

# 実験12

# 動物の受精と初期発生(II)

## —— アフリカツメガエル

### 実験I: 生胚の観察

**目的:** 両生類の受精卵がどのように発生していくか理解する。

**材料:** アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*)

**方法:**

- (1) 採卵・人工授精・ゼリー層除去を行う。
- (2) 実体顕微鏡で観察し、スケッチする。

### 実験II: レチノイン酸(RA)の発生への影響

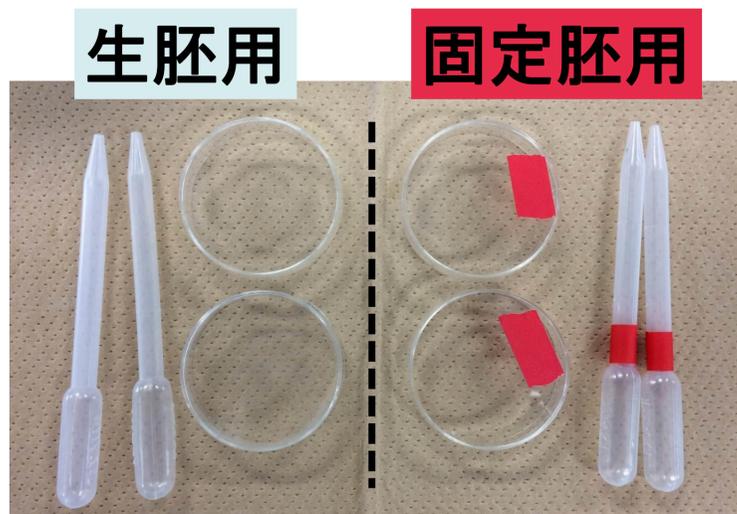
**目的:** 発生過程におけるRAの役割を理解する。

**材料:** アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*)

**方法:**

- (1) 固定胚(RA処理と未処理)の比較観察。
- (2) 任意: 半切片(hemi-section)による胚内部の観察。

#### シャーレとピペットの使い分け



#### 実体顕微鏡の使い方



※電気は暗くしてから電源OFF

# ＜レポートへの記載事項＞

## ・タイトル

## ・目的（簡潔で良い）

## ・材料と方法

※方法は、簡潔で良い。

・受精卵を得た方法

・RA処理

・（半切片の作成）

## ・結果

### 1. スケッチ3枚（用紙1ページに1種類）

#### ① 2細胞期以降（生胚）

※実習時間中には2-4細胞までは観察できる予定

#### ② 神経胚（固定胚，配布）

#### ③ 尾芽胚（固定胚，配布）

※特徴（気づいたこと）を記述すること

### 2. RA処理胚と未処理胚との違い

観察結果の図示と文字説明を併用すること。

## ・考察

① 観察した胚の様子（経時変化、特定の場所・構造など）を自由に。

② 推定したRAの役割について。

③ その他（任意）

## ・感想など（あれば。評価とは無関係）

# ＜RA処理の概要＞

まず，人工授精させた卵を胚胞期まで発生させた。

次に，胚胞期から初期神経胚までの間，RA存在下で培養し，よく洗浄後，再びRA非存在下で初期幼生の時期まで培養した（発生ステージについては教科書参照）。

# <人工授精の方法>

## 1. 採卵

- 指をピースにし、カエルの片脚を挟んで掴む(※目を隠す&しっかり持つ)
- 腹を優しく押して、排卵させる
- シャーレの縁で卵を受ける



## 2. 媒精

- 卵周辺に水が過剰な場合はキムワイプで除去する
- 精子懸濁液を3-4滴たらす
- ガラス棒で攪拌し、精子を全体に広げ、さらに卵が重ならないように一層にする
- 3分待つ
- 水を入れ、受精させる  
(時刻を記録)

## 3. ゼリー層除去

(受精後30-60分後くらい)

- 水を除く(廃液入れに捨てる)
- 4.6%システイン酸塩酸塩水溶液をシャーレの半分位の深さまで入れる
- ガラス棒でかき混ぜる
- ゼリー層が溶けたら(1-3分位)、スタインバーグ氏液を入れ卵を洗う
- 液を一旦捨て、上記の洗浄を4回繰り返す(計5回)

