

透明骨格標本の染色について

北海道札幌啓成高等学校 理数科 (2020 年入学) 10 班

藤田 清蓮 舘山 果朋 北嶋 かの 高橋 晶帆

A transparent skeleton specimen is a specimen that makes the pigment protein of an animal transparent and does not damage the skeleton at the time of living. However, the chemicals used for dyeing were very expensive in manufacturing. Therefore, our research purpose is to search for our familiar dyes that could be dyed at low cost. From the results of the experiment, it was found that the fern extract is the most suitable for dyeing among the easily available dyes.

1. はじめに

1.1 透明骨格標本の説明

透明骨格標本とは、生物に含まれる色素タンパク質を分解することで透明化し作製するのが一般的であり、また生時の骨格のまま標本にするため正確な骨格の位置を把握できる標本である。硬骨をアリザリンレッド S、軟骨をアルシアンブルーで染色することによって様々な色になるのが特徴である。

1.2 本研究の目的

私たちは透明骨格標本について調べていくなかで、骨の染色に使用する薬品は高価かつ、身近なものではないことがわかった。そこで、アリザリンレッド S の代替品として安価で入手しやすい染色液を見つけることを目的として研究を行った。

2. 予備実験

2.1 実験方法の確立

実際に透明骨格標本を作製するにあたって、以下の作成手順を確立させた。

- ①ワカサギの下処理
- ②10%ホルマリン溶液で固定 (3 日)
- ③エタノール脱水 (5 日)
- ④タンパク質分解 (約 2 週間)
(1)NaOH (2%) (2)KOH (2%)
- ⑤染色 (約 2 週間)
- ⑥グリセリン置換

2.2 実験準備

材料

ワカサギ (*Hypomesus nipponensis*)

試料

無水エタノール・ホルマリン (固定)・
NaOH・KOH・グリセリン

器具

ビーカー・保存容器・瓶・顕微鏡・ガラス棒・ピンセット

3. 実験 1

3.1 目的と仮説

染料について調査していたところ、染物店で販売している安価なアリザリンレッド S を見つけた。そこで私たちは染物店で購入した安価なアリザリンレッド S で硬骨を染色できるか確かめることにした。私たちは染物店で購入した安価なアリザリンレッド S には不純物が多く含まれているため、硬骨は染色されないと仮説を立てた。

3.2 方法

作成手順⑤の段階で、500ml の蒸留水に 5g の KOH を溶かした 1.0% KOH 水溶液にアリザリンレッド S を耳かき 2 すくい分ほどを添加した。この染色液に原料のワカサギを 24 時間ほど浸漬させる。

3.3 結果

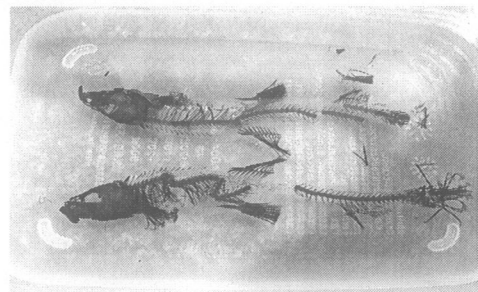


図1 アリザリンレッド S で染色したワカサギ
透明化した身の部分に影響はなく、きちんと硬骨のみに染色された。

3.4 考察

安価なアリザリンレッド S を購入した染物店に連絡を取ってみたところ、ネットで

見た高価なアリザリンレッド S と染物店で購入した安価なアリザリンレッドは全く同じものであり、余分な成分は入っていないということを教えていただいた。そのため、安価なアリザリンレッド S で骨格を染色することは可能であることが分かった。

4. 実験 2

4.1 目的と仮説

実験①をしていた際に蒸留水と水酸化カリウム水溶液でアリザリンレッド S を溶かした時で水溶液の色が違うことに気づいた。染色液は溶媒によって魚に染色したときに色に違いが出るのか比較した。アルカリ溶媒はアリザリンレッド S と化学反応が起きるため蒸留水とは色が異なると仮説を立てた。

4.2 分析方法

吸光度計を用いて、スペクトルの比較を行い、顕微鏡を用いて取り除いた硬骨を撮影し、RGB 値を分析した。

4.3 結果

溶媒が蒸留水で、15 倍希釈したアリザリンレッド S の水溶液は吸光度 570~710 でオレンジ付近を示した。また、取り除いた硬骨の RGB の値は R192 G41 B94 を示した。45 倍希釈した溶媒が水酸化カリウム水溶液のアリザリンレッド S 水溶液は吸光度 450、530~710 で赤紫を示した。また、取り除いた硬骨の RGB の値は R221 G10 B120 を示した。吸収スペクトルと RGB の数値が、蒸留水と KOH 水溶液で異なっていることが明らかになった。

