は、解離を行う装置である。この装置はビーカーに秤量びんを固定して作製したものである。この秤量びんに解離液を入れる。湯煎で温度を調節し、水温が60℃になってから1～2分ほど安定させた後、解離を行う。

タマネギの種子からの根では、解離の最適時間は、60秒～90秒で



図1 秤量びんを使った解離装置

あった。解離処理後、根を45%酢酸に入れて洗浄する。解離をした後、根端が白く濃くなっている根が、観察に最適である。これが材料を選定するときのひとつのめやすになる。

解離も生徒の行う活動であるほうがよいが、解離液の温度を60℃に保つことは生徒たちには困難な作業と思われる。授業で実験を行う前までに、教師が事前に固定・解離まですませておくとも良い。

(3) スライドガラス押しつぶし法

固定解離処理した根をスライドガラスの上に置き、柄付き針で根の先端を1～2 mm切り取る。先端部分をスライドガラス上に残し、残りは取り除く。根端分裂組織のみを切り取ることで、分裂像の多いプレパラートを作製できる。

そして、図2のように、もう1枚のスライドガラスを十字状にのせ、図3のように、親指で垂直に押しつぶす



図2 スライドガラスを十字状に重ねる



図3 根端組織を押しつぶす

ぶし根端組織を広げる。それから、スライドガラスが横にずれないようにそっとはがす。

(4) 染色

1) 染色液

染色には、2%酢酸オルセインを用いる。酢酸カーミンに比べて、比較的高価な薬品であるが、酢酸オルセインで染色すると、核・染色体と細胞質のコントラストがはっきりし、観察しやすい像が得られる。

2) 染色時間

スライドガラス上の試料に2%酢酸オルセインを滴下し、2~3分間染色する。

(5) 親指による押しつぶし

染色後、気泡が入らないようにカバーガラスをかける。カバーガラスをかけたときに空気が入ってしまった場合、ボールペンの先ほどにとがらせた割り箸などで、気泡を追い出す。また、細胞をさらに一層に広げるために、カバーガラスの上から割り箸で1~2回軽く押しつぶすとよい。図4は、カバーガラスの上から割り箸で軽く押しつぶしている様子である。この際、カバーガラスが横にずれやすいので、カバーガラスを左手の人差し指と中指でしっかり押さえて行う。



図4 カバーガラスの上から割り箸で軽く押しつぶす

次に、半分に折ったろ紙に、スライドガラスをはさむ。ろ紙をカバーガラスにあてて、余分な染色液を吸い取る。そして、図5のように、カバーガラスがずれないように指で押さえて、ろ紙の上から親指の腹で垂直に力いっぱい押す。

親指による押しつぶしを行うことで、細胞や核、染色体が平面になり検鏡しやすくなる。垂直に強く押しつぶしてもカバーガラスは破損しないので、体重をかけて強く押しつぶす。



