

1.2 メダカの卵発生

【目的】

脊椎動物の発生モデルとしても広く用いられるメダカの胚発生を実際に観察する。さらに発生という連続的に変化していく事象を観察者が記載する方法-発生段階区分のポイントを押さえ、「変化」をとらえるための「見る力」を養う。

【材料】

メダカ *Oryzias latipes* ダツ目メダカ科 日本・朝鮮半島・台湾などに分布。全長 3-5cm。水温・塩分等の適応幅が広く、飼育は容易。また、小型で世代時間が短いため実験動物に適しており、発生学、生理学、遺伝学などの研究材料として用いられてきた。自然/人工の突然変異系統が多数維持されており、近年全ゲノムの解析も完了している。卵は直径 1.2mm 程度であり、卵膜および卵黄は透明なため卵割や胚発生の観察に適している。飼育下での世代時間は 2-3 ヶ月、寿命は 2-3 年。生存可能な水温は 4-30°C。

【メダカからの採卵】

野生魚は春から夏にかけて産卵するが、飼育下では水温 25-30°C、光周期を明：14 時間；暗：10 時間に保ち、餌を十分に与えることで年間を通じて産卵させることができる。好適な環境下では同一個体が毎日産卵する。産卵は通常早朝にみられる。ペアにより交尾が行われ、雌は 1 回に 20-30 個程度の卵を産出し、同時に雄は放精して体外で受精が完了する。卵には纏絡糸があり、雌は産卵後しばらくは卵塊を臀鰭付近に持ったまま遊泳するが、その後水草等に付着させる。実験等に用いる場合は、雌から卵塊を回収した後、シャーレ上で卵塊を転がすようにして纏絡糸を除去し、卵を一個ずつに分離する。

【卵管理】

井戸水や一日程度くみ置きした水道水を飼育水として用いる。淡水中では死卵等にミズカビ類が発生し、他の卵に悪影響を及ぼすため、メチレンブルーを 30 万分の 1 程度加えると良い。直射日光など強い光を避け、25°C程度で管理する。白く濁ったり青く染まった死卵は適宜除去する。孵化までの時間は水温によって異なるが、25°Cでは約 10 日間である。

【卵内の観察】

卵をシャーレの水中に移し、実体顕微鏡下で、鏡を用いた簡易透過光によって観察する。発生段階を以下の図表および配布の別資料によって同定し、スケッチする。スケッチにはケント紙 1 枚を横に使用する。発生初期には動物極を上、植物極を下にし、胚体が形成されてからは側面を描画することが望ましい。スケッチに関する一般的な注意に関しては本テキスト第 1 章第 1 節を参照。孵化仔魚については、2 万分の 1 (0.005%) 程度の MS-222 を用いて麻酔後、以下の事項について観察し、スケッチ中に記入する。心臓、血液循環、体節、脊索、眼胞およびレンズ、耳胞および

耳石, 黒色素胞, 膜鱗, 卵黄, 口および消化管の状態.

【発生段階】

魚類では発生の速度は水温等で変化するため, 受精後の経過時間だけでは発生の時間軸を正確に記述することができない. 一方, 胚発生は連続的に起こるものであるが, その中でも形態的に大きな変化が生じるところがある. それらの変化を指標として発生期間を人為的に区切り, 各段階を命名することにより, 発生上に起こる様々なイベントを記述するための時間的物差しを作ることができる. このような発生段階表は胚を対象として行った実験の結果を相互に比較する際には不可欠である. 発生学のモデル実験生物として多用される種では特に詳細な段階区分がなされており, メダカではIwamatsu (1994) 等がある.



図1 メダカの発生段階図 (岩松, 2006 より抜粋)