

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 25 日現在

機関番号：31308

研究種目：基盤(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21500883

研究課題名（和文） 動物細胞培養シミュレーターの開発

研究課題名（英文） Research and development of a simulated practical laboratory course of animal cell culture

研究代表者

阿部 知顕 (ABE TOMOAKI)

石巻専修大学・理工学部・教授

研究者番号：40382684

研究成果の概要（和文）：大学教養あるいは高等学校レベルでの教育的実験において、遺伝子組み換えの原理や手法を含め、動物培養細胞を用いた研究手法をより高度で詳しく学ぶことは、科学教育の発展のために望まれる。しかし、これを安価かつ限られた期間内で行うことは従来困難であった。そこで本研究では、モデル生物とされる細胞性粘菌の細胞を用いながら、あたかも動物培養細胞を用いるように実験を経験できる教育的実験システムを開発した。

研究成果の概要（英文）：In order to administer a proper education in genetic modification (GM) and living modified organisms, practical laboratories involving GM and animal cell culture should ideally be included. Regrettably, however, as the school budget for scientific education is limited, costly practical laboratories were remained to be established. The morphology of social amoebae of the cellular slime mould (CSM) markedly resembles that of cultured animal cells and the cost for culturing them is lower. GM methods for CSM cells are also well established. Therefore, we have designed a practical laboratories using CSM in practical laboratories involved with GM, giving a sense as if participants are using animal cultured cells in their experiments.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	1,900,000	570,000	2,470,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：科学教育・教育工学

キーワード：科学高等教育、中等理科教育、教育的実験、実験安全管理、細胞培養、動物培養細胞、細胞性粘菌、細胞生物学

1. 研究開始当初の背景

遺伝子組換え技術は、食糧増産、バイオエタノールの生産、再生医療等の分野において、

広く利用されることが期待されており、科学教育の中でその原理や方法が体験的に教育されることが望まれる。また、特に再生医療

の分野において期待される iPS 細胞や ES 細胞の積極的な利用が可能となる将来においては、動物細胞の培養技術を習得した技術者が多数必要になることが予測される。しかしながら、遺伝子組換えや動物細胞の培養技術を含むような実技の教育は、限られた大学や専門学校において行なわれているのみであり、十分な水準の技術を習得した技術者が、将来的に不足する事態が危惧されていた。

2. 研究の目的

モデル生物である細胞性粘菌を利用し、動物培養細胞の培養系と酷似する安価で安全な動物細胞培養シミュレーターを構築し、これを用いて高等学校および大学教養教育レベルにおいて、細胞培養、抗体染色法、タンパク質・DNA 抽出法、遺伝子組換え体の作製、などの実験操作を体験しながら、分子生物学の基本原則と高度なバイオ技術について学ぶ教育実験系を構築する。

3. 研究の方法

(1) 擬似的な表示盤や蒸発皿、CO₂ タンク等を装備した、CO₂ インキュベーターと外見上類似する小型の細胞性粘菌培養用の恒温インキュベーターを作製し、CO₂ インキュベーターの使用法を体験させる。

(2) 細胞性粘菌で用いられる培養液を改良し、動物細胞培養用の培地と外見上同じ培地を開発する。

(3) 安価かつ安全な細胞廃棄方法の検討を行う。

(4) 実験プロトコルのテキスト・ファイルを作成する。

(5) 高等学校の協力により、細胞培養シミュレーターを使用した感想を調査・検討する。

(6) 高等学校の教育現場における、遺伝子組換え生物等の使用規制による生物の多様性の確保に関して、その規定の整備を検討する。

(7) 細胞培養シミュレーターの教育的効果について評価・検討する。

(8) 上記の調査・検討結果等について報告書を作成し、細胞培養シミュレーターの普及に取り組む。

4. 研究成果

方法(1)について

細胞性粘菌の培養温度は 22℃前後が至適温度であるため、気温の変化に影響を受けない恒温インキュベーターが必要である。通常

の大气で生育できるため、37℃の恒温 CO₂ インキュベーターは必要とされないが、CO₂ インキュベーターの操作感を体験できる擬似的で安価なインキュベーターを作製した。

