



Title	微少重力処理サンプル凍結装置の試作
Author(s)	今野, 繁雄
Description	研究・技術発表
Citation	北海道大学農学部技術部研究・技術報告, 6, 3-7
Issue Date	1999-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/35371
Type	departmental bulletin paper
File Information	6_p3-7.pdf



微小重力処理サンプル凍結装置の試作

生物資源生産学専攻 生物生産工学講座 今野 繁雄
(作物・分析系 共同利用班)

はじめに

最近の遺伝子操作技術の進歩はめざましく、近い将来に予測される食料危機に対応できる食料生産技術として注目されている。すでに農産物市場には遺伝子操作技術によって生産された原料で作られた加工食品が店頭にならび、消費者との間で安全性等の問題で論議をよんでいる。今回、試作した実験装置も植物遺伝子の解明の一手段として、植物遺伝資源学講座・島本義也教授の依頼で試作を試みたので報告する。装置の概要は、微小重力下で植物サンプルを液体窒素を用いて凍結し、細胞分裂を固定するのを目的とした実験装置である。

I 試作装置の仕様

試作に必要な仕様を表1に示す。この仕様をもとに、液体窒素（以下、N₂と言う）容器の大きさを決めるN

2の減少量を、当学部GC-MS・NMR測定室でのN₂の使用量（50L/week）

約0.298L/h(240g/h・液体窒素比重 0.808)

の値を参考に、角形のN₂容器（内容量約689.2cm³）を試作した。図1に試作した容器（以下、外容器という）の概略図を示す。外容器は、厚さ8.0mmの発砲ウレタンゴムを断熱材に使用し、外側・内側をステンレス材（厚さ0.3mm）で囲んだ容器で、上蓋にステンレス材（厚さ0.5mm）を使用し、上側に厚さ2.0mmのシリコンゴムを貼り、その上部に厚さ8.0mmの発砲ウレタンゴムを二枚重ね、ステンレス製（厚さ0.3mm）の蓋をかぶせスプリングで引っ張り固定した。N₂の減少量を最小限に押さえ、少ないN₂を有効に使う方法として、テフロン製の三角フラスコ（以下、内容器という）を内容器とした二重構造容器である。植物サンプルを凍結するために使用するN₂は内容器内のN₂を使用し、外容器内のN₂で内容器を冷却すれば、N₂の減少量を最小限に押さえることが出来ると考えた。

