

## 子宮内卵子のパラフィン切片の作成と卵子の観察

野外生物学実習 レポート

理学研究科修士1年 關 真理江

### 概要

組織学の学習や卵巣観察を目的として、犬とウサギの卵巣のパラフィン切片を作成し、電子顕微鏡を用いて卵子を観察した。実験は4日間かけて行われた。

1日目：子宮と繋がった卵巣の単離

2日目：パラフィン包埋

3日目：切片作成、細胞染色

4日目：卵巣観察

### 卵巣処理

卵巣観察の手順は大きく3つに分けられる。組織の脱水、キシレンによる組織のクリアリング、そしてパラフィンでの浸潤である。まず卵巣に繋がる子宮と脂肪組織を取り除き、6つに切り分けた。卵巣は水分を多く含んでおり、そのままでは組織固定を行うことが出来ないため、PFAを加えることで組織の水分を取り除く。その後、70%、80%、95%、100%と濃度を上げてエタノールに漬けることで脱水を行った。

パラフィン包埋を行う際、エタノールとパラフィン同士は混和しないため、両者と完全に混和する中間化合物であるキシレンに1時間ずつ卵巣を漬けた。この際、組織に残っている脂肪も取り除くことができる。パラフィンで組織を固めた後、マイクロームを用いて5 $\mu$ m 間隔で組織を切り、ヘマトキシリンによる核染色と、エオジンによる細胞質染色を行った。染色の前段階で用いるエタノールは、上記の染色を組織内で均一に染めるために用いられた。



図1 作成した切片

### 成熟過程と形態

子宮内卵子は哺乳類間で大まかな構造は類似しており、時間をかけて成熟し排卵に至る。

一次卵母細胞は扁平な顆粒膜細胞に包まれた原始卵胞として子宮内に存在し、脳下垂体からの卵胞刺激ホルモン(FSH)や黄体形成ホルモン(LH)によって調節される。

二次卵母細胞への変移は単層の扁平な顆粒膜細胞が二層の丸みを帯びた構造になり卵子を取り囲む構造への変化である。その後、この顆粒膜細胞の数と層は増加していき、最終的に空胞を含む成熟卵胞となり、卵巢の外へと排出される。

観察した卵巢は犬、ウサギのものである。容易に卵胞の発達段階を特定できるものもあれば、卵胞内の空洞が卵胞そのものの損傷なのか、成熟卵胞故の形態なのか区別が難しいものもあった。

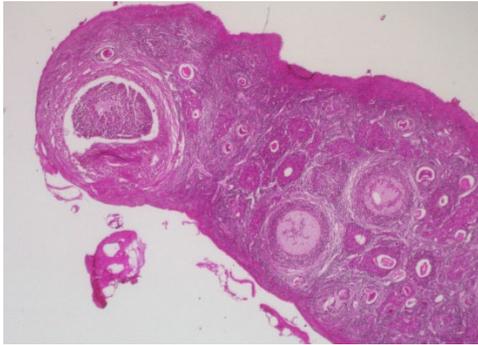


図 2 ウサギの卵巢切片染色図

#### まとめ

今回、卵巢組織の切片の作成、観察を行い、犬とウサギの卵胞の発達段階の特定や卵巢全体の状態の善し悪しの判断を行った。組織包埋、観察法や染色、脱水の手順についてはどの組織でも共通している部分が多く、自分の実験でもいづれ有効に活用される技術を学ぶことができた。いつか別の機会に他の種類の動物種を用いた観察が出来れば、今回判別が難しかった種ごとの卵胞の形態の違いが観察できるかもしれない。