教育実験目的では、少量の試料(2名1組で9cm直径のプラスチックシャーレや、7cm角の培養ボトルなどの1つの培養器を使用する場合、20名のクラスで培養器10個ぐらいあればよい)の培養で十分であるため、ペルチエ素子を用いた小型の恒温インキュベーターを作製し、これにCO₂インキュベーターの表示盤を模したPICマイコン制御によるCO₂濃度と温度の表示器を取り付けた。

表示はあくまでも擬似的なものであり、セッティングによって自由に表示を変えることができるようにした。これによって、特定の表示となったときに、行うべき操作を体験できるようにした。

方法(2)について

動物培養細胞の培養液では、フェノールレッドなどの pH 指示薬を含む培地が使われることから、その使用感と類似させるため、色が薄い特徴がある、細胞性粘菌の完全合成培地に色素を加えて、類似した色合いの培地を用いることを試みたが、完全合成培地では細胞の増殖速度が十分でなく、特に、粘菌細胞へ組み換えプラスミドを導入する形質導入の実験では、導入効率が悪く、実験に適さないことが確認された。そこで、使用感の体験には培地の色がそれほど重要ではないと判断できることもあり、ペプトンや酵母エキスを主成分とする、細胞性粘菌の培養では最も一般的で培養効率が高い、HL5 培地による培養に切り替えた。

方法(3)について

組換え体の使用を含む教育的実験においては、特に実験室内から組換え体が決して外部に漏れないことが安全管理上重要であり、法的規制を順守することを教育する意味においても大切である。一般的な細胞性粘菌の実験環境では、動物培養細胞の使用の場合と同様に、組換え体の不活化のためにオートクレーブによる高圧滅菌処理が用いられるが、高等学校などの中等教育機関での教育的実験環境では必ずしもオートクレーブは装備されていない。

そこで、代用となる確実な不活化方法として、家庭用圧力鍋、電子レンジ、または、次亜塩素酸と界面活性剤の混合処理による細胞性粘菌の不活化を検討した。

その結果、家庭用圧力鍋では、圧力が不足する可能性があること、また、外気温によっては、温度低下が早く十分な不活化効果が得られない可能性が示された。また、電子レンジ処理も同様に、加熱時間を十分にすれば不活

化できるが、試料の液量が多い場合、電子レンジ内に漏出する危険性があることや、加熱中の臭気の問題もあり、一般的な方法としては適さないことが示された。

そこで、家庭用の塩素系漂白剤と食器洗浄にもちいられる中性洗剤の混液を用い、不活化を試みた結果、良好な結果が得られた(図書①)。この方法は、安価で手に入りやすい薬剤によって処理する方法であり、高温の処理も必要とせず、漂白剤の使用に注意さえすれば、安全管理上の問題も少ないことから、教育的実験に適する方法である。

方法(4)について

細胞性粘菌を動物培養細胞の代わりに用いた、細胞の観察、培養、形質導入の操作、および、安全管理上の重要点の解説を含む実験プロトコルを作成し、その一部を公表した(図書①)。現在、さらなる改良を続けており、報告書としての公表を予定している。

方法(5)について

研究代表者の所属機関である石巻専修大学に来学し、実験の体験授業を受けた高校生(計6校、各12名、計72名、実験時間約3時間)、および、学生実験の受講者であった学部2年次学生(1グループ約40名、計6グループ、実験時間2時限、約3時間)を対象に培養操作(細胞の培養器からの移し替え)、細胞の形態観察、などを体験させ、事後にアンケート方式で感想を求めた(試行A)。また、少人数の学部3年次生(1グループ3~5名、計11名、実験時間約3時間×5日間)を対象に、培養操作全般、細胞の形態観察、形質導入と導入細胞の同定、等の総合的な実験の試行を行った。その際、最初の3日間については、対象として扱う細胞が細胞性粘菌であることについては説明せず、培養細胞として操作を体験させ、残りの2日間の前に、細胞性粘菌の生物学的特徴について説明をした後に、実験を継続し、事後に感想を求めた(試行B)。

