

## タマネギ (*Allium cepa* L.) 鱗茎の表皮細胞を用いた細胞膜の透過性と物質輸送に関する教材研究と実践

Study and practice of teaching material about penetration of substances through the cell membrane by employing epidermal cells of onion's (*Allium cepa* L.) bulb.

山 崎 聖 司

Seiji YAMASAKI

(福岡教育大学理科教育講座)

大 輪 麻 衣

Mai OWA

(福岡教育大学理科教育講座)

(平成27年 8 月18日受理)

### 要 約

タマネギ鱗茎の表皮細胞を用いて, 細胞膜の透過性と物質輸送に関する教材としての可能性を検討した。まず, 色素入りスクロース溶液に浸した細胞の観察を行った結果, 19種類の色素によって, 原形質分離を起こした細胞の細胞壁, 外液, 細胞質, 核を染め分けられた。これにより, 生細胞の細胞膜を通過できる色素とできない色素があることが示唆された。次に, フェーマー液で固定処理後に, 同様の実験を行った結果, 固定の有無により細胞の染色部位が異なる色素が存在した。これにより, 生細胞と死細胞では細胞膜の透過性が異なる色素があることが示唆された。この教材を用いて公開講座を実施した結果, 教材の有用性が確かめられた。

キーワード: 細胞膜の透過性, 色素, タマネギ, 表皮細胞, 物質輸送

### I. はじめに

平成21年12月に告示された高等学校の学習指導要領において, 「生物」分野の(1)生命現象と物質, ア細胞と分子, (ア)生体物質と細胞の内容の取扱いについては, 「生体膜を扱い, 細胞骨格にも触れること」, 「生体膜については, 主にリン脂質とタンパク質から構成されること及び透過性や物質輸送について扱う」ことが示されている<sup>1)</sup>。「生命現象を支える物質の働きについて観察, 実験などを通して探究」<sup>1)</sup>することの重要性から, 実際の高等学校「生物」の教科書には, 植物細胞と浸透に関して, 濃度の異なるスクロース溶液にユキノシタ (*Saxifraga stolonifera* Curtis)の葉を浸す実験が掲載されている<sup>2)</sup>。ユキノシタは, 葉の裏側(背軸側)の表皮細胞にアントシアニンを含むため, 細胞膜の外液(外液)と細胞膜との境界を容易に区別できる。そのため, ユキノシタの葉は, 細胞膜を介した水分子の移動を理解するための実験教材としてよく利用される。しかしながら, 水分子以外の物質が生きた細胞膜を通過することを実感し, 学習できる実験教材については, あまり知られていない。新しい高等学校「生物」の教科書では, 平成21年12月に告示された高等学校の学習指導要領を受けて, 細胞膜に存在するタンパク質を介した物質輸送についての記述が大幅に増えていることから, これについて実際に体感し, 理解するための新しい実験教材の開発・提

供が望まれる。

上記のような背景から, 本研究ではスーパーマーケット等で一年中入手可能なタマネギ (*Allium cepa* L.) 鱗茎の表皮細胞を用いて, 細胞膜の透過性と物質輸送に関する実験教材としての可能性を検討した。タマネギ鱗茎の表皮細胞には色素を含まないという特徴がある。そこで, 色素を加えたスクロース溶液(「色素入りスクロース溶液」と定義する)に浸した表皮細胞の観察を試みた。また, 予め固定処理を行った後, 色素入りスクロース溶液に浸した表皮細胞の観察も試みた。21種類の色素の中で, 水に容易に溶解した19種類の色素を用いて検討した結果, 色素によって, 原形質分離を起こした細胞の細胞壁, 外液, 細胞質, 核の染め分けができた。また, 固定の有無によって表皮細胞の染色部位が異なる色素が存在した。得られた結果をもとに, 2種類の色素入りスクロース溶液(メチルバイオレットB, コットンブルー)を用いて, 細胞膜の透過性と物質輸送に関する公開講座を実施したので, 実施後のアンケート調査の結果も合わせて報告する。

