

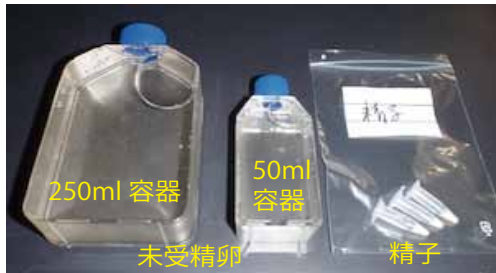
「海からの贈り物（ウニ）」 実験マニュアル

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：

- ・未受精卵（250ml か 50ml の容器で、1 クラスあたり 50ml 分を 3 匹分）
- ・精子（0.5ml 容器、クラス数）
- ・海水（ペットボトル）

ウニの種類：バフンウニ（産卵期 1～3 月）

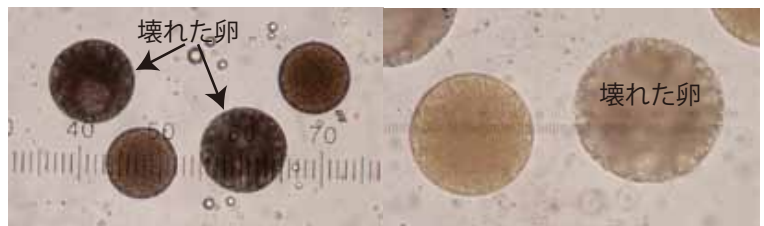


荷物を受け取ったら、まず未受精卵と精子を冷蔵庫（4℃）に入れて下さい。

海水は室温で大丈夫です。

未受精卵の容器の記号（アルファベット）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

- ・班あたり小型シャーレ（直径 3～6 cm）2 枚を用意する。
- ・容器ごと優しく攪拌し未受精卵を均一にしてから、それぞれのシャーレに卵を入れる。

（容器は小型のビーカーやサンプルビンでも構いません。お送りした卵がすべて大丈夫なら 1 クラスあたり 50 ml の卵が 3 種類あります。）



2、精子を希釈する

- ・小型シャーレに海水を 5 ml 程度入れる。
- ・精子の容器からピペットの先端に少量の精子をつける。
- ・ピペットの先端についた精子を、海水で希釈する。

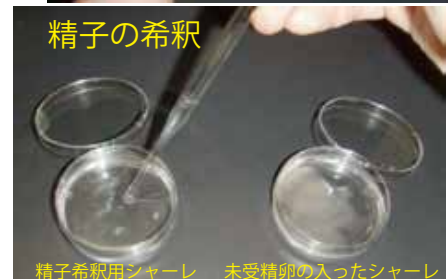
（ピペットをおおきく吸ったり吐いたりすれば OK）



精子をピペットにとる

3、受精する

- ・各班 2 枚のシャーレ（未受精卵入）の 1 枚に、希釈した精子を数滴加える。
（多めに入れた方が精子が観察しやすい）
- ・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）。



精子の希釈

精子希釈用シャーレ 未受精卵の入ったシャーレ

希釈した精子を未受精卵に加える（受精）



精子希釈用シャーレ 未受精卵の入ったシャーレ

注意！

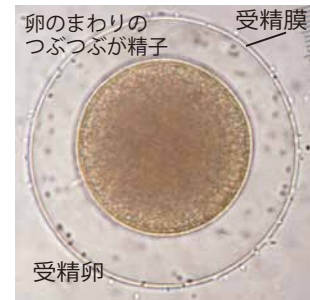
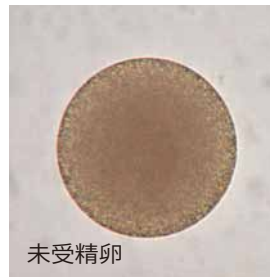
- ・精子をとったピペットを未受精卵の容器に使わないこと。
- ・受精卵をとるピペットと未受精卵をとるピペットは色分けするなどして区別すること。
- ➡未受精卵に精子が入ると受精してしまいます。

4、観察する

- ・未受精卵、受精卵の2枚のシャーレを各班に配る。
- ・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)