図5 親指による押しつぶし

(6) プレパラートの保存方法

カバーガラスの四方に透明のマニキュアをぬり乾燥を防ぎ、低温で保存しておくこと、長期間観察できる。

4. 作製したプレパラート

図6は観察できたタマネギの体細胞分裂である。細胞の広がり、染色具合も良好で、観察しやすいプレパラートが作製できた。

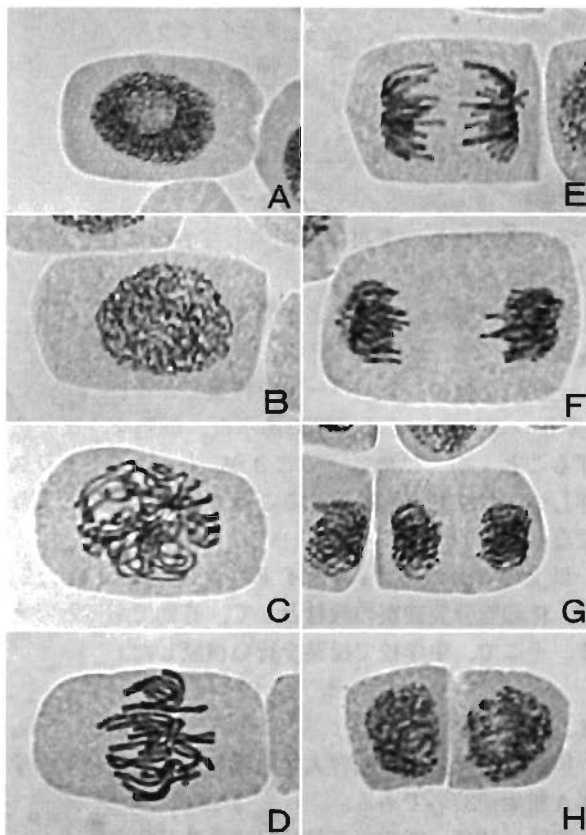


図6 タマネギの体細胞分裂

A. 間期、B. 前期1、C. 前期2、D. 中期
E. 後期、F. 終期1、G. 終期2、H. 娘細胞

III 中学校における授業実践

1. 授業実践に向けての教材研究

(1) 方法

「スライドガラス押しつぶし法」について、愛知教育大学教官、愛知教育大学附属中学校・高等学校の理科教官、愛知教育大学大学院生とともに事前の教材研究を行った。

「押しつぶし法」と「スライドガラス押しつぶし法」のそれぞれの方法を行い、プレパラートの作製のしやすさ、細胞の広がり具合や染色具合を比較し、方法の検討を行った。用いた材料は、タマネギの種子からの根である。

実施日時は、2003年6月7日である。

(2) 結果と考察

参加者15名に質問紙法による調査を行い、「スライドガラス押しつぶし法」の教材性を検討した。

「体細胞分裂の教材として従来の「押しつぶし法」と「スライドガラス押しつぶし法」を比較した場合、どちらが教材として適していると思いますか。」という質問に対し、表1のように15名全員が「スライドガラス押しつぶし法」が適していると回答した。

表1 体細胞分裂観察の教材としての有効性

押しつぶし法	スライドガラス押しつぶし法
0	15

その理由について自由に記述してもらったところ、以下の3点があげられた。

- ・細胞を一層に広げることができる。
- ・短時間で均一に染色できる。
- ・一度に2枚のプレパラートを作製できる。

「押しつぶし法」では困難であった、細胞をうまく広げること・均一に染色することが、「スライドガラス押しつぶし法」を取り入れることで容易に行えるようになった。

以上のことから、「スライドガラス押しつぶし法」は、体細胞分裂観察の教材として、有効であると考えられる。そこで、中学校で授業を行い検証した。

2. 実践対象と時期

実践対象は、愛知教育大学附属名古屋中学校第3学年A組生徒37名である。

実践日時は、2003年7月15日の第3時限である。

3. 方法

(1) 教材準備

材料は、タマネギの種子からの根を用いた。授業を行う1週間前に、種子を直径9cmのペトリ皿に100粒ほど播種した。

固定は、授業の前日までに行っておいた。固定を行う日は、午前9時にカルノア液を作製し、冷蔵しておいた。そして、若くまっすぐに伸びた1~2cmの根を選定し午前11時に固定を行った。

解離は、授業当日の朝に行い、解離処理した根は、45%酢酸に入れ冷蔵して保管しておいた。授業で、生徒がプレパラート作製から取りかかれるよう準備した。

(2) 授業過程

生徒は、前時にタマネギの表皮細胞、ヒトのほおの細胞を観察し、植物細胞と動物細胞の共通点と相違点に気づき、細胞のつくりや生物のからだは細胞という単位でつくられていることを理解している。

本時では、前時の学習を想起させ、生物のからだは、細胞からなっていることを確認させることから始め、一つの細胞が二つに成長する過程について考えさせた。次いで、観察を行う前に、模式図を用いて細胞分裂の過程を示し、細胞分裂の一連の過程をとらえさせ、生物が成長するために、細胞分裂が行われていることを確認させた。そして、学習課題をつかませた。

顕微鏡観察では、観察の対象が小さいため、どういふものに注目して観察を行っていけばよいか、生徒は自信が持てないことがある。そこで、細胞分裂の過程についての理解を深められるよう、演繹的な方法を取り入れることにした。

その後、実際にプレパラートを作製し、細胞分裂の過程を観察した。まず、教師が事前準備として行った固定・解離の方法と意味、プレパラートの作製方法を説明した。説明は演示で行った。観察上の注意事項として、根端を短めに切り取ることで、十字状にしたスライドガラスをそとはがすこと、最後に押しつぶす際もカバーガラスが横にずれないようにすることもあわせて説明した。生徒に配布した学習プリントに、実験手順とプレパラート作製の注意点を記載した。また、根の先端を使用するのは、根の先端部分でよく細胞分裂が行われているからであることを伝えた。

それから、生徒は各自プレパラート作製に取りかかった。1人につき、タマネギの種子根を1本ずつ準備し、プレパラートを作製した。生徒がプレパラート作製している時、教師は、机間指導をしながら、プレパラート作製の支援を行った。

