

合同開催

第29回 生理学技術研究会
第18回 生物学技術研究会

予稿集

日時：平成19年2月15日(木)、16日(金)

会場：岡崎コンファレンスセンター

大学共同利用機関法人 自然科学研究機構

生理学研究所 技術課

基礎生物学研究所 技術課

第29回 生理学技術研究会

(同時開催：第3回 奨励研究採択課題技術シンポジウム)

第18回 生物学技術研究会

会期：平成19年2月15日(木)～16日(金)

会場：自然科学研究機構 岡崎コンファレンスセンター

主催：生理学研究所 技術課

〒444-8585 愛知県岡崎市明大寺町字西郷中38

<http://www.nips.ac.jp/giken/>

TEL: (0564)55-7702, FAX: (0564)52-7913

基礎生物学研究所 技術課

〒444-8585 愛知県岡崎市明大寺町字西郷中38

<http://techdiv.nibb.ac.jp/>

TEL: (0564)55-7670, FAX: (0564)55-7669

プログラム

2月15日(木) (1階 大会議室)

13:30	～	13:50	挨拶、事務連絡
13:50	～	14:50	研修講演 (L1: 岡崎統合バイオサイエンスセンター 細胞生理部門 富永 真琴)
14:50	～	15:10	記念撮影・休憩
15:10	～	16:30	ポスター発表グループI [P1、P3、P5、・・・: 奇数番号]
16:30	～	17:50	ポスター発表グループII [P2、P4、P6、・・・: 偶数番号]
18:00	～	20:00	懇親会 (1階 中会議室)

2月16日(金) (1階 大会議室、1階 中会議室)

(口演会場1 1階 大会議室)

8:50	～	9:00	挨拶、事務連絡
9:00	～	10:20	奨励研究採択課題技術シンポジウム (S1～4)
10:20	～	10:40	休憩
10:40	～	12:00	奨励研究採択課題技術シンポジウム (S5～8)
12:00	～	13:00	昼食 (1階 中会議室)
13:00	～	14:20	奨励研究採択課題技術シンポジウム (S9～12)
14:20	～	14:40	休憩
14:40	～	15:40	奨励研究採択課題技術シンポジウム (S13～15)
15:40	～	15:50	まとめ

(口演会場2 1階 中会議室)

8:50	～	9:00	挨拶、事務連絡
9:00	～	10:20	口演発表 (A1～4)
10:20	～	10:40	休憩
10:40	～	11:00	口演発表 (A5)
11:00	～	12:00	研修講演 (L2: 岡崎共通研究施設 計算科学研究センター 大野 人侍)
12:00	～	13:00	昼食 (1階 中会議室)
13:00	～	14:20	口演発表 (A6～9)
14:20	～	14:40	休憩
14:40	～	15:00	口演発表 (A10)
15:00	～	15:40	話題提供 (T1: 自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 三寶 誠)
15:40	～	15:50	まとめ

目次

プログラム	1
参加者へのお願い	6
発表者へのお願い	7
研究会会場周辺地図	8
岡崎コンファレンスセンター案内図	9

研修講演 1 (1階 大会議室)

(L1) 温度感知の分子機構	
富永 真琴 (岡崎統合バイオサイエンスセンター 細胞生理部門)	1 2

研修講演 2 (1階 中会議室)

(L2) 情報セキュリティを俯瞰する	
大野 人侍 (岡崎共通研究施設 計算科学研究センター)	1 3

第3回 奨励研究採択課題技術シンポジウム (1階 大会議室)

(S1) 病原酵母クリプトコッカス・ネオフォルマンズの薬剤耐性株におけるタンパク質解析	
千葉大学 真菌医学研究センター 機能形態分野 大楠 美佐子、川本 進	1 6
(S2) PCR を用いた細菌・真菌感染症の迅速遺伝子診断システムの構築	
三重大学 医学部附属病院 中央検査部 中村 明子	1 7
(S3) 遺伝子組換え植物の遺伝子拡散と安全性	
東北大学 複合生態フィールド教育研究センター 技術部 山本 理恵	1 8
(S4) 画像解析による高圧力に対する微生物細胞の挙動解明	
熊本大学 衝撃・極限環境研究センター 嶽本 あゆみ、伊東 繁	1 9
(S5) 卵巣移植法を応用した日本野生マウス由来 MSM 系マウスの卵子採取効率改善の検討	
新潟大学 脳研究所 生命科学リソース研究センター 前田 宜俊	2 0
(S6) 術中迅速病理診断をサポートする新技術 - US による超迅速免疫染色法の開発と臨床応用 -	
富山大学 杉谷地区 技術室 八田 秀樹	2 1
(S7) 暗期における近紫外線利用による光触媒酸化チタンの抗菌・消臭効果の検討	
鹿児島大学 フロンティアサイエンス研究推進センター 動物実験施設 小原 徹、◎福山 伸隆	2 2
(S8) シリコンゴム製リングを用いたマウス新生児の個体識別法の検討	
岡山大学 自然生命科学研究支援センター 動物資源部門 矢田 範夫	2 3
(S9) アニメーション技術を用いた動的なインターネットセキュリティ教材の作成と公開	
一関工業高等専門学校 技術室 佐藤 昌也	2 4
(S10) ポストゲノム膜タンパク質機能解析法の教育用デジタルコンテンツの制作	
自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 高木 正浩	2 5
(S11) 不正な P2P ファイル交換の検出に対応したリアルタイムネットワーク管理システム	
岡山大学 総合情報基盤センター 大隅 淑弘	2 6
(S12) セキュアなファイル転送のためのプロトコル変換式暗号化ソフトウェアの開発	
自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 村田 安永	2 7
(S13) 位相差電子顕微鏡用位相板の材質を変えて性能の向上を計る	
自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 大河原 浩	2 8
(S14) 2 光子励起顕微鏡による in vivo 観察用の固定具の開発	
自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 高橋 直樹	2 9
(S15) 脳高次機能研究で MEG 計測をおこなうための技術情報サポートサイトの構築	
自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 永田 治	3 0

口演発表（1階 中会議室）

- (A1) 細胞膜タンパク質のペプチドマスフィンガープリンティング法による同定検討
九州工業大学 情報工学部 楠本 朋一郎 3 2
- (A2) FAB/MS によるキラル識別評価法の新しい試み
大阪大学大学院 理学研究科 技術部 安達 廣 3 3
- (A3) TGF- β 1 による活性化 PKA の核内移行抑制効果の解析
島根大学 医学部 生化学講座分子医学 成相 裕子 3 4
- (A4) 大腸菌リポ蛋白質輸送装置の立体構造と機能
東京大学 分子細胞生物学研究所 細胞形成研究分野 横田 直子 3 5
- (A5) 動画像によるソフトウェア習得及び教育システムの開発
自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 三輪 朋樹 3 6
- (A6) CT 法によるトリインフルエンザウイルス(H5N1)の立体視
浜松医科大学 実験実習機器センター 熊切 葉子、村中 祥悟 3 7
- (A7) 省エネルギー化に向けた実験植物の栽培用光源の検討
自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 住川 直美 3 8
- (A8) 代謝熱測定法による炭化水素ガス加圧下の酵母の増殖挙動解析
徳島大学 ソシオテクノサイエンス研究部 総合技術センター 河内 哲史 3 9
- (A9) マウス精子を用いたDNAメチル化の解析
国立遺伝学研究所 技術課 古海 弘康 4 0
- (A10) いろいろな細胞内小器官を蛍光標識したトランスジェニックガエルの作出
自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 高木 知世 4 1

話題提供（1階 中会議室）

- (T1) クローン技術について
自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 三寶 誠 4 4

ポスター発表（1階 大会議室、エントランスホール）

- (P1) 走査電子顕微鏡による超薄切片の透過像観察
浜松医科大学 実験実習機器センター 村中 祥悟 4 6
- (P2) レーザ顕微鏡用生物チャンバーの試作とその応用
徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 先端医研 庄野 正行 4 6
- (P3) 共焦点レーザー顕微鏡による細胞容積変化計測の試み
自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 小原 正裕 4 7
- (P4) 走査電顕加熱観察法の植物試料への応用
鳥取大学 医学部 技術部 長武 均 4 7
- (P5) 極超薄切片の有用性
岩手医科大学 共同研究部門 バイオイメージングセンター 花坂 智人、石田 欣二、林 秀一郎 4 8
- (P6) 電顕写真のデジタル化 —論文やスライドの図を作る—
自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 近藤 真紀 4 8
- (P7) 携帯電話を利用した災害時連絡システムの開発
東北大学 加齢医学研究所 情報ネットワーク室 小森 和樹 4 9
- (P8) ImageJ を用いた顕微鏡画像計測自動化プログラミング
自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 前橋 寛 4 9
- (P9) 人工内耳マップデータ参照用ビューワの製作
富山大学 医学部 耳鼻咽喉科 武田 精一 5 0
- (P10) Ajax 技術を用いた Web サービス
自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 西出 浩世 5 0
- (P11) 簡易心拍計の製作
自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 戸川 森雄 5 1
- (P12) USB イベントクロックの製作
自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 市川 修 5 1
- (P13) 高出力レーザーの保護メガネ —機構内技術連携—
自然科学研究機構 核融合科学研究所 山内 健治、分子科学研究所 加藤 清則 5 2
生理学研究所 大庭 明生、基礎生物学研究所 古川 和彦
- (P14) 刺激パルス発生回路の製作と新たな試み
自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 伊藤 昭光 5 2
- (P15) フローサイトメトリーによる強制発現と自然発現のプレップの解析
浜松医科大学 実験実習機器センター 柴田 清 5 3
- (P16) 質量分析計(MS)による糖ペプチドの解析
自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 山田 元 5 3
- (P17) クチクラワックスの分離条件の検討
自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 牧野 由美子 5 4
- (P18) 高速液体クロマトグラフィー体験談 (失敗例を中心として)
鳥取大学 医学部 技術部 三谷 秀明、足立 昭子、蓼本 小百合、長武 均 5 4
- (P19) 分析超遠心システムによるアミロイド線維の特性評価
大阪大学 蛋白質研究所 蛋白質構造形成研究室 酒井 美世 5 5
- (P20) 新規骨質評価法を用いた成長期ラット下顎骨の骨量・骨質解析
大阪大学 大学院工学研究科 藤谷 渉 5 5
- (P21) マウス肝臓における sterol regulatory element binding protein (SREBP) mRNA レベルの
日周リズム変化の測定
千葉大学 医学研究院 遺伝子生化学 松本 絵里子 5 6
- (P22) 非放射性 2-deoxyglucose を用いたグルコース利用速度測定法の開発
自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 斉藤 久美子 5 6

