

マウス胚の近距離輸送法の検討

○大矢康貴、大矢久美子、能丸幸治、渋谷奎賛

医学系技術支援室 生物・生体技術系

概要

医学・生物学の研究分野では、技術の進展により遺伝子改変や突然変異マウス等有用なマウスが多数作出されている。これらマウスの利用拡大に伴い、マウス胚・精子を凍結状態で輸送する手段は不可欠なものとなっている。当部門でも2006年7月より技術支援業務の一つとしてマウス凍結胚・凍結精子の作製を開始し、現在まで多くの系統の凍結胚・凍結精子を学外の研究機関へ搬出している。これらの凍結胚・凍結精子の輸送には、ドライシッパーと呼ばれる特殊な容器が使用される。ドライシッパーは内部に吸収材が埋め込まれており、そこに液体窒素が吸収されることで、 -190°C 以下という超低温で安全に凍結胚・凍結精子が輸送できる。しかしドライシッパーは、高価な上、小さなものでも $40\text{cm}\times 4\text{cm}\times 60\text{cm}$ 、 17Kg 程あるため、ある程度の輸送費用も発生する。しかもその輸送に際して、液体窒素の吸着に約2日間要するなど、費用や準備面で使用しづらい面もある。そのため、本学鶴舞キャンパスと東山キャンパス間などの片道30分程度の近距離輸送を行う際、より簡便で実用性の高い輸送法の確立が望まれる。そこで本研究は、マウス胚の近距離輸送法の検討を行った。

1 実験方法

1.1 繊維への液体窒素の吸着特性と凍結胚の生存の関係を求めるための実験を行った。

1.2 吸着試験（実験1）

30cm四方にカットした6種類の布(①ポリエステル100%、②綿100%、③レーヨン100%、④ナイロン100%、⑤ポリエステル80%ナイロン20%、⑥レーヨン85%ポリエステル15%)を20cmにカットしたアルミスリーブ(マイサイエンス株式会社:C-22)に巻きつけ水筒(THERMOS:JMZ-600)へ入れた(図.1,2)。その後、液体窒素を水筒へ注ぎ込み、各布へ十分吸着させたところで逆さにし、吸着しなかった液体窒素を自然落下で排出した。排出した水筒(各布+アルミスリーブ+布に吸着した液体窒素)の重量を測定し各布への吸着量を算出した。



図.1 巻き付ける前の状態



図.2 水筒へ入れた状態

1.3 保温試験（実験 2）

吸着試験と同様の方法で液体を吸着させた 6 種類の布について、水筒（各布+アルミスリーブ+布に吸着した液体窒素）内の温度を 10 分間隔で測定した。最も保温性の高かった布については 2 枚重ねにし、定法にて液体窒素を吸着後、再度、温度測定を行った。

1.4 凍結胚の融解実験（実験 3）

保温試験（実験 2）の結果から最も保温性の高かった素材（ポリエステル 100%の布 2 枚重ね）を吸着材として用いた水筒を準備し、液体窒素吸着後、水筒内のアルミスリーブに、あらかじめ作製しておいた凍結胚（体外受精した 2 細胞期胚（C57BL/6J Jcl）を簡易ガラス化法¹⁴により凍結した受精卵）入りチューブをセットし一定時間保管した。

1.5 融解実験

各時間（60 分、120 分、180 分、240 分、300 分、360 分）経過した凍結胚を融解し、正常 2 細胞期胚数を調べることで保存時間が胚の生存に与える影響を検討した。