### II. 材料および方法

#### 1. 植物材料

本研究では, 近隣のスーパーマーケットで購入した, ごく一般的なタマネギ (*Allium cepa* L.) を用いて実験を行った。

表1 使用した色素の番号と分子量

色素番号	色素	分子量
色素1	メチレンブルー三水合物	373.9
色素2	フクシン	337.9
色素3	メチルグリーン	458.5
色素4	メチルバイオレットB	394.0
色素5	ゲンチアナバイオレットR (メチルバイオレット)	394.0
色素6	クリスタルバイオレット	570.1
色素7	ニュートラルレッド	288.8
色素8	メチルグリーン00, rein	458.5
色素9	カーミン	492.4
色素10	コットンブルー (メチルブルー)	799.8
色素11	エバンスブルー	960.8
色素12	トリパンブルー	960.8
色素13	オルセイン	500.5
色素14	サフラニンO	350.8
色素15	ベーシックバイオレット1	394.0
色素16	トルインジンブルーO	305.8
色素17	ゲンチアナバイオレット	408.0
色素18	ヤヌスグリーン	511.1
色素19	ダーリアバイオレット	422.0
色素20	エオシンY	691.9
色素21	インジゴカルミン	466.4

## 2. 色素入りスクロース溶液の作製

まず、研究室所有の21種類の色素(表1)について、蒸留水を用いて0.07% (w/v) 水溶液(「原液」と定義する)を作製し、蒸留水に容易に溶解するか否かを検討した。次に、原液の10倍希釈液にスクロースを加えて25% (w/v) スクロース溶液を作製した。本研究では、これを「色素入りスクロース溶液」と定義する。

## 3. 表皮細胞を色素入りスクロース溶液に浸す実験

### (1) 表皮細胞を固定せずに、色素入りスクロース溶液に浸す実験(実験A)

実験の概略を図1に示す。果物ナイフで6等分したタマネギの鱗茎を、片刃のカミソリで1 cm角の大きさに切った後、その鱗茎の内側の表皮細胞をピンセットを用いて剥ぎ取り、色素入りスクロース溶液が入ったバイアル瓶に30分間浸した。その後、ピンセットを用いて表皮細胞を取り出し、色素入りスクロース溶液を用いてプレパラートを作製した後、光学顕微鏡(ECLIPSE E600W; ニコン, 東京)を用いて観察を行った。比較のため、色素無しの25% (w/v) スクロース溶液を用いた実験も行った。

### (2) 表皮細胞を固定した後、色素入りスクロース溶液に浸す実験(実験B)

実験の概略を図1に示す。3. (1)の実験操作において、ピンセットを用いて剥ぎ取った表皮細胞を、

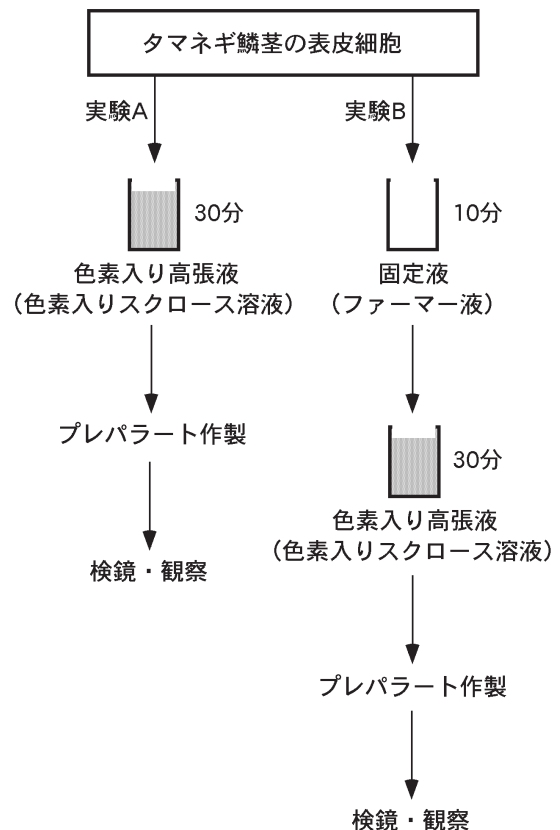


図1 タマネギ鱗茎の表皮細胞を、固定せずに色素入りスクロース溶液に浸す実験(実験A)と、ファーマー液で固定した後、色素入りスクロース溶液に浸す実験(実験B)の概略。

ファーマー液 [75% (w/v) エタノール, 25% (w/v) 水酢酸] が入ったバイアル瓶に10分間浸して固定処理を行った後、色素入りスクロース溶液が入ったバイアル瓶に30分間浸した。その後の操作は、3. (1)と同様である。比較のため、色素無しの25% (w/v) スクロース溶液を用いた実験も行った。

