

10班課題研究

透明骨格標本における骨の 染色について

藤田清蓮 舘山果朋 高橋晶帆 北嶋かの

透明骨格標本とは

生物の身に含まれるタンパク質を分解・透明化し、骨を染色する標本

利点

通常**の骨格標本と違い、形状を保ったまま正確な骨格の位置を把握できる**



動機・目的

見た目がきれいで、形状を保ったまま骨格を観察できる

☞ 生物の授業などで利用できれば、
理解・興味の幅が広がる

しかし、薬品などが高く製作が難しい

☞ 安く染色ができないか研究

予備実験① 試作・作り方の確立

使用した魚：ワカサギ

①ワカサギの下処理

④タンパク質の分解
(1)NaOH(2%) (2)KOH(2%)

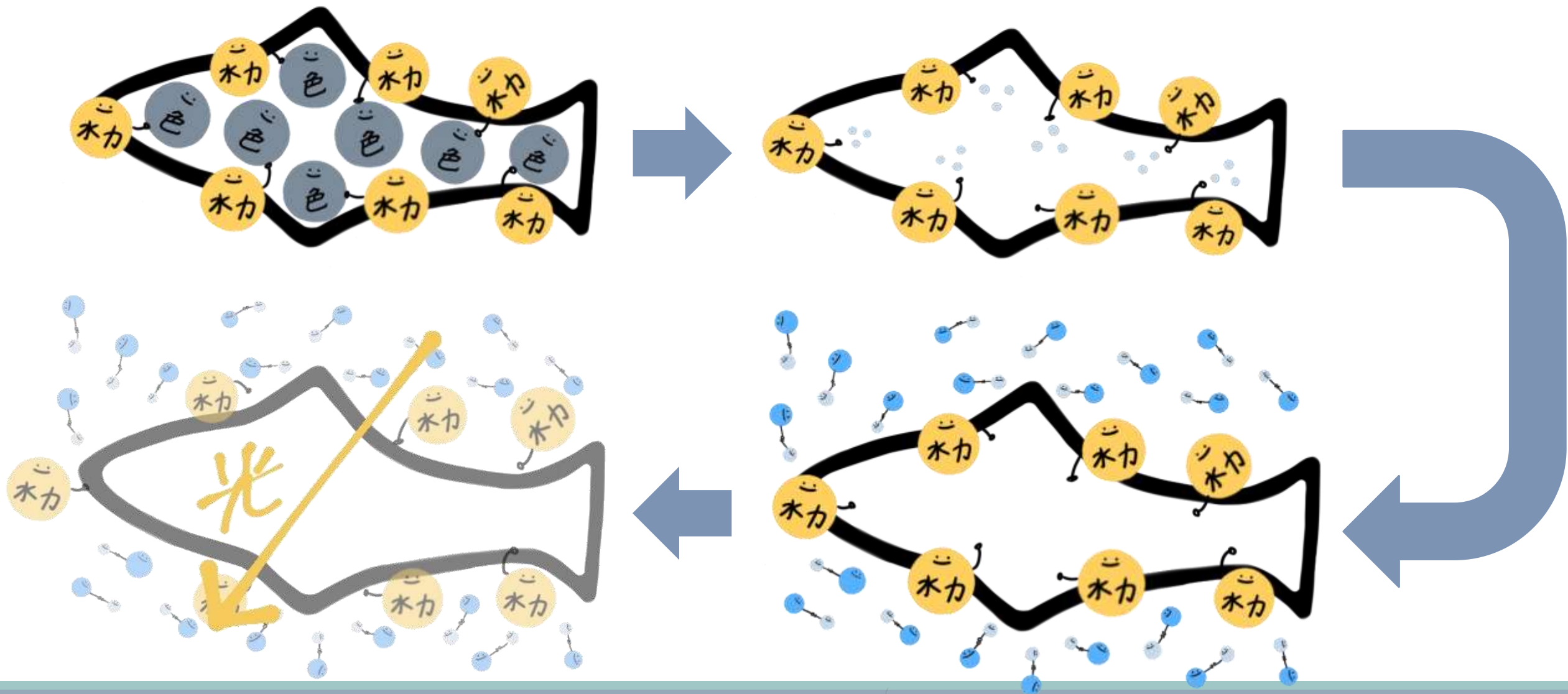
②ホルマリンで固定

⑤染色

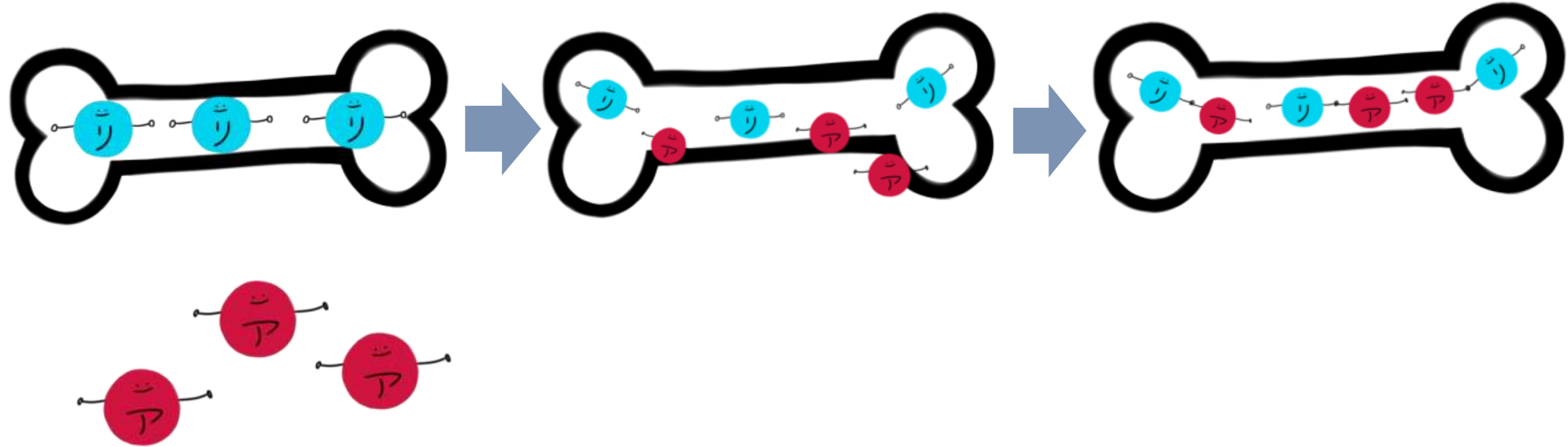
③エタノール脱水

⑥グリセリン置換

④タンパク質の分解について



⑤染色について