表 1 溶媒ごとの RGB 値

溶媒	吸光度	色	RGB
蒸留水	570~710	オレンジ	R192 G41 B94
KOH	450, 530~710	赤紫	R221G10 B120

4.4 考察

アリザリンレッド S をアルカリ溶媒に溶かしたときに化学反応が起き、蒸留水に溶かしたときとは色が異なり、仮説は正しかったことが示された。しかし、どのような反応によるものかについてはさらなる研究が必要だといえる。

5. 実験 3

5.1 目的と仮説

染料を選ぶ際、自分たちの生活において身近なものと基準を定め、ぶどうジュース・食紅・コーヒー・シダの抽出液で硬骨を染めようと試みた。上記の溶媒は、布などに色が付きやすいという理由、また食べ物の着色料として使用されている・歯に沈着しやすいという理由で厳選した。また溶媒は、先行研究にならない NaOH と KOH で比較した。

5.2 方法

5.2.1 染色液の作成

シダは新たに染色液を作成した。森林公園からシダを何十本か採取してきて、虫等の汚れを落とすため水洗いをした。その後茎と葉をバラバラにし、茎ははさみでおおよそ 3 cm に切った。1000 ml のビーカーに入れ、シダが隠れるくらいまで水を入れた。水を沸騰させながらガラス棒でシダの上下が入れ替わるように混ぜた。

5.2.2 分析方法

タッパーにそれぞれの染料と NaOH・KOH 処理した魚本体を入れ保存した。二週間後各魚の硬骨を二か所から取り出し、目視で染まっているかを確認した。

5.2.3 実験準備

実験試料

- ・オシダ (*Dryopteris crassirhizoma*)
- ・ぶどうジュース・コーヒー・食紅・蒸留水・NaOH・KOH

実験器具

- ・ビーカー・ガラス棒・バット・三脚・三角架・ガスバーナー

5.3 結果

溶媒がシダの抽出液 NaOH・KOH 両方の魚の硬骨のみ染色が目視で確認できた。

表 2. 実験結果まとめ

	形	目視
KOH ぶどう	崩れた (なくなった)	染まっていない
NaOH ぶどう	ほぼ形状に変化なし	染まっていない
KOH 食紅	形状に変化なし	染まっていない
NaOH 食紅	ほぼ形状に変化なし	染まっていない
KOH コーヒー	ほぼ形状に変化なし	骨の中まで染まっていない
NaOH コーヒー	形状に変化なし	骨の中まで染まっていない
KOH シダ	形状に変化なし	染まっている
NaOH シダ	形状に変化なし	染まっている

5.6 考察

実験から本来の作成で用いられているアリザリンレッド S 以外の染色液を用いることででも染色が可能だということが分かった。また、魚の身が着色の有無に関わらず濁ってしまったのは透明化の段階で色素たんぱく質が分解しきれず溶媒による染色を行ってしまったためだと考えられる。

6. まとめ

- ・染物店で購入したアリザリンレッド S でも十分に染色可能。
- ・試した染料のうち、シダの抽出液が最も身の濁りが少なかったため、今後の改良次第では綺麗に染色できる可能性が高い。
- ・シダの抽出液以外の染料は身の濁りが多かったため、透明骨格標本には適していない。
- ・染色がきれいに行うために、魚は完全に透明化させる。
- ・今後、シダを用いる染色の際に、身が濁らないような方法を研究する。

7. 参考文献

- ・ゆめいろ骨格堂 透明標本の作り方を学ぶ

<http://yumeirokokkakudo.kamihata.net/toumeihyouhon/tsukurikata.html>
(最終閲覧日 2021 年 7 月 21 日)

- ・窪田一志 2018 年 12 月 21 日 透明骨格標本の作製

<https://futabagumi.com/archives/12817.html>
(最終閲覧日 2021 年 7 月 21 日)

- ・透明骨格標本の作り方

<http://www1.cncm.ne.jp/~itoyama/kokkaku.html>
(最終閲覧日 2021 年 7 月 21 日)

- ・蓮見清一 2009 年 驚異！透明標本いきもの図鑑 宝島社