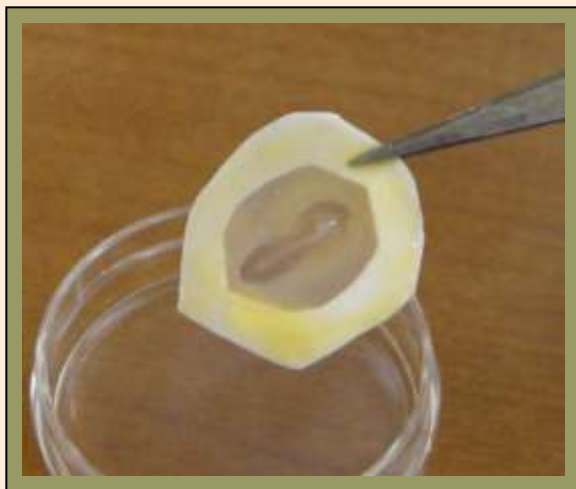


Newの培養法による

ウズラ胚の観察



兵庫県立須磨東高等学校
理科 薄井 芳奈
岡田 健司

ウズラ卵は38℃で
保温しておく。

ふつうは丸い方を上に
して卵立てに立てる。

殻割りハサミを使う場合は
とがった方を上にして卵立
てに立てておく。



道具はすべて
すぐに使えるように
手元に用意しておく



卵立ては
スクリーubinの
キャップを2種類
重ねて使用

準備

- ・ウズラ用殻割りハサミ(あれば便利)
- ・眼科バサミ ・ピンセット
- ・卵立て
- ・シャーレ(不要な卵白などを受ける)
- ・蒸発皿(取り出した卵黄を受ける)
- ・生理食塩水(7.2g/L NaCl水溶液)
- ・パスツールピペット
- ・ろ紙リング(ニワトリ用よりろ紙部分の幅を狭く作る)
- ・アガロースゲル(0.5%)のプレート
- ・キムワイプ ・ティッシュペーパー



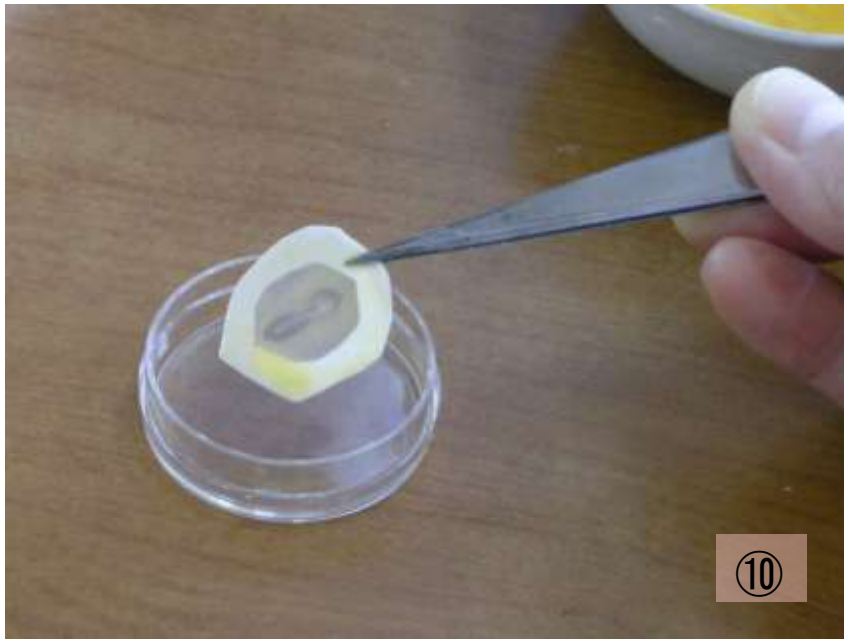
- ① 卵の上下をひっくり返し、黄身が浮き上がる前に手早くピンセットの先で殻に穴をあけ、ピンセットかハサミで一周まわって殻を切る。開口部は黄身が出る大きさにする。殻割りバサミの場合は卵の丸い方を切る。
- ② 流れる卵白は捨て、蒸発皿に中身を出す。この段階で卵白は残ってもよい。
- ③ 卵白を取り除く。濃厚卵白はハサミで切り取るようにしてシャーレに流す。ニワトリと比べて卵白の量が少ないので、神経質に濃厚卵白を取り除かなくても、ろ紙リングをくっつけることはできる。



