

# 高等学校で実践可能な魚類の染色体観察法<sup>†</sup>

上田裕紀枝\*・上田 高嘉\*\*

栃木県立馬頭高等学校\*

宇都宮大学教育学部\*\*

高等学校で実践可能な魚類染色体標本作製、観察法について紹介した。私たちヒトと同じ動物界に属し、私たちの身の周りに生息するドジョウ類を扱うことは、生命現象を身近に感じることになるであろう。1つの中期像の中の染色体にはその個体のすべての遺伝情報であるDNAが含まれ、からだは細胞からできていること、細胞は分裂によって増えること、染色体中期像の形態、構造、細胞増殖時のDNAの分配などの基本的な遺伝のしくみが哺乳類でも魚類でも共通しており、魚類での染色体観察は生命の連続性を理解する教材として有効であろう。また、ドジョウ類は、多くの種類が身近に生息し、生物多様性の意義、種分化のしくみを学ぶ教材としての発展も考えられる。

キーワード：染色体標本、魚類、空気乾燥法、遺伝

## 1. はじめに

中学校理科第2分野の「生命の連続性」で体細胞分裂の観察を行う際には、染色体数が少なく見やすい植物を対象とすることが多い。高等学校の科目生物基礎の「遺伝子とその働き」で体細胞分裂の過程を学ぶ際には、観察が難しい動物細胞の体細胞分裂を実際に観察し、体細胞分裂の前後で遺伝情報の同一性が保たれることの理解につなげたいと考える。また、実際に動物の染色体のプレパラートを作製し観察することは、実験の基本操作を習得するとともに、遺伝情報であるDNAを含む染色体について関心をもち意欲的に探究しようとする態度を育むことができるものとする。私たちにより身近な哺乳類での観察が勝るであろうが、倫理的配慮から魚類を用いての染色体観察を提案する。

実験に魚類を用いるねらいは3点ある。1点目は、生物の多様性の視点を身につけることである。魚類と哺乳類は外形的な違いだけでなく生活場所に応じ

た生活のしかたなど、様々な面で多様性が見られる。また、魚類と哺乳類の染色体を比較することで、染色体が種ごとに固有であることも分かる。2点目は、生物の共通性の視点を身につけることである。魚類と哺乳類では、からだは細胞からできていること、細胞は分裂によって増えること、染色体中期像の形態、構造、細胞増殖時のDNAの分配のしくみ等が共通する。3点目は魚類が入手しやすいことである。淡水魚類は季節を問わず、水路や小川等で比較的容易に採集することができる。

ここでは、淡水魚の一つであるドジョウ類を用いて、「生物基礎」の授業で実践可能な染色体標本作製、観察法について紹介する。

## 2. 魚類の染色体の観察

### (1) 材料

- ・ドジョウ類：水路や小川等で採集
- ・硬骨魚類用塩類溶液：  
NaCl 7.86g, KCl 0.28g, CaCl<sub>2</sub> 0.35g, NaHCO<sub>3</sub> 0.02gを1Lの蒸留水に溶解
- ・コルヒチン：塩類溶液に溶解して0.005%に調整
- ・低張液：0.5%塩化カリウム水溶液
- ・固定液：エタノール：酢酸 = 3:1
- ・染色液：pH5.8のリン酸緩衝液で市販のギムザ液を約30倍に希釈

<sup>†</sup> Yukie UEDA\* and Takayoshi UEDA\*\*: Practical method of the fish chromosome observation in the high school.

Keywords : Chromosome slide, Fish, Air-drying method, Heredity

\* Bato High School of Tochigi Prefecture

\*\* School of Education, Utsunomiya University  
(e-mail: ueda@cc.utsunomiya-u.ac.jp)

(2) 方法 (空気乾燥法)