その結果、試行Aでは、「興味を持って実験ができたか」との設問に対し、5段階のどのレベルに一致するか回答を求めたところ、85%の高校生が上位2レベルの評価を回答し、同様に「実験が楽しかったか」との問いに対して81%の高校生が上位2レベルの評価を回答した(表1)。学部学生についてはその評価がいくらか低下する傾向が認められた。

試行Bでは、個別に感想を聞き取りした結果、実験操作を学ぶ上では、扱う細胞である細胞性粘菌についての解説がなくとも十分に有益であった、との感想がある一方、細胞の正体について詳しく学んだ後の方が、より興味が深まり、予定の実験期間後も自己意思

により実験を継続する学生も認められた。

これらの評価により、動物細胞培養シミュレーターとしてのシミュレーション実験環境は、実験操作を学ぶ上で効果的であることが示された一方、年齢層が上がると、具体的に実験に扱う対象の詳しい特徴を学んだ上で実験操作の方が、より興味を引き出せる可能性が示された。

(表1) 試行Aの事後アンケートの結果

設問	上位2段階の回答の割合(%)	
	高校生	学部生
実験が楽しかったですか	80.5	71.2
実験は簡単でしたか	73.6	92.3
実験内容が理解できましたか	73.6	96.6
興味を持って実験できましたか	84.7	70.7

方法(6)について

動物細胞培養シミュレーターの普及に限らず、遺伝子組換えを含む教育的実験では、遺伝子組換え生物等の使用規制による生物の多様性の確保に関する法律を順守する環境を保証する必要がある。大学等の研究機関ではすでに規定の整備がされているが、中等教育機関では新しい取り組みであり、そのため対応が重要であるとの立場から、規定の整備をどのように進めるかについて検討した。

結論としては、各教育機関での規定の整備を進める代わりに、それぞれの地方にある大学や研究機関が、実験の安全管理や実験記録の整備・保管について協力することで、法を遵守する体制を整えることが現実的である、との考えを雑誌で発表した(雑誌論文①)。

方法(7)、(8)について

方法(5)に述べた高校生・学生による実験の体験結果を受けて、最終年度には、より時間をかけた多人数での試行実験を計画したが、東日本大震災の影響により、協力が予定されていた教育機関の長期に渡る休校と学事日程の混乱、教育環境の劇的な変化、本学との間の交通手段への影響、等の深刻な問題があり、震災後1年の間には十分に復旧せず、実行が困難となった。そこで、研究期間後に継続して検討をすることを余儀なくされた。

研究全体についての報告書の作成は、試行実験が終了後に行う予定であり、本報告はその前段階にあたる中間的なものである。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

① Tomoaki ABE, Safety Precautions

for practical laboratories involved in the use of genetically modified cellular slime mould *Dictyostelium discoideum* cells. 石巻専修大学研究紀要、査読無、第22号、pp. 1-8、(2011).

[学会発表] (計1件)

① 阿部知顕、白井利典「遺伝子組み換え操作を伴う学生実験への細胞性粘菌の利用と実験上の安全管理」、日本細胞性粘菌学会、(2011).

[図書] (計1件)

①阿部知顕、漆原秀子「細胞性粘菌：研究の新展開～モデル生物・創薬資源・バイオ～」(阿部知顕・前田靖男共編)、第11章 バイオラボとしての細胞性粘菌の有用性、アイピーシー、pp. 511-526、(2012).

[その他]

ホームページ

<http://www.isenshu-u.ac.jp/tabe/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

阿部 知顕 (ABE TOMOAKI)
石巻専修大学・理工学部・教授
研究者番号：40382684

(2) 研究分担者

菅原 澄夫 (SUGAWARA SUMIO)
石巻専修大学・理工学部・教授
研究者番号：00007197
前田 靖男 (MAEDA YASUO)
東北大学大学院・生命科学研究科・名誉教授
研究者番号：50025417