

ウニの未受精卵・精子 実験マニュアル(一般)

海の中で起こる生命のスタートを顕微鏡でのぞいてみよう！

薄めたりせず受け
取った容器のまま保
管してください

送付品:

- ・未受精卵(5ml容器1本を3匹分)
- ・精子(100倍希釈精子5ml 容器2本)
- ・海水(ペットボトル500ml1本)

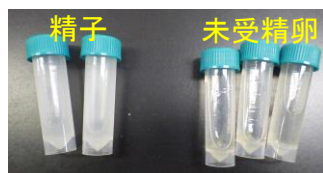
ウニの種類(予定):

キタムラサキウニ(10月)

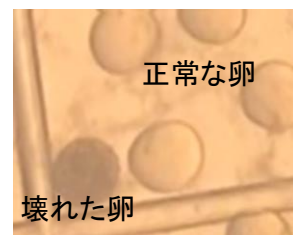
アカウニ(11月)

荷物を受け取ったら、卵は15℃に(保冷庫か、送られた箱の底の氷を取り替えて、冷え過ぎない箱の上の方に)精子は冷蔵庫(4℃)に入れて下さい。

未受精卵の容器の番号・記号は産んだ雌の違いです。
場合によっては**早く壊れ始めることがあるので**、
念のため3匹分をお送りします。
調子の良いものを選んで使ってください。



温度制御用の氷と共に発泡
スチロール箱で送付します



受精と観察の実験例 (適当にアレンジして下さい)

1、未受精卵をシャーレに移す

- ・小型シャーレ(直径3～6cm)に半分くらい海水を入れる。
- ・容器ごと優しく攪拌し未受精卵を均一にしてから、未受精卵用のピペットを使って、1枚のシャーレに卵を数滴入れる。



2、受精する

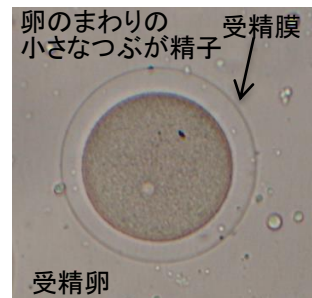
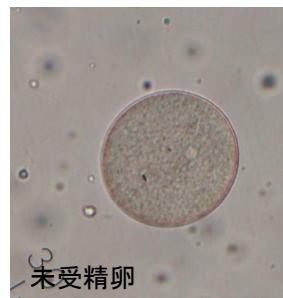
- ・未受精卵の入ったシャーレに、5ml容器の希釈精子を少量(もうひとつのシャーレでさらに100倍希釈したものを精子用ピペットで数滴、あるいは原液を爪楊枝の先などでごく少量)加える。
- ・シャーレを揺すったり、ピペットでかきまぜて、精子を均一に行き渡らせる。
- ・精子を加えた時刻を記録する(受精時刻)。

注意！

- ・精子をとったピペットを未受精卵に使わないこと。
- 未受精卵に精子が入ると受精してしまいます。

3、観察する

- ・一部をとり、同封の観察容器やお手持ちのホールスライドなどで倍率を上げて観察します。
受精卵には精子用ピペットを使って良いです。



おまけ

4. 一晚経ったら、孵化して上に集まっているものだけを
選別するとその後の発生の成功率が上がります。
5. プラクトン教材で幼生飼育を行う場合はシャーレ
1つ分の幼生を用いて3Lビーカー飼育を始めると
だいたい良い密度です。

受精実験の観察のポイント

- ・卵と精子の違い(大きさ、動き)
- ・受精後の卵の変化
(周りに膜ができ、他の精子は卵に
近づけなくなる)



受精の瞬間の観察(プランクトン計数板を使用)

未受精卵、受精卵の観察

プランクトン計数板では、二つの部屋の片方に未受精卵、もう片方に受精卵を入れて、両方を1枚で観察できます。卵を入れる際は、それぞれの部屋の大きな穴と小さな穴のうち、大きな穴の方にピペットの先端をつけてゆっくり入れます。