- ① ドジョウの腹腔内および背側筋肉内にコルヒチンを注射する。
- ② 30分後、腎臓を取り出し、少量の塩類溶液が入ったプラスチックペトリ皿に移す。
- ③ 先の平べったいピンセットで、腎臓をすりつぶすようにして細胞を塩類溶液中に浮遊させる。
- ④ 約1mLの塩類溶液を加えて、細胞懸濁液をマイクロピペット用チップでマイクロチューブ(1.5mL用)に移し、チップで軽く攪拌する。
- ⑤ 遠心(1200回転/分・5分間、以下同じ)して細胞を沈める。
- ⑥ 上澄み液を捨て、低張液を約1mL加え、チップで軽く攪拌後に、約27℃で静置する。
- ⑦ 10分後、数滴の固定液を加え、チップで軽く攪拌して固定する。
- ⑧ 遠心して上澄み液を捨て、約1mLの固定液を加え、チップで軽く攪拌する。
- ⑨ 遠心し、少量の固定液を残して上澄み液を捨てる。
- ⑩ チップで軽く攪拌し、細胞懸濁液をスライドガラスに1滴落とす。
- ⑪ 自然乾燥させたプレパラートをギムザ液で染色する。
- ⑫ 光学顕微鏡を用いて、倍率150倍で体細胞分裂中期像を探し、600倍に拡大して染色体の本数、形態等の詳細を観察する。
- ⑬ 中期像を写真に撮り、切り貼りして核型分析を行う。

(3) 結果

光学顕微鏡で観察したマドジョウ (*Misgurnus anguillicaudatus*) の体細胞分裂中期像を図1に示す。比較のため、図2には血液培養法によって得られたヒトの体細胞分裂中期像を示す。

図3は図1Bの中期像を相同染色体ごとにペアリングして核型分析したものである。図4は、同様の方法でドジョウ類の一つのカラドジョウ (*Misgurnus mizolepis*) から標本を作製して核型分析したものである。

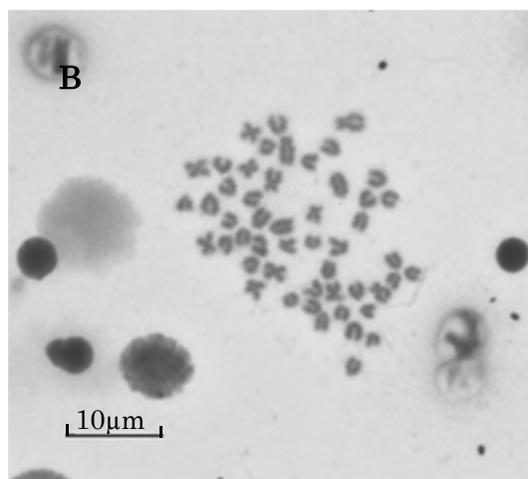
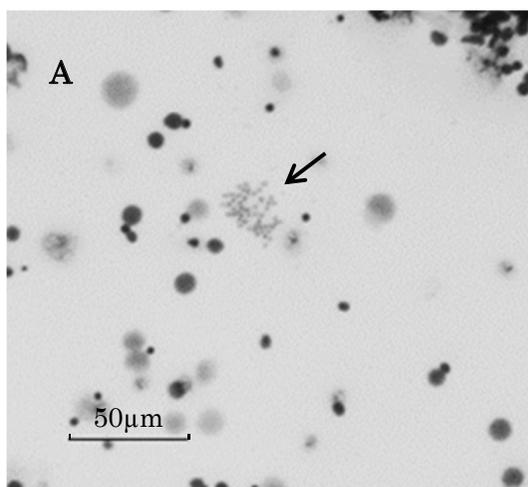


図1. マドジョウの体細胞分裂中期像.  
BはAの矢印部分を拡大した像.

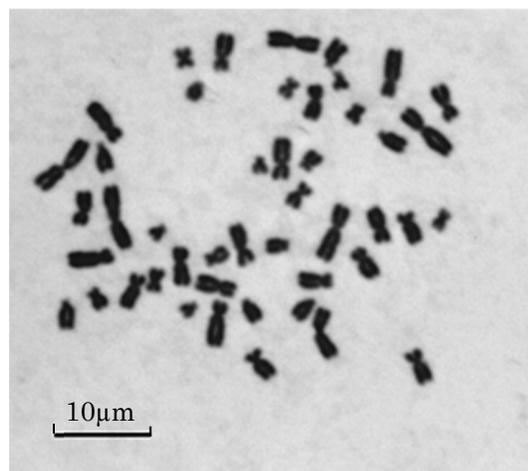


図2. ヒトの体細胞分裂中期像.

