

## How to keep *Xenopus tropicalis*

### カエル(成体)

- 飼育温度 ..... 24~25 °C  
エサ ..... 赤虫 (非常に大きな個体に育てたい場合は、ふんだんにエサを与える)  
水替え ..... 週1~2回(食後にするといい)  
密度 ..... ある程度の密度がある方が“すき焼き効果”で、みなよく食べる。  
水位 ..... 5cm程度。カエルがだらんと手足を伸ばし、顔だけ水面に出るような感じでリラックスできる状態が好ましい水位。ケージには砂等を敷き詰める方法もあるが、水替えが大変。何もなくても特に問題はない。

### オタマジャクシ

- 飼育温度 ..... 26~28 °C (成長を促すため高めに設定)  
エサ ..... セラミクロン(スピルリナ)、一日1~2回、少しだけ  
水替え ..... 基本的に水替えはしてはいけない。水中のバクテリアを食べるため水の色は、麦茶~コーヒー色くらいがベスト(ただし透明感のある茶色であること)。沈殿物があるのは問題ない。水面に出て息継ぎをするので、酸欠になることはない。死体はすぐ取り除く。水が白濁・あるいは濁ってしまった場合は、水替えをする必要あり。  
水 ..... 汲み置き水道水(光に当てて一日)。  
水槽内のバクテリアを増やすため、水草、葉っぱなど、何でもいので外の物を入れる(重要)  
密度 ..... 1匹あたり500mlくらいが目安だが、低密度の方が大きくなるのは早い。(とある業者は1トン水槽で2千~3千匹、多いときは1万匹くらい飼っていたとのこと)。大切なのは、水質が安定するようになるべく大きな水槽にすること。あまり密度が高いと(成長が非常に早い個体が一緒にいると?)、変態までの時間が伸びる傾向に。

☆ 注意: 光、音、振動がダメなので、エアーポンプは入れない。  
フィルターは雑菌が繁殖しやすくなるので使わない。

備考: St.60で大きいのは7cmくらいになる。*X. laevis*の約2倍のサイズ。  
飼育用水がコーヒー色になっていれば約30日に変態する。( *X. laevis*なら45日くらい) 温度管理が大変なだけで、*Xenopus*類では一番簡単とのこと。

*Xenopus tropicalis* を入手するには:  
広島大学・両生類研究施設 ナショナルバイオリソースプロジェクト  
<http://home.hiroshima-u.ac.jp/~amphibia/NatBio/index.html>

# 水槽

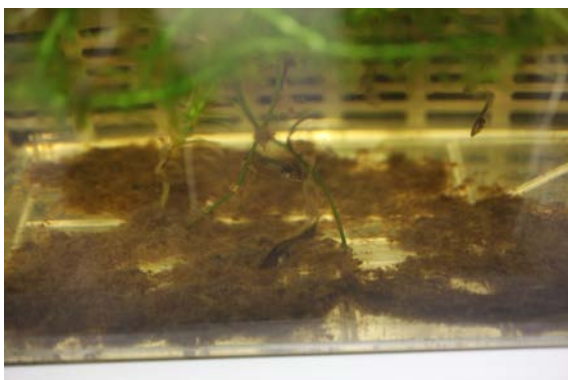


水槽用インキュベータ。温度一定で光が入らないようにする。



水の色は、もっと茶色い方がいい(ただし、透明感のある茶色であること)。

水槽サイズ: 32cm(幅) x 24cm(高) x 22(奥)

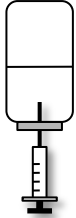


← 枯れた水草、食べ残しのエサ、糞などが堆積したもの。  
微生物が増えるので、これがいい。

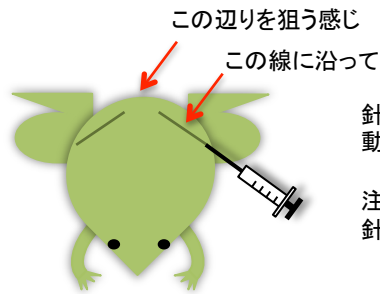
# *Xenopus tropicalis* IVF

hCG (1000unit/ml) 10 unit 注射 …… オス、メス両方(メスは複数匹用意しておいた方がいい。  
卵を産まない場合もあるから)

生理食塩水(0.65%)



針: 26G~29G 細い方がいい



針を刺したら(皮かたい)、針先が中で動く。  
動かないようなら、臓器を刺してるかも。

注射後、手を緩めてしばらく浸透させる。  
針を抜いて、液が出てこなければOK。

上からぎゅっと押さえる  
(下にキムタオルを敷くと大人しくなる)

