

所属・資格 生命科学科・教授

申請者氏名 岩本 政明

研究課題		ゾウリムシの安定的な凍結保存方法の確立
報告の概要	研究目的 および 研究概要	<p>モデル生物である単細胞真核生物のゾウリムシには老化現象が知られており、継代培養を続けると、老化によって細胞構造や機能にさまざまな異常が生じ、最終的には死滅する。特定の突然変異株など貴重な細胞株を老化によって失うことを防ぐためには、細胞を凍結保存して老化の進行を止める必要がある。しかし、ゾウリムシの安定的な凍結保存方法は、これまで確立されていないのが現状である。凍結保存は老化の抑制に加え、培養におけるコンタミネーションの防止、維持コストと労力といった利点もあり、限られた人数やスペースで多数の細胞株を管理することを可能にする。本研究では、高額な装置や特殊な薬剤を使用せずに、高い生存率を維持できるゾウリムシの凍結保存方法の開発を試みた。</p>
	研究の結果	<p>ゾウリムシと同じ繊毛虫であるテトラヒメナでは、すでに安定した凍結保存法が確立されており、通常、十分に飢餓化させて細胞サイズを小さくした状態で凍結される。そこで、本研究ではゾウリムシにおいても同様の手法が有効かを検証するため、凍結前に十分に飢餓化させた細胞を、緩慢冷却 (-1°C/分) した後、-80°C で数日間凍結し、解凍して生存細胞率を測定した。その結果、飢餓細胞を用いた場合には解凍後に生存細胞を確認できなかったが、増殖細胞を用いた場合にはわずかに生存細胞を見られた。これにより、ゾウリムシの場合、飢餓細胞は凍結に適さないことが明らかとなった。</p> <p>次に、細胞懸濁溶液に高分子化合物のメチルセルロース (MC) を添加し、増殖細胞を凍結、融解した後の生存率への影響を検証した。MC を 0.5%(w/v) 添加したところ、生存率が約 38 倍に上昇し、MC の添加がゾウリムシの安定的な凍結保存に有効である可能性が示された。</p>
	研究の考察・反省	<p>テトラヒメナとは異なり、ゾウリムシでは凍結に増殖細胞を用いる方が効果的であることが明らかとなった。テトラヒメナでは飢餓によって細胞を小さくすることが有効であったが、ゾウリムシでは飢餓細胞を凍結すると、融解後に形態の崩れた個体が多く観察されたことから、飢餓によって細胞構造が脆弱化し、凍結融解に耐えるための細胞剛性を失う可能性が示唆された。</p> <p>また、MC の添加により融解後の生存率が上昇する傾向が見られたが、この効果には実験ごとのばらつきが大きく、十分な再現性を得るには至らなかった。そのため、MC の最適濃度についても十分な検証ができなかった。今後は引き続き MC の効果を検討し、再現性の高いデータの取得を目指したい。</p>
研究発表 学会名 発表テーマ 年月日/場所	<p>※この欄は、本報告書提出時点で判明している事項についてご記入ください。</p>	
研究成果物 テーマ 誌名 巻・号 発行年月日 発行所・者	<p>今回得られた研究結果は予備実験の段階を超えるものではなく、現時点では外部に発表できる水準に達していない。したがって、今年度は本研究に関する発表を行わなかった。次年度以降も本課題に継続して取り組む予定であり、発表に十分なデータが得られ次第、今年度の研究結果も含め、速やかに発表する予定である。</p>	