# ウニ原腸胚にみられる回転運動

# 研究の動機と概要

# 1 研究の動機

2006年2月に、私は生物の授業でバフンウニを使った受精、発生実験を行った。

2月10日、実験が終わった日の放課後に、顧問の先生が実験に使われなかったウニを見ながら「ウニの幼生は回転しながら運動しているんだけど、回転方向がどちらなのか私も知らない。調べてみようか。」とおっしゃった。たった1人の部員で研究ができるものなのか不安ではあったが、興味もあったことに加えて自分のテーマを探している最中だったので、やるだけやってみようと考えた。

#### 2 ウニの発生

ウニは受精後(図1)に示したような 発生をする。桑実胚までは受精膜におおわれていて自分で泳ぐことはできないが、胞 胚期に受精膜からふ化して海水中を泳ぎは じめる。この後少しずつ形態が変化してプ ルテウス幼生を経て稚ウニとなるが、胞胚 期からプルテウス幼生の間は繊毛を動かし て自分の力で泳ぎ回る生活をしている。 顕微鏡でこれらの胚を観察すると、胞胚を過ぎて原腸胚に入る頃から必ず原口を後ろ側にして泳ぐようになる。このときほぼすべての胚で回転しながら遊泳する現象が見られる。

# 実験の方法と結果

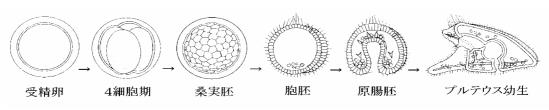
# 1 ウニ原腸胚の回転方向観察 回転方向の観察方法

ウニの原腸胚を海水と一緒にホールスラ イドグラスに垂らして、カバーガラスをか けずに40倍~100倍の倍率で観察した。

遺伝的に回転方向が決定するかどうか確認するためにオスとメスを何個体ずつか用意し、それぞれの精子と卵を組み合わせて受精する方法をとった。オスをABCDとし、メスを1234としてそれぞれの交配をA-1、B-3という形で実験区を表した。

ウニの胚は半透明であるため、光学顕微 鏡で観察するとピント面の違いで回転方向 はどちらにも見える。

この問題に対応するため泳いでいる原腸 胚を見つけると、ステージと接眼レンズの



(図1) ウニの発生

距離を離し必ず接眼レンズ方向の表面を見るという方法をとった。

## 結果

実験は5種類のウニについて行った。 表1に結果をまとめたものを示す。どの種でも、ほぼ全ての固体が左回転している。 右回転が観測されたのは最初に観察したバフンウニが4個体だけであった。

#### 考察

バフンウニ右回りの4個体は初期の調査で、観察方法の試行錯誤をしていた時期に 観察した個体であり、実験方法に不慣れで あったため逆回転と計測した可能性が高い と考えている。

バフンウニとサンショウウニは他と比べて運動が活発だった。回転運動の活発な種類とそうでない種類がいるようだ。但しこの結果は水温等の条件を考慮したものではないため、今後正確なデータを取りたい。

# 2 ウニ原腸胚の繊毛の停止実験目的

塩化ニッケル水溶液にはゾウリムシの繊 毛運動を止める働きがある。ウニもゾウリ ムシと同様に繊毛で運動しており、ゾウリ ムシの繊毛と類似性を持つならばウニの繊 毛運動も止められる可能性が高い。この実 験から間接的にウニ原腸胚の回転運動の仕 組みを探ろうと考え、実験することにした。

## 実験方法

容器にムラサキウニ原腸胚を海水ごと入れ、海水と等量の塩化ニッケル水溶液を濃度を高くしながら加えて、運動が変化するかを調べた。最初はゾウリムシの繊毛運動が停止する0.0004mol/1から始めた。