## 4. 公開講座

2011年8月、福岡県内の中学校および高等学校の現役の教員20名を対象とした公開講座(50分)において、2種類の色素(色素4:メチルバイオレットB, 色素10:コットンブルー)を用いて、3. 表皮細胞を色素入りスクロース溶液に浸す実験を実施した。公開講座終了後に、感想およびこの実験教材の教育現場での活用に関する自由記述式のアンケート調査を行った。

## III. 結果

### 1. 色素の蒸留水への溶解性の検討

21種類の色素(表1)について原液を作製し、蒸留水に溶解するか否かを検討した結果、カーミン(色素9)とオルセイン(色素13)は、ほとんど溶解せず、沈殿を生じた。教育現場では、カーミン(色素9)

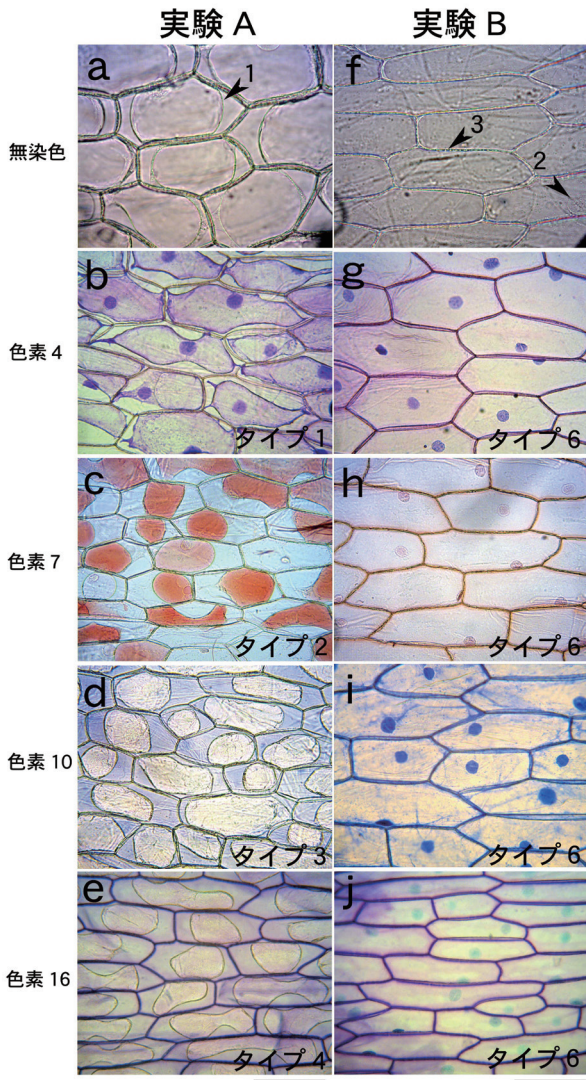


図2 タマネギ鱗茎の表皮細胞を、固定せずに色素入りスクロース溶液に浸した実験(実験A)と、ファーマー液で固定した後、色素入りスクロース溶液に浸した実験(実験B)の結果の典型例。矢印1: 原形質分離を起こした細胞の細胞膜。矢印2: 核。矢印3: 細胞壁(細胞膜を含む)。欄外下のスケールバー: 0.1 mm。

またはオルセイン(色素13)を、45% (w/v) 酢酸に加えて煮沸した飽和溶液(酢酸カーミン溶液、酢酸オルセイン溶液)を核の染色液として使用する。しかしながら、この検討は、スクロース溶液に色をつけるための色素選択が目的であるため、蒸留水に溶解しないカーミンとオルセインを除外し、残りの19種類の色素を用いて色素入りスクロース溶液を作製した。

2. 固定せずに、色素入りスクロース溶液に浸した表皮細胞(実験A)

色素無しスクロース溶液および19種類の色素入りスクロース溶液に浸したタマネギ鱗茎の表皮細胞

表2 色素入りスクロース溶液に浸したタマネギ鱗茎の表皮細胞の染色部位

		固定後、色素入りスクロース溶液に浸した細胞・実験B <sup>2)</sup>	
		タイプ6 細胞壁(細胞膜を含む), 核	タイプ7 不鮮明
色素入りスクロース溶液に浸した細胞・実験A <sup>1)</sup>	タイプ1 細胞質, 核	2, 4, 5, 6, 15, 17, 19, 20	
	タイプ2 細胞質 (核は不鮮明)	7, 18	
	タイプ3 外液	10, 11, 12, 21	
	タイプ4 細胞壁, 外液	1, 3, 8, 16	
	タイプ5 不鮮明		14

