

〈第40回山崎賞 児童・生徒の部優良賞〉

カイガラムシを用いた細胞の染色

静岡県立伊豆伊東高等学校
3年 永田寛 他2名

1 要旨

食品や衣類の染色に用いられるコチニール色素(カルミン酸色素)は、サボテンに寄生するコチニールカイガラムシからつくられる。その成分は酢酸カーミンに使用されるカルミン (carmine) であることから、衣類の染色用に安価で販売されている乾燥したカイガラムシと食酢を用いて媒染剤等を用いずに、簡易の細胞染色液の作製を試みた。タマネギの細胞やユスリカの幼虫のだ腺染色体を染色しと、数日間程度の使用であれば、簡単に染色できることができた。また、日本国内にも生息するイセリアカイガラムシでも染色することができた。

酢酸カーミンや酢酸オルセイン等の染色液がなくても、身近な材料で安価で簡単に細胞の染色液を作製することができることがわかった。

2 はじめに

赤色のカーマイン (carmine, 洋紅色, 図1) は (現在はより鮮やかな合成色素に代替されている)、もともとは「ケルメスカイガラムシから抽出してつくられた色」という意味があり、コチニール (カルミン酸) 色素からつくられた顔料の色である。

昨年卒業した先輩が、授業 (生物基礎演習・科学と人間生活) で使ったコチニール色素が酢酸カーミンとよく似ていたことから、コチニール色素による染色を試みたと聞き、さらに詳しく実験を行うことにした。

衣類の染色用に安価で販売されている乾燥したコチニールカイガラムシや日本にも生息するカイガラムシ (イセリアカイガラムシ) を用いて、できるだけ簡単に使用できる染色液の作製を試みた。

コチニールカイガラムシ (*Dactylopius coccus*) は、中南米に生息し、サボテンに寄生するカイガラムシで、体長はメス約3mm, オス約1.5mmである。メスはコチニール色素の原料となり、食品の着色料 (赤) や衣類の染色に用いられる (図2)。

イセリアカイガラムシ (*Icerya purchasi*) はオーストラリア原産のカイガラムシで柑橘類の樹木の枝に寄生する害虫として知られる。日本には明治時代に侵入したといわれ、世界中に広く分布するカイガラムシの一つである。体長はメス約5~6mm。オス約3mmであるが、その生態の詳細は不明な部分も多い (図3)。

樹木の害虫として知られるカイガラムシであるが、何か活用できることはないかと考え、この研究に取り組むことにした。

また、染色の試料には授業で酢酸カーミンを用いて観察したタマネギの細胞、ユスリカの幼虫の唾腺染色体を用いることにした。

比較のため、食紅 (赤色 102号) を用いた染色・観察も行った。

3 材料と方法



図1 カーマイン

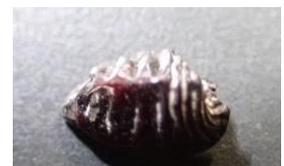


図2 乾燥したコチニール虫(♀)



図3 イセリアカイガラムシ(♀)

(1) 染色液の作製

カイガラムシ（コチニールカイガラムシ） 0.5g
食酢（2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5） mL
消毒用アルコール 一吹き
乳鉢・乳棒（100円ショップのすり鉢・すりこぎ棒で可）
コーヒーフィルター
50mL ビーカー（プラスチックカップで可）
ぬるま湯 5 mL

加える食酢の量を変えて染色液を作製し、タマネギの細胞を染色して顕微鏡観察を行い最適な量を検討した。

※ カイガラムシの入手先

コチニールカイガラムシ

紡ぎ車と世界の原毛「アナンダ」にて購入（ペルー産 10g418円）

イセリアカイガラムシ

柑橘類の無農薬（減農薬）栽培で知られる丸高農園（松崎町）より入手したもの。

※ 食酢はミツカン穀物酢（酸度 4.2%）を使用した。

染色液の作製手順は以下の通りである（図4）。

ア コチニールカイガラムシ 0.5g を乳鉢ですりつぶす。

イ すりつぶしたコチニールカイガラムシをプラスチックカップに入れ、消毒用アルコール少々、ぬるま湯 5 mL、および食酢（2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5 mL）を加えよく混ぜる。

