
[成果情報名] 細胞等の超急速ガラス化手法 (FV 法) の開発

[要約] 微量のガラス化液で超急速ガラス化を可能にする FV 法 (Fukuoka Vitrification Method) を考案した。この方法で細胞等を簡易に保存できる。

[キーワード] ガラス化、保存

[担当部署] 家畜部・畜産工学チーム

[連絡先] 092-925-5232

[対象作物] 乳用牛・肉用牛・豚 [専門項目] バイテク [成果分類] 製品開発

[背景・ねらい]

種々の細胞を長期間保存する方法として近年ガラス化という方法が考案され、牛胚移植技術においても胚をガラス化保存すると融解後の生存性が一般的に高いため試験段階で利用されつつある。しかし、多くのガラス化の手法は特許で押さえられており、実用する場合に抵触や使用制約が懸念されるため、県独自の技術開発が望まれる。

そこで、家畜類の細胞等を簡易な方法でガラス化できる新たな手法を考案する。

(要望機関名 : 畜産課 (H10))

[成果の内容・特徴]

1 . 細胞等の超急速ガラス化を可能にする方法を考案した (FV 法 : Fukuoka Vitrification Method) 。

2 . ガラス化に使用する糸は釣り糸を加工して簡易に製造できる。製造法は 40mm の 2.5 号の釣り糸の一端を平らに潰し角度をつける (図 1) 。材料の糸は光を透過する有色透明なものを使用するため、実体顕微鏡下で細胞等の確認が容易である。また、糸は軽量で液体窒素中でも柔軟性を保ち、角度をつけた部分にガラス化液を滴下するため、外からの力を受けにくい。

3 . FV 法に必要なガラス化液は微量であるため (図 1) 、液体窒素を用いた超急速冷却が可能である。

4 . FV 法による超急速ガラス化およびその融解は以下のような手順で行う (図 2) 。

(1) 実体顕微鏡下で、平らな部分にガラス化液に平衡した細胞等をピペットで滴下する ((イ) : この時 60mm シャーレを下に置き、顕微鏡台への接触による汚染を防ぐ) 。

(2) 細胞等をガラス化液に導入 (平衡開始) して素早く液体窒素に投入し、ピンセットでサンプルチューブに導入後 (ウ) 、液体窒素とともにキャップをして液体窒素ボンベで保存する (エ) 。

(3) 融解はサンプルチューブから糸をピンセットで液体窒素中に引き出し (オ) 、素早く希釈液に投入して、ガラス化液の希釈および耐凍剤除去を行う (カ) 。

[成果の活用面・留意点]

1 . 保存はサンプルチューブの代わりに細いストローでの保存も可能である。

[具体的データ]



ドロップ容量 : 0.262 μ l

図1 超急速ガラス化に用いる加工糸の見取り図 (平成14年)

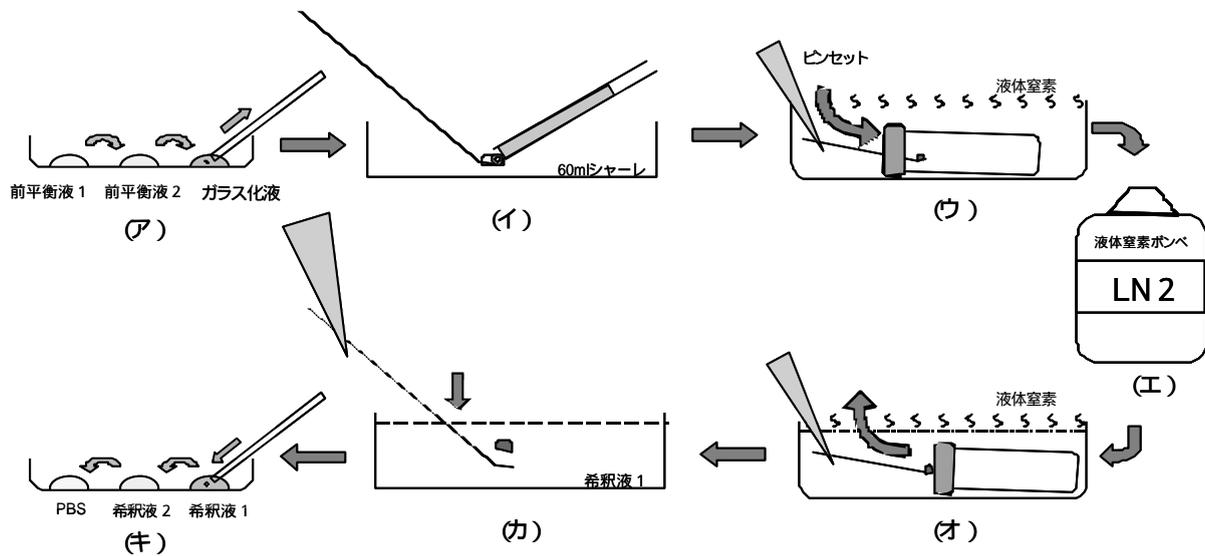


図2 FV法による超急速ガラス化および融解の手順 (平成14年)

[その他]

研究課題名 : 高能力乳牛の作出技術

予算区分 : 県特

研究期間 : 平成14年度 (平成12 ~ 16年)

研究担当者 : 笠正二郎、森美幸、上田修二

発表論文等 : 平成14年度畜産関係試験成績書

特願 2004-054966