

染色体研究の新しい方法

藤原 悠 紀 雄

細胞核の有糸分裂において出現する染色体 chromosome は生物の種により一定の数と形をもっている。生物の系統を論じ、進化の跡をたどる上に大きな手助けとなる。殊に染色体が遺伝子の担い手であるところから遺伝学研究の基礎として染色体の研究がきわめて重要となつてきた。従来の染色体研究は専らパラフィン法により、マイクローム切片を作つて行われた。その順序は概略次の通りである。

材 料 → 固定 → 脱水 → パラフィン誘導 → パラフィン埋没 → マイクローム切片作成 → スライド貼付 → パラフィン除去 → 漂白 → 媒染 → 染色 → 脱水 → 透明 → バルサム封緘 → **プレパラート**

以上の経過を経て標本ができ上がるまで約10日を要し、その間1箇所でも不備な点があれば失敗に終る。殊に最初の固定に失敗すれば後の操作をいかに慎重に行つても無駄である。この間アルコール、パラフィン、色素等かなりの費用を要する。殊にパラフィン法においてはマイクロームが設備として欠くことのできないものであり、その他にパラフィン熔融器、パラフィン伸張器が必要であるから、これらを整えることは一般には先ず望めない。しかも一番肝腎のマイクロームが高価でありながら、国産品で完全に使えるものがない。そこで何か簡単な方法で設備なしに染色体の観察ができないものかという疑問を多くの方が持たれるであろう。

既に古くから若い蕾を材料として花粉母細胞の減数分裂を観察するとき、醋酸カーミン aceto-carmin (45%醋酸にカーミンを飽和にとしたのもの) によるおしつぶし法が用いられていて、現在でも細胞学者の殆んどはこの方法によつて、花粉母細胞の染色体を観察している。ところが染色体がその数と形とを最も明瞭に示している体細胞分裂の観察は醋酸カーミンでは良い結果が得難い。殊に体細胞染色体はふつり細長い紐状または棒状であり、細胞の極から見たとき立つている染色体を頭の方から見る場合が多いのでその形をしらべることがむづかしい。

最近 Tjio および Levan (1956) により報告された方法によると、きわめて簡単にしかも正確に染色体の分析ができ、私共の研究室でも野生の菊科植物を中心に既に約50種類の植物の染色体をこの方法で分析し、きわめて良い結果を得たので次に紹介する。野生のもの又は鉢植の植物から根端約1cmを切りとり18°Cに

おいて 0.002 mol/l の 8-オキシキノリン(黄色をおびた粉末で従来金属の微量分析に用いられた) で1時間処理し、30分水洗して時計皿にうつす。別に2%醋酸オルセイン(45%醋酸にオルセインを2%とかけたもの) に1割量1規定塩酸を加えたものを用意し、これを時計皿の材料に加え小さい焔で軽く温める。このとき煮沸してはいけない。冷しては温めることを2、3回繰返すと、材料は醋酸で固定され、塩酸で加水分解され、オルセインで染色される。即ち固定、解離および染色の3つの操作が約5分間で同時に行うことができる。根端は同時に10本位とつて差支えない。根が軟かになつたとき、鉢か小さな解剖刀で成長点近くの分裂組織の部分のみを切りとる。これを1%オルセイン1滴と共にスライドガラス上にとりカバーガラスをかけ、上から軽くたたき、塩酸による解離が充分であると細胞と細胞とを連れているペクチンカルシウムからできた中葉(細胞膜の中央の層)の部分がとけ去り、細胞はバラバラになる。カバーガラスがずれないように注意しながら上から強くおすと細胞がおしつぶされ染色体が一平面にひろがる。このとき圧し方が軽いと染色体は上下にひろがつたまま観察に困難であり、強すぎると染色体が細胞からとび出て、見失われるのでおし方に練習を要する。余分の色素を濾紙で吸い取り、カバーガラスの周囲をワラップ Valap (ワセリン、ラノリンパラフィンの混合物) で封じ標本ができ上がる。これを顕微鏡下でしらべ、核分裂中期の染色体を探し出せばよい。8-オキシキノリンによる前処理を省略すれば材料をとつて標本ができ上がるまで僅か10分あればよいので極めて手軽である。パラフィン法では細胞分裂に際し、染色体は紡錘体の中で立体的位置をとるが、この方法では紡錘体が破壊され、染色体が容易に一平面にひろげられる。またパラフィン法の場合切片が厚すぎて細胞が数層重つたり、また染色体そのものを切つてしまうことがあるが、おしつぶし法ではこのようなことはない。更に都合のよいことはオキシキノリンによつて染色体は著しく収縮し、紡錘糸附着点(着糸点)や第二次狭窄を明瞭に観察でき、染色体の腕が真直にのびるので腕の長さを正確に測定できる。Fig. 1は、神戸市摩耶山頂で採集したシンジュギク *Gymnast pygmaeus* KITAMURA の根端細胞染色体をパラフィン法で観察したもの、Fig. 2は同じ材料を新しい方法で観察したものである。このように上にのべた細胞学のテ