(P23)	Ki-67 抗体(MIB-1)を用いた細胞増殖指標：その免疫染色プロトコールと 画像解析半自動カウント法 ¹ 島根大学 医学部循環器・呼吸器外科 ² 附属病院病理部 ³ 乳腺クリニック児玉外科 梅 とも子 ¹ 、丸山 理留敬 ² 、仁尾 義則 ³ 、織田 禎二 ¹	5 7
(P24)	三重蛍光 ISH における Biotin プローブ検出の条件検討 自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 大澤 園子	5 7
(P25)	ショウジョウバエの神経回路形成に関わる新規遺伝子の探索方法について 国立遺伝学研究所 技術課 谷口 美佐子	5 8
(P26)	小型魚類ゼブラフィッシュ始原生殖細胞の移植法の工夫(不稔性異種間雑種をホスト個体とする試み) 自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 内海 秀子	5 8
(P27)	イネのオリゴ DNA マイクロアレイを用いた遺伝子発現解析とデータ処理 自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 山口 勝司	5 9
(P28)	大腸菌での組換えタンパク質の発現効率と可溶性の検討 自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 壁谷 幸子	5 9
(P29)	ディスポーザブル給水パックの評価 自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 佐治 俊幸、廣江 猛、窪田 美津子、小池 崇子	6 0
(P30)	遺伝子改変動物の維持、選抜に適した理想的なジェノタイピング法 京都大学 大学院医学研究科 附属動物実験施設 中西 聡	6 0
(P31)	Kr/YAG レーザーを用いた脳梗塞モデルマウス作製 自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 吉友 美樹	6 1
(P32)	都合によりキャンセル	
(P33)	ニホンザルにおけるメドトミジン-ミダゾラム不動化 自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 小池 崇子	6 2
(P34)	ソフト酸化水導入による有効期限の検討 福井大学 総合実験研究支援センター・生物資源部門 糸崎 悦子、向川 市郎、加藤 秀次、前田 秀之	6 2
(P35)	トマト養液栽培における竹炭培地の検討 静岡大学 教育学部 自然観察実習地 重岡 廣男	6 3
(P36)	形質転換植物実験施設紹介 自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 難波 千宮子	6 3
(P37)	名大農場で開発された簡易コンテナ砂耕法の現状紹介 名古屋大学大学院 生命農学研究科附属農場 全学技術センター 生物技術系 前坂 昌宏	6 4
(P38)	共同利用による分析機器について -原因と対応策- 徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 薬学系 北池 秀次	6 4
(P39)	高校生を対象とした Science & Technology Camp 2006 「生物が見る世界-いくつもの目といくつもの世界」の実施報告 浜松医科大学 医学部 総合人間科学講座 外山 美奈	6 5
(P40)	生物資源部門内の環境改善と安全性の取り組み 福井大学 総合実験研究支援センター・生物資源部門 向川 市郎、糸崎 悦子 加藤 秀次、前田 秀之	6 5
(P41)	都合によりキャンセル	
(P42)	高エネルギー加速器研究機構における放射線安全管理業務の紹介 高エネルギー加速器研究機構 放射線科学センター 高橋 一智	6 6
(P43)	空気中の放射性物質の濃度測定 自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 飯沼 秀子	6 7
参加者名簿	6 8

参加者へのお願い

■会場について

研究会会場は岡崎コンファレンスセンター(以下 OCC)です。会場については、研究会会場周辺地図および岡崎コンファレンスセンター案内図をご覧ください。

■受付について

受付は、一日目の 13:00~13:30 の間、OCC エントランスホールにて行いますので、名札と資料をお取りください。遅れる場合は事前に連絡をお願いします。研究会当日はOCC 事務室 (TEL: 0564-57-1870) までご連絡ください。

■旅費支給者の方へ

航空機利用の場合、航空チケットの半券と領収書をお持ちください。

■手荷物について

研究会の間、手荷物はお預かりいたしません。大会議室後方に荷物置場を設置いたしますのでご利用ください。貴重品等については各自の責任でお願いします。

■懇親会参加者へ

一日目の発表終了後、OCC 中会議室で懇親会を開きます。

■記念記帳について

研究会の期間中、参加記念帳を大会議室入り口付近に置きますので、都合を見てご記帳ください。

■記念撮影について

研究会開催中に全体での記念写真撮影を行います。日時等はプログラムをご覧ください。

■入構について

研究会受付にてお渡しする名札が入構許可証となります。受付以前に機構内に入られる方は、正門横の守衛室にて氏名・所属等を記載し、入構手続きを行ってください。

■駐車場について

研究所およびOCCには一般利用駐車場がありませんので、公共交通機関をご利用ください。

■宿泊について

ご自身で宿泊を確保される方は、研究会会場周辺地図をご覧ください。

■ロッジ宿泊者へ

ロッジ利用時間は午後3時からです。また、門限は午後10時です。門限に間に合わなかった場合は、貸与された各室の鍵で玄関の鍵を開けて入館し、その後鍵を掛けてください。退館(チェックアウト)に際して、必ず部屋の鍵を玄関の「鍵返却ポスト」に返却してください。なお、退館時間は午前9時30分までです。

■ご不明な点がございましたら

生理学研究所 技術課 (TEL: 0564-55-7702, FAX: 0564-52-7913) または
基礎生物学研究所 技術課 (TEL: 0564-55-7670, FAX: 0564-55-7669) までご連絡ください。

発表者へのお願い

■報告誌原稿の提出について

報告誌の原稿は、受付時に「報告誌原稿受付」に、原稿の入ったメディア（FD、CD、MO）と印刷原稿を提出してください。その際、簡単な原稿確認をさせていただきますので、不明瞭な原稿で提出された場合は、受け取れない場合がありますのでご注意ください（2月中に再提出をお願いします）。

■発表について

1. ポスター発表は、ポスター討論の前にOHP(限定)を用いて説明をしていただきます。一人2枚以内のOHPを使用し、2分間で説明してください。発表は2グループに分けて行います。グループⅠのスライド説明とポスターの閲覧および討論を行った後、グループⅡを同様に行います。
2. 口演発表は20分（発表15分、質疑応答5分）、奨励研究採択課題技術シンポジウムは20分（発表15分、質疑応答5分）です。十分な質疑応答の時間が取れるよう、発表をまとめてください。
3. 受付を済ませてから、発表当日のOHPを発表受付係にお渡しください。ポスター発表者は早めに受付を済ませ、13:30までにポスターを展示してください。
4. 発表内容の補足で用いる配布資料がある場合は、各自で準備をお願いします。