2 結果

2.1 吸着試験（実験 1）

ポリエステル 85%ナイロン 15%の布が吸着性に優れていた。一方、ナイロンは乏しいという結果が得られた（図.3）。

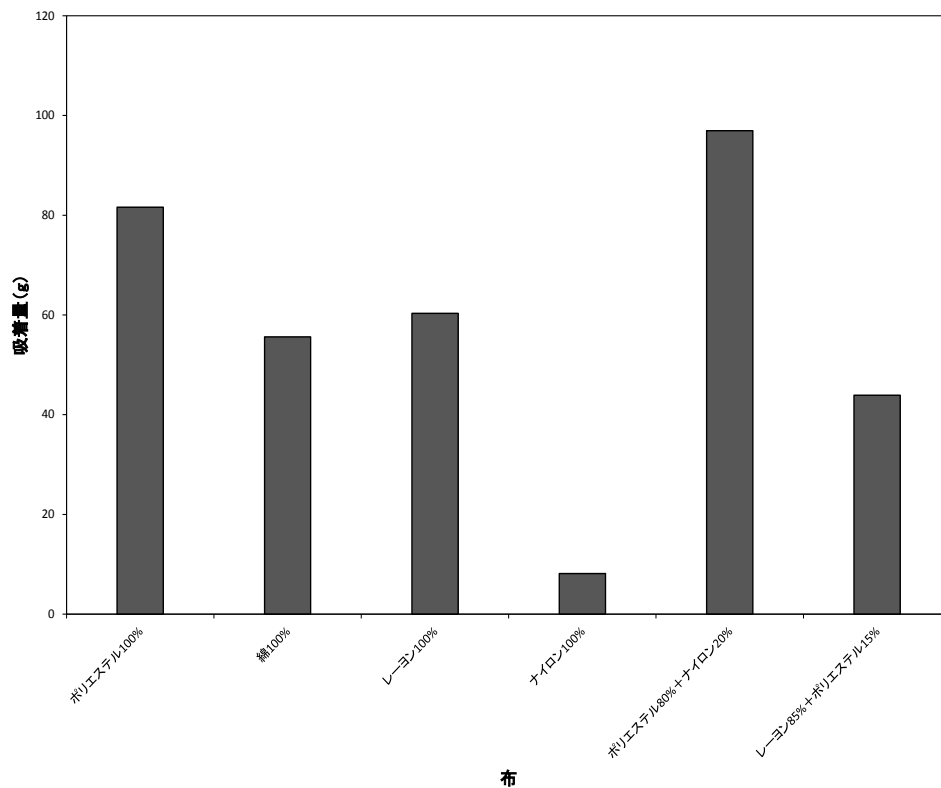


図.3 各布における液体窒素の吸着量の比較

2.2 保温試験（実験 2）

ポリエステル 100%の布が保温性に優れていた。一方、ナイロンは保温性に乏しいという結果が得られた（図.4）。

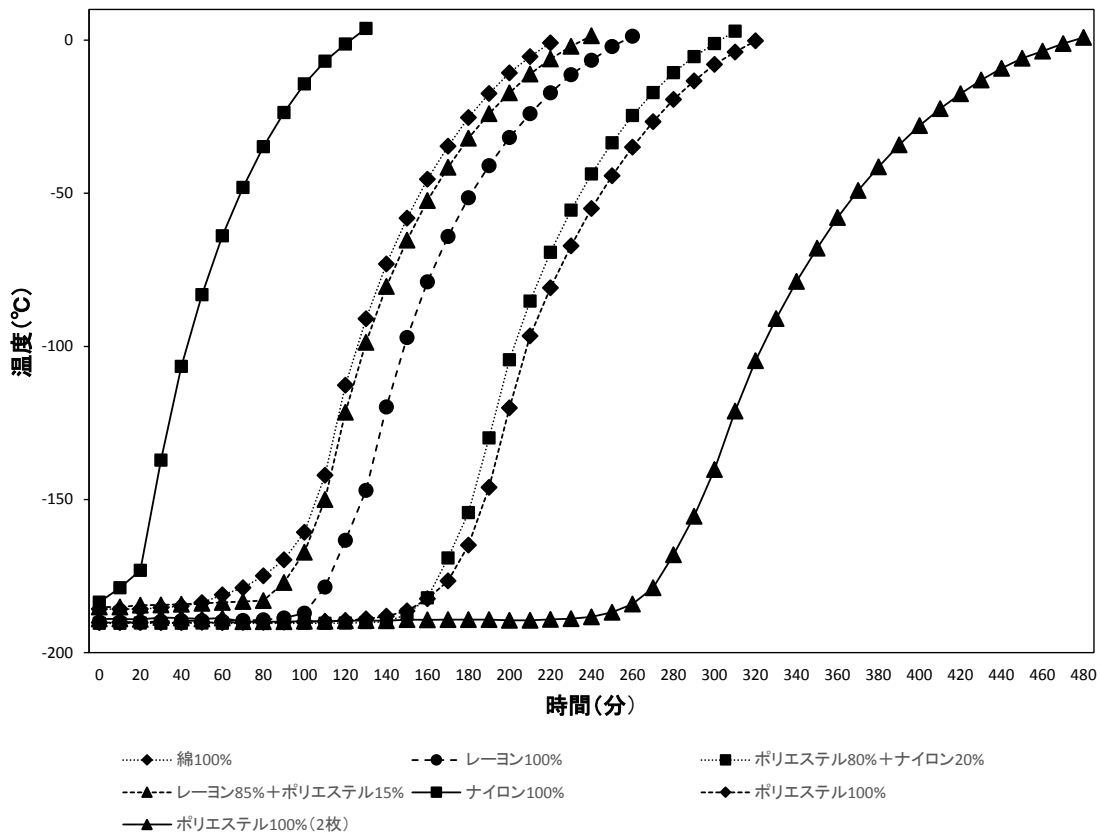


図.4 各布における保温時間の比較

2.3 融解実験（実験 3）

300 分の保存では正常 2 細胞期数が少なくなる傾向が認められ、360 分以上経過した場合は、生存している胚は認められなかった（表.1）。

表.1 各時間における胚の生存数

時間(分)	保存数	回収数	正常 2 細胞期数
60	40	40	40
120	40	40	39
180	40	40	40
240	40	40	40
300	40	40	3
360	40	40	0

3 まとめ

実験開始当初は、単純に布への液体窒素の吸着量が多いほど保温時間が長くなるものと予想していたが、実際は吸着量と保温性には相関がないことが分かった。これは、衣類に使用される布の中でも吸湿・速乾性に優れたものがあることから、それぞれの布が持つ吸湿性と蒸発性の違いによるものであると考えられる。