II 試作容器のN₂減少量の測定

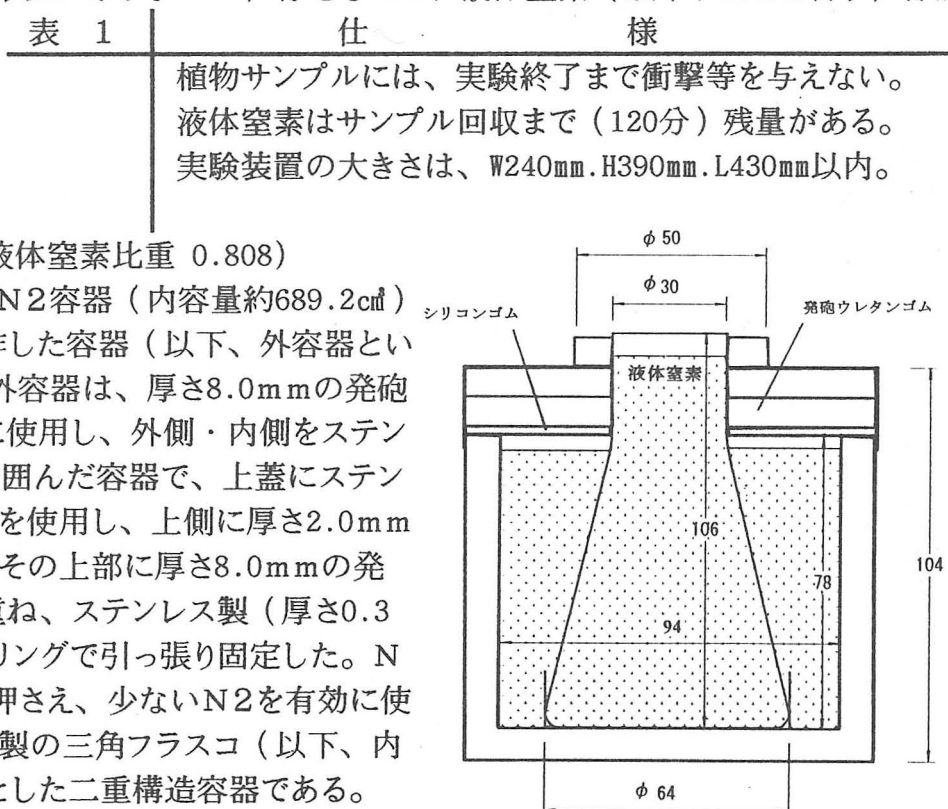


図1 液体窒素容器（1号）

(1) 測定方法

N₂容器を室温(21℃～24℃)に30分間置き室温にした後、外・内容器にN₂を注入し、容器を組み立て、この状態で1もしくは10分間置いて予備冷却した。その後、再びN₂を注入し、発砲スチロールを置いた計量器(最大2Kg、5g目盛り)を用いて、10分間毎にN₂全量を計測した。計量は3反復行い、内容器のN₂の量は計量器(最大310g、0.001g目盛り)を用いて、予備冷却の30分、60分、90分、120分後に容器を解体し、内容器を装置から取り出して測定した。120分後の計測はN₂全量の測定と同時に行った。

(2) 測定条件と結果

① 外容器の測定条件と結果

反復1 予備冷却 1分、室温 24.2℃、	測定開始時のN ₂ 量390g、120分後N ₂ 残量 9g
反復2 予備冷却10分、室温 23.0～24.0℃、	測定開始時のN ₂ 量533g、120分後N ₂ 残量49g
反復3 予備冷却10分、室温 21.5～23.0℃、	測定開始時のN ₂ 量495g、120分後N ₂ 残量45g

② 内容器の測定条件と結果

予備冷却 10分、室温 22.0℃	
反復1、30,60,90,120分毎に計測	測定開始時のN ₂ 量114.5g、120分後N ₂ 残量 0.1g
反復2、外容器120分測定時のみ同時計測	測定開始時のN ₂ 量114.5g、120分後N ₂ 残量31.6g
反復3、外容器120分測定時のみ同時計測	測定開始時のN ₂ 量114.5g、120分後N ₂ 残量27.4g

③ N₂容器の全重量1365g(機体・885g、外容器内N₂・383.4g、内容器内N₂・121.2g) 引っ張り初期荷重 2.0Kgf(N₂容器にN₂の代わりに水を注入)

以上の結果を図2・図3のグラフに示す。図2は、内容器のN₂の減少量を示す。結果は予想通りとなった。図3は、外容器のN₂の減少量を図2のグラフと併せて示した。反復1は、初期のN₂の注入量が多ければ、反復2・3と同じ結果が予想される。この結果から実験装置として、使用可能と判断し1号機として装置を試作した。

内容器液体窒素減少量

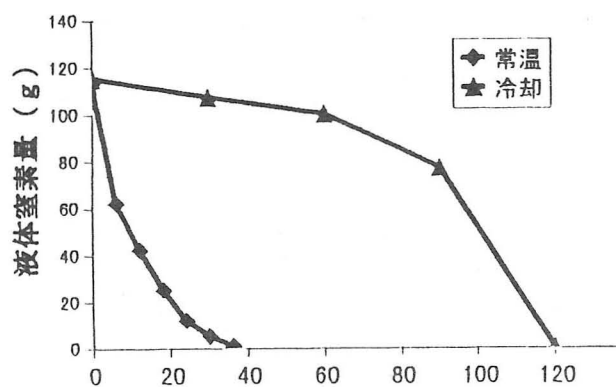


図2 経過時間 (分)

外容器液体窒素減少量

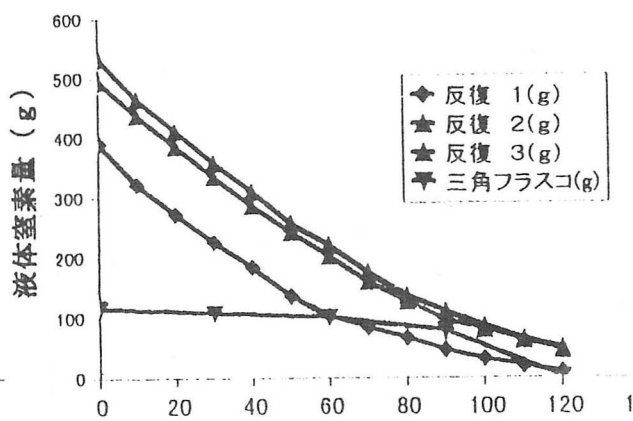


図3 経過時間 (分)

試作した実験装置の概略図を図4に示す。N₂容器は、垂直に固定されたリニアガイド上を上下動する機体に固定されている。使用時には引っ張りスプリングであらかじめ張力を与えた状態で下部に引き下げストッパーピンで止められる。信号によりタイマーが作動しセットされた時間にソレノイドが作動し、ストッパーピンが外され、引っ張りスプリングにより引き上げられ上部に固定されているサンプルの入った容器を内容器内に突入させ、同時に内容器内のN₂に