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)。

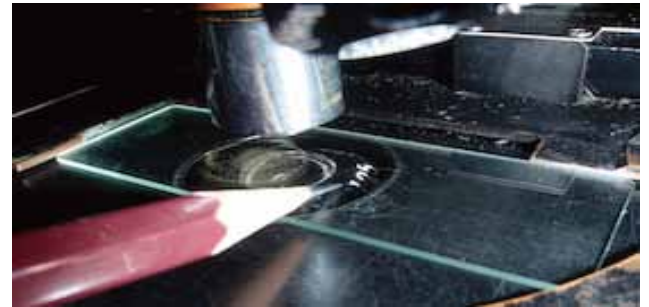


受精の瞬間の観察

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。

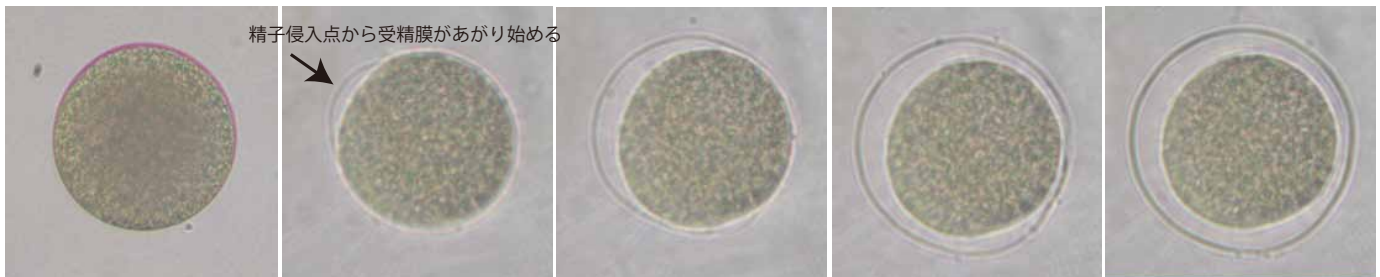


- 1、スライドグラスに、未受精卵を1滴と、精子の希釈液を1滴、少し離してのせる。
(未受精卵と精子は別々のピペットを使うこと!)



- 2、カバーグラスは使わずに、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)

寒冷地の学校への注意

温度が10℃以下ではうまく発生しません。翌日にかけての発生を観察するときに、恒温機がない、暖房が切れるなどで、夜間に室温が10℃以下になる場合は工夫が必要です。例えば、

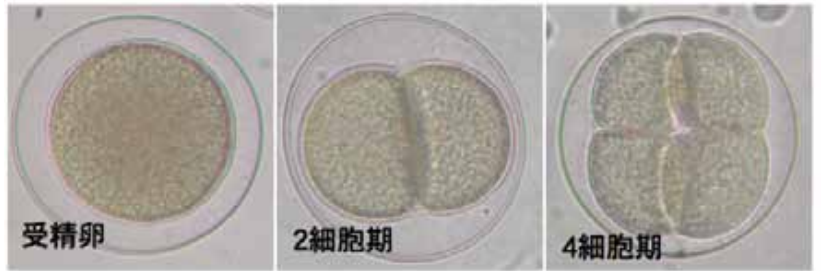
20℃の水入れた2リットルのペットボトルを4本、発泡スチロールの箱に入れてふたをすると、外気温4℃でも翌朝まで箱の中は10℃以上が保たれました。