- ④ キムワイプを黄身の表面にくっつけて黄身を回転させ、胚を上側に持ってくる。
- ⑤ 胚を上側に持ってきた状態。
- ⑥ ろ紙リングをのせる。
☆この段階でリングが黄身の膜に沿っていないようでも、このあと膜に切り込みを入れると膜に貼り付くので大丈夫。
☆発生が進むと膜が破れやすいので注意。
☆作業中に膜が破れても、胚さえ上側にあればろ紙リングをのせてしまうことで作業は継続できる。



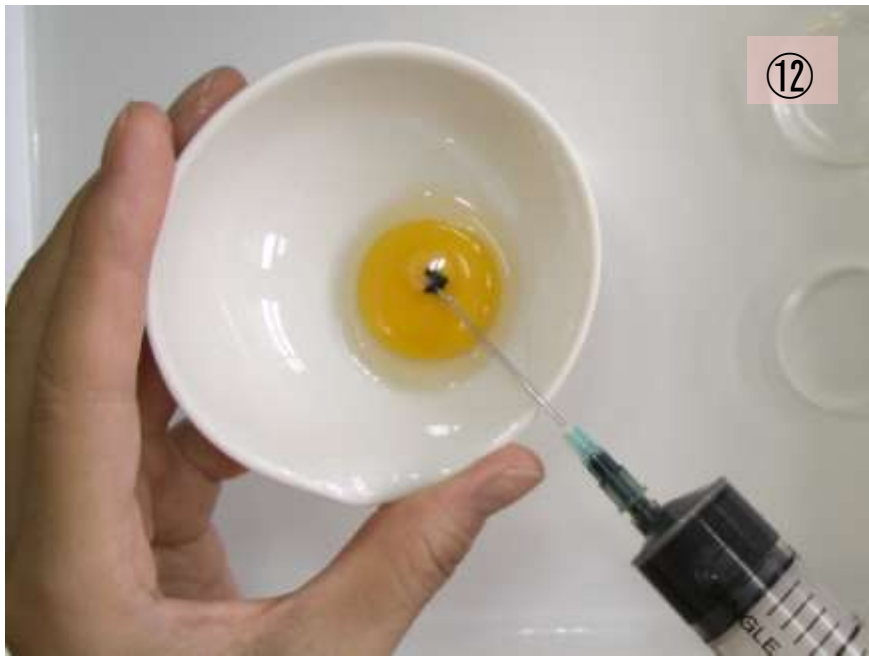
- ⑦ ろ紙リングの周りに沿っての黄身の膜を切る。卵黄が流れ出て黄身がへしゃげてくるとハサミが入りにくなるので、ハサミを立てるようにして手早く切る。
- ⑧ パスツールピペットをろ紙リングの下に入れて生理食塩水を注入し、胚の下の卵黄を吹き飛ばす。
- ⑨ ろ紙リングをピンセットでつまんで胚をつり上げ、アガロースゲルのプレートに表裏をひっくり返してのせる。



⑩ プレートにのせるときに胚の下に空気を
入れないように注意する。泡が入った
場合はろ紙を少し持ち上げて追い出す。

⑪ 卵黄は生理
食塩水で洗
い流し、
ティッシュペ
ーパーで吸
い取る。





⑫



⑬



⑭

- ⑫ 1日胚、2日胚の早い時期で、胚の位置や向きがよく見えないときには、10倍にうすめた墨汁を注射器で胚の下に注入して確認することができる。
- ⑬ 胚はそのまま実体顕微鏡で背側から観察することができる。
- ⑭ 墨汁を入れて胚の位置や向きを確認してから、ろ紙リングをのせて胚をつり上げ、Newの培養をすることもできる。

今日は卵を8個使いました。
ゴミはティッシュやキムワイプ
もふくめてこれだけです。



蒸発皿はすぐれものでした。
発生が進んだ卵をシャーレに出すと、
黄身が自分の重みでぺしゃんこになり、
膜がフチから破れてきてしまいます。
胚を上側に持つてくるのも難しいです。
蒸発皿は底が丸い上にあまり深くないので、
作業しやすく、上記のようなシャーレの難
点をしっかり解決してくれます。フチが丸
く処理してあり、注ぎ口があるので黄身を
こわさずに卵白を流し出すこともできます。