番号は、表1の色素番号に相当する。  
□: 互いに別名として記載があるもの(類似品)や同等品。  
1) 原形質分離を起こす。 2) 原形質分離を起こさない。

は、いずれも原形質分離を起こした。色素無しスクロース溶液に浸した表皮細胞では、細胞膜(原形質の境界)の確認が困難であった(図2a, 矢印1)。色素入りスクロース溶液に浸した表皮細胞では、染色部位によってタイプ1から5の5タイプに分類できた(表2)。タイプ1は、原形質分離を起こした細胞の細胞質と核が染色されるタイプである。典型例を図2b(色素4)に示す。このタイプには、フクシン(色素2), メチルバイオレットB(色素4), ゲンチアナバイオレットR(色素5), クリスタルバイオレット(色素6), ベーシックバイオレット1(色素15), ゲンチアナバイオレット(色素17), ダーリアバイオレット(色素19), エオシンY(色素20)の8種類が該当した(表2)。このうち、色素4, 5, 6, 15, 17, 19(表2タイプ1の□枠部分)は、メチル基の数, 位置, 混合割合などの違いにより、メーカーによっては類似品や同等品として扱われる色素<sup>3,4)</sup>であり、核や細胞の表面構造を青く染色する塩基性の染料である。実際、これらの染色結果は酷似した。タイプ2は、原形質分離を起こした細胞の細胞質は染色されるが、核の染色は不鮮明なタイプである。典型例を図2c(色素7)に示す。このタイプには、ニュートラルレッド(色素7)とヤヌスグリーン(色素18)の2種類が該当した(表2)。タイプ3は、原形質分離を起こした細胞の原形質は染色されず、外液が染色されるタイプである。典型例を図2d(色素10)に示す。このタイプには、コットンブルー(色素10), エバンズブルー(色素11), トリパンブルー(色素12), インジゴカルミン(色素21)の4種類が該当した(表2)。タイプ4は、原形質分離を起こした細胞の外液

と細胞壁が染色されるタイプである。典型例を図 2e (色素 16) に示す。このタイプには、メチレンブルー三水和物 (色素 1), メチルグリーン (色素 3), メチルグリーン 00, rein (色素 8), トルイジンプルー O (色素 16) の 4 種類が該当した (表 2)。色素 3 と 8 は同等品である (表 2 タイプ 4 の □ 枠部分)。実際、これらの染色結果は酷似した。タイプ 5 は、染色が不鮮明なものである。このタイプには、サフラニン O (色素 14) のみが該当した (表 2)。サフラニンは、リグニンを蓄積した組織 (木化した植物組織) を染色する色素である<sup>5)</sup> ため、細胞壁の染色などに用いられるが、本研究に限っては、タマネギ鱗茎の表皮細胞の染色には不適であった。以上のように、19 種類のうち、18 種類の色素によって、原形質分離を起こしたタマネギ鱗茎の表皮細胞の細胞壁、外液、細胞質、核の染め分けができた。

### 3. 固定した後、色素入りスクロース溶液に浸した表皮細胞 (実験 B)

ファーナー液で固定処理を行った後、色素無しスクロース溶液および 19 種類の色素入りスクロース溶液に浸したタマネギ鱗茎の表皮細胞は、いずれも原形質分離を起こさなかった。色素無しスクロース溶液に浸した表皮細胞では、核 (図 2f, 矢印 2) や細胞壁 (細胞膜を含む) (図 2f, 矢印 3) の確認が困難であった。色素入りスクロース溶液に浸した表皮細胞では、染色部位によってタイプ 6, 7 の 2 タイプに分類できた (表 2)。タイプ 6 は、固定された細胞の細胞壁 (細胞膜を含む) と核が染色されるタイプである。固定処理をした細胞では原形質分離を起こさないため、細胞壁と細胞膜の両者が染色されるのか、あるいは一方が染色されるのかを区別できない。そのため、細胞壁と細胞膜のいずれかが染色されていれば、タイプ 6 に分類した。典型例を図 2g, h, i, j (色素 4, 7, 10, 16) に示す。このタイプには、メチレンブルー三水和物 (色素 1), フクシン (色素 2), メチルグリーン (色素 3), メチルバイオレット B (色素 4), ゲンチアナバイオレット R (色素 5), クリスタルバイオレット (色素 6), ニュートラルレッド (色素 7), メチルグリーン 00, rein (色素 8), コットンブルー (色素 10), エバンスブルー (色素 11), トリパンプルー (色素 12), ベーシックバイオレット 1 (色素 15), トルイジンプルー O (色素 16), ゲンチアナバイオレット (色素 17), ヤヌスグリーン (色素 18), ダーリアバイオレット (色素 19), エオシン Y (色素 20), インジゴカルミン (色素 21) の 18 種類が該当した (表 2)。タイプ 7 は染色が不鮮明なものである。このタイプには、サフラニン O (色素 14) のみが該当した (表 2)。サフラニンの染色は、細胞の固定の有無に関わらず不鮮明であったため、本研究に限っては、タマネギ鱗茎の表皮細胞の染色には不適であった。以上のように、

