

# Silent world ～透明標本～

生物1班

## [透明標本 二段階染色法 ゲンゲ]

### 1. 動機・目的

本で透明標本を見つけ生物が透明になる不思議さに興味を持ち、自分たちで実際に挑戦しようと思った。また、透明になることで、種類によって骨格の違いを目で確かめることもできると思った。

### 2. 透明標本について

透明標本とは生物の骨格を観察するために様々な染色法を用いて軟骨は青に、硬骨は赤に染色してつくる標本のことである。生きたままの形状を保持できる。分類学や比較解剖学など、広い分野で使われていた。近年ではその美しさから芸術的な価値も高まっている。

### 3. 方法

透明標本の作製には富山大学の資料を参考にした。ここではサンプルを比較するために分類別に遊泳性深海魚のハタハタ (*Arctoscopus japonicus*)、低生性深海魚のノロゲンゲ (*Bothrocara hollandi*)、回遊魚のアユ (*Plecoglossus altivelis*)、哺乳類のハタネズミ (*Microtus montebelli*)、ブタ (*Sus scrofa domesticus*) の足、骨格の構成の違いで比較するために脊椎動物として淡水魚のワカサギ (*Hypomesus nipponensis*)、海水魚のマアジ (*Trachurus japonicus*)、無脊椎動物としてホタルイカ (*Watasenia scintillans*)、アマエビ (*Pandalus eous*) を用いた。

初めに解剖して内臓や皮などを取り除き、

10%ホルマリンで固定した (5日間)。固定後、ホルマリンを組織中から取り除くために蒸留水に1日程度浸けたのち、新しい蒸留水に交換してさらに浸けこむ (2日間)。ゲンゲはゼラチン質で皮を剥ぎにくいため固定後に解剖した。サンプルを濃度の段階を変えて1日おきに50%から100%エタノールへ置換したのちにアルシアンブルーとエタノール、酢酸の混合液を用いて軟骨を青色に染色した (3日間)。次はエタノールで再水和をする。濃度を1日おきに換えて最終的に蒸留水に置換する。水酸化カリウムを用いてタンパク質を透明化した後に水酸化カリウムを溶媒とした溶液にアリザリンレッドSを加えた混合液で硬骨を赤色に染色した (1日間)。再び水酸化カリウムを用いて余分な色の脱色を行った (16日間)。最後にグリセリンに置換し、完成した。透明標本の作製には約3カ月要した。

### 4. 結果

タンパク質の透明化の段階で、サンプルによって透明化にかかる時間が様々だった。ハタネズミ、ホタルイカ、ハタハタは形状を保ったまま染色、透明化を進めることができた。しかし、アユでは身が白くなり透明化が進まなかった。ゲンゲは形状が崩れてしまった。ブタの足のタンパク質の透明化がうまく進まなかったため、完成させることができなかった。アマエビのサンプルは殻の外側が赤く染色されたが、殻が離れてしまい、形状を保つことができなかった。



## 5. 考察

### (1)骨格の比較

脊椎動物では中心の脊椎骨が赤く染まっていたのが観察できた。また遊泳性の高いアユ、マアジ、ハタハタでは脊椎骨がしっかりしている。外骨格をもつアマエビでは外側の殻が赤く染色された。ヒトが骨を肉で覆い身体を支持しているように、アマエビは殻で支持している。またアマエビの殻はキチン質であり、キチン質にはカルシウムが含まれている。このカルシウムと硬骨染色液が結合することで赤く染まったのではないかと考えた。

### (2)透明標本について

タンパク質を水酸化カリウムで透明化する段階で、期間の詳細が記載されていなかったために自分たちで様子を見ながらしたが、なかなか透明化が進まず5

日間浸けこんだ。その後、同じく水酸化カリウムを含む硬骨染色液に2日間浸けて



しまった。そのため、脱色のために水酸化カリウムに浸ける時間が16日間と長くなってしまったのが、アユ、ハタハタの損壊が進んでしまった原因の一つではないかと考えられる。またタイミングを見て次の工程に移らなければ損壊してしまうため、引き上げのタイミングが大切である。透明化失敗のもう一つの原因はホルマリンでの固定が不完全であったことが考えられる。本来ホルマリンによって架橋されていれば、サンプルは外形を残しつつ透明になり、容易に観察できるようになるからだ。

ブタの足の失敗については、他のサンプルと比べてもかなり大きさの違いがあったことや透明化の期間が短かったことが原因だと考えられる。富山大学の資料によれば、透明化の際には、

今回高額のため使用できなかったトリプシンというタンパク質分解酵素を使用すればもっと効率的に分解できるそうだ。

今回、アマエビの殻が離れてしまい、形状を保つことができなかつたのは、他のエビ類と比べて殻が柔らかいという特徴があるからだそうだ。今回の実験から、本で見た透明標本のように仕上げるには、長い時間と技術、費用が必要だと分かった。

## 6. 参考文献

[1]ウィキペディア

<http://ja.wikipedia.org/wiki/%E3%83%A1%E3%82%A4%E3%83%B3%E3%83%9A%E3%83%BC%E3%82%B8>—骨格の特徴

[2]富山大学生による実験

—染色液の混合方法

[3]富田伊織,2009年,[新世界]透明標本~New World Transparent Specimen~,小学館