その後の発生の観察

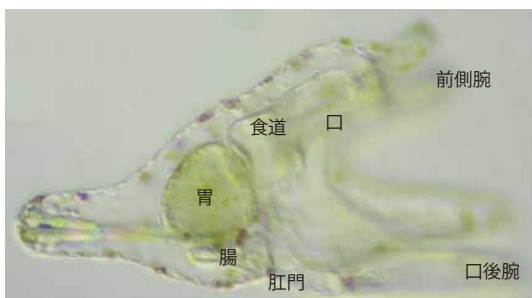
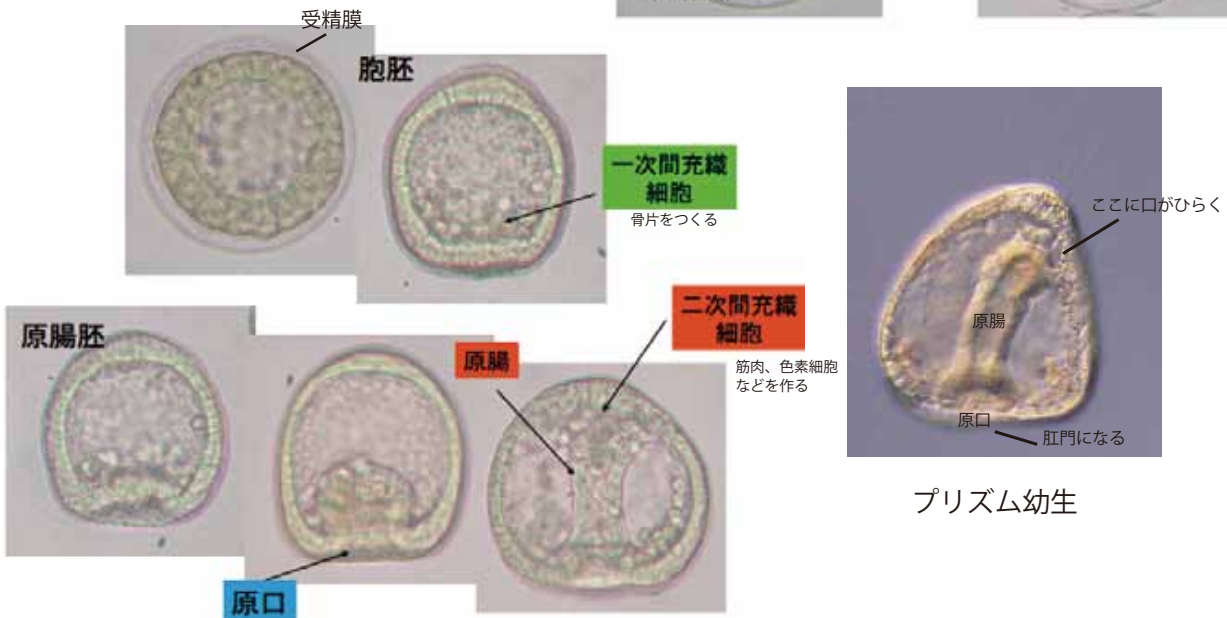
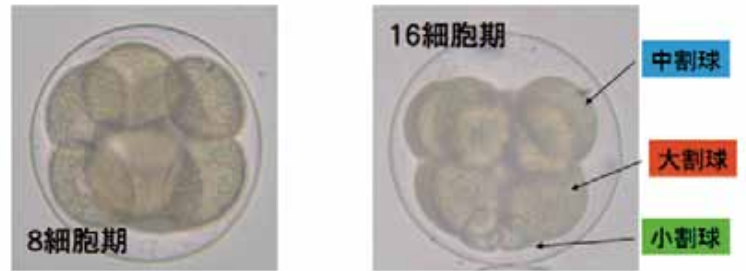
注意：条件によってかかる時間は変わります。
温度が低いと発生がゆっくり進みます。

受精後、発生にかかる時間の目安（18℃）

- 2細胞期 1時間30分
- 4細胞期 2時間10分
- 8細胞期 2時間50分
- 16細胞期 3時間30分



- ふ化（胞胚） 12時間
(胞胚が受精膜をやぶって泳ぎだす)
- 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



プルテウス幼生

赤い細胞が色素細胞



このあと、植物プランクトンを餌にプルテウス幼生は成長し1ヶ月ほどでウニの形に変わります。

よくある質問。

Q1. 幼生を固定する方法を教えてください。

A1. 固定したい時期の胚や幼生を集め、市販のホルマリン液（約40%）を海水の1/10量加えてください。固定サンプルとなります。

Q2. 発生過程で見られる微生物を抑える抗生物質はどのようなものを使えばよいでしょうか？

A2. ペニシリンとストレプトマイシンの混合したものがよく使われています。100倍濃縮したもの（ペニシリン 10,000U/ml、ストレプトマイシン 10 mg/ml）を小分けにして冷凍しておき、使用時に飼育海水の100分の1量を海水に加えて発生させてください。市販の物で入手することも可能です。