ウズラを用いるメリット

- * 種卵(有精卵)の値段が安い
(…1個30円+送料
ニワトリ有精卵の3分の1)
- * 卵が小さいので孵卵器(定温器)
の限られたスペースに数をたくさん
入れることができる
(1クラス40名×一人2個として、
数クラス分実施日をずらしながら
孵卵していくことも可能)
- * 卵が小さいので廃棄物の量が圧倒
的に少ない。後片付けも楽。
- * 卵の殻が薄いので、殻を開ける
操作が簡単。卵白も少なくて取り除
きやすい。
- * 胚の大きさや発生の進行は8日目
まではニワトリ胚とほぼ同じ。

ウズラ種卵入手先

(株)モトキ

04-2922-2696

<http://motoki.uzuraya.com/index.html>



38°C 孵卵開始から34時間 腹側

38°C 孵卵開始から34時間 背側



38°C 孵卵開始から
46時間 腹側



38°C 孵卵開始から
46時間 背側



4日胚からは卵黄からはずして、羊膜から取り出して観察する。

アポトーシスの例として取り上げられている前肢・後肢の発生過程や、誘導の例として取り上げられている羽毛や脚のうろこも観察できる。さらに、5日胚、8日胚を実体顕微鏡下で解剖し、前胃、砂のう、小腸などの器官を観察することもできる。

胚は(NEW培養したものも) 4%パラホルムアルデヒドまたは4%ホルマリンで固定し、その後、生理食塩水に移すことで保存・観察することができる。

後肢

前肢

4日胚



5日胚



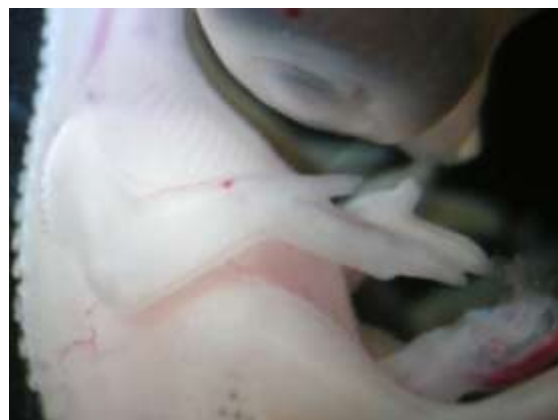
6日胚



7日胚



8日胚



* 観察の方法や手順については2009年10月3日(土)~4日(日)に理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター(CDB)で実施の高校生物教職員のための「発生生物学 リカレント講座」のうち、福田公子先生(首都大学東京)の講座内容をもとにしています。

* ニワトリ胚のH.H. Stage とウズラ胚の発生段階との比較については以下の総説を参考にしました。

Journal of Anatomy

Volume 216 Issue 1, Pages 3 - 15

Published Online: 19 Nov 2009

Developmental stages of the Japanese quail

Sophie J. Ainsworth, Rachael L. Stanley and Darrell J. R. Evans

Brighton and Sussex Medical School, University of Sussex, Falmer, Brighton, UK

<http://www3.interscience.wiley.com/journal/122688060/abstract>
からダウンロードできます。

* ウズラの利用に関しては理研CDBの南波直樹先生、兵庫県立大学理学部生命科学研究科の餅井真先生から助言をいただきました。

*この取り組みは「平成22年度 魅力あるひょうごの高校づくり推進事業
～インスパイア・ハイスクール～」の一環として行っています。
授業実践の様子を兵庫県立須磨東高等学校のHPに掲載しています。

<http://www.hyogo-c.ed.jp/~sumahigashi-hs/>

*実践に関してメールでのお問い合わせは薄井または岡田宛 須磨東高校
メールアドレス(HPに記載)までお願いいたします。

授業等で本報告・HPの
写真や記述等をご使用に
なるときには出典を明記
していただきますように
お願いいたします。

2010年10月31日
兵庫県立須磨東高等学校

理科 薄井 芳奈
岡田 健司

654-0152
神戸市須磨区東落合1-1-1