19 種類の色素の中で、1 種類の色素 (色素 14) を除き、ほとんどの色素 (18 種類の色素) は固定された細胞の細胞壁 (細胞膜を含む) と核を染色した。

### 4. 公開講座

色素入りスクロース溶液に浸したタマネギ鱗茎の表皮細胞の染色部位の結果 (表 2) を、細胞膜の透過性と物質輸送に関する実験教材として利用するために、染色結果が明瞭な色素という観点から、メチルバイオレット B (色素 4) (図 2b, g) とコットンブルー (色素 10) (図 2d, i) を選択し、福岡県内の中学校および高等学校の現役の教員 20 名を対象として公開講座 (50 分) を実施した。実験方法の概略は、図 1 のとおりである。公開講座終了後のアンケート調査の結果、主なものとして、「細胞の固定とは何かを生徒に説明するのが難しいが、細胞膜の性質と原形質分離の様子がよく分かった」、「細胞膜がはっきり見えたのでよかった」、「染色により、原形質分離だけでなく、核がはっきり見えるのがよい」、「染色により、細胞壁と細胞膜を区別できるため、中学校でも細胞のつくりを理解するのによさそう」、「高等学校の細胞膜の選択的透過性の性質を示す教材として使えそう」、「意外と簡単に原形質分離を見ることができると驚いた」、「生徒全員が実験する時間が無くても、教師による演示実験としても使えそう」、「色素によって染まる場所が違うのが不思議」などの記載があり、教育現場で実際に実験教材として使用するにあたって、ほとんどの意見が肯定的であった。

### IV. 考察

生物の細胞膜は、リン脂質の二重層とタンパク質で構成される。尿素 (分子量:60.1) やエチレングリコール (分子量:62.0) などの分子量が比較的小さい物質や、脂質に溶解しやすい物質はリン脂質の二重層部分を通過しやすいが、水分子や水溶性の物質は細胞膜のリン脂質二重層の内部にある疎水部を通過できない。そのため、これらの物質はタンパク質部分を介して細胞膜を通過する。細胞膜に存在するタンパク質には、水分子を選択的に通す膜貫通型の輸送タンパク質 (チャネル) であるアクアポリン、特定のイオンを通す膜貫通型の輸送タンパク質であるイオンチャネル、特定の分子を通す輸送タンパク質である輸送体 (チャネル, 担体, ポンプ) などがある。従って、水溶性の物質は、輸送タンパク質により選択され、細胞膜を通過する。このような細胞膜の特性を選択的透過性とよぶ<sup>2)</sup>。本研究における、タマネギ鱗茎の表皮細胞と色素入りスクロース溶液を用いた実験教材では、植物の細胞膜を介した水分子および色素の移動を考察することができる。

まず、固定処理をせずに、タマネギ鱗茎の表皮細胞を色素入りスクロース溶液に浸した実験 (実験 A)