■ポスター作成について

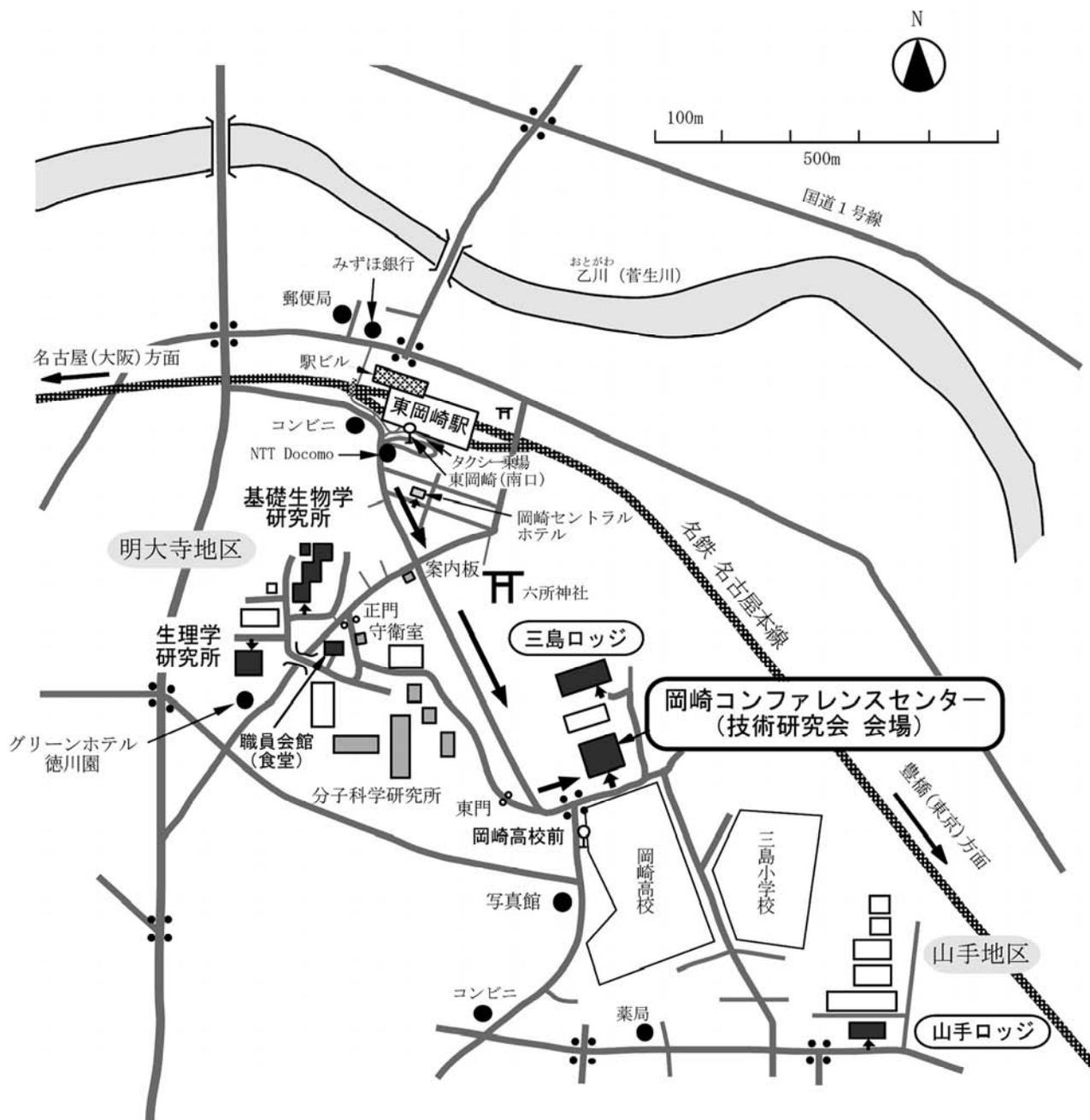
ポスターは一発表演題につき1枚です。
サイズは縦120cm×横85cm 縦長です。
上部20cmに演題名、所属機関名、発表者名を右図の様に記入してください。

パネルの左上に発表番号が貼ってあります。所定のパネルにご展示ください。

■発表およびポスターに関し不明な点は、
生理学研究所技術課 小原 正裕 または
基礎生物学研究所技術課 森 友子まで
お問い合わせください。

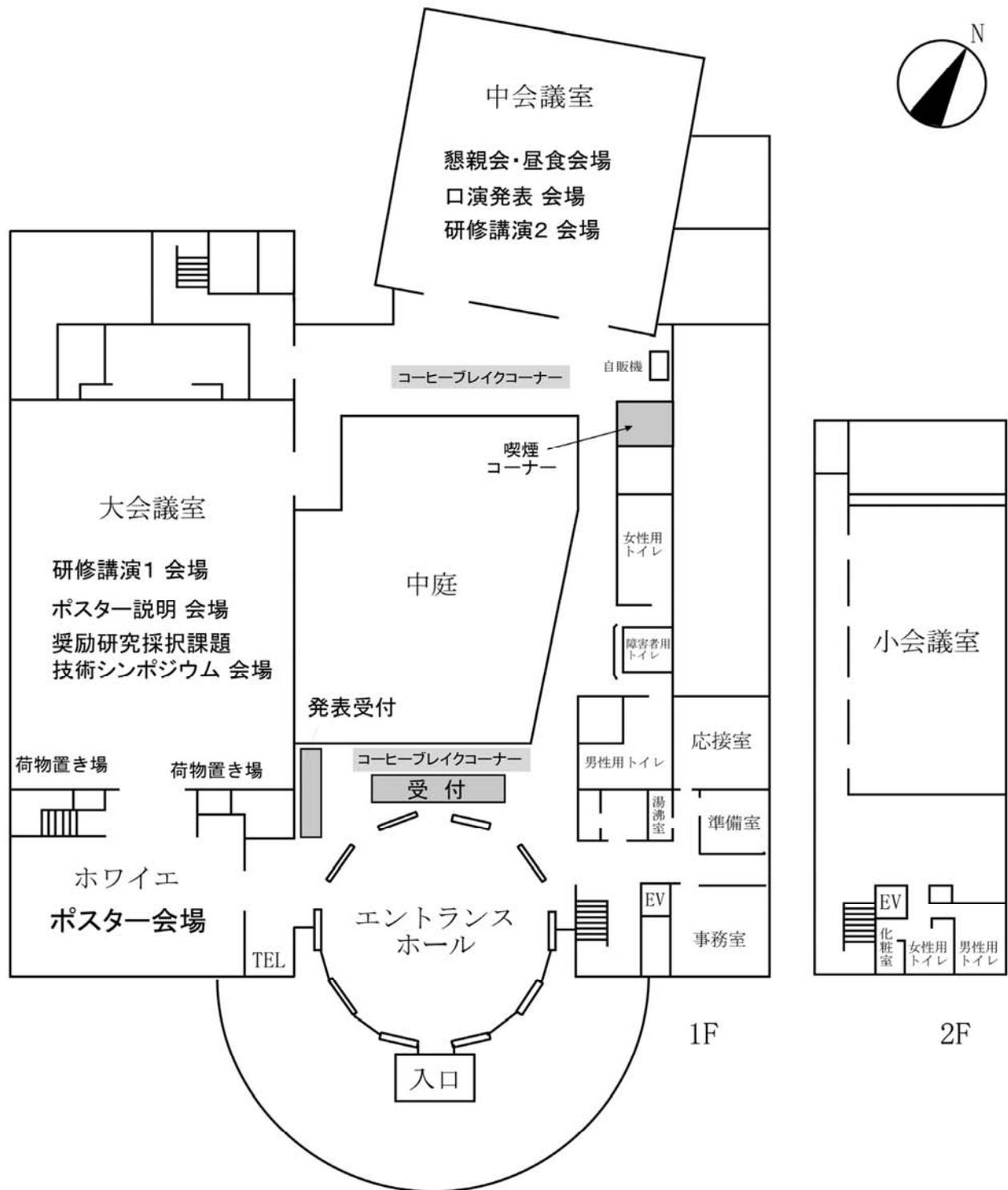


研究会会場周辺地図



- ◆ 東岡崎駅から「岡崎コンファレンスセンター」までは徒歩で10～15分程度です(ほとんど上り坂)
 タクシー乗り場とバス停は、ともに東岡崎駅の南側にあります。
 バスは「竜美丘循環線、のりば 東岡崎駅 南口11番、おりば 岡崎高校前」始発 6:50、最終22:55
 (逆は、始発 6:27、最終23:12)、運賃 120円、7,8時台及び16～22時台は1時間に4本、9～15時台は1時間に2本です。
- ◆ 宿泊連絡先(それぞれのロッジの管理人につながります)
 三島ロッジ TEL : 0564-53-4473 (22～8時は不通) 参考 : 岡崎セントラルホテル TEL : 0564-51-2830
 山手ロッジ TEL : 0564-53-3229 (12～17時、22～8時は不通) グリーンホテル徳川園 TEL : 0564-53-3151
- ◆ 連絡先(できる限りFAXを使ってください)
 研究会会場(OCC) TEL : 0564-57-1870, FAX : 0564-57-1872
 生理学研究所 技術課 TEL : 0564-55-7702, FAX : 0564-52-7913
 基礎生物学研究所 技術課 TEL : 0564-55-7670, FAX : 0564-55-7669

岡崎コンファレンスセンター案内図



岡崎コンファレンスセンター事務室
 生理学研究所 技術課
 基礎生物学研究所 技術課

TEL : 0564-57-1870
 TEL : 0564-55-7702
 TEL : 0564-55-7655

研 修 講 演

温度感知の分子機構

自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター 細胞生理部門
富永 真琴

私達は零下から体温近くまで、40度にもわたる広範囲の温度刺激に曝露されている。その環境温度を正確に感知し、体温を調節したり適した環境を確保するため行動したりする。また、43度を越える熱刺激や15度以下の冷刺激は、痛みをもたらす侵害刺激と考えられている。こうした温度情報を感知する受容体(センサー)分子として温度感受性イオンチャンネルが発見され、温度情報が電気信号に変換される基本分子メカニズムが明らかになりつつある。温度感受性イオンチャンネルの最初の分子は、1997年に遺伝子クローニングされたトウガラシの辛味成分カプサイシンの受容体 TRPV1 である。トウガラシが口腔内で熱感をもたらす経験はカプサイシンと熱刺激が同じ受容体を活性化されることで明確に説明された。鏡に映るように、冷感をもたらすミントの主成分メントールと冷刺激が同じ受容体 TRPM8 を活性化させることが明らかとなった。このようにして、これまでの9年間で9つの TRP (transient receptor potential) チャンネルが温度受容体として機能することが判明した。9つのうち2つ(TRPV1, TRPV2)は熱刺激で、2つ(TRPM8, TRPA1)は冷刺激で、そして残る4つ(TRPV3, TRPV4, TRPM2, TRPM4, TRPM5)は温かい温度を受容する。これら温度感受性 TRP チャンネルが感じる温度は決して一定ではなく、ダイナミックに変化することが知られている。例えば、TRPV1 の温度活性化閾値が43度以上から体温以下に低下することが体温下での炎症性疼痛の発生を説明すると推定されている。冷刺激や熱刺激は感覚神経で感知され、事実、そうした温度を受容する TRP チャンネルは感覚神経に発現するが、温かい温度を受容する TRP チャンネルは感覚神経以外の部位(体温近傍の温度に曝露される部位)に発現しており、体温近傍の温度での活性化が重要な生理的意味を持っていることが次々と明らかにされている。こうした事実は、私達の身体の中の多くの細胞が温度を感じながら生きていることを示唆している。温度を感じることは決して私達人間だけの機能ではなく、温度という普遍的な環境情報の中で生存する全ての生物にとってとても重要な機能である。恒温動物である私達より変温動物はもっと正確に温度を感じる必要があるかもしれないし、温度の変化を感知してそれに適応することが生物の生存戦略の基本となるかもしれない。したがって、それぞれの種が感じる温度はその種の進化の過程で規定されてきたと考えることもできる。

