

## 唾腺染色体の観察～DNAとRNAの分布 (メチルグリーン・ピロニン染色)

〔目的〕 ユスリカの幼虫（アカムシ）の唾腺染色体を染め分けることにより、DNA と RNA の分布を調べ、パフを観察する。

〔準備〕 ユスリカの幼虫    ピンセット    柄付き針    ろ紙    検鏡用具    ピペット  
メチルグリーン・ピロニン染色液    乳酸（2倍に希釈したもの）    80 %エタノール

〔実験〕

- ユスリカの幼虫をスライドガラスにのせ、全形を観察し、頭部（黒っぽい）を確認する。  
※できるだけ大きい、元気のよい個体を選ぶようにする。
- 頭から5節目あたりをピンセット（あるいは指の腹）で押さえ、もう1本のピンセットで頭部をはさみ、頭部をゆっくりと引き離す。  
※初めにクッと力を入れて思い切りよく引き、頭部が離れたら、あとは、ゆっくりと引き出すのがコツ。唾腺は頭の近くにあるので、押さええている側で切れた時は、頭部の側からしごとと出てくる。
- 唾腺は消化管や脂肪体と一緒に出てくる。脂肪体は不透明で白っぽく、唾腺は半透明でハート形またはY字形をしており、1対ある。見分けにくいときは、スライドガラスを蛍光灯や顕微鏡の光源にかざして見ると、唾腺だけが透明に見えるので、白っぽい脂肪体を取り除く。  
※かざして=スライドガラスの下から光が入るようにして見る。光を上から当てても分かりにくい。  
※乾いてしまうと見分けがつかなくなるので、体液でぬれている間に手早く判断する。
- 唾腺だけをスライドガラス上に残し、他は取り除く。水分をろ紙で吸い取り、乳酸を1滴垂らして1分置く。
- 乳酸をろ紙で吸い取る。水を滴下し、ろ紙で吸うことを数回繰り返して乳酸を十分に洗う。  
※乳酸は粘度があり、ろ紙で吸いにくいので、ていねいに行う。  
※唾腺をろ紙にくっつけてしまうと取れなくなるので注意
- 80 %エタノールを1滴垂らして脱水する。1分後にエタノールをろ紙で吸い取る。
- メチルグリーン・ピロニン染色液を1滴垂らし、10分間染色する。
- ろ紙で染色液を吸い取り、水を滴下し、カバーガラスをかけ、ろ紙をかぶせて、カバーガラスがずれないようにして押しつぶす。
- 低倍率で検鏡して、唾腺染色体を探す。  
しま模様のはっきりしていて、染色体がよく広がっているものを見つけて高倍率にし、絞りを調節して、詳しく観察、でスケッチしたあと、一部を色鉛筆でうすく色づけする。  
染色体の広がりが悪いときは、再度押しつぶすか、カバーガラスの端を指で押さえつつまようじの頭で試料をたたく。

### 設問

- 各色素の役割を記せ。  
◇メチルグリーンは  を青～青緑色 に } 染色する。  
◇ピロニンは  を赤桃色に
- 各色素でよく染まっていたのは細胞のどこか。また、そこがなぜ、それぞれの色素でよく染まっているのか、DNA RNA の分布とそこで起こっていることを関連づけて説明しよう。
- パフが観察できれば、そのようすを染色体のほかの部分と比較しよう。
- 1個の細胞に染色体は何本観察できたか。また、観察したユスリカの染色体数を  $2n=$  で記せ。