では、全ての細胞で原形質分離を起こした。このことから、水分子は細胞膜に存在するアクアポリンを介して細胞膜の内側から外側に移動したと考えられる。また、本研究で使用した19種類の色素については、水溶性であり、かつ、分子量(288.8~960.8)は、尿素やエチレングリコールに比べてかなり大きい(表1)。そのため、細胞質を染色した色素(表2タイプ1,2)は、リン脂質の二重層部分ではなく、特定の輸送タンパク質を介して細胞膜を通過したと考えられる。このことは、ニュートラルレッド(色素7)には、生細胞の細胞膜のCa<sup>2+</sup>チャンネルを通過し、リソゾームに取り込まれ蓄積する性質がある<sup>6)</sup>ことから支持される。また、ニュートラルレッド(色素7)は生細胞の核を染色しない<sup>7)</sup>ため、核の染色が不鮮明であったと考えられる(表2タイプ2)。一方で、細胞質を染色しなかった色素(表2タイプ3,4)は、タマネギ鱗茎の生きた表皮細胞の細胞膜のリン脂質の二重層およびタンパク質部分を通過できないことを示している。このことは、エバンスブルー(色素11)やトリパンブルー(色素12)には、生細胞を染色しない性質がある<sup>8,9)</sup>ことから支持される。このように、原形質分離を起こした植物細胞において、細胞質を染色する色素(タイプ1,2)と、細胞質を染色しない色素(タイプ3,4)の比較により、生細胞の細胞膜を介した水分子と色素の透過性を考察することができる。

次に、固定処理をした後、タマネギ鱗茎の表皮細胞を色素入りスクロース溶液に浸した実験(実験B)では、全ての細胞で原形質分離を起こさなかった。固定処理をしない場合には核の染色が不鮮明であった色素(表2タイプ2)が、固定処理をした場合には核を染色した(表2タイプ6)。また、固定処理をしない場合には細胞質および核を染色しなかった色素(表2タイプ3,4)が、固定処理をした場合には核を染色した(表2タイプ6)。ニュートラルレッド(色素7)には死細胞の核を染色する性質がある<sup>7)</sup>。また、エバンスブルー(色素11)やトリパンブルー(色素12)には、生細胞は染色しないが、死細胞を青く染色する性質がある<sup>8,9)</sup>。以上から、固定処理をした植物細胞では、細胞膜を構成するタンパク質が変性し、タンパク質としての機能(選択的透過性)を失い、死細胞になったと考えられる。死細胞の細胞膜では、膜構造が破損し、水分子や水溶性の物質が、ある程度自由に通過できる状態になっていると考えられる。このように、固定処理の有無により、原形質分離が起こったり起こらなかったりすることや、染色部位が異なる色素(表2タイプ3,4)があることにより、生細胞と死細胞の細胞膜を介した水分子と色素の透過性の違いを考察することができる。

固定とは、生きた細胞や組織を、生きている状態に近い状態で停止させ、自己分解、破損、腐敗などの劣化から保護するための化学処理である。一般的に、固

定された試料は標本として保存される。細胞の固定処理については、高等学校「生物基礎」の教科書において、タマネギの根を用いた細胞周期の観察の際に登場する。第一学習社の教科書には「5~10℃の45%(w/v)酢酸に5~10分間浸す(固定。)」と記載されており<sup>10)</sup>、数研出版の教科書には「固定液(酢酸アルコール)に10~15分入れる(固定。)」と記載されている<sup>11)</sup>。数研出版の教科書に登場する固定液とは、本研究で使用したファーナー液のことである。一方で、東京書籍の教科書には「45%(w/v)酢酸に5分間程度浸ける。」とだけ記載されており<sup>12)</sup>、固定という言葉は使われていない。このように、高等学校「生物基礎」の教科書では、固定の操作は行いが、その詳しい意味やメカニズムにまでは言及しなかったり、固定という言葉をもっとも使用しなかったりする。本研究の結果(表2タイプ6)から、固定処理は、ほとんどの色素に対して細胞膜を通過しやすくさせ、核を十分に染色させるために必要な処理であることが分かる。従って、細胞の固定の意味を理解し、考察する探究活動の一助としても、本研究における実験Aと実験Bの比較は有用であると考えられる。