温度変化によってイオンチャンネルが開く現象は、温度プローブとパッチクランプ電極によって温度と電流を同時に記録することで解析できる。多くの温度感受性 TRP チャンネルで温度変化によるチャンネル開口が細胞膜断片できるという事実が、イオンチャンネル自身が温度センサーとして機能することを示唆している。では、温度はどのようにしてイオンチャンネルが閉じた状態を開いた状態に変化させるのか、また、その構造基盤は何か。残念ながら、こうした疑問に対する答えはほとんど出されていない。こうした疑問に答えつつ温度感知機構の生理学的意義を解析することは、様々な温度環境に適応しながら生きてきた細胞や生物の進化の歴史を解明する1つの手がかりになるかもしれない。

情報セキュリティを俯瞰する

自然科学研究機構 岡崎情報ネットワーク管理室 大野 人侍

近年 P2P ソフトウェアを介した情報漏えいやフィッシングによる不正預金引き出しなど組織・個人を問わず情報セキュリティの重要性が強調されており、その対策として個々の技術論は多く議論されている。しかしながら、それら個々の技術や対策間のつながりや全体像について示したものは、残念ながら少ないように思われる。

情報セキュリティは、組織の「情報資産」の保護に重点を置き、情報資産の機密性・完全性・可用性を確保するという ISO27000 シリーズの視点で語らせる事が多い。この場合、組織で守らなければならない「情報資産」とはいかなるものなのであろうか。また、各組織で行われている具体的な情報セキュリティ対策との関係はどのようなものとなっているであろうか。

一方、情報セキュリティを「セキュリティ文化」の普及という視点で捉える ODEC（経済協力開発機構）的な考えも存在する。「セキュリティ文化」とは OECD9 原則（認識、責任、対応、倫理、民主主義、リスクアセスメント、セキュリティの設計及び実装、セキュリティマネジメント、再評価）を通して実現されるものであり、情報システム及びネットワークから利益を享受する全ての参加者がセキュリティ文化の正しい理解とその実行を通して、相互に利益を保護するというものである。

ISO27000 シリーズの様な考え方だけでは、なぜ、組織に情報セキュリティ対策が必要なのか、どこまで必要なのか判断が難しくなる。そこに、OECD の「セキュリティ文化」という視点を加えることによって新しい見方が可能となる。

そこで、ISO27000 シリーズ及び OECD ガイドラインを意識して情報セキュリティ全体を俯瞰し、その中での個々の対策や技術及びその関係をいくつかの例を通して説明し、これらを通し、情報セキュリティを考える場合に重要な、「全体と部分」、「規則と技術」そしてそれらの間のバランスをどのように取るか、それを最終的なシステム設計・実装・運用時にどのように役立てるかを考える。

【参考文献・資料】

財団法人 日本情報処理開発協会 (<http://www.jipdec.jp/>)

独立行政法人情報処理推進機構 (<http://www.ipa.go.jp/>)

経済産業省情報セキュリティに関する政策、緊急情報

(<http://www.meti.go.jp/policy/netsecurity/index.html>)

@Police (<http://www.cyberpolice.go.jp/index.html>)

口 演 発 表

(第3回 奨励研究採択課題技術シンポジウム)

本技術シンポジウムの一部は、成茂神経科学研究助成基金の助成金により運営しています。

病原酵母クリプトコックス・ネオフォルマンスの 薬剤耐性株におけるタンパク質解析

千葉大学 真菌医学研究センター 機能形態分野 大楠 美佐子、川本 進

【目的】当研究室では病原性酵母 *Cryptococcus neoformans* について研究を行っている。抗真菌剤であるフルコナゾールの薬剤耐性株の出現が他の病原性酵母で問題となっており、*C. neoformans* においても欧米からの報告がいくつかある。しかしその機構についての報告は少ない。そこで真菌医学研究センター保存株について薬剤感受性のスクリーニングを行い、その傾向を調べた。その際、本菌における感受性試験法について条件検討を行った。さらに感受性の違いによる発現タンパク質の解析を試み、耐性機構解明への基礎データを提供することを目的として本研究を行っている。

【方法】(1) 使用菌株：千葉大学真菌医学研究センター保存のタイおよびブラジルの患者から分離された *C. neoformans* 約 100 株を本研究に使用した。

(2) 薬剤感受性試験：日本医真菌学会が定めている標準法は米国の標準法に準拠しているが、その微量液体希釈法については、主に *Candida* 属酵母を対象に設定されているため、本菌に適した方法の検討（菌の初期濃度、培地、培養時間）を行った。さらに多数の菌株の処理に適していると思われる e-test 法を用いてスクリーニングを行った。主にアゾール系抗真菌剤フルコナゾールについて試験を行った。

(3) 薬剤耐性株の作成：スクリーニングにおいて高度耐性菌が検出されなかったため、フルコナゾールに暴露することにより、耐性菌を取得した。

(4) タンパク質解析 (A)：スクリーニングした株の中から、耐性傾向のある株と、感受性の強い株を数株ずつ選択し、それらの株からタンパク質を抽出し、一次元および二次元電気泳動法により得られたバンドおよびスポットを比較した。

(5) タンパク質解析 (B)：(3) で作成した耐性菌と、耐性を獲得する前の親株のタンパク質の解析を行っている。

【結果および考察】本菌は *Candida* 属菌に比べ増殖速度が遅く、米国の標準法では最終判定までに時間を要した。さらにこの方法では判定に十分な菌の発育が見られなかった。検討の結果、初期濃度は標準法より 10 倍濃い濃度、培地は、より栄養分の高いものが適していると思われた。E-test 法は、簡便ではあったが、客観的な判定が難しい株もあり、感受性結果を数値として出す目的には適していないと思われた。スクリーニングの結果から選択した菌株のタンパク質を比較したが、差が明確ではなかった。これは感受性の差によるものの他に菌株間の差があることによると思われた。またスポット数が多く目視により比較することが困難であるという問題があった。現在、作成した耐性株と親株の比較、およびタンパク質の分画による比較対象スポットの絞り込みを行っている。

PCRを用いた細菌・真菌感染症の 迅速遺伝子診断システムの構築

三重大学 医学部附属病院 中央検査部 中村 明子

【目的】

再生医療の中心にある臓器移植患者のアウトカムは、移植後の真菌・細菌感染症の早期診断・早期治療に大きく左右される。しかし、感染症検査としての血液培養検査はその要求に応えられていない。本研究は細菌および真菌の種ならびに属特異的 rRNA 配列を増幅領域とした敗血症迅速遺伝子診断システムを構築することにより、①細菌・真菌感染症を早期診断すること、②至適抗菌薬選択のために炎症起炎菌群を同定し、早期治療を可能にすることを目的とする。

【方法】

1) 細菌

細菌の 16S rRNA 領域にはすべての菌に共通した各数十塩基からなる保存領域が点在し、保存領域に挟まれた数百塩基の遺伝子配列は属あるいは種のレベルでおおむね同一である。この領域を増幅の標的領域とし、2箇所保存領域にプライマーを設計して病原細菌を網羅的に検出し得る PCR 系を構築した。次に、*Pseudomonas aeruginosa*、*Eschericia coli*、*Enterococcus* 属を特異的に検出するため、それぞれの菌種・属に保存された領域を用いて PCR 系を構築した。さらにこれらの領域に加え、*S. aureus* に特異的な *spa* およびオキサシリン耐性の本体である PBP2' をコードする *mecA* を検出する PCR 系を構築した。

2) 真菌

多種類の病原真菌を網羅的に検出するために 18S rRNA の保存領域にプライマーを設計し、真菌スクリーニング用 PCR を構築した。そして、この PCR 産物を鋳型として起炎菌を有効抗真菌薬別に分類するため、菌種・属に特異的な領域を用いて *Aspergillus* 属・*Penicillium* 属 検出用 nested PCR、*Candida glabrata* 検出用 nested PCR、*Candida albicans* /*parapsilosis* /*tropicalis* /*gulliermondii* 検出用 nested PCR を構築した。

【結果】

設定した PCR 反応系の測定感度ならびに特異性は良好であった。当院検査部に血液培養が依頼された入院患者由来の 324 検体を測定した結果、31.1% が本 PCR システムで陽性を示した。DNA 抽出から結果判定までの所要時間は 5 時間程度であった。

【考察】

本法は従来の血液培養よりも高感度で迅速な菌種の同定が可能であり、敗血症の迅速診断・治療において有効な手段になり得ると考えられる。今後は菌種(属)同定に DNA チップを用い、同定可能菌種を増やしていきたい。