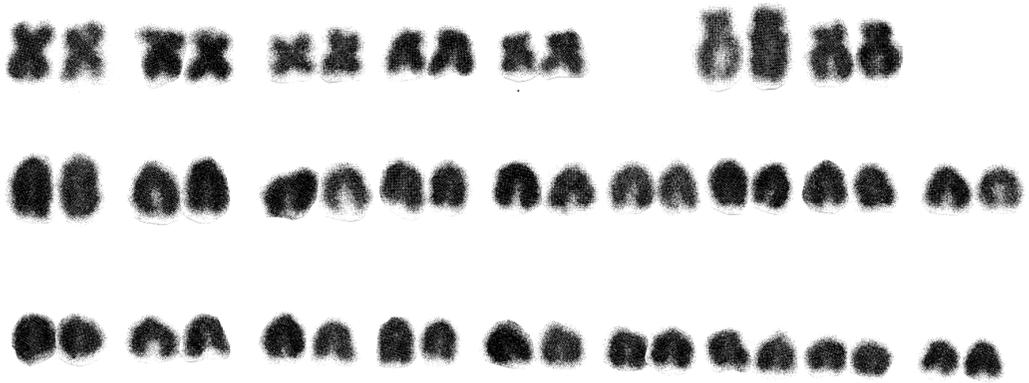


図3. マドジョウの核型.  $2n=50$ .

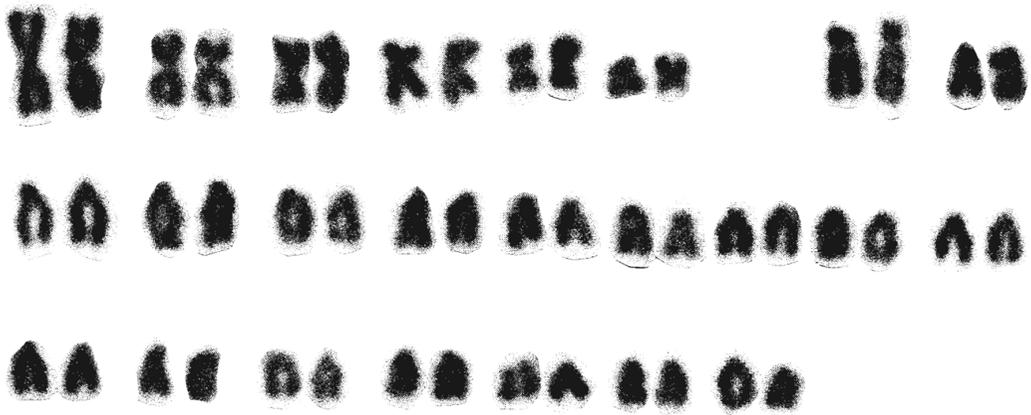


図4. カラドジョウの核型.  $2n=48$ .

### 3. 授業での実践案

50分間の授業, 2回で行う。

時	時間	学習内容
授業開始30分前		コルヒチン処理 (教員が行う)
第1時	15分	腎臓を取り出し, 細胞を塩類溶液中に浮遊
	10分	遠沈 遠沈の時間を利用して, 塩類溶液から低張液, 固定液への交換方法を説明
	25分	低張処理, 固定処理
授業開始前10分間		遠沈 (教員が行う)
第2時	20分	プレパラート作製
	15分	ギムザ染色
	15分	検鏡, 染色体観察

### 4. 考察

染色体標本作製, 観察を通じて得られる教育的効果を以下のように考える。

#### (1) 染色体の理解

学校での染色体標本作製は植物細胞が広く使用され, 動物細胞が用いられてもユスリカの幼虫等の唾腺染色体に限られ, しかも「押しつぶし法」によるために詳細な染色体の形態を観察することが困難である。図1B, 3および4のように, 鮮明な像が観察可能で, 核型 (染色体の数や形など, 生物の種により決まっている染色体の特徴) を確認することができる。

また, ヒトの染色体 (図2) と比較することで種により染色体の大きさが異なる場合があることが分かる。また, 図3および4のようにマドジョウとカラドジョウの染色体を比較することで, 種により核型に違いがあること, 種固有の核型があることを理