よりサンプルを凍結させ、回収されるまでそのまま保持する。N2容器の引き上げに使用するスプリングは、線径 $\phi 1.0$ ・外径 $\phi 12.0$ のフリーサイズスプリングを、巻数98・自由長118mm・最大荷重2.2Kgf・最大荷重時長さ

350mmに加工し、2本使用した。微小重力下では強すぎると思われたが、確実を期すため使用した。表2に使用した部品を示す。この装置を作動させる制御回路図を図5に示す。装置の作動確認は、N2容器に水を注入しタイマーを作動させ確認した。この実験装置を使用しての初めての実験は、平成10年2月上砂川地下無重力実験センター（JAMIC）で行われ、録画ビデオにより正常に作動したことが確認された。1号機で使用したサンプル容器は小さい

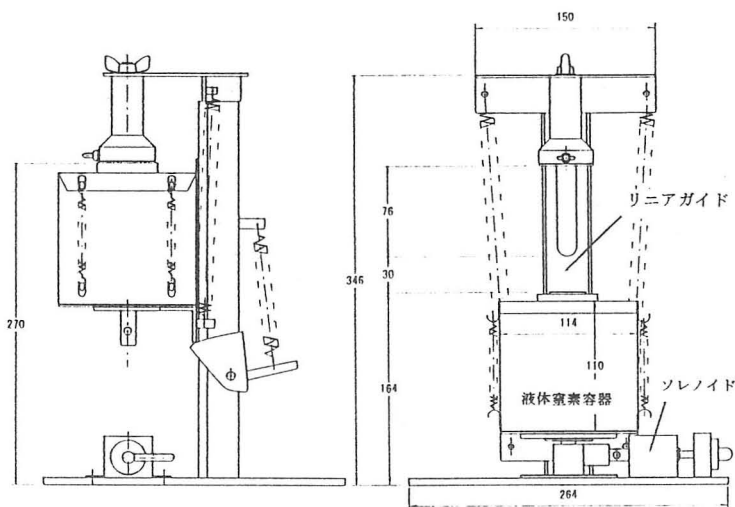


図4 サンプル凍結装置（1号）概略図

（規格容量15ml）ためサンプル数が限られる。サンプル数を増やすため、2号機を試作し、サンプル容器（規格容量50ml）・内容器共、大きいものに変更した。

1号機のN2容器は、固定のためN2注入時・容器組立時等、取り扱いが不便だったが、2号機はこれを着脱方式に改造した。N2容器は、ステンレス製の円筒容器を使用し、容器の外側と内側の間に断熱材（発砲硬質ウレタンフォーム）を注入した容器で、図6に容器の概略図をしめす。図7に、2号容器のN2減少量を示す。

Ⅲ 2号容器のN2減少量の測定

（1）測定方法

減少量の測定は、1号機と同じ

（2）測定条件と結果

① 外容器の測定条件と結果

反復1、予備冷却 10分、室温26.0～27.0℃、測定開始時N2量554g、120分後N2残量79g

表2	品 名	規 格
	電 源	H社製100V DC24V 2.3A 50W
	タイマー	O社製HCA-FA0,1S-999h
	ソレノイド	A社製直線ソレノイドCD12AA-12-00T
	リニアガイド	N社製ピロースライドS103-4A
	バネ	S社製フリーサイズ引っ張りバネ

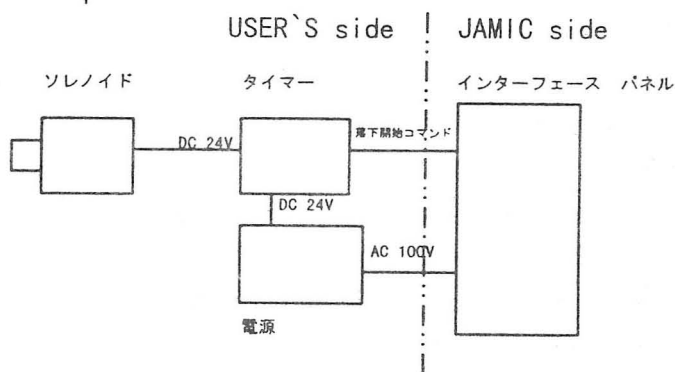


図5 制御回路略図

反復2、予備冷却 10分、室温26.5～27.5℃、測定開始時N₂量547g、120分後N₂残量48g

② 内容器の測定条件と結果

反復1、予備冷却 10分、室温26.0～27.0℃、測定開始時N₂量194g、120分後N₂残量60g

反復2、予備冷却 10分、室温26.5～27.5℃、測定開始時N₂量194g、120分後N₂残量48g

③ N₂容器の全重量 1271.3g (機体 1271.3g、外容器のN₂ 347.4g、内容器のN₂ 193.9g

引っ張り初期荷重 2.1Kgf (N₂容器にN₂の代わりに水を注入)

