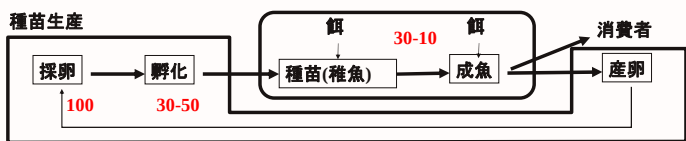


# 魚卵の成熟状態の監視を目的とした誘電特性測定

白樫 了(東京大学), Vladimir Soukhoroukov (Universität Würzburg)

## 養殖と歩留

完全養殖 = 成体から次世代の個体を生殖, 生育するサイクルが確立した持続可能な養殖

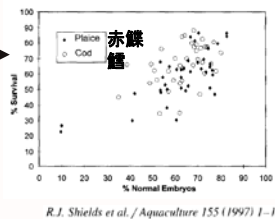


孵化率, 孵化後の生残率が各30-50%

正常胚から孵化した稚魚は生残率が高い

歩留の向上には異常胚のスクリーニング  
受精卵の卵割-成熟状態の監視が重要

魚卵の誘電特性から異常を早期に判断

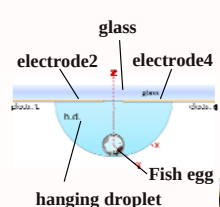


R.I. Shields et al. / Aquaculture 155 (1997) 1-12

## 実験装置と測定方法

<実験装置図>

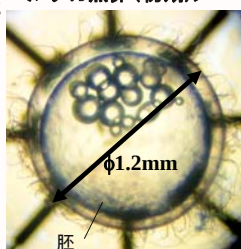
魚卵:  
メダカ(*Oryzias latipes*)  
卵割初期, 中期, 後期



実験装置:

- 電極間隔: 1mm,
- 印加電圧: 7.5V,
- 周波数: 100~20MHz

<メダカ魚卵(初期)>

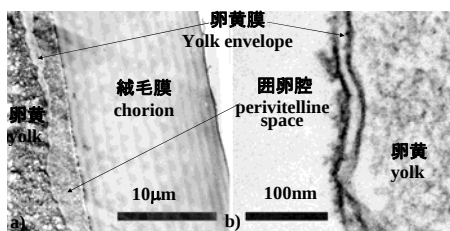


スペクトルの測定方法:

- 導電率8-20mS/cmの液滴内に魚卵を懸垂
- 魚卵を倒立顕微鏡ビデオで撮影しつつ, 電場を印加する
- 各周波数で魚卵1/2回転-1回転に要する時間を動画より測定し, 角速度を算出
- 同じ卵割段階で最低3サンプルについて測定

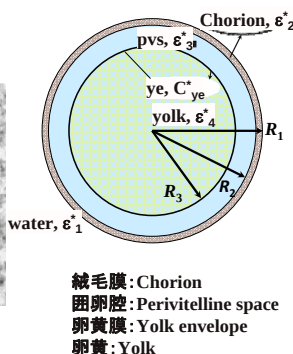
## メダカ卵の構造と各部位のサイズ

魚卵を樹脂で固定し, 透過電顕で切片を観察



<透過電顕写真>

絨毛膜(厚さ:  $R_1-R_2$ ), 卵卵腔(厚さ:  $R_2-R_3$ )に囲まれて10nm以下の膜で囲まれた卵黄, 胚が存在する。



<魚卵 モデル>

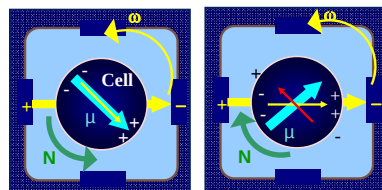
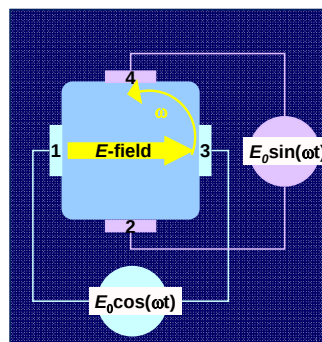
## 初・中期のメダカ卵の電気特性

