

お茶の水女子大学 海産バイオリソース(小中高)
ムラサキウニの未受精卵・精子 実験マニュアル

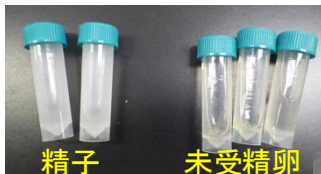
海の中で起こる生命のスタートを顕微鏡でのぞいてみよう！

送付品: 5クラスまでは

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

ウニの種類: ムラサキウニ

(産卵期 7月ごろ)



温度制御用の氷と共に発泡スチロール箱で送付します

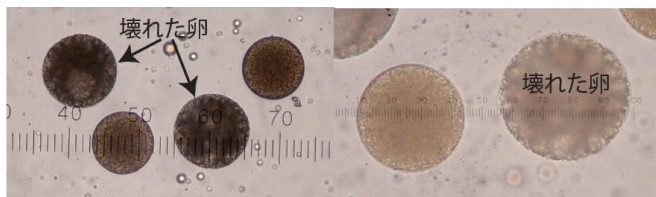


荷物を受け取ったら、
卵は15℃に(インキュベーターか、
送られた箱の底の氷を取り替えて、
冷え過ぎない箱の上の方に)
精子は冷蔵庫(4℃)に入れて下さい。

薄めたりせず受け取った容器のまま保管してください

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。

事前にチェックして調子のいいものを選んで使って下さい。



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、ピペットを使って、1枚のシャーレに卵を、底一層(重ならない量)入れる。

(シャーレでなく試験管やサンプルビンでも構いません。
1クラスあたり1mlの想定ですが、3本とも卵が壊れなければその3倍使えます。)

2、受精する

- ・未受精卵の入ったシャーレに、5ml容器の希釈精子をさらに100倍希釈したものを1滴、あるいは爪楊枝の先で少量加える(容器の大きさに合わせて調節)。
- ・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。
- ・受精卵をとるピペットと未受精卵をとるピペットは色分けするなどして区別すること。
- ➡未受精卵に精子が入ると受精してしまいます。

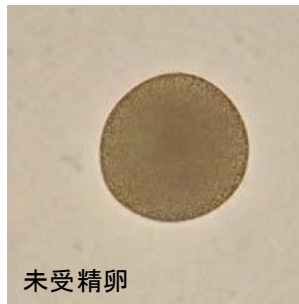
3、観察する

- ・未受精卵と受精卵を各班に配る。
- ・それぞれをスライドグラスに1滴のせ、カバーグラスをかけて観察する。

ホールスライドグラスがベター

顕微鏡の"しぼり"はしぼる

精子を未受精卵に加える



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

この方法では「受精の瞬間の観察」だけができます。
このままでは卵割はしません。

精子を加えてから1分もしないうちに受精膜ができます。
その様子を観察してみましょう。

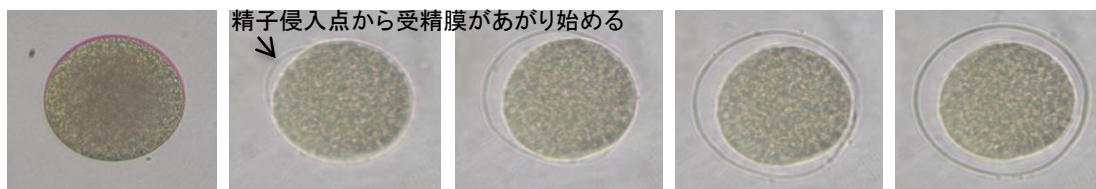
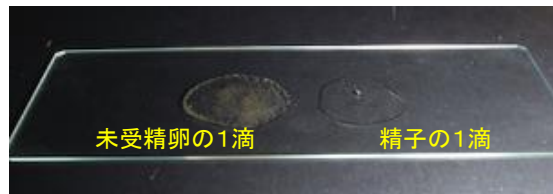
1. スライドグラスに、未受精卵を1滴と、精子の希釈液を1滴、少し離してのせる。
5ml容器の精子は濃いので、この実験ではさらに10倍程度に希釈すると良い。プラスチックに精子は張り付きやすいので、ガラスの試験管かサンプル管を使う。

(未受精卵と精子には別々のピペットを使うこと！)

2. カバーガラスは使わずに、顕微鏡にのせ、対物レンズ10倍で、未受精卵にピントを合わせる。

(40倍のレンズは使わないこと！)

3. 精子の希釈液に近い所の未受精卵が見えるようにスライドグラスを動かす。
鉛筆の先などで精子の希釈液と未受精卵の海水をつなげる。
精子の水滴のそばの卵から、精子が群がる。受精膜があがる様子を観察する。



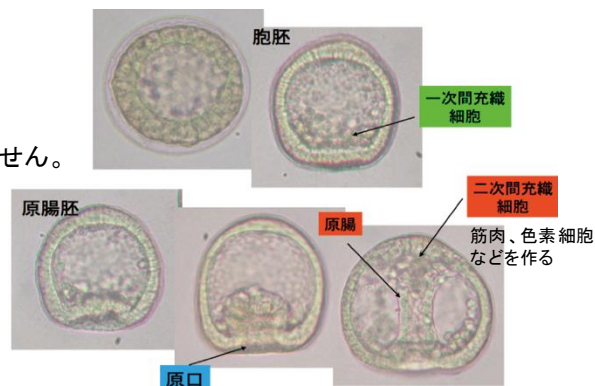
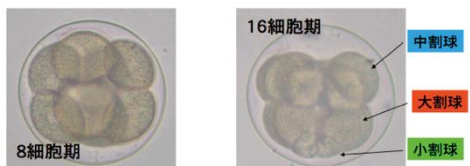
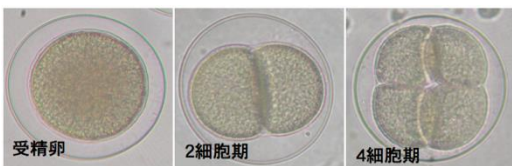
未受精卵から受精卵へ(1分間の変化)

卵割やその後の発生の観察

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20~25℃が適温です。

受精後、発生にかかる時間の目安(22℃前後)

第一卵割 約1時間	ふ化(胞胚) 12時間
その後の卵割 30-40分	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！

室温が25℃以上になりそうな時は、インキュベーターを使用するか、送付に用いた発泡スチロール箱に氷を入れ、そこに胚を保管するなどして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ものです

