



岡山県立邑久高等学校課題研究

寺尾悠乃・吉本恵・小川玲奈・吉村満理菜  
森下紗衣・赤堀あやの・小山正太

## はじめに

50年後

そのためには...

経過観察&記録

## 目的

- I ビオトープの生物を用いて透明骨格標本を作製する  
ビオトープのギンブナなどを用いて標本製作を行った
- II コストを下げ安価に作製できるよう手順を改良する
  - ①【時間短縮】 KOHの濃度の変化
  - ②【コストダウン】 各軟骨染色液の染色結果
  - ③【時間短縮・コストダウン】 サイズによる軟骨染色の比較

## 実験 I

完成した骨格標本

ビオトープの生物であるギンブナなどの水生生物の標本作製に成功した

## 実験 II

①【時間短縮】KOHの濃度の変化  
KOHの濃度をあげ、透明化する時間を短縮させた。

KOHの濃度を10倍に変えタンパク質が透明化するか調べた。タンパク質のペプチド結合が切断され、骨格がバラバラ

②【コストダウン】各軟骨染色液の染色結果  
軟骨染色液であるアルシアンブルーが高価なので代用品としてトルイジンブルー、サフラニンが使えないか考えた。

トルイジンブルー pH2.7      pH3.9      pH6.8

アルシアンブルー      0.5% サフラニン

アルシアンブルーに比べ、トルイジンブルーやサフラニンは軟骨染色が確認できなかった。

③【時間短縮・コストダウン】サイズによる軟骨染色の比較

ギンブナ	メダカ	チリメンモンスター
7cm~11cm 一部以外染色されていない	1.5cm~3cm 軟骨部分がよく染色されている	1cm~1.5cm 染色されず透明化しない

## 考察

- ① KOHの濃度と反応時間を検討する必要がある
- ② 実験結果によりサフラニンは軟骨以外の部分が染まってしまう、また、トルイジンブルーは軟骨の染色にはいたらなかった。それぞれの軟骨染色過程の前後の脱水や中和などの条件を検討する必要がある。
- ③ ギンブナなどは一部の軟骨しか染まらなかった。しかし、メダカは染まっていた。つまりサンプルのサイズによって軟骨の染色結果に違いがあることが示唆される。透明骨格標本は乾燥しているサンプルは適していない。チリメンモンスターが透明にならなかったのには乾燥が要因と考えられる。

## まとめ

- ・KOHの濃度を変えることで、トリプシンの反応時間を短縮することができる。しかし濃度や反応時間の関係はシビアであるので、いくつもの条件で検討することが必要がある。
- ・今回アルシアンブルーの代用としてトルイジンブルーとサフラニンを用いた。その結果軟骨を染色するにはいたらなかった。今後比較対象として軟骨を染色していないサンプルを作って詳しく調べたい。
- ・今回チリメンモンスターを1ヶ月以上ホルマリンに浸しておいた。しかしタンパク質を透明にするにはいたらなかった。よってビオトープの生物を乾燥する前に標本にする必要がある。
- ・次回はエビなどの軟骨染色液と反応する物質を多く含む生物を用い染色を比較することによって、より各軟骨染色液の違いを細かく検証できると考える。