そして、作製したプレパラートを用いて、細胞分裂の各ステージを顕微鏡で観察した。黒板に細胞分裂の過程を模式図で示し、どの段階の細胞であるか観察しながら確認できるようにし、分裂像をスケッチをさせた。その間、教師はデジタルカメラを用いて生徒のプレパラートの分裂像を撮影した。

その後、デジタルカメラで撮影した画像を投影し、細胞分裂の過程を順番に確認した。授業のまとめで撮影した画像を用いて細胞分裂の過程を確認する場を設け、細胞分裂の様子を視覚的にとらえ、知識の共有化をはかることをねらいとした。

さらに、植物細胞及び動物細胞の細胞分裂の過程の様子をビデオを見て確認する場を設け、細胞分裂が連続的に行われているものであるととらえさせた。そして、細胞分裂が実際に私たちのからだで行われていることにふれ、細胞分裂を身近な現象であることを感じさせた。最後に、実験の感想を学習プリントに記入し発表させた。

4. 授業実践の結果と考察

(1) 観察できたプレパラート

図7は、観察できるプレパラートを作製できた生徒

の人数を示している。37名中、33名が観察可能なプレパラートを作製できた。成功率は89%である。

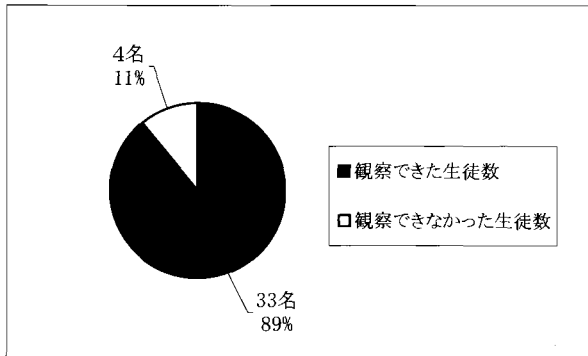


図7 観察できるプレパラートを作製できた生徒の人数

観察ができなかったプレパラートは、スライドガラスを十字状に重ねて細胞を広げるとき、カバーガラスをかけるとき、親指で押しつぶす時に、試料が横にずれ、細胞が崩れてしまったためか、押しつぶす力が弱く細胞が重なってしまったことによる。

このような場合は、生徒が授業中に二、三度プレパラートを作製できるよう、教材を準備しておくことで、より多くの生徒が自分の作製したプレパラートで体細胞分裂の観察ができるであろう。

(2) 事後アンケート

授業実践後、「スライドガラス押しつぶし法」が中学生にとって行える方法であるか、質問紙法で調査した。

1) プレパラート作製について

①「根の先端を柄付き針で切り取ること」について

表2に示すとおり、「タマネギの根の先端を柄付き針で切り取ることができましたか。」の質問に対して、「できた(27名)」、「まあまあできた(6名)」と回答した。タマネギの根の先端を柄付き針で切り取ることは、中学生にも行える作業であるといえる。

表2 「根の先端を柄付き針で切り取ること」について

質問項目	できた	まあまあできた	あまりできなかった	まったくできなかった
柄付き針で根端を切り取る	27	6	0	0

②「スライドガラスを十字状に重ねて押しつぶし、そとはがすこと」について

表3に示すとおり、「スライドガラスを十字状に重ねて押しつぶし、そとはがすことができましたか。」の質問に対して、「できた(21名)」、「まあまあできた(9名)」と回答した。「あまりできなかった」と3名が答えたものの、スライドガラス押しつぶし法は、中学生にも行える作業であるといえる。

表3 「スライドガラスを十字状に重ねて押しつぶし、そとはがすこと」について

質問項目	できた	まあまあできた	あまりできなかった	まったくできなかった
十字状に重ねて押しつぶし、そとはがす	21	9	3	0

③「親指による押しつぶし」について

表4に示すとおり、「半分に折ったろ紙に、スライドガラスをはさんで押しつぶすことができましたか。」の質問に対して、「できた(24名)」、「まあまあできた(9名)」と回答した。親指による押しつぶしは、中学生にも行える作業であるといえる。

表4 「親指による押しつぶし」について

質問項目	できた	まあまあできた	あまりできなかった	まったくできなかった
半分に折ったろ紙にはさんで押しつぶす	24	9	0	0

(3) 生徒の感想

生徒たちは、普段目にするのでできない細胞を自らの目で観察し、活発に細胞分裂が行われていることに驚きを感じていた。また、生徒たちは生物が細胞分裂を行い、細胞を一つから二つへと増やし、成長していくといった一連の流れを感じ取り、生物の仕組みの巧みさを実感できたと思われる。