- 絨毛膜と卵卵腔の導電率は支持液の導電率に依存する。  
→ 絨毛膜はイオンを透過する。
- 卵黄膜は電気導電性がある。→ 多くの体細胞の原形質膜はほぼ0

| Table 1 Calculated parameters    |                         |                           |
|----------------------------------|-------------------------|---------------------------|
| Parameters                       | Symbol                  | Known parameters          |
| External conductivity (variable) | $\sigma_1$              | 1, 5, 11 mS/m             |
| Chorion conductivity             | $\sigma_2$              | $\sim 0.5 \cdot \sigma_1$ |
| Chorion permittivity             | $\epsilon_2 \epsilon_0$ | $\sim 30 \epsilon_0$      |
| pvs conductivity                 | $\sigma_3$              | $0.3 \pm 30 \sigma_1$ S/m |
| pvs permittivity                 | $\epsilon_3 \epsilon_0$ | $78 \epsilon_0$           |
| yolk envelope conductance        | $G_{ye}$                | $0.2$ S/m <sup>2</sup>    |
| yolk envelope capacitance        | $C_{ye}$                | $4-5$ mF/m <sup>2</sup>   |
| yolk core conductivity           | $\sigma_4$              | $0.35-0.40$ S/m           |
| yolk core permittivity           | $\epsilon_4 \epsilon_0$ | $\sim 60 \epsilon_0$      |

Shirakashi, R., et al., BBRC 428 (2012) 127.

## Electrorotation法による魚卵の回転と有効電気物性の測定(1)



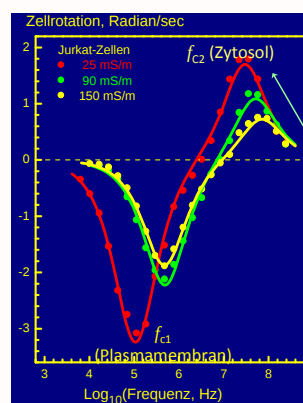
回転電場の周期  
↓  
細胞内のイオン分極と緩和時間  
↓  
細胞内のイオン分極と緩和時間  
↓  
細胞膜帯電緩和と時間

Hz~数100MHz帯の回転電場内に誘電分極する粒子(細胞等)をおき, 種々の周波数における粒子の回転速度を測定する。

→ Electrorotation Spectrum

- 回転電場により分極した粒子がもつ双極子の外積が粒子に作用する回転トルクNになる。  $N = \vec{\mu} \times \vec{E}$
- 粒子が分極するまでに必要な緩和時間があるので, 双極子と回転電場の方向は必ずしも一致しない。
- 位相が90度ずれた周波数で, 有効双極子にかかるトルクが最大となる。

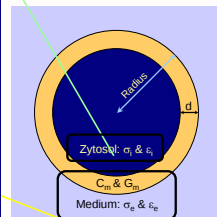
## Electrorotation法による魚卵の回転と有効電気物性の測定(2)



Electrorotation Spectrum

$f_{c1} \rightarrow f_{c1} R = \sigma_e / (\pi C_m) + R G_m / (2 \pi C_m)$   
膜外周の電気二重層の形成による緩和  
~細胞外の導電率と膜誘電容量・導電率~

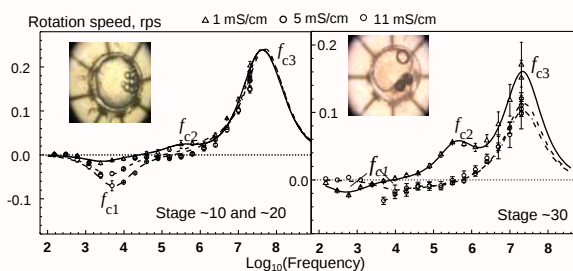
$f_{c2} \rightarrow f_{c2} = (\sigma_i + 2\sigma_e) / \{2\pi(\epsilon_i \epsilon_0 + 2\epsilon_e \epsilon_0)\}$   
細胞内イオンの分極緩和  
~細胞内の導電率・誘電率~



スペクトルのピーク位置より各部位の電気特性がわかる

1細胞膜の電気特性モデル

## メダカ卵の回転スペクトル

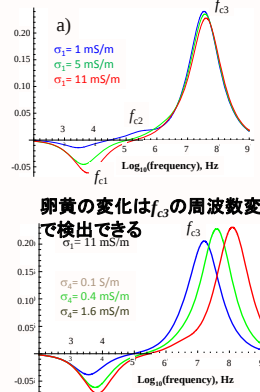


- 初期と中期のスペクトルは, ほぼ同じ。
- すべてのサンプルで3つのピーク( $f_{c1}$ ,  $f_{c2}$ ,  $f_{c3}$ )が存在。
- 懸濁液の導電率に対して弱いピーク $f_{c2}$ ,  $f_{c3}$ が敏感。
- 高周波のピーク $f_{c3}$ は, 初中期と後期で変化しない

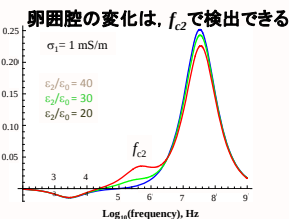
## ピークと電気特性の関係

$f_{c1}$ ,  $f_{c2}$ は, 支持液の導電率に依存する

卵黄膜の変化は $f_{c1}$ で検出できる



卵黄の変化は $f_{c3}$ の周波数変化で検出できる



後期には卵卵腔の誘電率が下がっている