

# 沿面放電処理によるスマ魚卵への蛍光分子導入

## Introduction of Fluorescent Molecules into Fish Embryo

### Using Surface Discharge

愛媛大理工<sup>1</sup>, パール工業<sup>2</sup>, ワイ'ズ<sup>3</sup>

○(M2) 船越 健太<sup>1</sup>, 池田 善久<sup>1</sup>, 木戸 祐吾<sup>1,2</sup>, 佐藤 晋<sup>1,3</sup>, 神野 雅文<sup>1</sup>

Ehime Univ.<sup>1</sup>, Pearl Kogyo Co., Ltd.<sup>2</sup>, Y's Corp.<sup>3</sup>

○Kenta Funakoshi<sup>1</sup>, Yoshihisa Ikeda<sup>1</sup>, Yugo Kido<sup>1,2</sup>, Susumu Satoh<sup>1,3</sup>, Masafumi Jinno<sup>1</sup>

E-mail: mjin@mayu.ee.ehime-u.ac.jp

**1. 研究背景** 日本の水産業は高い養殖技術を有しているが、育種や品種改良については、農作物や家畜のように行われていない。これは養殖の対象となる魚種の性成熟には数年から十数年を要するため、世代を重ねる選抜育種が困難であるためである。魚卵に任意の遺伝子を簡便かつ大量に導入する技術が確立できれば、育種や品種改良を短期間で実現可能になる。そこで我々は、動物細胞への遺伝子導入で実績のあるプラズマ遺伝子導入法を応用し、沿面放電による魚卵への分子導入の可否を評価した。

**2. 実験方法** 実験装置の概略を図1に示す。20 kHz の正弦波電圧を半波整流し、負極の電極2本と GND 電極2本の4本の電極により、10 µg/µl の蛍光色素(FITC-Dextran: 10 kDa)含む 50 %海水に浸した魚卵に対し1秒間隔で2回の放電処理を行った。印加電圧 6.5 kV、照射時間は 100 ms とした。実験には愛媛県が開発に力を入れているスマ(スズキ目サバ亜目サバ科スマ属)の魚卵を用いた。電極-液面間距離は 1 mm とした。3.5 cm ディッシュに溶液を 1080、1550、2020 µl 準備し、放電電流ピーク値を変化させ、導入効率および生存率を評価した。導入効率は導入稚魚数/処理魚卵数、生存率は孵化稚魚数/処理魚卵数で求めた。

**3. 結果・考察** スマ魚卵に対する FITC-dextran の導入効率および孵化生存率の結果を図2に示す。沿面放電処理を行ったスマ魚卵の孵化生存率は、ピーク電流値が小さい程生存率が高い結果となった。また FITC-dextran の導入効率は、2020 µl でピーク電流値が 70 mA 前後で最大となり、33 %であった。FITC-dextran の蛍光が確認された稚魚は、卵黄部を除く腹部から頭部にかけて強い蛍光を確認した。これらの部位は、コントロールでは蛍光しておらず、放電処理により FITC-dextran が魚卵卵膜を通過し、胚盤へ導入されたと判断される。

スマ魚卵に対する FITC-dextran の導入率および生存率は、放電ピーク電流値と液量に依存していることが確認された。電流の最適値は液量に依存せず 70 mA 前後で共通であり、魚卵への分子導入機序に電氣的要因の寄与が大きいことが明らかとなった。また、液量依存性については、放電処理によって生成された活性種濃度が寄与していると考えられる。

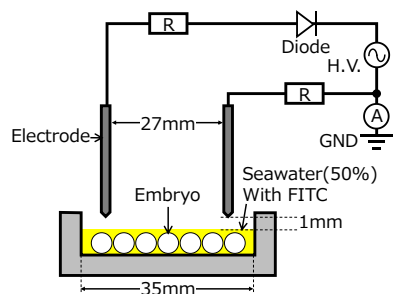


Fig.1 Schematics of experiment.

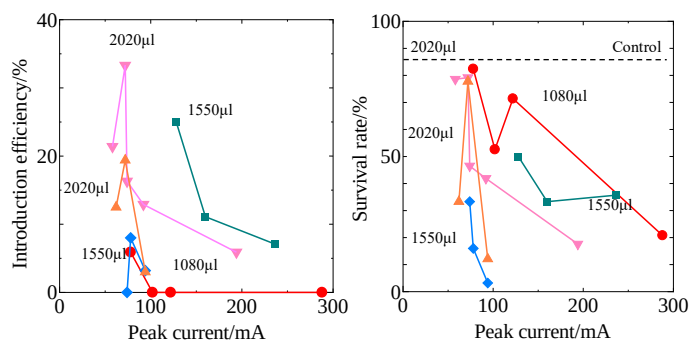


Fig.2 Introduction efficiency and survival rate.