予備実験結果①



- 透明化することができた
- (1)NaOHに比べて、(2)KOHは少し濁った

写真1 NaOH(左)とKOH(右)による比較

実験① アリザリンレッドSについて I

内容 染物店で購入したアリザリンレッドSで染色できるか

仮説 染色用に余分な成分が含まれていて染色されない

結果①

問題なく染色された



写真2
KOH溶液の
アリザリンレッドSで染色した魚

実験② アリザリンレッドSについてⅡ

内容 アリザリンレッドSは溶媒によって色に違いが出るのか
蒸留水とアルカリ溶媒(KOH)で比較

仮説 アルカリ溶媒は化学反応が起きるため
蒸留水とは色が異なる

結果② 色の違いが出た



写真3 15倍希釈した溶媒水の
アリザリンレッドS溶液

570~710

👉 オレンジ付近

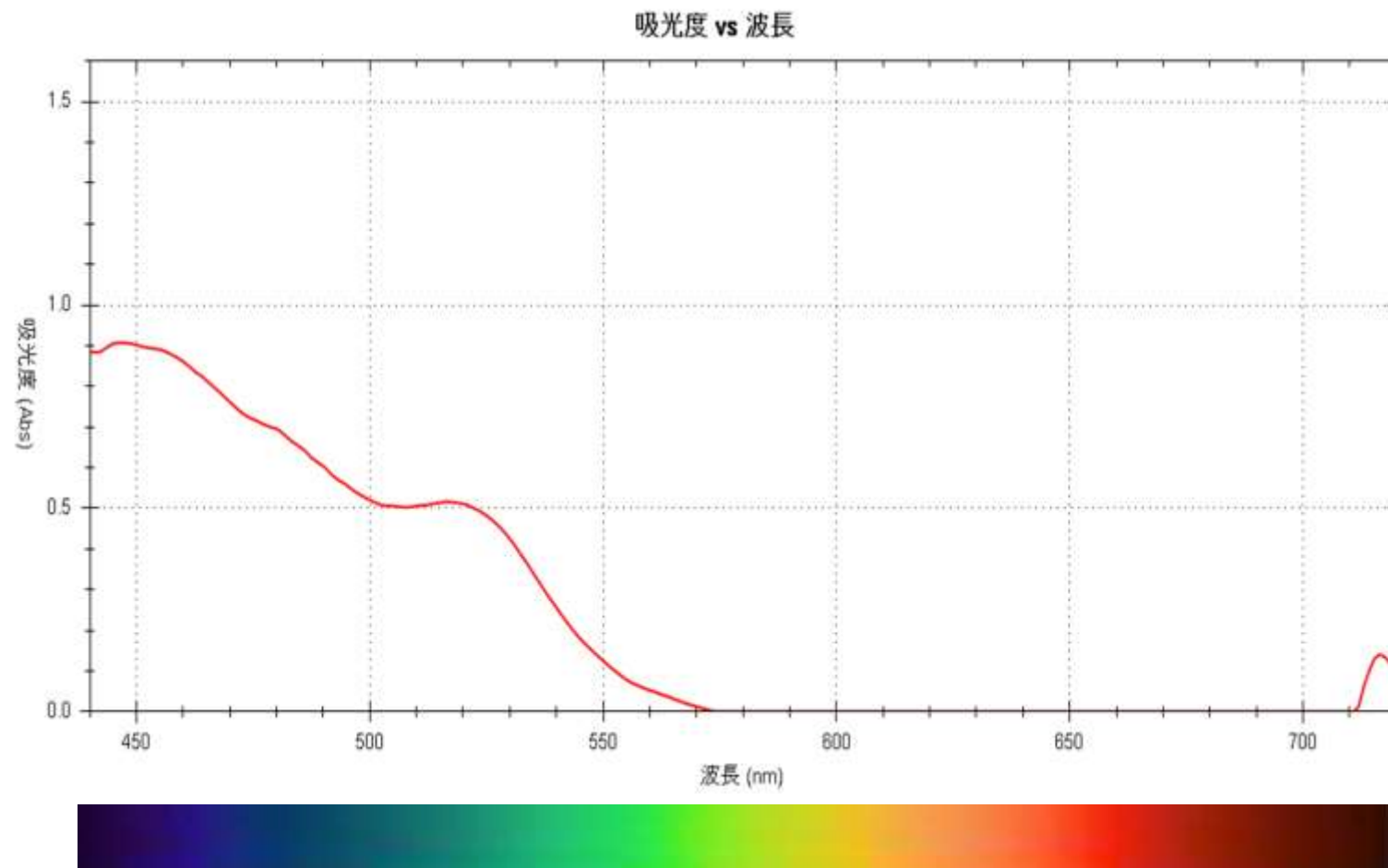


図1 15倍希釈アリザリンレッドSの吸光度と波長

結果②



写真4 45倍希釈した溶媒