N₂の注入量は1号機とほぼ同じながら、120分後の残量では僅かに2号機が増加した。図8に、試作した2号機の概略図をしめす。機体はリニアガイド2本にした門型に改造し、部品はそのまま使用した。1・2号機共、内容器の口はサンプル容器への冷気の影響を避けるためとN₂の気化抑制のためサランラップで覆っている。

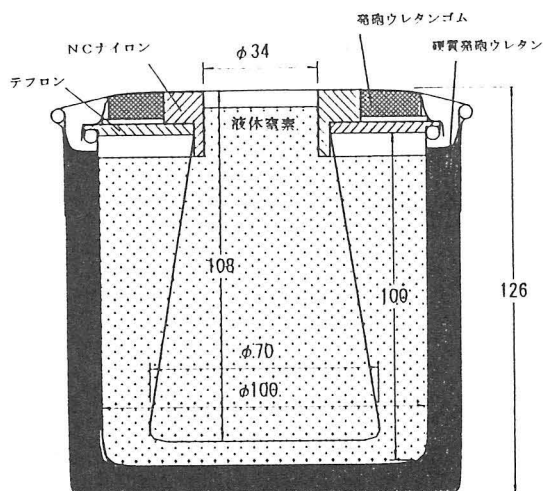


図6 液体窒素容器 (2号)

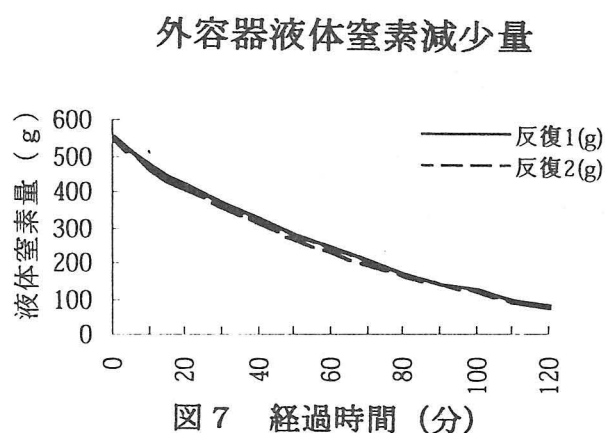


図7 経過時間 (分)

IV 考察

今回のような使用条件での実験装置の試作は初めてでとまどいを感じたがよい経験となった。試作に掛かる経費は安価に出来るが、実験に掛かる経費が高価なため実験回数を重ねながらの改良は難しいが、検討を加えながら改良を重ね完成度を高めて行きたい。

今回の実験装置の試作に際し、N₂に関する情報を提供してくれたGC-MS

・NMR測定室技官・渡部賢治さん、

制御回路製作に協力してくれた農学部附属農場技官・若澤幸夫さん、液体窒素減少量の測定で協力を頂いた植物遺伝資源学講座大学院生・久岡由佳さんに感謝申し上げます。

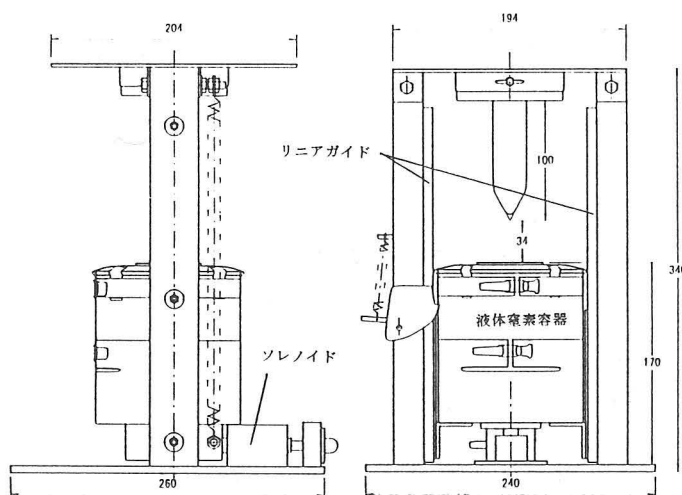


図8 サンプル凍結装置 (2号) 概略図

参考文献

JAMIC USER' S GUIDE

向野商報 No91

ULTRA SPRING 総合カタログ98年版

ベスト制御機器オムロン 第14版

研究用総合カタログ 20000

理化学事典 Ⅲ p833-834

株式会社地下無重力実験センター

向野商事株式会社

アキュレイト販売株式会社

オムロン株式会社

株式会社井内盛栄堂

岩波書店