



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	サケ SE （シリーズ28バイオテクノロジー素材としての培養細胞 哺乳類以外の有用細胞（I） 魚類細胞）
Author(s)	吉水, 守
Citation	蛋白質核酸酵素, 36(14), 2444-2445
Issue Date	1991-11
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/54798
Rights	©1991 共立出版 共立出版の許可を得て、本コレクションに収録したものです。
Type	journal article
File Information	sosetsu5a.pdf



くつかの魚類の細胞について、その特性を解説していた。これらの細胞を用いて、哺乳類細胞を用いた研

究とはまた異なった新分野が展開されることが期待される。

サケ SE

■ 哺乳類以外の有用細胞 (I) 魚類細胞 ■

吉 水 守 (北海道大学水産学部)

【起源】 サケ (*Oncorhynchus keta*) の胚体から日本大学の渡辺ら¹⁾によって樹立された。

【性質・特徴】

形態 当初、一部に上皮細胞が混じっていたが、現在は繊維芽細胞のみで構成されている。

染色体構成 染色体数は 53 から 79 の範囲で測定され、モードは 62 にあった。サケの染色体数 ($2n=74$) に比べ、やや減少している。しかし一部の細胞は 115 から 125 の染色体を有し ($=4n-\alpha$)、継代により染色体数の増加が認められている。

【培養方法】

培養液 10% ウシ胎児血清を含むイーグル MEM (minimum essential medium) を用いる。炭酸ガス恒温器を使用しないときは Tris 緩衝液を加える。緩衝液は Hepes より Tris のほうがよい。ライボピッツの L-15 培地を使用してもよい。

増殖動態 発育温度範囲は 4°C から 25°C であり、至適発育温度は 20°C である。15°C あるいは 20°C で $1.5 \sim 2.0 \times 10^5$ 個細胞/ml で培養すると 5 日から 7 日で飽和密度になる。フラスコを用い上記濃度で細胞を培養した場合、15°C で約 1 カ月程度は生存が可能である。

培養の注意点 継代の際、細胞を 5~7 倍に希釈すると上記の濃度になる。保存株は 15°C で培養し、約 1 カ月ごとに継代している。炭酸ガス恒温器は通常使用していない。凍結保存は 10% の割合に DMSO を加えたウシ胎児血清に 15°C 培養 7 日目の細胞を約 10^6 個/ml に懸濁し、 $-1^\circ\text{C}/\text{分}$ 程度の温度勾配で -80°C まで下げ、その後、液体窒素中に保存している^{2,3)}。10% DMSO を添加した MEM₁₀Tris でもほぼ同様の結果が得られている。

【研究応用】

筆者らは魚類病原ウイルスの研究に魚類培養細胞を使用している。筆者らが樹立した細胞を含め、現在 40 種類以上の細胞を継代培養している⁴⁾。魚類病原ウイルス 11 種を対象に、これら魚類由来細胞のウイルス感受性およびこれらの細胞でのウイルス増殖量を検討した結果では、この SE 細胞が最も広いウイルス感受性をもち、代表的な魚類病原ウイルスであるサケ科魚類の伝染性脾臓壊死症ウイルス (IPNV)⁵⁾をはじめ、伝染性造血器壊死症ウイルス (IHNV)⁵⁾、サケ科魚類のヘルペスウイルスである *Oncorhynchus masou* ウイルス⁶⁾や *Herpesvirus salmonis*⁷⁾ の培養にも適した細胞である⁴⁾。なお、魚類培養細胞およびそのウイルス感受性に関しては筆者らの報告⁴⁾のほか、Wolf と Mann の総説⁸⁾に詳しく述べられている。