KOHのアリザリンレッドS
450と530~710
👉赤が強い紫

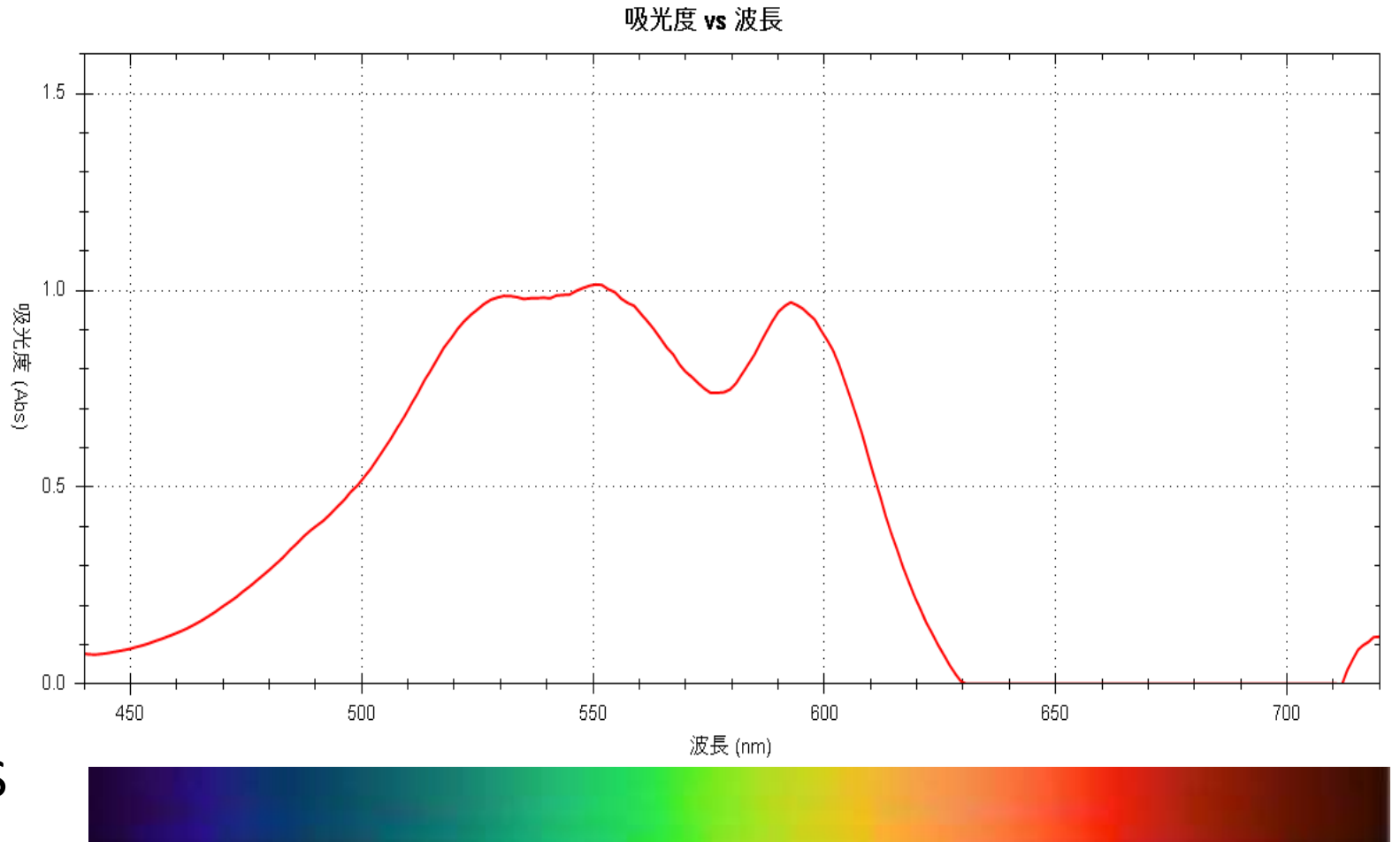


図1 45倍希釈アリザリンレッドSの吸光度と波長

結果②



R221 G10 B120

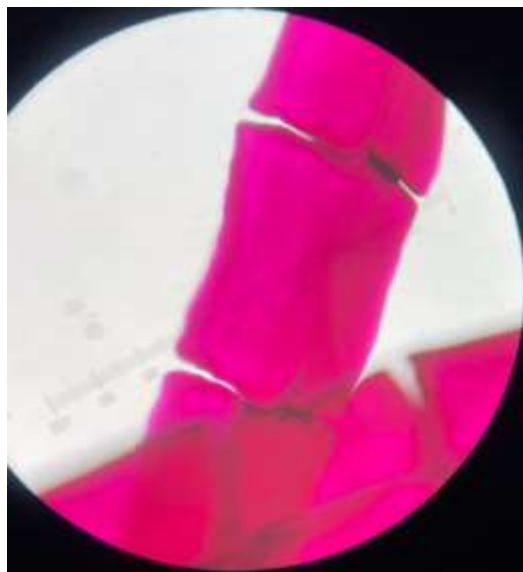


写真5 溶媒KOH・アリザリンレッドSにより染色された魚と骨

結果②



R192 G41 B94

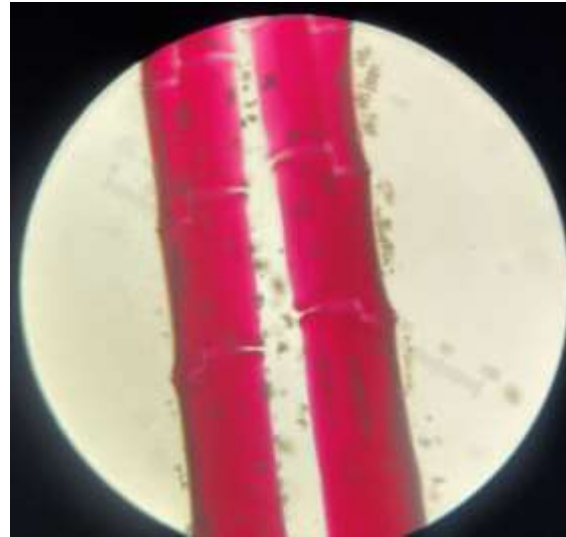


写真6 溶媒蒸留水・アリザリンレッドSにより染色された魚と骨

実験③

身近なものによる染色

内容 溶媒NaOHとKOHでそれぞれ
i ぶどうジュース ii 食紅
iii コーヒー iv シダ で染まるのか

理由 i・iv 布などに色が付きやすい☞浸透する
ii 食べ物の着色に使用される☞身まで染色される
iii 歯に沈着しやすい☞骨に沈着する