ムラサキウニは回転運動の観察後に、比 較的奇形率が低かった3実験区を使用した。

| ウニの種類    | 回転方向 | A-1             | A-2 | A-3 | A-4 | B-1 | B-2 | B-3 | B-4 | C-1 | C-2 | C-3 | C-4 | 合計  |
|----------|------|-----------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| バフンウニ    | 右回り  | 0               | 0   | 0   | 3   | 0   | 0   | 0   | 1   | 0   | 0   | 0   | 0   | 4   |
|          | 左回り  | 62              | 50  | 48  | 47  | 52  | 59  | 48  | 41  | 61  | 55  | 50  | 49  | 722 |
| ムラサキウニ   | 右回り  | 0               | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   |
|          | 左回り  | 33              | 30  | 31  | 30  | 30  | 32  | 29  | 32  | 35  | 35  | 30  | 31  | 378 |
| コシダカウニ   | 右回り  | 0               | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   |
|          | 左回り  | 32              | 30  | 30  | 30  | 31  | 30  | 30  | 30  | 30  | 30  | 30  | 30  | 363 |
|          |      | A-1             | A-2 | A-3 | B-1 | B-2 | B-3 | C-1 | C-2 | C-3 | D-1 | D-2 | D-3 |     |
| サンショウウニ  | 右回り  |                 | 0   | 0   |     | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   | 0   |
|          | 左回り  |                 | 30  | 30  |     | 30  | 30  | 30  | 30  | 30  | 30  | 30  | 30  | 300 |
| キタムラサキウニ | 右回り  | キタムラサキウニは1実験区のみ |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 0   |
|          | 左回り  | キタムラサキウニは1実験区のみ |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     | 37  |

(表1) ウニの種類ごとの回転方向観察結果

#### 実験結果

ゾウリムシが停止する $0.0004 \, \mathrm{mol}/I$  塩化ニッケルでは運動に変化は見られなかった。 $0.0016 \, \mathrm{mol}/I$ を加えた時点で1部のウニの原腸胚で回転運動が鈍るもしくは停止するといった変化が現れ始め、 $0.04 \, \mathrm{mol}/I$ で2分後ほぼ全ての運動が停止した。

## 考察

最終的にウニの運動が塩化ニッケル水溶液で停止したことから、ゾウリムシとウニの繊毛には類似性があると推論できる。

ウニの運動に変化が現れるのにゾウリムシの繊毛が止まる4倍の濃度が必要であり、 停止させるには10倍の濃度が必要だった。 結論を出すには更に実験が必要だろう。

# 3 ウニ原腸胚の走電性の実験 目的

ウニとゾウリムシがどちらも繊毛で移動 していることに注目し、ゾウリムシに見ら れる走電性がウニにも見られないか調べる。

#### 実験方法

ゾウリムシには、培養液に電流を流すと どちらかの電極に向かって泳ぐ走電性と言 う性質がある。

ホールスライドガラスにムラサキウニ原 腸胚を海水ごとスポイトで取って垂らし、これに電流を流してウニ原腸胚の行動に何 か変化が見られないか、光学顕微鏡を使用して調べた。電源には単3電池を使い、1.5 V と 3.0 V の電圧で実験した。

#### 実験結果

 $1.5 \, \text{V} \, \text{ } \, 23.0 \, \text{V} \,$  のどちらの電圧でもウニの原腸胚に走電性は見られなかった。また $3.0 \, \text{V} \,$  の電圧で $2 \, \text{度繰り返す} \, \text{と}$ 、ウニ原腸胚の運動性が全く無くなり、振動刺激を与えても反応しない現象が見られた。

#### 考察

3.0 V の電圧では運動性が見られなくなるほどのショックになることから、これ以上の電圧で実験しても無意味だと判断した。 海水に電流を流すと塩素が発生するため、運動の停止が塩素によるものである可能性もある。しかし、電極の近くでもそうでないところでも結果は同じであるため、塩素の影響はほとんどないだろう。これらのことから、走電性はないだろうと推論した。

# 4 原腸胚の電子顕微鏡像の比較実験 目的

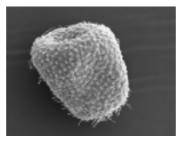
実験に使った5種類のウニ原腸胚の繊毛 やその他の体表に回転運動の特徴のヒント となる構造が見られるかどうか調べる。

#### 実験方法

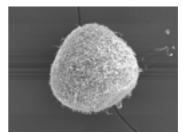
バフンウニ、ムラサキウニ、サンショウウニ、コシダカウニでは、12実験区の中から奇形の少ない実験区をそれぞれ1つずつ選んで固定液(グルタールアルデヒドもしくはホルムアルデヒド)で固定した。

固定後、海水希釈エタノール→純水希釈エタノールと標本の溶液を変えて、水を完全に除去した後、酢酸ペンチルに置換し、液体二酸化炭素を使って完全乾燥させた。 乾燥後、金粒子を蒸着させて、走査型電子顕微鏡で観察した。電子顕微鏡は県総合教

