唾腺染色体の観察
【初級編】バンドの観察

筑波大学生物学類 基礎生物学実験
2018年 5月14日，5月18日
© 新井健太 初版 2014年6月11日
第六版 2018年5月17日

●導入

染色体という名称は、色素でよく染まることから命名されました。染色体は、生物の遺伝情報をもっています。本日の実習の目的は次のとおりです。

１．唾腺染色体のﾌﾟﾚﾊﾟﾗｰﾄ作製技術を修得
２．バンドを観察し、五本の染色体腕を同定
３．唾腺染色体のスケッチを描く

●材料

ｷｲﾛｼｮｳｼﾞｮｳﾊﾞｴ(*Drosophila melanogaster*)の三齢幼虫を用い、唾腺染色体を観察します。本日の観察に用いる系統は、＿＿＿＿＿＿＿＿です。唾液腺（唾腺）は幼虫の体内にあり、唾液を生産する器官です（図1）。唾液腺を構成する細胞には、複製を繰り返して肥大した特殊な染色体が入っています。この唾腺染色体は、巨大で観察しやすいことにくわえて、バンドと呼ばれる縞模様を目印に部位を特定できるので、研究しやすい材料として重用されてきました。

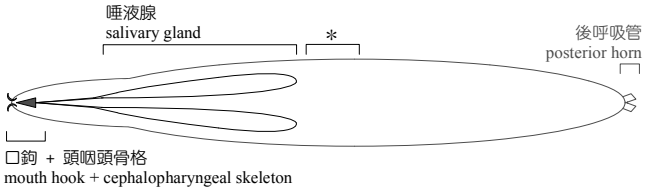

図1 唾液腺の位置
＊は解剖時に幼虫をおさえる部分。全長の中央か、やや頭寄り。柄付針で押さえつけるか、ピンセットで把握する。

●方法

１．幼虫の厳選

唾腺染色体の観察には、壁を登っているぷりぷりに太った三齢幼虫の中から大きな個体を選びます。このような幼虫は大きな唾液腺、大きな唾腺染色体をもっています。

２．解剖

本日は、＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿という解剖液を使用します。道具は柄付針か、鋭利なピンセットが適します。解剖用のスライドガラスへ数滴の解剖液を滴下します★。まず、解剖液中で、幼虫の体の中央あたり（図1の＊）をおさえます。つぎに、頭部にある黒い口器の後部あたりをスライドガラスに押し付けるようにしながら、頭部を引き抜きます。唾液腺は透明の器官です。一方で、その他の臓器は白色ですから区別がつきます。できるだけ唾液腺のみを取り出し、観察の妨げとなる余分な組織は拾わないようにしましょう。

３．染色

本日は、＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿＿という染色液を使用します。染色用のスライドガラスへ1–2滴の染色液を滴下します★。摘出した唾液腺は、ただちにこの染色液中へ安置し、染色します。本日の染色時間は、＿＿＿＿分です。一枚の染色用スライドガラスには、数頭分の唾液腺を置きます。よいプレパラートは簡単にはできませんから、染色の待ち時間を利用して、このような染色用スライドガラスを量産しておきましょう（10枚程度）。

★液が蒸発するので干乾びる前に補滴してください。実験前のスライドガラスへ鼻の皮脂を口字状に塗布して、液の拡散・乾燥を遅らせる方法もあります。

４．細胞核の観察

染色した唾液腺の上にカバーガラスを置きます。これを生物顕微鏡で観察し、図2のような細胞と細胞核があることを確認します。細胞核が確認できたら、押しつぶしを試みます。

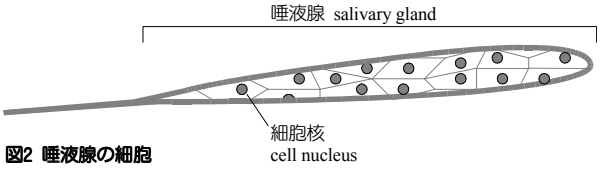

図2 唾液腺の細胞

５．押しつぶし

以下の工程では、カバーガラスがスリップしないように注意します。なぜなら、染色体がすり潰されてしまうからです。先ほどのプレパラートを、ろ紙でそっとはさみ、余分な染色液を吸収しておきます。ろ紙を慎重に開き、プレパラートを乾いたろ紙面に移動させ、再びはさみます。このとき、スリップ事故を防止するために、一方の手でカバーガラスをろ紙ごしに間接的に押さえます。次に、もう一方の手で、ろ紙上からカバーガラスに親指を

あて、じわっと一回圧迫します。これで細胞核が押し広げられ、染色体が露出します。圧迫したら、すぐさま生物顕微鏡で確認します。もしも圧迫が不十分で細胞核が球体のままなら、急いでもう一回圧迫します。

６．保存
染色液に乳酸酢酸オルセインを使用した場合には、プレパラートを長期保存できます。カバーガラスの縁をマニキュアで封じ、乾燥を防ぎます。後日観察すると、染色が進んでより観察しやすい場合もあります。

