

### 13 ウニの発生を観察

**目的** ウニを用いて，配偶子である精子と卵を観察する。  
人工授精をおこない，受精の過程を観察する。  
初期発生の過程を観察する。

## 準備

|    |                   |            |        |               |
|----|-------------------|------------|--------|---------------|
| 材料 | ウニ                | ウニ類の生殖時期   | バフンウニ  | ( 1 ～ 4 月 )   |
|    |                   |            | ムラサキウニ | ( 6 ～ 8 月 )   |
|    |                   |            | アカウニ   | ( 11 ～ 12 月 ) |
| 器具 | 検鏡器具              | 駒込ピペット     | スポイト   | シャーレ          |
|    | ビーカー              | ホールスライドガラス | ピンセット  | 時計皿           |
| 薬品 | 0.5mol/L 塩化カリウム溶液 |            |        |               |

## 方法

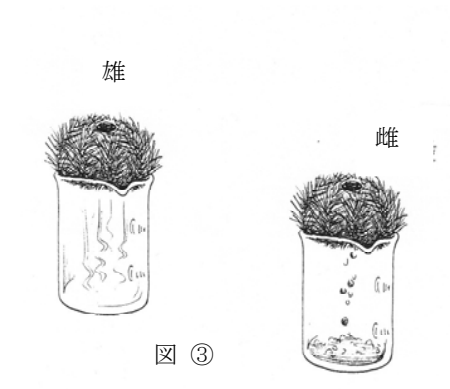
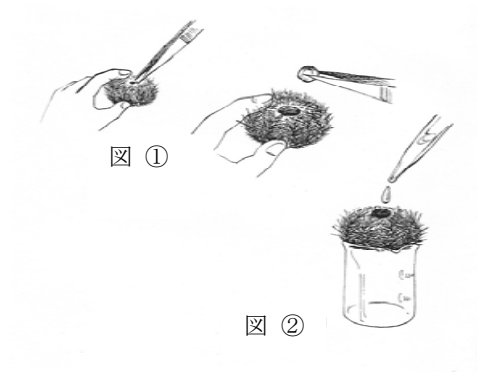
## 1.ウニの採卵・採精

ウニの雄と雌を淡水で軽く洗い、ウニの下面にあるアリストテレスの提灯（ちょうちん）とよばれている口器の周りのやわらかいところにハサミを入れ、口器をピンセットで取り出す。

图①

体腔液を捨てた後、海水を満たしたビーカーの上部にウニの口器が上になるように置いて、塩化カリウム溶液を口器にピペットで2，3滴注ぐ。図②

採精，採卵（精子は白く，卵は黄色） 図③



## 2.未受精卵と精子を観察

### 3.人工授精

卵を一滴ホールスライドガラスに滴下し、検鏡する。次に、端から精子の懸濁液を一滴滴下し受精させ、受精膜のできる過程を観察する。

## 観察 POINT

- ① 精子が卵に向かって泳ぎ、卵のまわりに集まっている様子を観察。
- ② 精子が侵入すると、その部分から受精膜があがる様子を観察。

#### 4. 発生 の 観 察

シャーレに未受精卵と精子の懸濁液を加えて、卵割の様子を検鏡してスケッチする。

前もって受精しておいた各サンプルを用意して観察してもよい。

発生時間 (15 °Cにおいて)

胞胚（約 1 日）    原腸胚（約 2 日）    プルテウス幼生（約 7 日）

## 観察 POINT

割球数や細胞の大きさや形の違い，受精膜の有無，絨毛の有無など各発生段階の特徴を確認する。

必ずしも教科書と同じ角度から見ているわけではないので、複数の胚を観察してどの発生段階かを判断する。

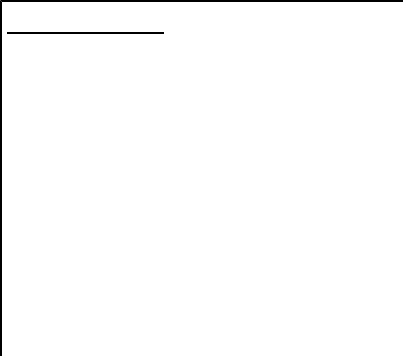
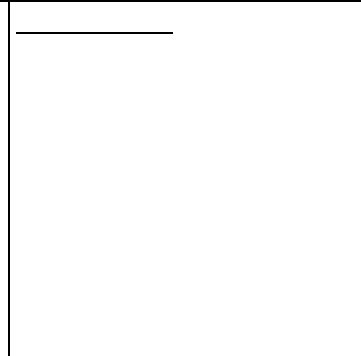
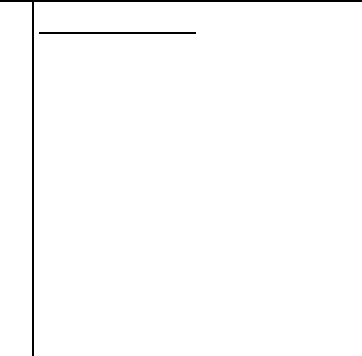
受精からの経過時間や水温を記録しておくこと。