【文 献】

- 1) Watanabe, T., Sano, M., Ishida, Y., Mizusawa, Y., Michikawa, M.: *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, **46**, 1203-1209 (1980)
- 2) 吉水 守: 凍結保存——動物・植物・微生物 (酒井昭經), pp. 94-96, 朝倉書店 (1987)
- 3) 吉水 守: *海洋*, **22**, 154-158 (1990)
- 4) Yoshimizu, M., Kamei, M., Dirakubusarakom, S., Kimura, T.: *in Invertebrate and Fish Tissue Culture*, pp. 207-210, Japan Scientific Societies Press, Tokyo/Springer-Verlag, Berlin (1988)
- 5) Wolf, K.: *Fish viruses and Fish viral diseases*, 476 pp., Comstock Publishing Associates, Cornell University Press, New York (1988)
- 6) Kimura, T., Yoshimizu, M., Tanaka, M., Sannohe, H.: *Fish Pathol.*, **15**, 143-147 (1981)
- 7) Wolf, K., Darlington, R. W., Taylor, W. G., Puimby, M. C., Nagabayashi, Y.: *J. Virol.*, **27**, 659-669 (1978)
- 8) Wolf, K., Mann, J. A.: *In Vitro*, **16**, 168-179 (1980)

付表 1. 筆者らの研究室で継代保存中の細胞 (担当: 吉水 守)

細胞名	起源と性質		培養条件		研究応用 (ウイルス感受性 ^{b)})	文献
	魚 種	細胞形態	培地 ^{a)}	培養温度		
AF-29	アユ	繊維芽細胞	L-15	20°C	IP, IH, HR, PF, CS	8
AS-6	大西洋サケ	繊維芽細胞	MEM	20°C	IP, IH, CS, OM, HS	8
ASE	大西洋サケ	上皮細胞	MEM	20°C	IP, IH, HR, SV, OM, HS	8
BB	ブラウンブルヘッド	繊維芽細胞	MEM	30°C	IP, IH, HR, CS	6, 8
BF-2	ブルーギル	繊維芽細胞	MEM	30°C	IP, IH, HR, SV, EA, EX, PF	6
CCO	アメリカナマズ	上皮細胞	L-15	30°C	SV, EX, PF, CC	6
CHH-1	サケ	上皮細胞	MEM	20°C	IP, IH, SV, EA, EX, CC, CS, OM, HS	3, 8
CHSE-214	マスノスケ	上皮細胞	MEM	20°C	IP, IH, SV, CS, OM, HS	3, 8
EK-1	ウナギ	繊維芽細胞	MEMh	30°C	IP, IH, HR, EA, EX, PF, CC, CS	2, 8
EO-2	ウナギ	繊維芽細胞	MEMh	30°C	IP, IH, HR, SV, EA, EX, PF, CS	1, 8
EPC	コイ	上皮細胞	MEM	30°C	IP, IH, HR, SV, EA, EX, PF, CS	6, 8
EPG	金魚	上皮細胞	L-15	30°C	IH, HR, SV, EA, EX, PF	c)
FHM	ファットヘッドミノー	上皮細胞	L-15	30°C	IP, IH, HR, SV, EA, EX, PF	6, 8
FRF	キツネメバル	繊維芽細胞	L-15	25°C	未検討	c)
GSE	コノシロ	上皮細胞	MEM	20°C	IP, IH, PF	c)
HF-1	ヒラメ	繊維芽細胞	L-15	20°C	IH, HR	8
JSKG	シマアジ	上皮細胞	L-15	25°C	IP, IH, HR, SV, EA, EX, PF, CC, CS	c)
KO-6	ヒメマス	上皮細胞	MEM	20°C	IP, IH, EX, PF, CS, OM, HS	3, 8
KRE	クエ	上皮細胞	MEM	25°C	IP, SV, EA, EX, PF, CC	c)
KRE-2	クエ	上皮細胞	L-15	25°C	IP, IH, HR, SV, EA, EX, PF, CC, CS	c)
MSE	サクラマス	上皮細胞	MEM	20°C	IH, OM, HS	8
PAS	カンパチ	上皮細胞	L-15	25°C	IP, IH, SV, EA, EX, PF, CC, CS	c)
PF	ワカサギ	上皮細胞	L-15	20°C	未検討	c)
RF-1	クロソイ	繊維芽細胞	L-15	20°C	未検討	c)
RTE	ニジマス	上皮細胞	MEM	20°C	IP, IH, HR, SV, EA, EX, PF, CS, OM, HS	8
RTE-2	ニジマス	上皮細胞	MEM	20°C	IP, IH, HR, SV, EA, EX, PF, CS, OM, HS	8
RTH	ニジマス	上皮細胞	MEMh	20°C	IP, IH, HR, EA, EX, PF, CS, OM, HS	3, 8
RTG-2	ニジマス	繊維芽細胞	MEM	20°C	IP, IH, HR, EA, PF, OM, HS	6, 8
RTT	ニジマス	繊維芽細胞	MEM	20°C	IP, IH, HR, EA, PF, CS, OM, HS	8
SBK	マダイ	繊維芽細胞	MEM	25°C	IP, IH, HR, PF	8
SE	サケ	繊維芽細胞	MEM	20°C	IP, IH, HR, EA, EX, SV, PF, CC, CS, OM, HS	5, 8
SEH	サケ	上皮細胞	MEM	20°C	IP, IH, HR, SV, EA, EX, PF, CS	8
SET	サケ	上皮細胞	MEM	20°C	IP, IH, HR, OM, HS	8
SF-2	チカ	繊維芽細胞	L-15	20°C	未検討	c)
SHH	キノボリウオ	上皮細胞	MEM	25°C	IP, IH, HR, SV, EA, EX, PF	c)
STE-137	スチールヘッドトラウト	繊維芽細胞	MEM	20°C	IP, IH, HR, SV, EA, EX, PF, CS, OM, HS	6, 8
WF-1	ワカサギ	繊維芽細胞	MEM	20°C	IH, HR, SV, EA, EX, PF	8
WF-2	ワカサギ	上皮細胞	MEM	20°C	IP, IH, HR	8
WSF	チョウザメ	上皮細胞	L-15	20°C	IP, IH, HR	c)
YNK	サクラマス	繊維芽細胞	MEM	20°C	IP, IH, HR, EA, EX, PF, CS	4