しかし、この違いが素材自体の特性によるものなのか、製品（織り方や糸の太さなど）によるものなのかについては不明であり、同じ素材（例えばポリエステル 100%）の布であっても、織り方の異なる製品などでは多少異なった結果となる可能性も考えられる。今回は、マウスの凍結胚は、「ポリエステル 100% (2 枚重ね)」の布において 240 分の凍結保存が可能であった。

液体窒素は少量でも人体に触れた場合凍傷になる恐れがあり、また蒸発した窒素を吸うと酸欠になる恐れもある。そのため、公共交通機関で運搬する際は、他の乗客に危害を加えてしまう危険物となりうるため持込禁制品にあたる。しかし、ドライシッパーと同様に、液体窒素を吸着させた状態の布を用いた水筒は、転倒により液体窒素が漏出する危険性もなく、他の乗客の迷惑にならないような保管状態であれば持込禁制品にあたらないとされているため、公共交通機関で運搬することができる^[2]。

本成果は、この輸送方法がマウス凍結胚の近距離輸送の研究使用に際し、極めて簡便で実用性に優れた技術であることを示している。今後は、本実験の水筒で、実際にマウス凍結胚を近距離にある名古屋大学の各キャンパス間での移動（鶴舞キャンパス⇄東山キャンパス）に用い、凍結胚が正常な状態で輸送が可能であるかを検討していく予定である。

4 参考文献

- [1] Kazuki NAKAO et al, “Simple and efficient vitrification procedure for cryopreservation of mouse embryos”, *Exp. Anim.*, 1997, 46, 231-234.
- [2] 名古屋市例規集の高速電車乗車料条例施行規程の第 100 条