

お茶の水女子大学 海洋教育促進プログラム（日本財団助成事業）
「教室に海をプロジェクト（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： 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 500ml 1本）
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。

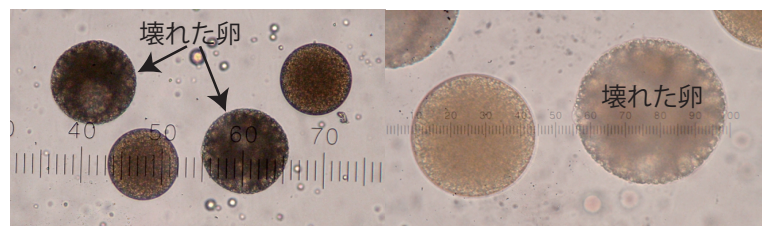
チルド室はだめです。海水は室温で大丈夫です。



未受精卵の容器の番号・記号は産んだ雌の違いです。

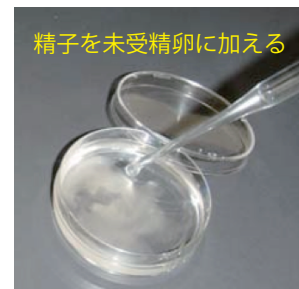
場合によっては早く壊れ始めることがあるので、念のため3匹分をお送りします。

事前にチェックして調子のいいものを選んで使ってください。



受精と観察の実験例（適当にアレンジして下さい）

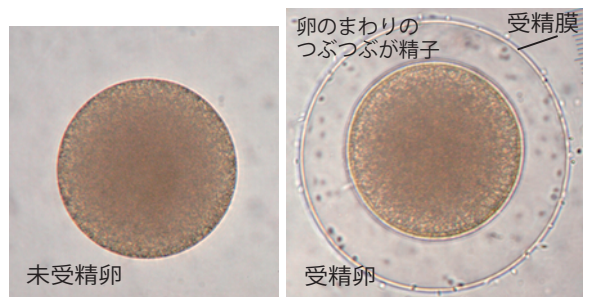
- 1、未受精卵をシャーレに移す
 - ・小型シャーレ（直径3～6 cm）に海水を入れる。
 - ・容器ごと優しく攪拌し未受精卵を均一にしてから、ピペットを使って、1枚のシャーレに卵を入れる。
(シャーレでなく試験管やサンプルピンでも構いません。1クラスあたり1 ml の想定ですが、3本とも卵が壊れなければその3倍使えます。)
- 2、受精する
 - ・未受精卵の入ったシャーレに、5 ml 容器の希釈精子を1滴加える（容器の大きさに合わせて調節）。
 - ・シャーレを揺すったり、ピペットでかきまぜて、精子を均一に行き渡らせる。
 - ・精子を加えた時刻を記録する（受精時刻）。



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。

- 4、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)



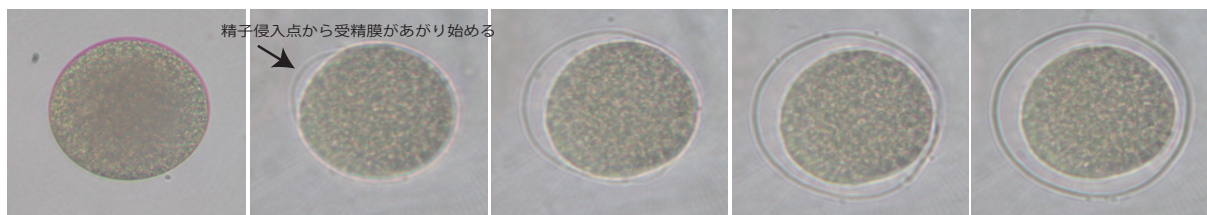
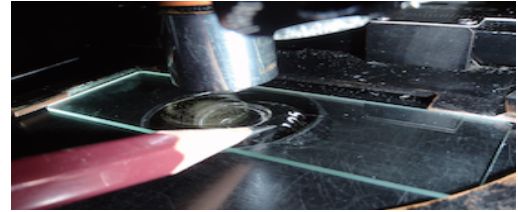
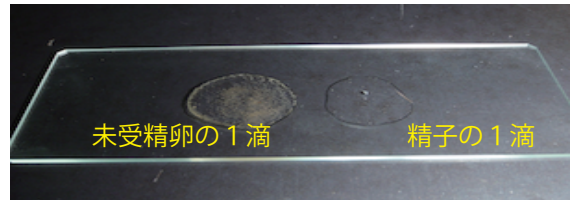
観察のポイント

- ・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。
5 ml 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。



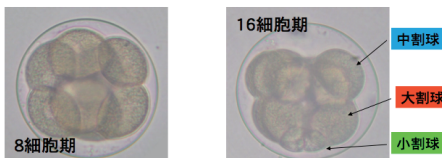
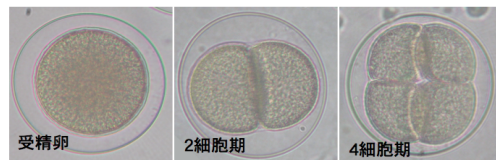
未受精卵から受精卵へ（1分間の変化）

その後の発生の観察

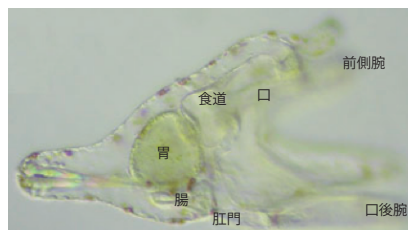
シャーレなどの底の広い容器に受精卵を薄く広げて発生させます。
試験管などの底の狭い容器に積み重なった状態ではうまく発生しません。
温度は15～18℃が適温です。温度が低いと発生がゆっくり進み、
観察に時間がかかります。

受精後、発生にかかる時間の目安（18℃）

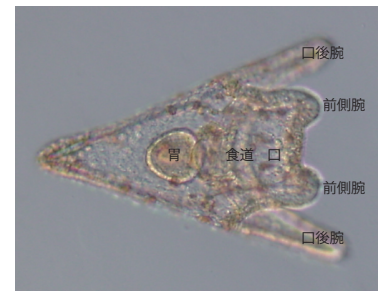
2細胞期	1時間30分	ふ化（胞胚）	12時間
4細胞期	2時間10分	原腸胚	20～24時間
8細胞期	2時間50分	プリズム幼生	36時間
16細胞期	3時間30分	プルテウス幼生	48時間以降



プリズム幼生



プルテウス幼生
赤い細胞が色素細胞



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℃の水を入れた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。