結果③ i ぶどうジュース 溶媒:KOH



分解前に染色したが、
分解しても色が抜けず、
身がすべて溶けきって
しまった

写真8 溶媒KOH・ぶどうジュースによる染色に失敗した魚

結果③ i ぶどうジュース 溶媒:NaOH



形状

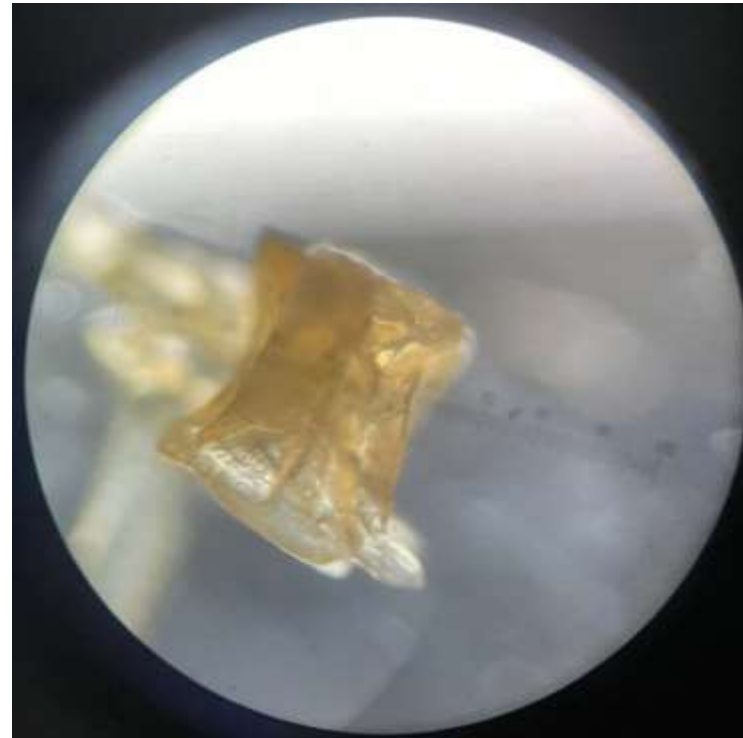
変化はなかったが分解後に染色したところ、KOHと色が異なった

骨

目視：染まっていない
顕微鏡：染まっていた

写真9 溶媒NaOH・ぶどうジュースにより染色された魚と骨

結果③ ii 食紅 溶媒:KOH



形状

変化はなかったが、数日蒸留水につけておいた結果、身の色が薄くなった

骨

目視：染まっていない
顕微鏡：染まっていた

写真10 溶媒KOH・食紅により染色された魚と骨

結果③ ii 食紅 溶媒: NaOH



形状

ほぼ変化はなかった

骨

目視: 染まっていない

顕微鏡: 染まっていた

写真11 溶媒NaOH・食紅によって染色された魚と骨