細胞分裂を観察したことで、さらに細胞に対する興味・関心が高まり、「細胞分裂にかかる時間を調べてみたい」や、「動物の細胞分裂の様子も観察してみたい」などと、自分なりの追究課題を見つけている生徒もいた。

表5に生徒の感想を示した。

表5 生徒の感想

生徒	感想
生徒A	毎日あんなことを植物も動物もやっているなんて信じられなかった。細胞分裂の手順もあり、おもしろかった。人間もこれを行っているんだと思うと興味がわいた。ひとつひとつの特徴もあり、勉強になったしよかった。細胞について、興味がもてたのでおもしろかったしよかった。
生徒B	普段、目では見ることができない細胞分裂を観察できてよかった。植物の細胞は、10~12時ぐらいに分裂することや、6段階にだんだんと分裂していくことがわかった。しかし、どれくらいの速さで分裂するのがよくわからないので調べておきたい。

生徒	感想
生徒C	実際にプレパラートを作製して、細胞分裂の過程がよくわかった。顕微鏡で見ると、様子がよくわかった。また、ビデオで見て、すごくわかりやすかった。人間は、こんな小さい細胞60兆個でできていると聞いておどろいたと同時に細胞の中にある染色体によって遺伝があると改めて考えさせられた。同じ細胞でも、植物と動物とでは分裂の仕方に違いがあることも分かった。顕微鏡で見ることによって、分裂の仕方を学習できてよかった。
生徒D	私たちが普段みている大きくなっていく様子は、中では細胞がすごく活発に動いていることに驚きました。成長の過程では、中の核が色々而变化しながら最終的に二つに分かれていくのはすごいと思いました。
生徒E	自分たちの体の中でも、植物と動物の違いはあるけれど、このように細胞分裂が行われているなんてとても不思議だった。そして、核や分裂途中など見れて良かった。

VI おわりに

生徒自らの手で作ったプレパラートで体細胞分裂の様子を観察することは、生物の仕組みについての理解を深め、生物のからだの巧みさを感じることができ意義深い。

本研究で述べた方法ならば、細胞の広がりや染色状態のよい観察しやすいプレパラートが作製できた。また、授業実践を行い、理科の授業1時間内で、中学生でも高い確率で観察可能なプレパラートを作製できることも明らかになった。

以上のことから、「スライドガラス押しつぶし法」を用いたプレパラートの作製は、体細胞分裂観察の教材として有効であるといえる。

謝辞

本研究を行うにあたり、愛知教育大学の加藤淳太郎先生、平賀伸夫先生、愛知教育大学附属名古屋中学校の小原一郎先生、織田宗利先生、松井良樹先生、板倉淳一先生、同大学附属岡崎中学校の平井敬先生、大林伸吉先生、中村賢司先生、同大学附属高等学校の櫛田敏宏先生には、ご指導・ご助言をいただきました。厚くお礼申し上げます。

引用・参考文献

- 1) 藤島弘純, 授業時間(50分)内で可能な植物の体細胞分裂観察法, 生物教育, 第23巻, 第2号, 日本生物教育学会, 1982, pp.18-27.
- 2) 上田博, 体細胞分裂観察実習法の再検討, 教材生物ニュース, 第78号, 財団法人日本科学協会,

1982, pp.24-30.

- 3) 中藤成実, 体細胞分裂の観察, 教材生物ニュース, 第102号, 財団法人日本科学協会, 1984, pp.27-28.
- 4) 藤島弘純・西村聡子, ネギ *Allium fistulosum* の発芽種子を用いた体細胞分裂の観察, 生物教育, 第31巻, 第4号, 日本生物教育学会, 1991, pp.218-225.
- 5) 山極隆・及川操子, 体細胞分裂の観察, 採集と飼育, 第40巻, 第4号, 財団法人日本科学協会, 1978, pp.228-230.
- 6) 半本秀博, タマネギおよびソラマメの根端細胞における体細胞分裂の日周性, 生物教育, 第28巻, 第1号, 日本生物教育学会, 1988, pp.52-55.
- 7) 半本秀博, 体細胞分裂の観察を確実にを行う簡易染色法と材料の条件, 遺伝, 第54巻, 第6号, 裳華房, 2000, pp.50-54.
- 8) 半本秀博・神宮信夫・堀孝佳, 体細胞分裂像を多く得るための条件, 生物教育, 第35巻, 第1号, 日本生物教育学会, 1995, pp.57-58.