遺伝子組換え植物の遺伝子拡散と安全性

東北大学 複合生態フィールド教育研究センター 技術部 山本 理恵

【目的】現在、各国の研究機関で有益な機能を付与された遺伝子組換え植物が多数作られているが、一方で食物としての安全性や生態系への影響が懸念されている。例えば組換え植物から土壤中に有害物質が分泌され土壤微生物の増減に影響を及ぼす可能性、組換え植物の花粉が他家受粉することで環境中へ遺伝子が拡散する可能性などである。組換え生物の取扱い方法の世界的なルールとして 2000 年「カルタヘナ議定書」が採択され、組換え植物の環境中への影響をチェックする様々な試験が義務付けられた。本研究では土壤微生物相検定法と遺伝子拡散検定法について、これらの義務を満たすような検定方法とその結果を検討した。

【方法】隔離圃場において除草剤耐性組換えダイズと非組換えダイズ（タンレイ及びスズユタカ）を段階的に距離を取って播種、栽培しその種子を採取した。この試験を 2004 年から 2006 年の 3 年にわたり実施した。＜遺伝子拡散検定＞組換えダイズからの距離ごとに分けて採取した非組換えダイズの種子を再度圃場に播種栽培し、4 葉期に除草剤を散布してその耐性を見ることで組換えダイズ導入遺伝子拡散の有無を確認した。導入した遺伝子が除草剤耐性のため PCR 等を行わずとも除草剤をかけるだけで遺伝子導入が判別できるため、大量の種子サンプルを判定できる。＜土壤微生物相検定＞組換えダイズと非組換えダイズのそれぞれ栽培されている土壤を採取した。選択培地を用いての希釈平板培養法にて細菌一般、糸状菌、放線菌数について土壤微生物相の違いをみた。この際、微生物の増減に土壤中の有機物が関係するため、植物の根からの距離や深度など採取条件を厳密に同一にする必要があり、土壤採取用円筒を一定深度まで差込み、中に入った土壤を採取するなど条件設定を検討した。

【結果】＜遺伝子拡散検定＞2004 年は非組換えダイズとしてタンレイを用いて距離 80cm までの種子 1734 粒中 2 粒、0.115% の確率だった。2005 年は非組換えダイズとしてタンレイ、スズユタカを用いて行なったが、タンレイでのみ距離 140cm までの 5460 粒中 1 粒、0.018% の確率で花粉の飛散による遺伝子拡散が認められた。＜土壤微生物相検定＞本栽培 2 年間を通じて細菌一般では非組換え 1.48-5.73($\times 10^6$ cfu/1g 乾土)、組換え 1.54-5.91($\times 10^6$ cfu/1g 乾土)、放線菌は非組換え 2.02-4.10($\times 10^6$ cfu/1g 乾土)、組換え 1.57-4.60($\times 10^6$ cfu/1g 乾土)、糸状菌は非組換え 0.49-3.55($\times 10^5$ cfu/1g 乾土)、組換え 0.32-1.59($\times 10^5$ cfu/1g 乾土)という結果が得られた。これらの結果から非組換えダイズと組換えダイズの間で土壤微生物相の有意な差は認められなかった。

【考察】＜遺伝子拡散検定＞本来ダイズは自家受粉だが、今回ごくわずかながらも他家受粉が認められた。これは虫媒によるものと判断され、他の論文でも同様の現象が報告されている。＜微生物相検定＞有意な差は認められなかったものの、培地で培養できる微生物種は限られているため、より詳細な微生物相の変化を見るために今後、変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法 (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) 等を導入したい。

画像解析による高圧力に対する微生物細胞の挙動解明

熊本大学 衝撃・極限環境研究センター 嶽本 あゆみ、伊東 繁

熊本大学衝撃・極限環境研究センターは、国内では唯一、大規模な爆発実験設備を有する大学機関であり、その独自性を活かして様々な実験研究に取り組んでいる。音速を超える速度で伝播する圧力の波である衝撃波は、きわめて高い圧力を瞬間的に負荷することができる。水中衝撃波の場合は秒速およそ1300メートル、圧力は数百メガパスカルから数ギガパスカルに及ぶ。伝播速度がきわめて早いために、対象物に圧力が負荷されるのは、きわめて一瞬の出来事である。人工的な衝撃波の発生手段としては、超音速飛行や電気パルス、そして爆薬の爆轟が挙げられる。

本研究センターでは主に爆薬を利用した衝撃波の発生により、圧力制御技術の研究を始め、金属の爆発成形や美術品制作、異種素材同士の爆発圧着、粉末の衝撃固化、新規素材の開発、木材の不燃化等への改質、食品加工、衝撃波殺菌など、様々な実験および研究を行っている。いずれも本研究センターの実験設備を活かした独自性の高い研究である。

衝撃波は伝播する媒体物質の密度境界面において透過波として通過する衝撃波と、音速以下の速度に減じて反射膨張波とに分かれる。反射膨張波は引っ張り力によりスポール破壊を引き起こす。この現象は木材の不燃化等への改質や食品加工に利用されている。植物においては細胞質と細胞壁との密度境界面や、細胞組織に含有される気泡の膨張が原因で細胞壁の一部がスポール破壊を受けると考えられる。この現象によって木材の乾燥特性の向上、薬剤浸透性の向上、野菜・果物等の植物細胞の軟化など、様々な効果を得ることができる。

今回はこれらの研究の中でも衝撃波を利用した非加熱殺菌技術に関連して、衝撃波が最近の細胞にどのような影響を及ぼすことで殺菌効果が得られるかを解明することを目的に、実験研究を行った結果を発表する。

衝撃波の発生源には紐状爆薬である導爆線（日本カーリット(株)製・爆速 6,308m/s）と電気雷管（旭化成(株)製6号雷管）を用い、コンタミネーションを防ぐために密封した容器内に菌体試料を封入し、水中に設置した装置内で起爆し水中衝撃波を負荷した。その後試料はグルタルアルデヒド固定液による前固定、リン酸緩衝液、オスミウム水溶液による後固定およびエタノールによる6段階の脱水を行い、300 Åの金コーティングを施し、定真空型走査型電子顕微鏡による観察を行った。菌体試料以外にも、植物細胞などにおいて特に水中衝撃波によって生じたスポーリングや損傷などの痕跡に関して探索を行った結果を発表する。

卵巣移植法を応用した日本野生マウス由来 MSM系マウスの卵子採取効率改善の検討

新潟大学 脳研究所 生命科学リソース研究センター 前田 宣俊

【目的】国立遺伝学研究所の森脇らによって開発された日本産野生マウス由来の MSM/Ms マウス（以下、MSM）は、突然変異型の連鎖解析や遺伝子クローニングなどの研究分野において重要な系統として位置付けられている。現在、MSM を用いた研究グループから生殖工学的手法を用いた実験系を希望されているが、排卵誘起処置に対する感受性が低いため、現時点では期待に応えることができない。低感受性の問題は体外受精効率を著しく悪くすることから改善したい課題の一つと捉えている。このような背景から卵巣を移植することで感受性が改善するのか、あるいは移植卵巣から自然排卵数が増えるかという興味を持った。一方、過排卵処理で卵子を採取した卵巣は通常廃棄されるが、これらの再利用の可能性についても大きな課題と考え本実験を計画した。

【方法】MSM の卵巣を SCID マウス（免疫不全）の卵巣嚢内に移植し、4 週後に MCH オスと交配した。妊娠・分娩により有色の産仔（MSM 卵巣由来）を得たものを卵巣移植成功と判断した。その後卵巣移植が成功したマウスを 2 群に分けて以下の観察を行った。A 群：繰り返して妊娠・分娩させ、有色マウスとアルビノの比率の変化を見る。B 群：過排卵、卵巣移植を繰り返して行い、得られた受精卵から MSM の仔が採れるか確認する。卵巣移植をする際に検討すべき条件である組織適合性については SCID マウスを使用することで解決した。

【結果】MSM の過排卵では、15 頭から 2 細胞期胚と未受精卵 68 個を採取した。第 1 回の卵巣移植において 19 頭中 17 頭が有色マウスを生んだ。1 頭については第 2 回交配で有色マウスを生んだ。1 頭は第 2 回目も有色は生れず、卵巣移植成功率は 94.7%であった。A 群では、第 1 回の産仔 44 頭中有色マウス 21 頭、第 2 回では産仔 46 頭中有色 10 頭であった。1 回目の妊娠では一腹で 10 頭の有色産仔を得ることもあったが、2 回目の分娩では有色産仔数は減少し、アルビノが増えた。B 群 14 頭から 74 個の 2 細胞期胚を採取した。これを胚移植して得られた MSM 卵巣由来マウスは 1 頭であった。

【考察】繰り返して分娩での MSM 卵巣由来の産仔数は、2 回目で半数に落ちたが、自然交配での産子数を上回る例も見られ、条件によっては産仔数が改善する可能性もあることがわかった。今のところ、移植卵巣に対する排卵誘起による MSM 卵巣由来の産仔は殆ど得られていない。MSM 卵巣の週令が影響していることも考えられることから、今後の検討課題としたい。