## 結果と考察

1. 未受精卵と受精卵の様子をスケッチしなさい。

|                    |              |
|--------------------|--------------|
| <p><u>未受精卵</u></p> | <p>_____</p> |
| <p>( )倍</p>        | <p>( )倍</p>  |

2. 胞胚，原腸胚，プルテウス幼生の様子をスケッチしなさい。

|                                                                                      |                                                                                      |                                                                                      |
|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
|  |  |  |
| ( )倍                                                                                 | ( )倍                                                                                 | ( )倍                                                                                 |

3. 次の問いに答えなさい。

- ①受精膜の働きを述べよ。 \_\_\_\_\_
- ②割球の大きさに違いがあらわれるのはどの時期からか。 ( \_\_\_\_\_ 期)
- ③受精膜を破って（孵化）泳ぎ出すのはどの時期か。 ( \_\_\_\_\_ 期)

## 実験の反省・感想

|  |
|--|
|  |
|--|

クラス                      番 号                      氏 名

## ◆◇◆ ウニの発生の観察について ◆◇◆

### <採精・採卵の際に行う洗いについて>

#### 採精

精子が放出されたら、ビーカーに生殖孔が下向きになるように置き、ビーカーの底付近から精子を含む海水をピペットで吸い取り、別のビーカーに移して精子の懸濁液をつくる。

#### 採卵

- ①卵は、ビーカーの底にある程度溜まるのを待ってから、上澄みの海水を捨てる。
- ②新しい海水を8分目まで注ぎ、海水表面と卵に5 mm程の隙間が空くまで数分待つ。
- ③隙間が空いたら、上澄み（卵を含む）の6割ほどを新たなビーカーに移す。（洗い1回目）
- ④③に海水を少し足し、同様に上澄みを新たなビーカーに移す。（洗い2回目）
- ⑤洗いが2回終わった状態で、ビーカーにラップをして涼しい場所に置く。

#### 注意点

- ・採卵用のビーカーは、ウニの大きさに合わせて、コニカルビーカーも可。
- ・精子は、海水に入ると活発に泳ぎ、短時間で受精能力を失う。
- ・ピンセットで精巣を取り出し、シャーレに入れて、乾燥しないように冷蔵庫に保管すれば、1週間程度受精が可能→（ドライスパーム）
- ・卵は、数時間で受精能力を失う。冷蔵保存は翌日朝まで（受精率はかなり下がる）。

### <人工授精について>

精液をビーカーに移して約100倍に薄めて精子の懸濁液を用意し、それを用いる。

#### 注意点

- ・精子を扱った器具で卵を扱うと受精してしまうので注意する。精子は真水に入れるとすぐ死ぬので心配な場合は真水で器具を洗うとよい。ただし、真水で洗った後は海水で洗ってから（共洗い）使うこと。

### <発生の観察について>

泳いでいる様子などを観察する際には、ホールスライドガラスではなく、時計皿を用いてもよい。細かい構造を観察するためには、エタノールなどの薬品で細胞を殺し、固定するとよい。

#### 注意点

- ・海水が濃くなると発生に異常が生じるので、シャーレはふたを開けたままにしないこと。胚の入っているシャーレから胚を取り出すピペットは専用のものを使い、発生段階の異なるものと混ざらないようにすること。

### <胚の飼育について>

- ・ビーカーや広口ビンの中で飼育する場合、酸欠を防ぐために、受精卵の濃度は低くし、時々攪拌させる（エアレーションなどを使用）。プルテウス幼生までは容易に発生する。

参考：バフンウニ発生時間（15℃：2月ごろの実験室において）

胞胚（約1日）原腸胚（約2日）プルテウス幼生（約7日）

### 発展（Tips）

#### <塩化アセチルコリンによる採卵・採精>

- ①ウニを裏返しにする。
- ②1 mmol/L 塩化アセチルコリン海水を1 mL シリンジにとり、ウニの週口部の柔らかい部分から生殖巣に針を刺し、約0.2mL注入する。
- ③注入後、ウニを左右に軽く振る。
- ④生殖孔を上に向けた状態で静かに3分ほど置く。
- ⑤生殖孔から染み出てきたものを検鏡し、卵か精子かを判別する。
- ⑥5分ほど待っていても反応がない場合は、アセチルコリンをさらに注入する。  
メリット：ウニが死なない。 デメリット：刺激が弱く、うまくいかないこともある。

＊塩化アセチルコリンは1 mol/L に調整。冷蔵庫で保存しておく。使用状況に応じて1 mmol/L に調整する。

#### <ウニについて>

- ・ウニは、ぬれた新聞紙で包んで発泡スチロールの容器に入れ、冷蔵庫に入れるともちがよい。
- ・ウニは、物理的な刺激で簡単に放卵・放精してしまうことがあるので、気を付ける。  
例：急激な海水温度の変化、運搬の際の揺れ・・・など。
- ・水槽に入れると精子を放出してしまうことが多く、死ぬのも早まる。  
冷蔵庫で保管していたウニは実験に使用する前に水槽に入れておくこと。（最低1時間）
- ・精子が濃すぎると奇形が生じやすいので、必ず100倍くらいに薄めた精子の懸濁液を用いること。
- ・顕微鏡投影装置があれば、1000倍の画像を見せると精子のべん毛などもよく観察できる。