

真核細胞における凍結損傷の研究

要旨

研究テーマについて話し合いを進めるうちに、臓器移植に用いる臓器の長期保存が難しく、不足しているという問題について知った。臓器の長期保存を実現するために凍結保存に焦点を当て、細胞の凍結耐性について酵母菌を用いて実験を行うことで凍結時間毎における生存率を求めた。

1. 研究の動機と目的

現代医療における課題を探す中で、移植手術が高額な理由に、臓器の保存性の低さに由来する移植用臓器の不足があることを知った。臓器の冷凍保存に焦点を当てた私たちは、その前段階として細胞の凍結耐性について研究を行うことにした。

2. 方法

実験① 酵母の温度と経過日数の関係

- 希釈した酵母培養液（ 2×10^7 希釈）を試薬瓶に50ml入れ -5°C 、 -10°C 、 -21°C の温度で冷凍保存し5日毎に室温で解凍した。
- 解凍した培養液をポテトデキストロース培地に塗布し 30°C で2日間培養した。
- 冷凍温度ごとのコロニー数を比較、グラフ化することで最も生存率の高い冷凍方法を模索した。

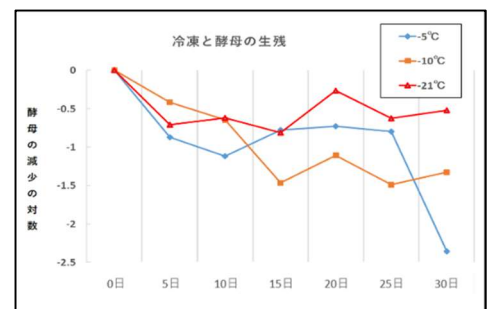
実験② 液体窒素を利用した凍結実験

- マイクロチューブ（2ml）に培養液を1ml入れ液体窒素で凍結した。
- 試料を凍結直後に解凍しコロニー数を計測した。
- 自作の凍結保存容器に試料を2日保存した後に同様にコロニー数を計測した。

3. 結果

実験① どの温度においても冷凍日数が長くなると生存率は減少した。特に高い温度（ -5°C 、 -10°C ）での冷凍では生残数は大きく減少した。

実験② 凍結直後及び2日後の試料を解凍しコロニー数を計測したところ、生存数は $8.8 \times 10^7 \text{CFU/mL}$ となった。



4. 考察

実験①においては高温下（ -5°C 、 -10°C ）での減少が顕著にみられたことから、これは常温から各設定温度に到達するまでの緩やかな凍結によって細胞内の水が凍結せず蒸気圧によって細胞が脱水したことによる影響だと考えられる。また、液体窒素によって凍結された細胞は冷却速度が速いため細胞内の水が凍結されたことによる細胞内の氷の結晶の発生が生存率に影響したと考えられる。

5. 結論

いずれの冷凍方法でも細胞の生存率は低く、臓器の冷凍保存に応用することは難しいとわかった。また考察で挙げたように水分が原因で生存率が低くなったと考えられるため、水以外の溶媒に変えるなどして今後は乾燥にも視野を広げて研究を行っていきたい。

6. 参考文献

食品微生物学(検査と制御方法) | 基礎と最新情報を解説 | 木村 凡