公開講座については、実施前に、色素入りスクロース溶液と固定液を作製しておいたため、固定処理(10分)の有無はあるものの、実験自体は原形質分離を起こさせるだけである。そのため、高等学校「生物」の教科書に掲載されている、濃度の異なるスクロース溶液にユキノシタの葉を浸す実験<sup>2)</sup>の手間および時間とほとんど変わらない。従って、公開講座の時間内に実施できた。時間が十分にある場合には、受講者に色素入りスクロース溶液や固定液の作製をやってもらってもよいと思われる。今回の公開講座では、染色結果が明瞭な色素という観点から、メチルバイオレットB(色素4)(図2b, g)とコットンブルー(色素10)(図2d, i)の2種類の色素を選択したが、染色対象が明らかな色素という観点から、生細胞の細胞膜を通過する色素としてニュートラルレッド(色素7)(図2c, h)を、死細胞を染色する色素としてエバンスブルー(色素11)やトリパンブルー(色素12)を使用すれば、細胞の生死を論じることができ、考察の幅が広がると考えられる。また、今回の公開講座では、中学校および高等学校の教員が参加した。原形質分離は高等学校で学習する内容であるため、中学校の教員にとっては、やや発展的な内容であったと思われる。アンケート調査の結果から、高等学校の教員は、水分子や色素の移動を通じて、細胞膜の透過性に関する実験教材として評価していることが伺える。一方で、中学校の教員は、原形質分離を植物の細胞膜の存在を確認するための手段として、また、染色を核の存在を確認するための手段としてとらえており、細胞のつくりを学習するための実験教材として評価していることが伺える。これらを踏まえて、今後は、中学校・高等学校の教員を

対象とした教員免許状更新講習，中学校・高等学校への出前授業，中学生・高校生を対象とした公開講座などで本実験を実施し，実施後のアンケート調査の結果をもとに，現場の声をいっそう反映させ，それぞれの校種に対応させた実験教材へと発展させたいと考えている。

#### 引用文献・引用資料

- 1) 文部科学省 (2009) 高等学校学習指導要領解説 理科編 理数編 p84. 実教出版.
- 2) 吉里勝利, 阿形清和, 倉谷滋, 飯山浩二, 木之上馨, 櫻井昭, 下村肇, 白石直樹, 関敏彦, 筒井和義, 三村徹郎, 中井咲織, 中島光博, 原紺勇一, 平岡さゆり, 藤本英行, 古本大 (2014) 高等学校生物. p33. 第一学習社.
- 3) 和光純薬工業株式会社 製品詳細情報 クリスタルバイオレット <http://www.siyaku.com/uh/Shs.do?dspCode=W01W0103-0486> (アクセス 2014.7.25.)
- 4) 東京化成工業株式会社 <http://www.tcichemicals.com/eshop/ja/jp/commodity/G0177/> (アクセス 2014.7.25.)
- 5) 高等学校「生物基礎」における観察, 実験サポート資料, 巻末資料—調整集, [http://www1.iwate-ed.jp/tantou/kagaku/3242\\_seibutsukiso/File/pdf/h24\\_0404\\_2\\_tyousei.pdf](http://www1.iwate-ed.jp/tantou/kagaku/3242_seibutsukiso/File/pdf/h24_0404_2_tyousei.pdf) (アクセス 2014.7.25.)
- 6) 鋤崎俊二・海野圭祐 (2013) バラスト水処理装置の性能試験に適用する植物プランクトンの生死判別技術. 日本プランクトン学会報 60 (1): 35-40.
- 7) 和光純薬工業株式会社 製品詳細情報 ニューラルレッド <http://www.siyaku.com/uh/Shs.do?dspCode=W01W0114-0093> (アクセス 2014.7.25.)
- 8) 和光純薬工業株式会社 製品詳細情報 エバンスブルー <http://www.siyaku.com/uh/Shs.do?dspCode=W01W0105-040> (アクセス 2014.7.25.)
- 9) LifeScienceProject 死細胞の染色 (トリパンブルー染色) <http://life-science-project.com/353/> (アクセス 2014.7.25.)
- 10) 吉里勝利, 阿形清和, 倉谷滋, 飯山浩二, 木之上馨, 櫻井昭, 下村肇, 白石直樹, 関敏彦, 筒井和義, 三村徹郎, 中井咲織, 中島光博, 原紺勇一, 平岡さゆり, 藤本英行, 古本大, 松井健一 (2014) 高等学校生物基礎. p94. 第一学習社.
- 11) 嶋田正和, 坂井建雄, 鈴木孝仁, 湯本貴和, 板山裕, 中井一郎, 中道貞子, 中村厚彦, 中村哲也, 鍋田修身, 早崎博之 (2014) 生物基礎. p82. 数研出版.
- 12) 浅島誠, 市石博, 伊藤元己, 可知直毅, 上村慎治, 久力誠, 小林設郎, 小林秀明, 小林裕光, 西駕秀俊, 新免輝男, 杉山宗隆, 長山隆男, 新田光昭, 長谷川真理子, 広瀬敬子, 深川治, 藤原晴彦, 宮下直, 山本高之 (2014) 生物基礎. p56. 東京書籍.