a) L-15: 10% FBS 添加 Leibovitz, MEM: 10% FBS 添加 Minimum Essential Medium (Tris 緩衝液もしくは炭酸緩衝液), MEMh: 10% FBS 添加 Minimum Essential Medium (Hepes 緩衝液)。

b) IP: Infectious pancreatic necrosis virus (IPNV), IH: Infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV), HR: Hirame rhabdovirus (HRV), SV: Spring viremia of carp virus (SVCV), EA: Eel virus from America (EVA), EX: Eel virus from Europe X (EVEX), PF: Pike fry rhabdovirus (PFRV), CS: Chum salmon virus (CSV), CC: Channel catfish virus (CCV), OM: *Oncorhynchus masou* virus (OMV), HS: *Herpesvirus salmonis*. 文献7を参照。

c) 未発表。

- 1) Chen, S. N., Kou, G. H.: *Fish Pathology*, 16, 129-138 (1981)
- 2) Chen, S. N., Ueno, Y., Kou, G. H.: *Proc. Natl. Sci. Coun. Roc.* 6, 93-100 (1982)
- 3) Lannan, C. N., Winton, J. R., Fryer, J. L.: *In Vitro*, 20, 671-676 (1984)
- 4) Watanabe, T., Kobayashi, N., Sato, Y., Ishizaki, Y.: *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 44, 415-418 (1978)
- 5) Watanabe, T., Sano, M., Ishida, Y., Mizusawa, Y., Michikawa, M.: *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 46, 1203-

1209 (1980)

- 6) Wolf, K., Mann, J. A.: *In Vitro*, 16, 168-179 (1980)
- 7) Wolf, K.: *Fish viruses and Fish viral diseases*, 476 pp., Comstock Publishing Associates, Cornell University Press, New York (1988)
- 8) Yoshimizu, M., Kamei, M., Dirakubusarakom, S., Kimura, T.: *in Invertebrate and Fish Tissue Culture*, pp. 207-210, Japan Scientific Societies Press, Tokyo/Springer-Verlag, Berlin (1988)