計数板の生産終了に伴い、手作りの代替品を観察容器として入れてあります。使い方は同じです。

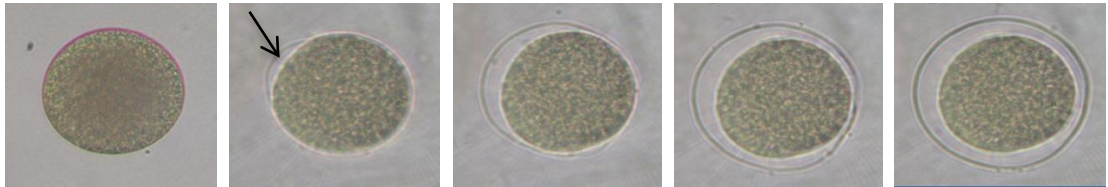
(計数板のような0.5mmの格子メモリはありませんが、こちらは分解洗浄が可能です)



受精の瞬間の観察

ウニの受精はすぐに起こるので、受精の様子を観察するには工夫が必要です。プランクトン計数板の未受精卵を顕微鏡で観察しながら精子を加えると、受精して受精膜があがる様子を観察できます。未受精卵の部屋の中で、大きな穴のそばにある卵にピントを合わせます。希釈した精子を大きな穴に1滴加えると、卵の周りに精子が来て受精する様子が観察できます。その場所の未受精卵が受精卵になったら少し離れた場所のまだ精子が到達していない場所を観察すると何回か受精の瞬間を見ることができます。

精子侵入点から受精膜があがり始める



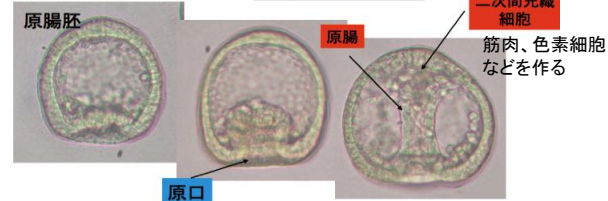
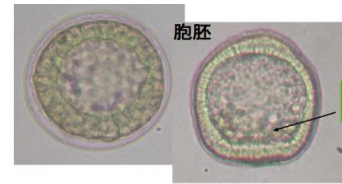
未受精卵から受精卵へ(1分間の変化)

卵割やその後の発生を観察

シャーレなどの底の広い容器に受精卵を薄く広げて発生させます。試験管などの底の狭い容器に積み重なった状態ではうまく発生しません。温度は18~22℃が適温です。

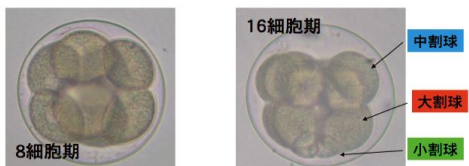
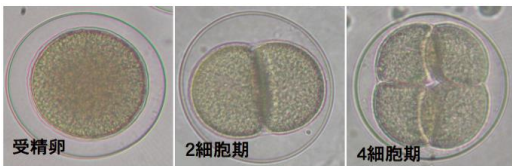
受精後、発生にかかる時間の目安(18℃)

第一卵割 約1時間
その後の卵割 30-40分
ふ化(胞胚) 12時間
原腸胚 20~24時間
プリズム幼生 36時間
プルテウス幼生 48時間以降



実験温度に注意!

10-11月は室温が18-22℃くらいのことが多いので比較的問題のない時期ですが、**室温が25℃以上、15℃以下**になりそうな時は、送付に用いた発泡スチロール箱に氷やお湯容器を入れ、そこに胚を保管するなどして20℃前後に温度を維持してください。

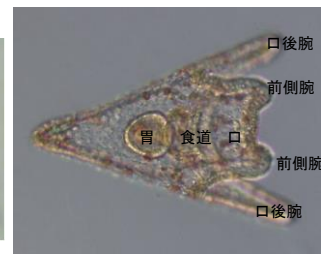
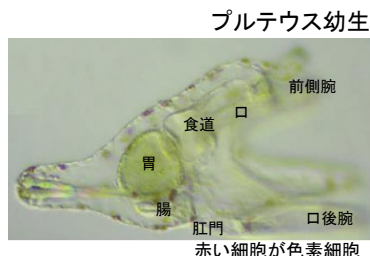


このページの写真はバフンウニの幼生です
キタムラサキウニやアカウニの幼生についてはお茶大
海プロサイトの参考資料などを参照してください。

お茶の水女子大学 湾岸生物教育研究所

〒294-0301 千葉県館山市香11 wangan@cc.ocha.ac.jp

Tel 0470-29-0838 Fax 0470-20-9011



卵の栄養だけで発生が進むのはこの写真にある前期四腕プルテウス幼生までです