術中迅速病理診断をサポートする新技術 - USによる超迅速免疫染色法の開発と臨床応用 -

富山大学 杉谷地区 技術室 八田 秀樹

- 【目的】免疫染色法（IHC）は、病理診断の補助的手段としていまや必要不可欠なツールとなっている。病理診断に供される標本は、通常、十分な時間をかけて固定され、最適な条件下で標本化されて診断者に供される。しかしながら、近年は手術の術式選択や補助療法の必要性を確認する目的で、手術中に標本を迅速に診断する術中迅速病理診断の需要が急激に高まっている。術中病理診断で供される標本は形態学的情報が不完全であるため、診断に難渋することも少なくない。また、時間的制約が大きく、染色に時間がかかる特殊染色や IHC も一般には併用できない状況にある。今回我々は、迅速診断に応用可能な超短時間での IHC の開発を試みる。形態情報の不足分を IHC で得られる付加的情報が補うことができれば、迅速診断の更なる精度向上が期待できる。（問題点）従来の IHC は、全工程（標本作製）に 3 時間以上を要する検査法である為、術中迅速診断への応用には超短時間（5 分以内）で IHC の全工程を終了するための新しい技術の確立が必要である。（検討）IHC の律速は抗原抗体反応の反応時間にあり、如何に抗原抗体反応時間を短縮化するかが重要である。我々は超音波発生装置（US）の有する“攪拌効果”に注目した。今回、市販の US を応用し、細胞・組織内での抗原抗体反応の至適作用条件の確立を試みる。迅速診断では、ヘマトキシリン・エオジン（H・E）染色標本が凍結切片作製後 5 分以内で供されることから、免疫染色も 5 分以内の完了が大きな目安となる。
- 【方法】医療用超音波発生機器（ソニックマスター E S-2）を用いて、IHC の抗原抗体反応時に US 照射を付加した。予備実験で出力（ W/cm^2 ）を 0、0.5、1.0、1.5、2.0 と変化させた結果（パルスモードは 50%、反応時間は 1.5 分）、1.0 W/cm^2 を越えたあたりから切片の剥がれが確認されたため、出力は 0.1 W/cm^2 に固定し、パルスモード（%）5、10、20、30、50、連続の 6 パターンに対して、抗原抗体反応の時間を 3 分を上限として 30 秒刻みで変化させ、各染色標本における染色強度、染色性等を比較検討した。一次抗体として日常検査で比較的頻用されている 4 種の抗体（AE1/3、CD3、CD20、MIB-1）を、二次抗体として Envision+（DAKO）を用いた。
- 【結果】AE1/3 は出力 0.1 W/cm^2 ・連続パルス・2.5 分、CD3 と CD20 は出力 0.1 W/cm^2 ・30% パルス・1.5 分、MIB-1 は出力 0.1 W/cm^2 ・連続パルス・1.5 分で理想的な染色パターンが確認された。染色のコントラストもよく、組織の破壊や剥がれなども確認されなかった。今回選択した抗体はいずれも US を用いることで 5 分以内の IHC が可能となった。
- 【考察】使用する抗体によって出力・パルスモード・反応時間の諸条件に多少の相違はあるものの、US を用いることで術中迅速診断時においても H・E 染色とほぼ同時に IHC を提供することが可能となった。診断用に供される抗体は 60 種類以上あるため、今後は各抗体での条件設定が必要と考えられた。今回は一次抗体を反応させた後に二次抗体を反応させる 2-step 法を用いたが、我々が開発した“免疫複合体を用いる 1step 迅速免疫染色法”を併用すれば、更なる時間短縮が可能となると考えられた。
- 【参考文献・資料】 Freshly prepared immune complexes with intermittent microwave irradiation result in rapid and high-quality immunostaining. Pathology-Research and Practice 2006; 202(6):439-445
Improved 1-h rapid immunostaining method using intermittent microwave irradiation: practicability based on 5 years application in Toyama Medical and Pharmaceutical University Hospital. Modern Pathology 2004; 17(9): 1141-1149

暗期における近紫外線利用による 光触媒酸化チタンの抗菌・消臭効果の検討

鹿児島大学 フロンティアサイエンス研究推進センター 動物実験施設

小原 徹、◎福山 伸隆

光触媒酸化チタンの特性は、酸化チタンに紫外線があたることで水と酸素から活性酸素種を発生させ、有害物質、悪臭物質、雑菌などを酸化し、無害な二酸化炭素と水に分解する作用をもっている。我々は前回(17年度の科学研究費)の実験で、光触媒酸化チタンを単独で使用した際、抗菌及び消臭効果があまり認められなかった。その原因は、夜間・消灯時に光(紫外線)がない為に光触媒酸化チタンを塗布した室内で光触媒反応が起こらず、抗菌及び消臭効果が急速に低下したためと思われる。そこで、その対策として、近紫外線波長の光を発生させるブラックライトに着眼した。ブラックライト蛍光灯ランプの特性は、可視光線をほとんど放射せずに蛍光作用の強い紫外線の波長を効率よく放射するランプである。今回は、光触媒酸化チタンを床、壁、天井全面に塗布した恒温実験室内に、ブラックライト蛍光灯ランプを設置し、抗菌及び消臭効果の少ないと思われる消灯時間帯(暗期)での、点灯の有無における光触媒酸化チタンの抗菌、消臭効果及び室内の照度、紫外線について検討したので報告する。

【材料および方法】実験は FSR センター動物実験施設の恒温実験室を使用した。室内の温度は $22\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55\pm 10\%$ 、換気回数12回/h、照明時間は12時間(午前7時点灯、午後7時消灯)に設定した。動物は8週齢の SPF ddY マウス雌 240 匹を用いた。実験は、恒温実験室の床、壁、天井全面に光触媒酸化チタンを塗布したコントロール群と、光触媒酸化チタン塗布した室内に、近紫外線を発生するブラックライト蛍光灯ランプ装置を天井に設置した実験群の計2群とした。室内の空中細菌は、ピンホールサンプラー法と落下法を用い室内 2 箇所を測定した。付着細菌は、一般細菌と真菌について床、壁、天井面各2箇所、計6箇所を測定した。アンモニアは北川式の検知管を用い室内中央で2回測定した。測定は動物導入後、1週間に亘って9時から11時の間毎日測定した。照度と紫外線の測定には、照度計、紫外線測定器を用いた。

【結果及び考察】室内の空中細菌、落下細菌、付着細菌ともに4日目よりコントロール群が多くなる傾向を示した。付着細菌の真菌ではコントロール群、実験群ともに床、壁、天井から検出されなかった。アンモニアは一週間に亘って光触媒酸化チタンとブラックライト蛍光灯ランプを組合せた実験群の方が低い値を示した。

以上の結果、暗期の消灯時間帯で近紫外線蛍光灯ランプを光触媒酸化チタン塗布表面に照射することで高い抗菌及び消臭効果が得られ、飼育室内の空気清浄度(空中細菌、付着細菌、アンモニア)は大幅に向上した。これらのことから光触媒酸化チタンと近紫外線蛍光灯ランプとの組合せは、動物実験施設の手術室、処置室をはじめ、他の分野でも十分応用できるものと思われる。この研究は平成18年度科学研究費補助金小原 徹 課題番号18927004で実施した。

シリコンゴム製リングを用いた マウス新生児の個体識別法の検討

岡山大学 自然生命科学研究支援センター 動物資源部門 矢田 範夫

【目的】疾患モデルマウスの系統維持業務の上で、生後21日齢で離乳するまでの新生児期マウスの的確な個体識別は不可欠である。成体マウスでは耳パンチや入れ墨などの個体識別法が一般的に用いられるが、新生児期のマウスの場合は、生体への侵襲を可能な限り避ける必要があることから、サインペンによるマーキング以外の個体識別法は事実上存在しなかったと言ってよい。だが、こうしたマーキング法は簡便である反面、皮膚の活発な新陳代謝などによって1、2日で判読不能となってしまうため、確実な個体識別のために飼育技術者や研究者は多大な労力を強いられているのが現状である。今回、マーキング法に代わる新たなマウス新生児の個体識別法として、シリコンゴム薄膜をリング状に加工しこれをマウス尾部に装着する方法を考案し、その適否について検討した。本研究は岡山大学動物実験指針に基づき、岡山大学動物実験管理委員会の承認を受け実施した。

【方法】①供試動物としてJcl:ICRマウスの新生児16匹2腹分を用いた。それぞれの母マウスのもとで、新生児を分娩直後からシリコンゴム製リングを尾部に装着した群とサインペンによるマーキングのみを施した群の2群に分け、体重測定とともに尾部の状態ならびに母マウスの哺育行動を観察した。②尾部に装着するリングは、信越化学工業株式会社製の液状シリコンゴムKE-1950-50Aと同50Bの等量を、トルエンを溶剤として調製し、長さ50mmのアルミ棒を直径2.5mmに削って加工した金型に塗布後、125℃で10分間加熱固化させて成型したものを長さ5mmに切って作製した。リングの視認性を高めるために、シリコンゴム調製の段階で染料を加え、着色を施した。③リングの装着には、先端をU字状に改造したクレンメ型ピンセットを用いた。④リングの脱落を防止するために、市販の液状絆創膏（タイヘイ薬品株式会社製「エキバンA」）をリング装着部位に微量塗布した。

【結果および考察】①実験群と対象群のいずれも、離乳までの成長曲線に有意差は見られなかった。②母マウスの哺育行動についても、両群の差は観察されなかった。③生後5～6日齢まではリングの脱落はなく、また尾部の成長に伴うリングによる締め付けも見られなかったが、7日齢以降では装着部位より先端部が腫脹し、個体によっては尾部先端部が壊死するなどの異常が観察された。

以上の結果から、生後5～6日齢までの新生児の個体識別法として本法が有効に機能することが示された。また今回はリングの着色を赤、黒、青の3色に限ったが、さらに多くの色を用いることによって、より確実な個体識別法になりうる可能性が示唆された。リングの締め付けによる尾部の壊死については、マウスの成長の段階に応じてより大きな径のリングに付け替えることで避けられると考えられ、今後の課題として引き続き検討中である。