解することができる。

## (2) 体細胞分裂の理解

体細胞分裂中期像を観察することで、細胞周期における染色体の変化を知ることができ、細胞周期の理解につながる。

## (3) 生命の連続性の理解

1つの中期像の中の染色体にはその個体のすべての遺伝情報であるDNAが含まれている。体細胞分裂の際にもとのDNAとまったく同一のDNAが複製され、新しい細胞に受け継がれるため、遺伝情報は子孫に正しく伝えられる。染色体の中期像を観察することで、DNAの遺伝情報が代々子孫に伝えられることの理解につながる。

本報告で紹介の同様の方法で雄の精巢内細胞を用いることにより減数分裂の観察も可能である (ueda and ueda, 2016)<sup>1)</sup>。配偶子の染色体を観察することにより、体細胞の染色体との比較から、配偶子形成、受精、細胞増殖、個体発生へとつながり、生命の連続性の理解が深まるものとする。

## (4) 実験時の諸処理の理解

### ① コルヒチン処理

コルヒチンは細胞分裂において紡錘体の形成を妨げるため、魚類にコルヒチンを投与することにより中期像を多く観察することができる。染色体を凝縮する作用もある。細胞分裂阻害剤であるので、コルヒチン処理は教員が行い、腎臓を取り出す際には、ゴム手袋を両手に着用させる。

### ② 低張処理

細胞は細胞膜を介して、水の出入りが起こる。細胞を細胞内よりも浸透圧が低い液に入れると吸水して膨張する。吸水し続けると細胞膜は壊れる。0.5%塩化カリウム水溶液による低張処理は、観察しやすいように染色体を適当に散らばらせるために行う。

### ③ 固定処理

細胞を生きた状態に近いままで保存するためにエタノール:酢酸 = 3:1による固定を行う。

固定後に、冷凍庫（マイナス20℃）に保存すると2、3カ月は観察可能である。50分間の授業であるので、固定後に第1時を終了し、マイクロチューブ中で細胞懸濁液を冷凍庫で保存する。第2時の前に冷凍庫より取り出し、授業に備える。

## (5) 生物多様性の理解

私たちにとって健全な環境を維持していくためには生物多様性確保を図ることが重要とされ、生物多

様性の保全においては種の絶滅を防ぐ方法を求めることが重要な課題になっている<sup>2)</sup>。3月21日に公表された栃木県版レッドリスト（第3次/2017改定版）<sup>3)</sup>において、マドジョウが、減少が懸念されていることから、新規に「情報不足」（評価するだけの情報が不足している生物）としてリストアップされた。減少原因を探ることは、私たちの環境のあり方を考える上で大きなヒントを与えるであろう。減少原因の一つとしては中国大陸からの移入された外来種のカラドジョウの存在が考えられる。人工的な掛け合わせでマドジョウとカラドジョウとの間で生存性の雑種が認められている（荒井，2012）<sup>4)</sup>。自然界での交雑による遺伝的攪乱のほか、餌などカラドジョウの存在によるマドジョウの生息に与える影響について考察することは、生物多様性の意義を考える助けになるのではなかろうか。また、栃木県内には、マドジョウとの類縁関係の詳細が不明な、キタドジョウ (*Msiguronus* sp.) の生息が知られている<sup>5)</sup>。どのような分布なのか、他のドジョウ類との間ですみわけがなされているのか、雑種形成の有無など生殖的隔離がなされているのか、核型が異なるのか、など、興味深いところである。生物多様性、種分化機構の理解を深める教材に適してはいないか。栃木県内でのドジョウ類の調査研究は、染色体観察からの発展課題として有効ではなかろうか。

## 参考文献

- 1) Ueda, T. and Ueda, Y., Chromosomal studies of masculinized hybrids in bitterlings (Teleostei: Cypriniformes: Acheilognathinae). Natural Resources, 7, 326-330 (2016).
- 2) 上田高嘉・青木大輔・深田陽平・岡戸陽子・滝沢宏之・上田裕紀枝, 異校種間の連携によるミヤコタナゴの保全, 宇大教育実践紀要, 2, 201-206 (2016).
- 3) 栃木県版レッドリスト（第3次/2017改定版）.
- 4) 荒井克俊, 外来ドジョウの起源とその在来種への影響に関する研究, 科研費研究成果報告書 (2012).
- 5) 中島淳・内山りゅう, 日本のドジョウ 形態・生態・文化と図鑑, 山と溪谷社 (2017).

平成29年3月31日 受理