結果③ iii コーヒー 溶媒:KOH



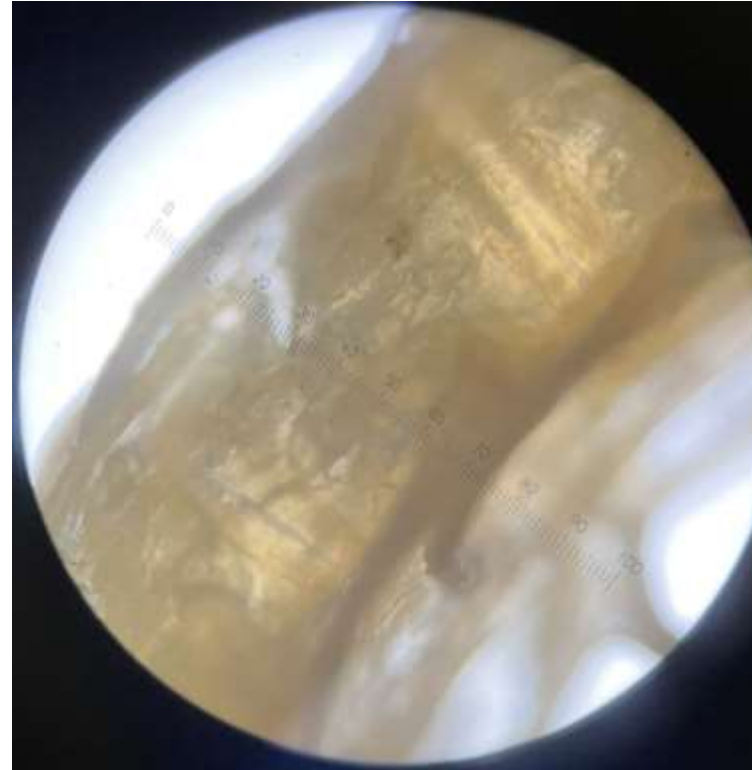
形状
ほぼ変化はない

骨

目視: 染まっていない
顕微鏡: 染まっていた

写真12 溶媒KOH・コーヒーにより染色された魚と骨

結果③ iii コーヒー 溶媒:NaOH



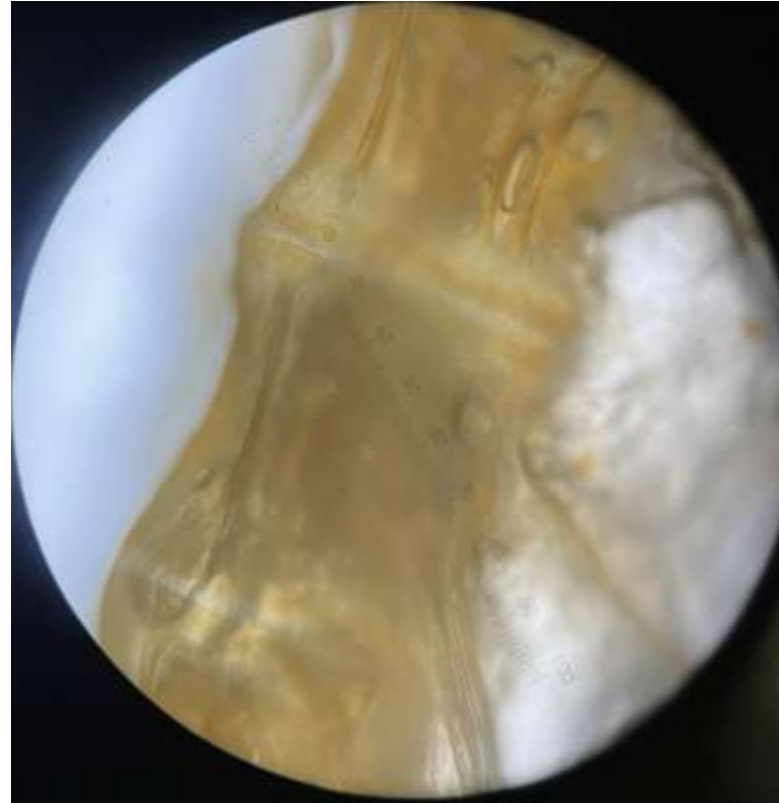
形状
変化はない

骨

目視: 染まっていない
顕微鏡: 染まっていた

写真13 溶媒NaOH・コーヒーにより染色された魚と骨

結果③ iv シダ 溶媒:KOH



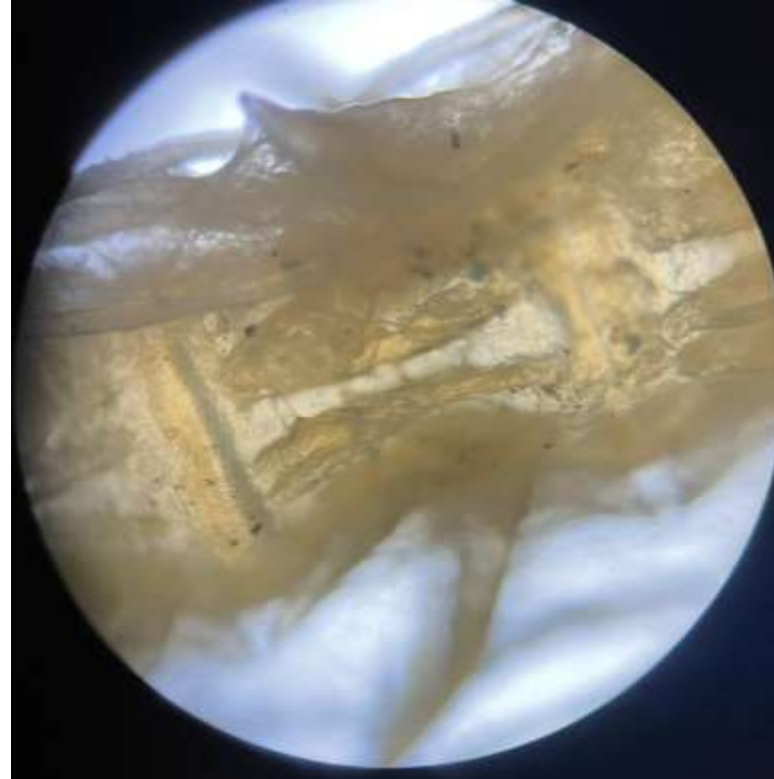
形状
変化はない

骨

目視: 染まっていた
顕微鏡: 染まっていた

写真14 溶媒KOH・シダの抽出液により染色された魚と骨

結果③ iv シダ 溶媒: NaOH



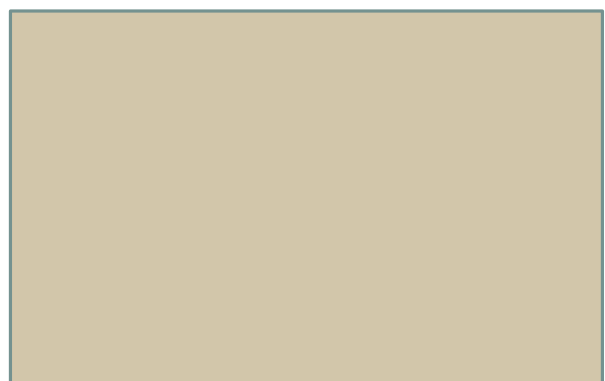
形状
変化はない

