赤血球の染色方法の検討

ドルトン東京学園中等部・高等部

小原芽莉(中2)

1. はじめに

私は血球に興味があり、とくに赤血球がなぜくぼん でいるのか、その謎に迫りたいと考えている。そのため にはまず血球について研究する方法を作らなければな らない。赤血球の研究方法は、すべての血液量に対する 赤血球の量の比率やヘモグロビンの量、色合い、形態や 赤血球濃度を調べる方法がある。形や数は、血球算定盤 を使って顕微鏡で計数することで調べることができる。 また、形を調べるには血球プレパラートをつくり観察 できる。このように学校にある実験器具でも取り組む ことができる。血球プレパラートは動物の一部を切っ たり注射器で刺したりして、採血し、これをスライドガ ラスに広げて乾燥後、染色してつくる。非常に簡単な方 法であり、これまでに何回かチャレンジしている。しか し、学校生活は忙しいため、すぐに血球プレパラートを 作ることができないこともある。そこでわたしは染色 や保管方法を検討することにした。本研究ではメチレ ンブルーや酢酸カーミンによる染色の他、血液検査で 用いられるディフクイックを使った染色を行ったので、 その結果について紹介する。

2. 方法

2-1. 血液の染色方法

メチレンブルー(株式会社ビクセン、埼玉)、酢酸カーミン(株式会社ビクセン、埼玉)での染色は、実験体に各種染色液を1 滴たらし、乾燥させて、観察した。簡易迅速染色液 ディフクイック®(シメックス株式会社)では、実験体を固定液、染色液 I、染色液 Iの順にそれぞれ、I 秒×5回(各 5 秒ずつ)液に浸し、水洗後、約 I 日乾燥させて観察した。

2-2. キンギョの麻酔

生きているキンギョは採血のときに暴れまわるので麻酔する必要がある。 $4\sim5\,\mathrm{cm}$ のキンギョをビーカーに入れ、入浴剤「バスクリン」(清水製薬株式会社 静岡)を1/6程度入れて麻酔を行った。麻酔がかかったかどうかはエラの運動が止まることで確認した。エラの運動は $25\,\mathrm{分で止まった}$ 。

2-2. 採血

血液が固まらないように注射器にヘパリンを 3 mL 程度 吸い込んでから全量を吐き出した。これにより針内に 残っているわずかなヘパリンで血液が凝固しないよう にした。つぎにキンギョの心臓に針を 2 mm 程度さしこみ、親指でシリンジを引いて採血した。

2-3. 血球プレパラートの作成

採血後、プレパラートに血液を1滴落とし、カバーガ

ラスで広げて常温で乾燥させた。同様にブタやマアジ の血液で血球プレパラートを作成した。

3. 結果

ブタの赤血球は染色されなかったが、マアジの赤血球はメチレンブルーや酢酸カーミンできれいに染色された(図1)。キンギョの赤血球をディフクイックで染色したところ、非常にきれいに染色された(図2)

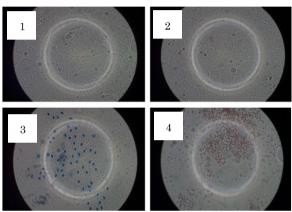


図1メチレンブルー及び酢酸カーミンによる染色 (1)メチレンブルー染色したブタ赤血球、(2)酢酸カーミン染色したブタ赤血球、(3)メチレンブルー染色したマアジ赤血球、(4)酢酸カーミンで染色したマアジ赤血球。(スマートフォンで撮影)

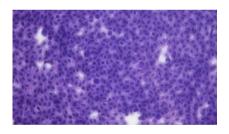


図 2 ディフクイックで染色したキンギョ赤血球 (motic Images Plus 2.3U++で撮影)

4. 考察

ブタの赤血球が染色されなかったのは核がないから と思われる。一方、有核赤血球のマアジでは両染色液 で染まった。キンギョの血球観察ではディフクイック が使いやすく、はっきりときれいに染まるということ がわかった。ディフクイックはヒトの血液観察用だ が、魚類でも使えることは作業をしやすくする。

5. 今後の課題

血球、血液に関する実験、観察前にはディフクイックでの染色を行っていく。

6. 参考文献

魚類学、矢部 衛・桑村哲生・都木靖彰編、恒星社厚 生閣 (2017)