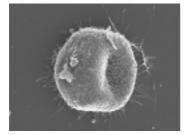
## 撮影した電子顕微鏡写真



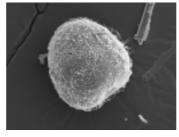
バフンウニ



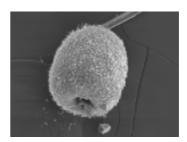
キタムラサキウニ



ムラサキウニ



サンショウウニ



コシダカウニ

育センターのものを使わせて頂いた。

この後、体表の繊毛構造にちがいがない かどうか、原腸胚の大きさや繊毛の長さに ちがいがないかどうか検証した。

## 実験結果

3月にバフンウニ原腸胚を観察したが、 標本の状態が悪く体表構造は観察できなかった。掲載した写真は総合教育センターに 保存されていた標本を撮影したものである。

10月にキタムラサキウニ、ムラサキウニ、サンショウウニ、コシダカウニをまとめて撮影した。固定方法を改善したため、3月のバフンウニに比べてかなり状態は良かった。残念ながら体表の状態から胚の運動や回転性に対するヒントは得られなかったが、標本の大きさや繊毛の長さについて比較したところ、回転方向の観察実験で運動が活発だったサンショウウニは、他の種類に比べて体が小さく繊毛が短い傾向が見られた。

#### 考察

回転運動する根拠となるような繊毛の特徴は見つけることはできなかったが、胚の大きさと繊毛の長さが種類によって異なるという興味深い事実を知ることができた。

また、細胞1個につき繊毛が1本生えていることに気がついた。この時期のウニ胚は盛んに細胞分裂を繰り返すはずだが、分裂するとすぐ繊毛が生えるのだろうか。新しい課題が見つかったように感じた。

# 総合的な考察と今後の研究

## 1 ウニの回転性と運動性の比較

5種類のウニについてこれまでの結果から、原腸胚はすべて左回転しながら泳ぐと結論していいだろう。しかし、水温等の条件に配慮してないため断言できないが、今回の実験ではバフンウニとサンショウウニは運動性が高く、種によって回転運動に違いがあることがわかった。

電子顕微鏡を使って大きさを計測したところ、サンショウウニの原腸胚は他種と比べて小さく、繊毛も長いことがわかった。前述したようにバフンウニとサンショウウニは運動性が高く、回転もはっきりしていたことから、サンショウウニは胚の大きさに比べて繊毛が長いことで運動性を高くしている可能性があるだろう。

# 2 繊毛の運動について

回転の向きと繊毛の構造や運動に何らかの関係があるのではないかと、電子顕微鏡での観察や繊毛運動の停止実験・走電性の実験を行った。しかし期待した結果は得られず、ウニとゾウリムシとは類似している部分と異なった部分があると予想できることと、運動性の違いについての仮説が得られただけで、回転運動の仕組みについては全くわからなかった。

これまでの結果を静岡大学の鳥山先生にお話ししたところ、「塩化ニッケルで繊毛の運動を弱めて、透過光でなく反射光で観察するとより繊毛が観察しやすい」ということを教えていただいた。位相差顕微鏡という顕微鏡だとより鮮明に像が見えるということも顧問の先生から聞いている。

## 3 ウニ類の分類との比較

今までの実験から分かった結果をウニの仲間の分類と比較してみた。回転がはっきりわかったバフンウニとサンショウウニは同じホンウニ目ではあるが、今回調べた中ではかなり遠い関係にあり、回転運動の違いは種の違いというより体の大きさと繊毛の長さによる違いである可能性が高いことがわかった。

# 4 今後の研究

2月にバフンウニの実験結果が得られた際に、結果が偏りすぎていたことから研究の方法が正しいのかどうか疑問を持った。

このころ、顧問の先生が静岡大学農学部の鳥山先生にバフンウニの実験結果について問い合わせをしてくれた。「ウニの幼生は一般的に遊泳方向左回転に泳ぐことが知られている。」ということで、かなりショックを受けた。今回の研究は知られていることをなぞっただけだったのかとやる気をなくしたが、「大学の先生だって見落とすことはいくらでもある。やれるだけのことはやってみよう。」と顧問の先生にいわれ、ここまで実験を続けてきた。

結果を総合すると、鳥山先生に教えていただいたことを確認することにしかならないが、ウニの種類により回転性が異なる可能性と、構造の違によって回転性が異なる可能性を見つけたことは成果と言えるだろう。繊毛の構造からのアプローチも可能性は残っている。

今後、本ウニ目以外のウニ類についても 実験しようと考えている。私個人に残され た時間は少ないが、やれるだけのことはや ってみたいと思っている。