

1. 事業細目	淡水真珠緊急対策調査研究費	予算額	10,000 千円
2. 研究名	イケチョウガイ真珠分泌細胞の培養	予算区分	県単
3. 研究期間	62年度～ 年度		
4. 担当者	遠藤		
5. 目的	外套膜組織を培養し、真珠形成形質の細胞レベルでの解明を行い優良真珠の安定生産をめざす。 その第1段階として培養液の確立と初代培養の確立を目的とする。		
6. 方法	2⁺のイケチョウガイの外套膜を切り出しカナマイシンを含むF B - B S S中で5回外套膜片を洗った。 次に片を1～2mmの小片に細切し、この小片をT D₁₅フラスコ中で培養した。 試作した培養液を表1に示す。F B - B S Sは、町井の処方によるもの。H.s.アミノ酸液の組成は、鈴木（1987）のイケチョウガイ体液のアミノ酸組成より作成。ビタミン類液、核酸誘導体液はM199培地の組成より作成。培養は炭酸ガス装置のない恒温器で25℃で行った。 培養の判定は、東（1985）の遊出指標（C.I.）を用いた。		
7. 結果の概要	(1) 12種の試作培地の中で細胞の遊出が良かったものは、H.s.M-2、4、5、6であった。 (2) 遊出した細胞は、外観上2種類に分けることができた。1種類は、ほぼ球形の細胞であり、もう1種類は繊維芽様細胞であった。 (3) 細胞の遊出は、培養開始日を、第1日目としてはば4～5日でピークに達し、それ以上の遊出は認められず、増殖もみられなかった。 (4) イケチョウガイの体液の浸透圧は、約50mOsmであるが、遊出した細胞は試作培地の浸透圧64～140 mOsmの範囲では、顕著な変性は示さなかったが、高い浸透圧の培地での個々の細胞の球形化が多いように思われた。 (5) 細胞の遊出は、同じ試作培地でも細切したイケチョウガイ外套膜小片により大きく差があり、良く遊出したH.s.M-2、4、5、6でもC Iが3でもう少しでシートを形成しそうなものもあれば、C Iが0で全く遊出の認められない小片もあった。 (6) 遊出した細胞の定着している期間も小片によりまちまちであり、25日以上定着している細胞もあれば、7日程度ではく離してしまう細胞もあった。しかし、おおむね15日以上での定着はみられた。		

8. 主要成果の具体的数値

表1 試作培地の組成

	HaM	HaM	HaM	HaM	HaM	HaM	HaM	HaM	HaM	HaM	HaM	HaM
	-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9	-10	-11	-12
10× FB-BSS	10	5	3									
10× 9/10FB-BSS				10	10	10	5	5	5	3	3	3
100× H.s. アミノ酸液	1	0.5	0.3	1	1	1	1	1	1	1	1	1
3%グルコース液	1	0.5	0.3									
1%グルコース液				1	1	1	1	1	1	1	1	1
100× ビタミン類液	1	0.5	0.3	1	1	1	1	1	1	1	1	1
100× 核酸誘導体液	1	0.5	0.3	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1%ラクトアルブミン水解物	1	0.5	0.3	1	1	1	1	1	1	1	1	1
FCS	10	5	3	10	5	3	10	5	3	10	5	3
ペニシリンG (200mg/ℓ)	1	0.5	0.3	1	1	1	1	1	1	1	1	1
カナマイシン (200mg/ℓ)	0.1	0.05	0.03	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
D.W.	75.9	86.95	92.17	73.9	78.9	80.9	78.9	83.9	85.9	80.9	85.9	87.9
計	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
浸透圧 (mOsm)	140	90	64	131	111	111	112	99	87	103	83	76

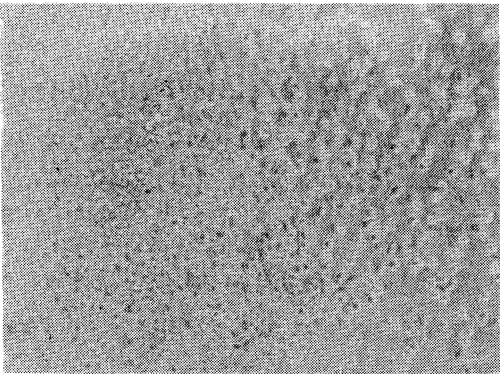


図1 H.s.M-5 (11日目) 細胞シートを形成しつつある。細胞は球形のものと繊維芽様細胞とがまじっている。

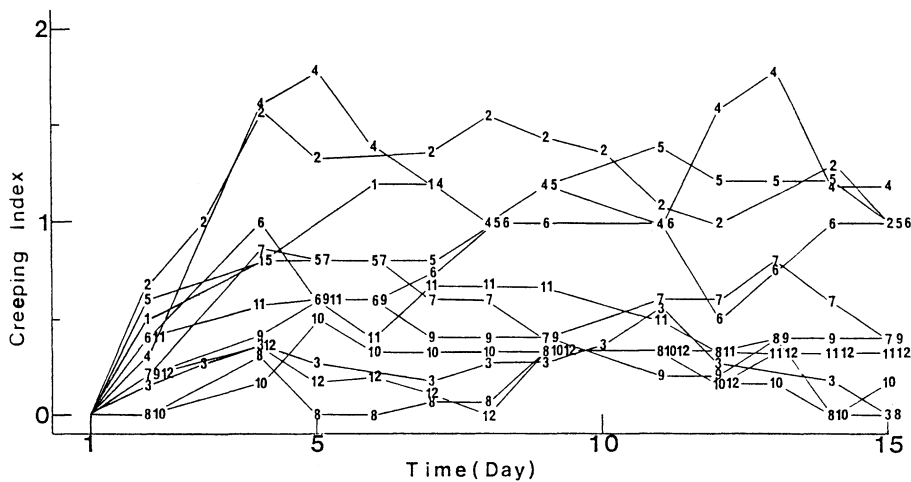


図2 試作培地の細胞遊出状況
図中の数字は培地No。
各CI値は、各培地6小片のCI値の平均値

9. 今後の問題点

- 細胞株の樹立への培地・方法の検討
- 真珠質分泌細胞への分化の方法の検討

10. 次年度の具体的計画

- (1) 培地組成のねりなおしと既成培地による培養の検討
- (2) 培養できる細胞の由来等の確認
- (3) 細胞分化因子等による分泌細胞への分化実験