アニメーション技術を用いた動的な インターネットセキュリティ教材の作成と公開

一関工業高等専門学校 技術室 佐藤 昌也

【目的】 インターネットは便利な道具である反面、犯罪、ウィルス感染、情報漏洩などの危険性を兼ね備えている。しかしながら、危険性に無関心、または、知識や技術が不十分である利用者は少なくないものと思われる。このような利用者に対しセキュリティに興味・関心を持たせることは、被害を低減させる効果的な対策のひとつであると考えられる。本研究では、敬遠されがちな文章や図による従来のインターネットセキュリティ教材とは異なり、アニメーション技術を用いた動的な教材を開発し、それらを Web 上で公開し興味関心を得ることによって、インターネット利用者の技術や安全の向上に資することを目的とする。

【方法】 本研究は、大まかに以下の項目から構成され、最終的に一つのシステムとして運用する。

1) TVML Player Mini (TVML プレーヤー・ミニ) と Camtasia Studio (カムタジア・スタジオ) による動的なインターネットセキュリティ教材の作成

TVML (TV program Making language) は、TVML 研究開発チーム (NHK 放送技術研究所、他) で開発されたプログラミング言語で、TVML を記述することによりキャラクターを用いたアニメーション番組を制作するものである。これまでは番組の制作には TVML を記述することが不可欠であったが、TVML Player Mini (無償) の登場により、せりふ等を含む台本を記述するだけで番組を制作できるようになった。この TVML Player Mini を利用することにより、新しいトピックが生じた場合でも、それに対応する動的なインターネットセキュリティ教材を迅速に作成することが可能である。

しかしながら、TVML Player Mini で作成された番組のファイルは、TVML Player Mini のみでしか再生できず、作成した教材をより多くのインターネット利用者に公開するには不向きである。そこで、Windows の画面を録画できるソフトウェアである米 Tech Smith 社の Camtasia Studio を用いて TVML Player Mini の番組を録画し、インターネットの動画ファイルの Flash 形式で保存することにより汎用性を持たせる。

2) Moodle (ムードル) による教材の管理と公開

オープンソースの (e ラーニング) コース管理システム (Course Management System, CMS) である Moodle (無償) をサーバーに導入し教材を管理する。Moodle で管理された教材は、一関工業高等専門学校の LAN 及びインターネット回線を通じて学内外に公開する。

【結果と考察】 上記の仕様をほぼ満足するシステムを試作した。そのシステムを基盤として、所期の目的を達成できるよう、今後は教材の充実と運用方法の検討を行う。

ポストゲノム膜タンパク質機能解析法の 教育用デジタルコンテンツの制作

生理学研究所 技術課 高木 正浩

【目的】生体内において膜タンパク質は細胞の情報伝達の過程で中心的役割を果たす。創薬の50%が膜タンパクをターゲットとするなどポストゲノムの時代において、これら膜タンパク質の機能を解明することは益々重要な課題となっている。しかし膜タンパク質の機能解析法はその細胞の取り扱いを含め、遺伝子の導入法、電気生理の記録・解析、及びシステムのセットアップから実験における細かな工夫点に至るまで、研究者の経験によるところが大きく、初心者にとって障壁が大きいために、研究の重要性にもかかわらず研究人口が少なかった。また私が所属している研究室では、生理科学実験技術トレーニングコースや体験入学生の受け入れにおいて、上記の技術指導を行っているが、いきなりその場での、しかもテキストによる説明だけで実験技術を十分にわかりやすく伝える難しさも感じている。そこで予め、実験の様子を画像としても盛り込んだ具体的で詳細な実験プロトコルが鑑賞できれば、実際の習熟度合いも実のあるものになると考えられる。しかし現在のところ、このような内容を体系的にまとめて解説されたものはなかなか見当たらず、多くの研究者は人づてにその方法を教えてもらっているのが現状のようである。そこで今回、一連の膜タンパク質機能に関する実験技術を教育用デジタルコンテンツとしてまとめ、情報提供できるように整備を進めたので報告する。

【方法】研究室では、イオンチャネルを始めとするタンパク分子の機能解析について電気生理学的手法により明らかにする研究が行われている。実験系としては、アフリカツメガエルの卵母細胞および哺乳類の培養細胞を強制発現系として用い、目的に応じて各種遺伝子を導入し、電気生理学的な記録をルーチンに行っている。これら研究室で日常行われている実験の様子を手技ごとにまとめ、特に注意する点やポイントなどを盛り込むことで、必要な情報をわかりやすく整備したデジタルコンテンツの制作を行う。

【結果及び考察】発現系として、アフリカツメガエル卵母細胞および哺乳類培養細胞の違いによる特徴や用いられる電気生理学的方法、特にアフリカツメガエル卵母細胞の系では2電極膜電位固定法を、哺乳類の培養細胞系ではパッチクランプ法について、実験の手順を追ってまとめた。現在は、実際に使用している道具類や試薬等の情報、その他ちょっとしたコツなど、これから研究を始めようとする初心者にもわかりやすい内容となるよう、最終的にはWebでの公開を目指して整備を進めているところである。

不正なP2Pファイル交換の検出に対応したリアルタイムネットワーク管理システム

岡山大学 総合情報基盤センター 大隅 淑弘

【目的】

P2P(Peer-to-Peer)通信技術を利用したファイル交換ソフトウェア(P2Pソフト)が社会問題となっている。大学や企業ではP2Pソフトの使用を禁止している場合が多いが、実際には不心得な一部の者によって不正なファイル交換が行われている状況がある。

これとは別に大学のネットワークが時々おかしくなることがある。その場合には、IDS(Intrusion Detection System)やパケットモニタの情報、トラフィック量やLAN装置から得られる情報、管理データベースの情報を逐次調査する必要があり、その原因究明と復旧のためには相当の時間を要している。また、通常IDSは学内外を接続している部分で動作するため、学内でワームウイルス感染があった場合には、学内から学内への感染活動を遮断できないなどの問題がある。

本研究では、このような問題に対応するため、異常なトラフィックや不正な通信を検出し、直ちにその発生源を特定してアラートを発生するとともに、ネットワーク機器と連携して自動的に処置をするシステムを開発する。

【方法】

本システムの構成は次のとおりである。

- (1) 端末位置情報管理データベースサーバ
L2/L3スイッチの情報を取得して各端末の位置情報を常時監視する。
- (2) ネットワークの異常や不正なトラフィックを検出
IDSアプライアンス、snort、LANスイッチ、ウイルス対策アプライアンスなどから情報を取得して異常なトラフィックや不正な通信を監視する。
- (3) 検出に基づいたアクションの実行
アラートメッセージ、通信の停止・抑制、検疫ネットに移行などを実行する。
- (4) インシデントの管理
管理コストを低減する。

セキュアなファイル転送のための プロトコル変換式暗号化ソフトウェアの開発

生理学研究所 技術課 村田 安永

【目的】ウェブサーバー上のウェブページを更新する際によく使用されるウェブページ作成用ソフトやファイル転送用ソフトなどのアプリケーションの中には、FTP に対応していても、暗号化通信には対応していないものがある（例：ホームページ・ビルダー、FFFTP）。このようなアプリケーションを使用し続けていると、認証情報が暗号化されずにネットワーク上を流れるため、パスワードなどが第三者に盗聴されてしまう危険性がある。この対策としては、暗号化通信に対応した他のアプリケーション（例：Dreamweaver、WinSCP、FileZilla）に変更してもらうのが容易であるが、利用者に余計な負担をかけてしまう。そこで、暗号化通信に未対応のアプリケーションでも暗号化通信を簡単にできるようにすることを目的として、クライアント側で FTP を SFTP（あるいは FTPS）に変換して、サーバーと暗号化通信を行えるようなソフトウェアを開発する。

【方法】POP3 プロトコルなどを SSL/TLS に対応させることが可能な Stunnel というソフトウェアが、今回開発するソフトウェアに必要な実装の多くを含んでいることがわかっているため、開発は Stunnel のソースをベースに行う。また、以下のような工程でソフトウェアの開発を行う。

- (1) 開発環境の構築、(2) 情報収集、(3) ソースコード解析、(4) ソフトウェアの設計、(5) プログラミングと実行テスト、(6) マニュアルとウェブページの作成

以上の全ての工程が完了したら、ソフトウェアをウェブサーバーにて公開する。

【結果・考察】現在のところは、上記の工程のうち、(1)～(3) を行っている段階である。特にソースコード解析には、Windows プログラミング、ネットワークプログラミング、OpenSSL ライブラリの使用方法などの知識が必要なため、これらを猛勉強中である。なお、開発環境については OpenSSL と Stunnel のソースコードをコンパイルして実行ファイルを生成可能なまでには構築済みである。実装に関しては、FTP を SFTP に変換するより、FTP を FTPS に変換する方が容易であるはずなので、まずは FTPS に変換できるようにする予定である。ただし、FTPS の実装に関する詳細情報については、RFC 以外で見つけることができなかつたので、RFC 2228 (FTP Security Extensions) と RFC 4217 (Securing FTP with TLS) に関する翻訳作業も並行して行っている。

なお、2006 年 8 月下旬、情報収集の段階で、TLSWrap という同様の機能を持つソフトウェアが既に存在することが判明した。しかし、TLSWrap はメッセージが全て英語であり、GUI 部分のソースコードが非公開であったので、開発の余地はあると考えている。

位相差電子顕微鏡用位相板の材質を変えて 性能の向上を計る

生理学研究所 技術課 大河原 浩

【目的】 通常、軽元素からなる生物試料や高分子試料などの電子顕微鏡像はコントラストが低い。そのため、フォーカスを変えたり(デフォーカス)、試料を重金属染色やシャドーイングなどの前処理によって、コントラストが高められる努力がされてきた。この場合、デフォーカスによる電子顕微鏡像のボケの発生、重金属染色やシャドーイングによる試料の外形のゆがみなどの問題があった。位相差電子顕微鏡は染色などの前処理を必要とせず、試料を無染色でコントラストよく観察できる利点を持っている。