骨

目視: 染まっていた
顕微鏡: 染まっていた

写真15 溶媒NaOH・シダの抽出液により染色された魚と骨

染色前の骨



R210 G198 B170



写真7 染色前の骨

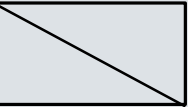
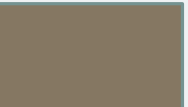
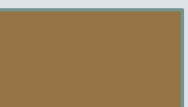

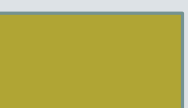
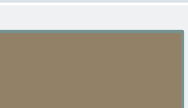
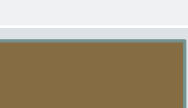
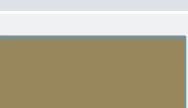
		形	顕微鏡	目視
KOH	ブドウ	崩れた(なくなった)		染まっていない
NaOH	ブドウ	ほぼ形状に変化なし	 R152 G134 B92	染まっていない
KOH	食紅	形状に変化なし	 R111 G92 B54	染まっていない
NaOH	食紅	ほぼ形状に変化なし	 R133 G119 B98	染まっていない
KOH	コーヒー	ほぼ形状に変化なし	 R157 G135 B61	骨の中まで染まっていない
NaOH	コーヒー	形状に変化なし	 R133 G108 B66	骨の中まで染まっていない
KOH	シダ	形状に変化なし	 R164 G144 B105	染まっている
NaOH	シダ	形状に変化なし	 R176 G165 B52	染まっている

表1 結果まとめ

考察

- 身が濁ってしまった
 - ☞ 色素タンパク質が分解しきれず、色素がさらに沈着してしまった(染色剤によるものではない...?)
- 溶媒ごとに色に違いが出た(KOHのほうが濃くなった)
 - ☞ NaOHとKOHの性質に何らかの違いがあった
- 魚の形状がタッパーごとで異なった
 - ☞ NaOHとKOHの性質に何らかの違いがあった、または濃度によって差ができる

まとめ

- 試した染料の中で、シダの抽出液は身の濁りが少なかった
 - 👉 今後の改良次第では綺麗に染色できる可能性あり
- シダの抽出液以外の染料は透明骨格標本には適していない
- 染色する際、魚は完全に透明化させる
- 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

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>

透明骨格標本の作製と期間短縮

https://www.jst.go.jp/cpse/jissen/pdf/houkoku/SG150002_matome2017_002.pdf

透明骨格標本の作製

<https://futabagumi.com/archives/12817.html>

透明骨格標本の作り方

<http://www1.cncm.ne.jp/~itoyama/kokkaku.html>

蓮見清一 2009 驚異！透明標本いきもの図鑑 宝島社