下斗米直昌, 1935; 菊の生態と細胞遺伝 1-122
 KITAMURA, S. 1937; Compositae Japonicae I
 1-421
 KITAMURA, S. 1940; Compositae Japonicae II
 1-358
 北村四郎, 1940; 菊 教養文庫 1-176
 LA COUR, L. 1941; Acetic-orcein: A new stain-

fixative for chromosome. Stain Technology
 16: 169-174

北村四郎, 1948; 菊 1-168
 TJO, J. H. and LEVAN, A. 1950: The use of oxy-
 quinoline in chromosome analysis. Anales de
 la Estacion Experimental de Aula dei
 2(1):21-64

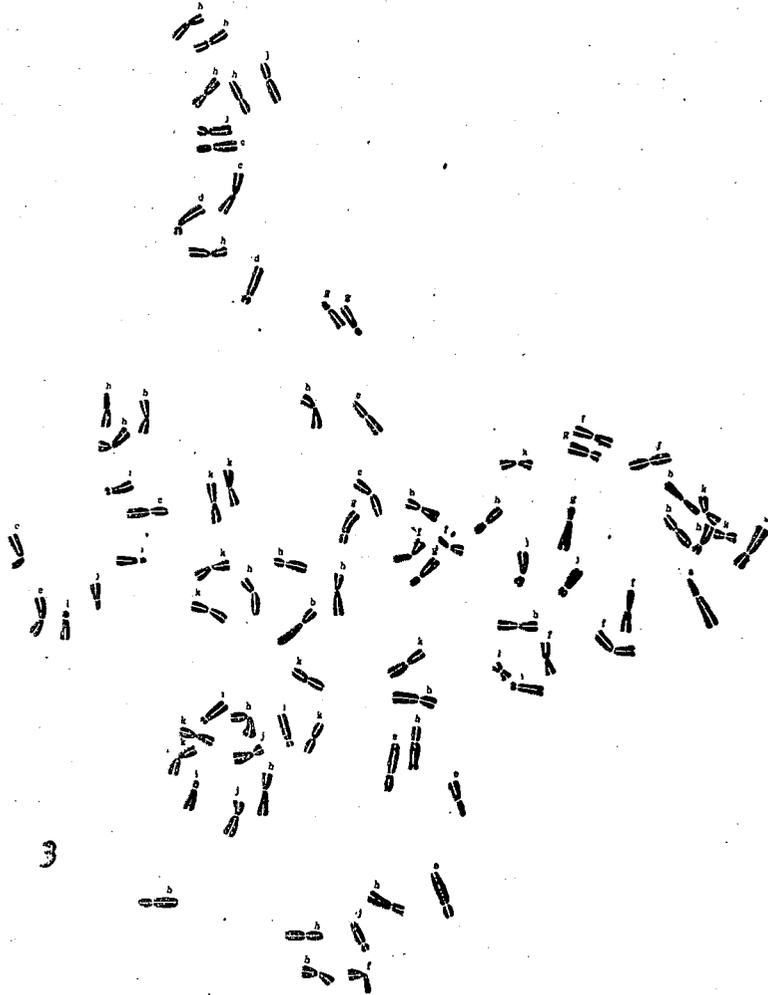


Fig. 3. イエギク×コハマギクの体細胞染色体×1700

日本シダの会 関西談話会 会員募集

関西では京大田川博士を中心にシダの同好者が集つて昭和25年から談話会を開いておりました。今回千葉県成田町の行方沼東氏や東大林学部倉田悟先生が日本シダの会を設立せられ関西の同好者も合流することになり、支部として関西談話会という名称で発足致しました。

下記要項により会員を募集しますから県下の皆様の御参加をお待ちしています。

名称 日本シダの会関西談話会

目的 シダ愛好者の親睦智識の向上、趣味の普及等

事業 懇親、採集、研究、鑑定、講演、交換、栽培等の会合を開き、会報を発行する。

会員 シダに興味を持ち、男女職業専門家たることを問わない。

会費 1ヶ年 100円 (但しこれは本部の会費であつて、関西談話会としては現在会費不要)

事務所 大阪府泉北郡取石村富木 瀬戸剛方

申込先 加古川市別府町西脇 稲田又男へ