↓  
25°Cのインキュベーターに入れておく

↓ 14時間後

hCG 100 unit 注射 …… オス、メス両方

↓  
25°Cのインキュベーターに入れておく

↓ 3~4時間後

卵を産み始めたら作業開始

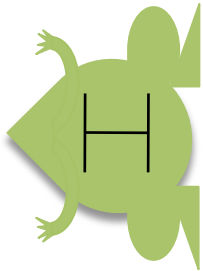


オス: 麻酔(氷に埋める) …… 15~30分。30分以上で死ぬ。

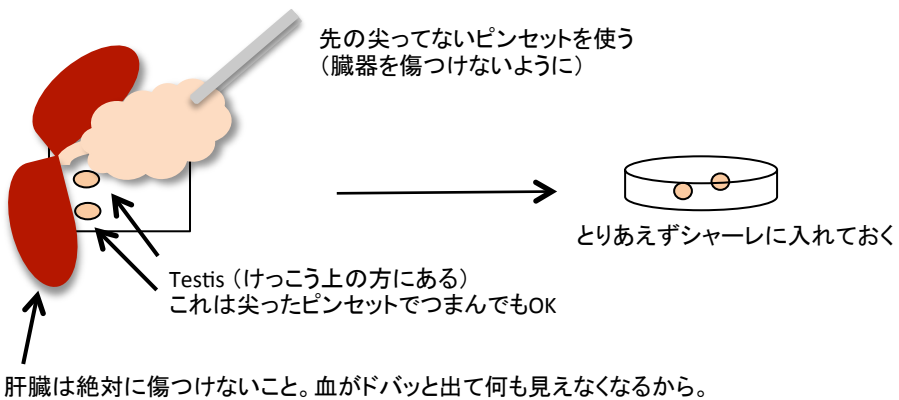
↓ 麻酔してる間に、X1 MBS Buffer + 0.5% BSA を作る。

X1 MBS Buffer	3ml	→ 4°C
BSA	15mg	

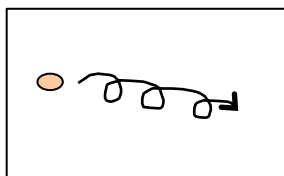
- ↓ 腹側から切る。  
(ピンセットでつまみ上げて、ハサミで切っていく)



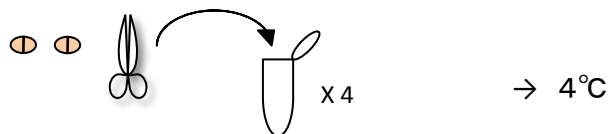
- ↓ 皮を切る
- ↓ 腹筋(もう一枚)を切る
- ↓ 腸を引き出す



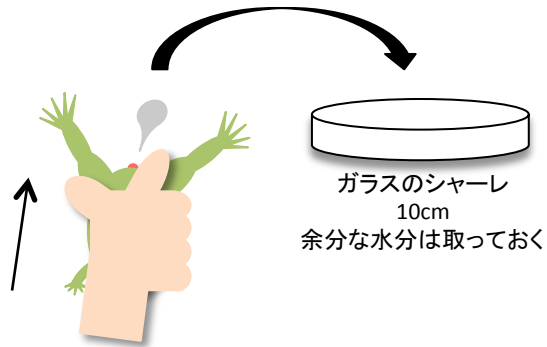
- ↓ testisをキムワイプの上で転がして血を拭き取る



- ↓ 半分に切って置いておく



↓ 卵をしぼる



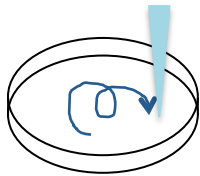
上(頭)から下に向けて指で押すと卵が出てくる  
(先にカエルを拭いておくと、水がシャーレに垂れにくい)

↓ X1 MBS buffer + 0.5% BSA 300 $\mu$ l を加えて、ホモジナイザーで潰す。  
精子が出てきて白濁する

X1 bufferでは受精しない。この後入れる X0.1 bufferで受精する

↓ 精子を卵にかける (ピペットマンで)

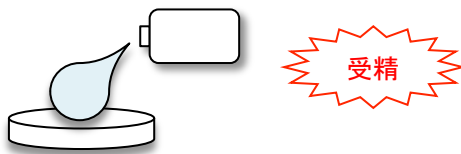
↓ かき混ぜる



1ml チップを底に押し付けながらかき混ぜる (こうすると卵が潰れない)

↓ しばらく待つ。5分くらい

↓ X0.1 MBS buffer を注ぐ (多めに)



↓ 25°Cのインキュベーターに入れる

↓ 1時間後に脱ゼリー

45分くらいで卵割が始まる。

## 脱ゼリー

- ↓ 2% システイン (pH7.8~8.0) を入れる
- ↓ シェーカーで揺する(ゆっくり)、10分くらい  
底に貼り付いていた受精卵が動くようになればOK
- ↓ X0.1 MBS buffer で4~5回洗う
- ↓ 25~28°Cでインキュベート

※ 脱ゼリーをしておくことで、ひとつひとつの卵を単離できるようになる。発生がうまくいかなかった胚を取り除いたり、ステージング後に選り分ける際にとっても重要。

## X10 MBS buffer

		500ml
NaCl	880 mM	25.7 g
KCl	10 mM	0.37 g
CaCl <sub>2</sub>	7 mM	0.38 g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	10 mM	1.23 g
HEPES	50 mM	5.95 g
NaHCO <sub>3</sub>	25 mM	1.05 g

→ Adjust to pH7.4 by NaOH

## 2 % Cysteine

L-cysteine hydrochloride monohydrate [SIGMA #C7880-100G] 10 g / H<sub>2</sub>O 500 ml

→ Adjust to pH7.8~8.0 by NaOH