

# スマの生殖腺の保存プロトコルの確立に向けて

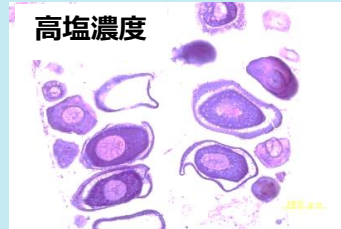
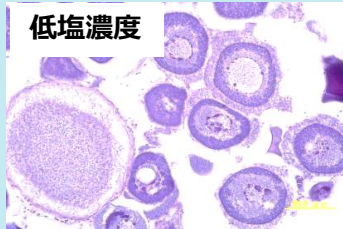
問合せ先：南予水産研究センター 西浦ステーション TEL(0895)-73-7112

我々は小型マグロ類スマ (*Euthynnus affinis*) を対象に優良形質個体 (好成長や低温耐性など) の大量生産に向けて、借腹生産技術の開発を進めている。すなわち、予め凍結保存した優良形質個体の生殖腺中の生殖幹細胞を代理親に移植することで優良形質個体の育種を効率化することを目指している。本研究では、優良形質個体の生殖腺より生殖幹細胞を分画するまでの「**生殖腺の保存方法 (短期保存)**」ならびに、**移植するまでの「生殖幹細胞の凍結保存方法 (長期保存)**」の検討をおこなった。



## 実験1：生殖腺の保存方法の検討

異なる濃度のリン酸緩衝液 (PBS) および牛胎児血清 (FBS) の混合液に生殖腺断片を保存し、その後組織切片を観察した。本実験より、**生殖腺の保存には比較的高塩濃度のPBSとFBSの混合液が適している**ことが分かった。



塩濃度が高い保存液ほど細胞は収縮 (脱水) した。



FBS未混合

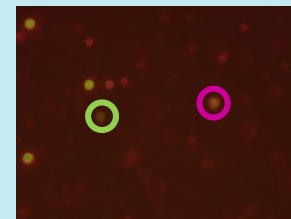


FBS混合

高塩濃度PBSとFBS混合液が細胞の生存状況が良かった。

## 実験2：生殖幹細胞の凍結保存方法の検討

生殖腺断片を市販の耐凍剤に比率が1:0.5、1:1または1:2になるよう浸漬し、 $-80^{\circ}\text{C}$ で凍結保存した。解凍後、生殖幹細胞の生存率を計測した。本実験より、**生殖腺断片・耐凍剤比率1:1が生殖幹細胞の保存に最も適している**ことが分かった。



○が死細胞  
○が生細胞

免疫学的手法により死細胞と生細胞を可視化し生存率を計測した。

|   |       | 凍結剤：生殖腺断片    |      |       |
|---|-------|--------------|------|-------|
|   |       | 2:1          | 1:1  | 0.5:1 |
| 雌 | 26.8% | <b>45.7%</b> | 0.0% |       |
| 雄 | 12.5% | <b>29.9%</b> | 3.0% |       |

雌雄ともに生殖腺断片・耐凍剤比率1:1が生殖幹細胞の生存率が高かった。