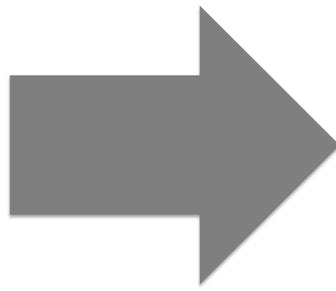
## 後片付け

- 実体顕微鏡 → 水分を拭き取り、元の場所へ
- 残った胚 → 各自の胚捨てへ
- シャーレ、スポイト → 水道水で洗浄後、蒸留水ですすぎ各自の机に
- 廃液入れ → 流しにながして、軽く洗い、各自の机に

# <固定胚の半切片の作成法>

## 1. カミソリの準備

袋に包んだまま、端を折る

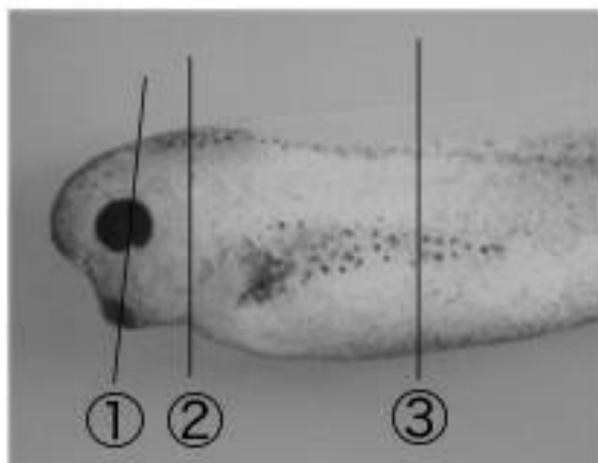


端を使う

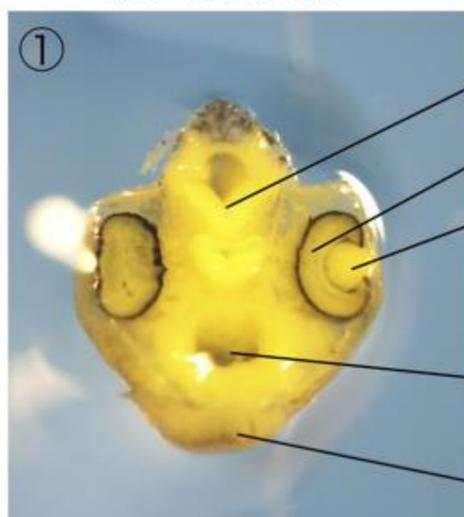


## 2. 固定胚の輪切り観察

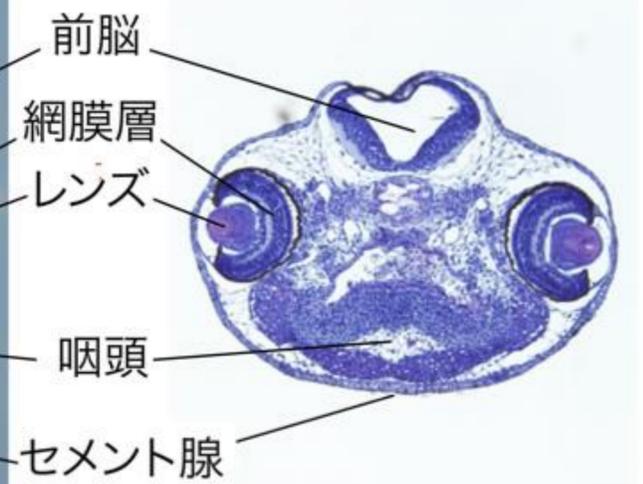
例)