●染色体像の解説・スケッチの方法

ｷｲﾛｼｮｳｼﾞｮｳﾊﾞｴの雌の核型は、四組の染色体で構成されています(図3)。唾腺染色体の場合には、全ての染色体が動原体付近のヘテロクロマチンで結合して染色中心を成し(図4)、うまく押しつぶせれば五本の腕が放射状に展開します（第四染色体は小さいですが、運が良ければ六本目の短い腕として観察できるかもしれません）。X染色体（第一染色体）は、動原体が染色体の端にあるので、腕は一本しかありません。第二染色体と第三染色体は、動原体が染色体の中央付近にあるので、腕が二本（左腕と右腕）あります。例えば、第二染色体の左腕ならば2L、右腕なら2Rと表記してあります。図5は五本の腕端にある特徴的なバンドを模式図にしたものです。これを参考に腕の種類を同定してみましょう。バンドの数・太さ・間隔、染色体のふくらみ・くびれは再現性のある重要な特徴で、ｼｮｳｼﾞｮｳﾊﾞｴの遺伝学の発展に貢献しました。スケッチには氏名・学籍番号・日付・材料・倍率を明記し、染色中心と染色体腕の情報を書込み、可能な範囲でバンドを模写して提出してください。点描は不要です。よく見えない部分を、想像で描いてはいけません。重なっている部分はピントの深さを変えると観察できることがあります。描ききれない情報は文章や図説で補い、省略や塗潰し等の処理はその旨明記してください。

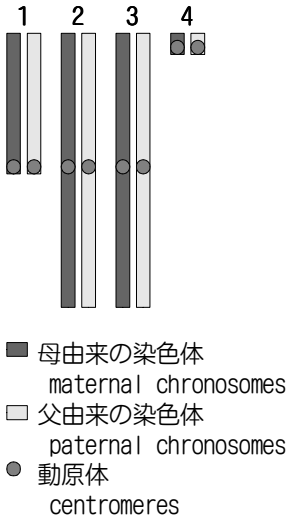

図3 キイロショウジョウバエ♀の染色体
1は第一染色体（性染色体）で、XXが図示されている。♂の場合にはXYとなる。2～4は常染色体で、それぞれ第二～四染色体を示す。

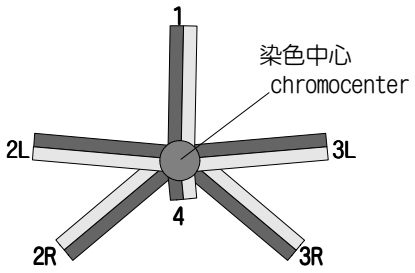

図4 キイロショウジョウバエ♀の唾腺染色体

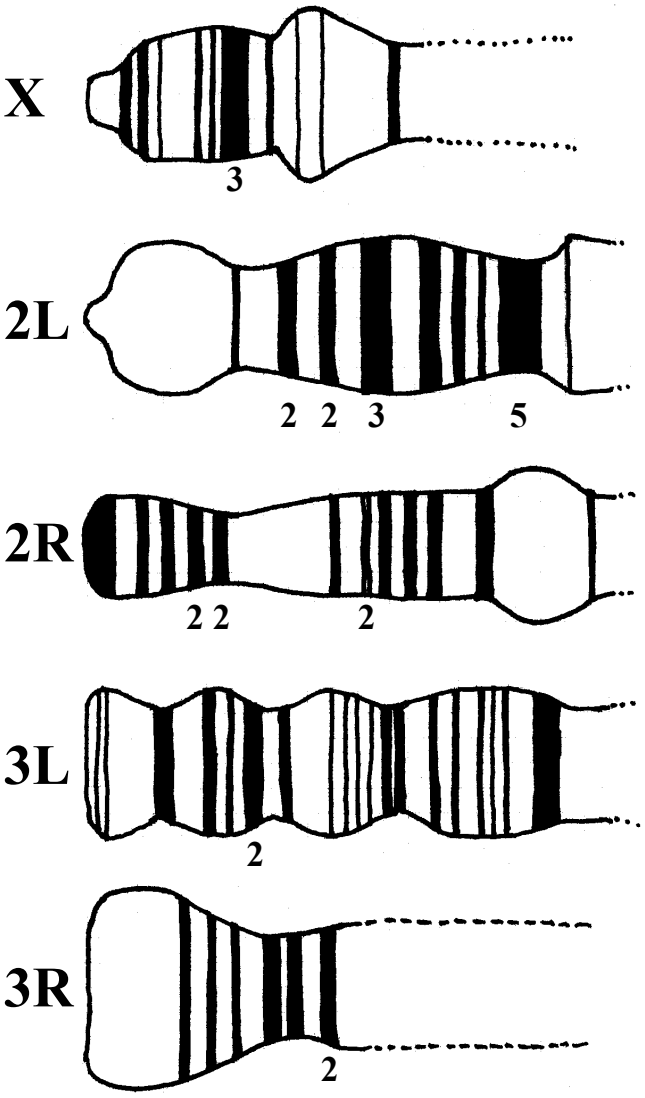

図5 唾腺染色体の末端における特徴的バンド
左側が先端。上から順にX，第二染色体左腕と右腕，第三染色体左腕と右腕。複数本のバンドが連続して一本のように見える部分は、バンド直下に集合本数を書いた。