ウ プラスチックカップにコーヒーフィルターを掛け、イでできた液体をろ過する。

エ 赤色の染色液ができる。

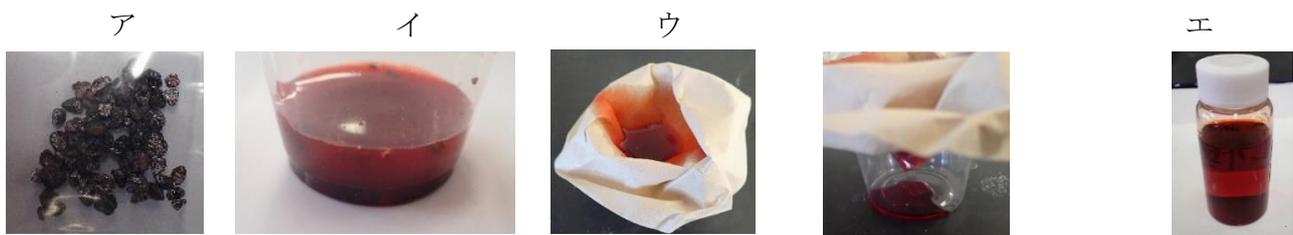


図4 コチニールカイガラムシから染色液の作製手順

(2) 染色と顕微鏡観察

作製した染色液を用いて、タマネギの表皮細胞およびユスリカのだ腺染色体を 10～15 分程度染色し、顕微鏡で観察した（だ腺染色体は押しつぶした後観察）。

(3) イセリアカイガラムシを用いて同様に染色液をつくり、染色した。

(4) 酢酸カーミン、食紅による染色像の比較

酢酸カーミンおよび食紅を用いて同様に染色し、(2)、(3)と比較した。

4 結果

(1) 方法(1)で加える食酢の量を2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5mLに変えて染色液を作製し、タマネギの表皮細胞を観察した(コチニール染色)。

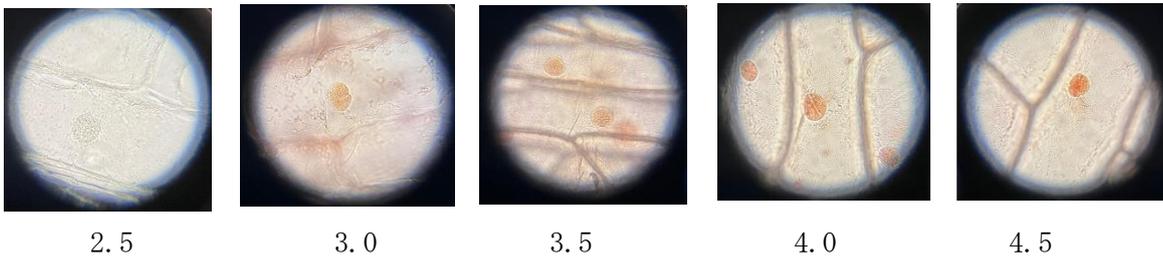


図5 加えた食酢の量(mL)と染色像(タマネギの表皮細胞)

食酢2.5mLでは、ほぼ透明で染色されていなかったが、核を区別することはできた。加える食酢が増えるにつれて、赤くはっきり核が染色され、4.0mLの 때가、一番鮮明に核を染色することができた(図5)。また、染色時間もやや長めの方がよかった。

(2) タマネギの表皮細胞とユスリカの幼虫のだ腺染色体の観察

(1)で食酢を4.0mL加えてできた染色液を用いて、タマネギの表皮細胞とユスリカの幼虫のだ腺染色体を染色した(コチニール染色)。



図6 タマネギの表皮細胞
(コチニール染色)

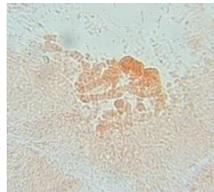


図7 ユスリカのだ腺染色体
(コチニール染色)

タマネギの表皮細胞では核が赤く染色された(図6)。ユスリカの幼虫のだ腺染色体はやや不鮮明ではあるが、だ腺染色体に縞模様がみられた(図7)。

(3) イセリアカイガラムシによる染色液の作製と染色

(1)と同様、イセリアカイガラムシ0.5gをすりつぶし、消毒用アルコールを一吹きした後、ぬるま湯5mL、食酢4mLを加えて染色液を作製した。イセリアカイガラムシの体液はややオレンジ色がかっており、染色液も透明でやや黄色味がかかった色になった(図8)。

この染色液を用いてタマネギの表皮細胞とユスリカのだ腺染色体を観察した(イセリア染色)。

タマネギの表皮細胞を染色すると、やや薄い茶色に核が染色された(図9)。

また、ユスリカのだ腺染色体を染色した場合も、薄茶色にだ腺染色体が観察され、鮮明な縞模様がみられた(図10)。



図8 イセリアカイガラムシから
作製した染色液

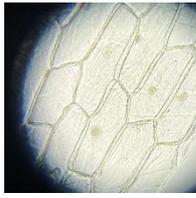


図9 タマネギの表皮細胞
(イセリア染色)

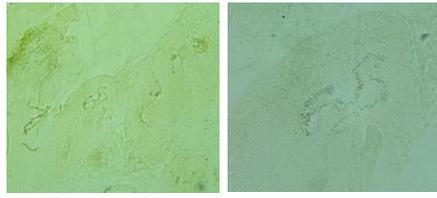


図10 ユスリカのだ腺染色体(イセリア染色)