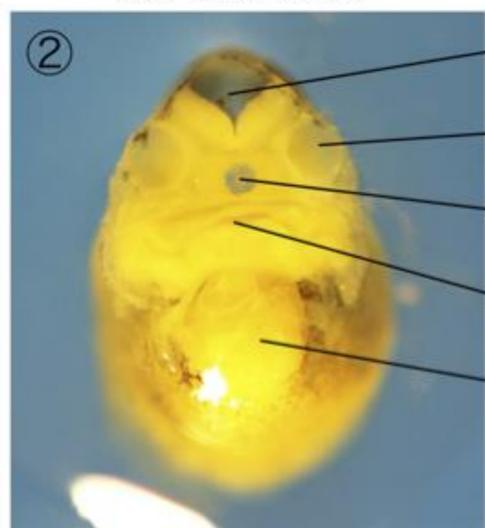
幼生切断像



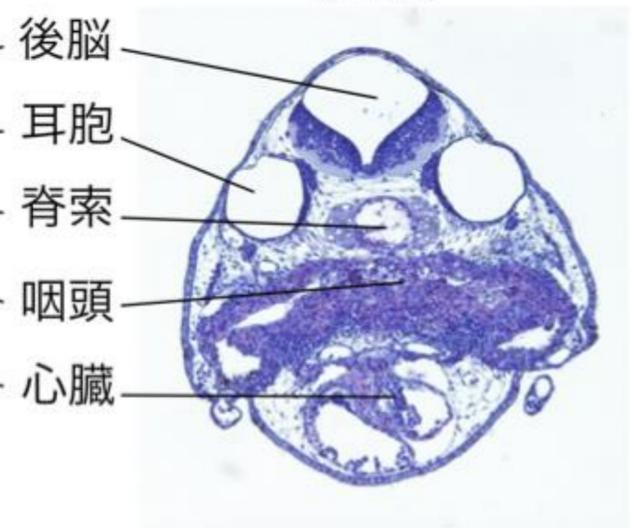
切片像



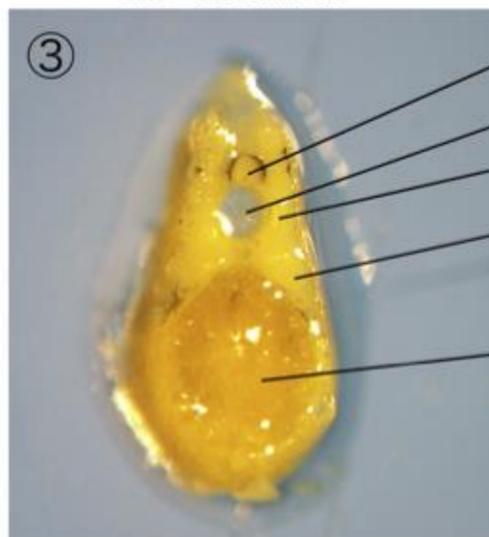
幼生切断像



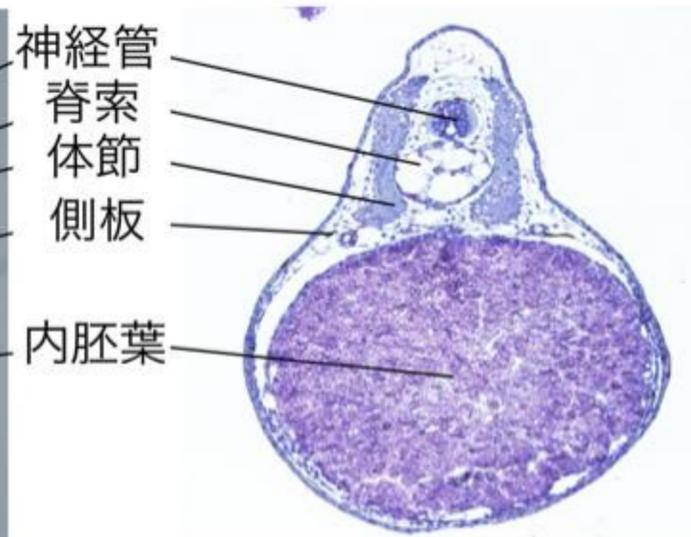
切片像



幼生切断像



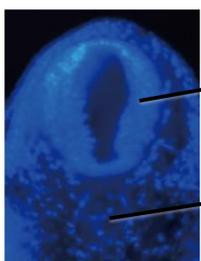
切片像



ブアン固定した胚

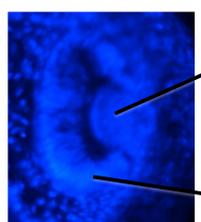
ヘマトキシリン-エオシン染色した切片

### DNA観察の一例



神経管

脊索



レンズ

網膜