(4) 他の染色液との比較(酢酸カーミン液、食紅)

比較のため、学校にある酢酸カーミン液と、身近なスーパーで売っている食紅(食用色素 赤色102号を含む)を用いて作製した染色液でタマネギの表皮細胞とユスリカのだ腺染色体を染色して観察した。(1)と同様に食紅0.5gに、消毒用アルコールを一吹きしたのち、ぬるま湯5mL、食酢4mLを加えコーヒーフィルターでろ過して染色液とした。



図11 タマネギの表皮細胞
(酢酸カーミン)



図12 だ腺染色体
(酢酸カーミン)

酢酸カーミン液で染色した場合、学校にある染色液が古かったためか、タマネギの表皮細胞は全体が赤く染まってしまったが、各ははっきりと観察された(図11)。また、だ腺染色体も色は異なるがイセリアカラムシによる染色液同様に染色された(図12)。



図13 タマネギの表皮細胞
(食紅)

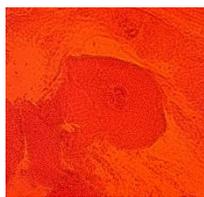


図14 だ腺染色体
(食紅)

食紅を用いた場合も、タマネギの表皮細胞の核は観察できるが、全体が赤く強く染まってしまう場合が多かった(図13)。だ腺染色体の存在は確認できたが、詳細はきれいに観察できなかった(図14)。

5 考察

コチニールカイガラムシ、イセリアカイガラムシを用いて染色液を作製し、タマネギの表皮細胞とユスリカの幼虫のだ腺染色体染色体を観察したところ、コチニールカイガラムシとイセリアカイガラムシでは色は異なるものの、どちらも、細胞の核やだ腺染色体の縞模様やパフを観察できた。スーパーで購入できる酢や、除菌アルコールがあれば、簡単に染色液が作製できることがわかった。

学校で使用することの多い酢酸カーミンは古くから細胞染色に用いられている赤色の染色液である(湯浅 1983)。今回の方法では媒染剤も使用せず、複雑な手順を省いて染色液を作製したため、長時間の使用には向かないかもしれない。しかしながら、通常の短時間(数日程度)の実験観察では問題なく、きれいに染色することのできる事がわかった。

コチニールカイガラムシからつくられるコチニール色素は、赤色の食品着色料であるが、昆虫からつくられることや、発がん性が疑われたこと、消費者庁からの注意喚起(H24)などから、一部の食品を除きあまり使用されなくなっている。

一方、コチニールカイガラムシは衣類の染色用として、安価で大量に購入することができる。今回作製した染色液は、生きた生物の染色だけでなく、布製品の染色などにも使用できるだろう(図 15)。ミカンの栽培でも知られる伊東市であるが、ミカンの害虫でもあるカイガラムシを使用してカイガラムシ染めも可能だろう。



図 15 コチニール染色したガーゼ(右)
(ミヨウハン媒染)

また、安価で簡単に細胞染色に使用できるものとして食紅が知られている(中島 2005)。今回の研究では、食紅を使用するよりも、カイガラムシを使用した方がより鮮明に染色することができた。タマネギの表皮細胞やユスリカのだ腺染色体の染色にはカイガラムシを使用した染色液は優れた染色液といえるだろう。

染色液の調整にあたって、酢酸の量や染色時間によって染色具合が大きく変わることがわかった。今回はタマネギの表皮細胞の染色によって最適な濃度を決めたが、観察するものによっても違いがあるのかもしれない。今回の方法を使用すれば観察する試料に合わせて、染色液を手軽に調整することによってその試料にあった染色液を調整することが可能になるのではないかと。

6 参考文献

湯浅 明(1983) 酢酸カーミン法による細胞学の研究史

明星大学研究紀要. 理工学部(19) 1-19, 1983

中島 憲(2005) 食用色素 102 号(食紅)による核と細胞質染色

北海道理科教育センター 研究紀要 第 17 号 61-62

染色液を作ろう!細胞核の顕微鏡観察(酢酸カーミンの代替) (youtube.com)

<https://www.youtube.com/watch?v=N89Zj7GfAQY>

7 謝辞

今回の研究を通じて実験に協力してもらった 34HR の生物基礎選択者の皆様(遠藤玲馬・岡田朋樹、鈴木さくら、星野渉、松本和香、山梨純味鈴、渡辺充咲、渡邊稟暖 敬称略)にあらためてお礼申し上げます。また、本研究を行うにあたり、イセリアカイガラムシの入手にあたっては丸高農園様(松崎町)に大変お世話になりました。心よりお礼申し上げます。