位相差電子顕微鏡の位相板は、電子線透過率がよいこと、電子線照射に強いこと、帯電しないこと、結晶構造を持たないこと、表面が平坦なこと、作製が容易なことなどが求められる。現在、位相板は加熱蒸着法による非晶質炭素薄膜で製作している。非晶質炭素薄膜は電子線に強く、帯電せず、結晶構造を持たない。しかしながら、たとえば 100kV 電子顕微鏡で電子線透過能を 62%程度まで低下させてしまう。これに比較し、Si, Al は 75%程度に収まることがわかっている。しかし、Si, Al 薄膜の表面は簡単に酸化するため、その酸化膜が電子顕微鏡内で電子線の帯電を発生させ電子顕微鏡像を歪めることが考えられる。帯電による像の歪みに最近、SiO₂ 薄膜を使った帯電の実験によって、位相板を炭素薄膜で覆うことにより帯電問題を解決できることがわかった。これらのことを考慮しながら、炭素薄膜より電子線透過性の良い材料として Si, Al 薄膜を使った位相板について製作方法と性能を検討した。

【方法】 はじめに非晶質 Si 薄膜および Al 薄膜のグリッド上への製作方法について検討した。Si, Al 薄膜は、マイカ板に炭素薄膜を形成する方法ではグリッド上へ製作できない。マイカ板から剥離できないからである。マイカ板に換えて岩塩を使用したいが、岩塩は劈開が難しく平坦な面を出すことが困難である。そこでマイカ板およびガラス板の上に岩塩のスパッター薄膜を形成し、その上に Si, Al 薄膜を形成する方法で、グリッド上へ移し取った。まず NaCl が薄膜の汚染物質とならないか電子顕微鏡で検査した。Al, Si 薄膜を形成した後、それぞれの薄膜を使った位相板の帯電程度、両面を炭素薄膜で覆ったときの帯電の除去程度を観察した。

【結果】 NaCl スパッター薄膜の上に Si 薄膜および Al 薄膜を製膜し、グリッドに移し取ることができた。NaCl が汚染物質として問題になるほどの影響は見られなかった。それぞれの薄膜を電子顕微鏡位相板面に配置した時、薄膜の帯電状態は、両面を炭素薄膜で覆うことで低減できることが確認できた。今後 Al, Si 薄膜を使った位相板の性能について、従来の炭素薄膜から成る位相板と比較検討を進める予定である。

2光子励起顕微鏡による in vivo 観察用の固定具の開発

生理学研究所 技術課 高橋 直樹

【目的】

近年、2光子励起顕微鏡とマウスの脳切片のスライス標本を用いて、脳神経スピンの働きなどを研究した報告が多くなされている。また、in vivo で研究した成果を発表する研究室も少しずつ増えており、今後も増加していくと思われる。私が所属する研究室でも in vivo の研究に取り組み始めているが、資料が少ないなどの理由から実験環境の構築に苦労している。そのようなことから、今回は2光子励起顕微鏡を用いた in vivo での実験環境の構築に取り組み、特にマウスを顕微鏡のステージに固定するための固定具を中心に検討して開発した。

【方法】

今回は以下のものを作成した。

1) マウスの頭部に取り付けるチャンバー

実験ではチャンバーを取り付けた状態で何日か飼育することから、動物の負担を軽減するために塩ビなど軽くて加工し易い材料で作成した。チャンバーの両端には固定具で固定するための穴をあけた。

2) マウスを固定する固定具

固定具にはそれぞれ2個のネジを取り付け、そのネジ頭でチャンバーを両側から挟んで固定するようにした。材料は真鍮を使用した。

3) 補助具

作成した固定具を顕微鏡のステージに取り付けるための補助具を作成した。材料は真鍮を使用した。

【結果】

現在、作成したチャンバー、固定具、補助具は実験で使用されているが、一部の実験で不具合があることが分かったために改良中である。

【考察】

チャンバーは大抵の場合マウス1匹につき1個を消費するので、実験内容によっては使用数が多くなる。現在は手作業でチャンバーの作成を行っているので、ある程度NCで作成するようにして省力化をはかりたい。

脳高次機能研究で MEG 計測をおこなうための 技術情報サポートサイトの構築

生理学研究所 技術課 永田 治

【目的】 MEG（生体磁気計測装置）を用いた脳高次機能の計測は、言語や知覚認知などヒトでなければできない研究分野において、非侵襲である長所を生かして多くの先端的研究が行われており脳波計測に比べて数十倍の情報量があるといわれているが、実際には超電導技術を応用した装置であるためシステム構成が大きく、利用と維持管理に多くの経験とノウハウを要する。さらに脳磁場は極めて微弱であるため外来ノイズの遮断などに工学的テクニックを必要とし、良好な計測環境を確立するためには多大な時間と労力をともう。また、非侵襲とはいえ冷媒として大量の液体ヘリウムを充填するので安全性への高い配慮も求められる。これらのノウハウはハードからソフトまで多岐にわたっており、実際の研究現場でなければ得られない情報も数多く存在するが、システム構築の技術や実験における情報を体系的にまとめた文献や書籍は皆無で、導入施設数も MRI ほど一般的ではないため、問題点を解決するための具体的な情報を得ることは容易ではない。生理研では国内で最も早期に多チャンネル MEG が導入され、脳高次機能研究に活用してきたため実験計測だけでなく設置導入に関するノウハウ・計測システム全体の構築方法や安全性に関わる維持管理等の技術情報が多く蓄積されている。それらは外部への実験手技の公開とレベル向上を目的として生理学実験トレーニングなどを介し率先して還元しているが、短期間の講義等では多くを修得することはきわめて困難で、とくに状況に即した応用技術を修得することは容易ではない。しかし研究機構の法人化にともない、それらの蓄積された情報を広く社会に還元しなければならない責務も高く求められており、現実的な情報提供の方法として IT 技術を利用した基盤整備が必要である。

【方法】 現状では文書として保存されている技術情報と個人のスキルとして蓄積された有形無形の技術ノウハウが混在しているため、以下のように対象別に整理し、Web サイトとして再構成することで必要な情報を容易に提供できる環境を構築した。

- 1) **基本技術情報** MEG の構造と動作原理等
- 2) **装置の導入** 最適なシステム環境を構築するための計測室設計と条件の詳細
- 3) **システム全体の構築** 刺激装置やネットワーク等、必要な環境整備と計測技術
- 4) **維持管理とメンテナンス** デュワー真空系の維持管理、センサのチューニング、液体ヘリウムの充填、ワークステーションとネットワーク管理などのノウハウ
- 5) **トラブルシューティング** 実験計測時等の問題回避と発生時の対応策

口 演 発 表

(一般口演)

細胞膜タンパク質のペプチドマスフィンガー プリンティング法による同定検討

九州工業大学 情報工学部 楠本 朋一郎

【目的】21世紀に入りポストゲノム時代が到来した。タンパク 3000 プロジェクトなどの代表的なタンパク質の構造解析が行われ、生命活動の基本原理を明らかにする取り組みを新薬開発などの産業に応用する試みが活発になされている。しかし、これまで構造が明らかとなったタンパク質の大部分は解析の容易な水溶性タンパク質であり、細胞間の情報伝達、エネルギー生産、物質輸送など重要な機能を有する細胞膜タンパク質の解析は後回しにされてきた感がある。細胞膜タンパク質は水溶性タンパク質と物理的な性質が大きく異なり、取り扱いや評価方法にはまだまだ改良が必要であるため、今回検討した。

【方法】種々の菌の細胞膜標品からの細胞膜タンパク質抽出は、細胞膜標品可溶化水溶液 [10mg/ml 細胞膜、1%各種界面活性剤 (Triton X-100, Dodecylmaltoside, n-Octylglucoside など)、300mM NaCl、20mM Tris-HCl (pH=8.0)] を超音波処理 (TOMY UD201: output 2, duty 20, 10sec×5回) し、20℃で30分静置後、遠心分離 (Hitachi himac CT 15D: 15000rpm×10分間)、上清と沈殿のタンパク質量を TCA-Lowry 法にて定量。膜タンパク質のペプチドマスフィンガープリンティング法改良検討については、部分精製膜タンパク質を PVDF 膜にブロッキングし、カルボキシメチル化*して Trypsin 処理を行った。これを TOF-MS (Perseptive Biosystems: Voyageur DE-K, Linear mode) にてペプチド分子量を測定した。

【結果・考察】 *Corynebacterium glutamicum*, *E. coli* 等の細胞膜に対して非イオン性界面活性剤を用いて抽出効率を調べたところ、哺乳類の培養細胞のような単純な膜構造をとっていないためいずれも 40-50% 程度であった。等電点電気泳動、SDS-PAGE を組み合わせたタンパク質の二次元展開法では、SDS のような抽出力の強いイオン性の界面活性剤が使用できないので、根本的な分析手法の改良が必要であると考えた。また、膜タンパク質を PVDF 膜にプロットし、カルボキシメチル化処理することで検出できるピークの数が増加した。膜タンパク質の中には強固な立体構造を形成しているものがあり、カルボキシメチル化の際のアルカリ処理が立体構造の破壊に役立っている可能性がある。また、Zip-Tip を用いると検出できるピーク数が減少したので、疎水性の膜タンパク質ペプチドが Zip-Tip に吸着されてピーク数の減少につながったのではないかと考えた。

【参考文献・資料】*改定第3版タンパク質実験ノート 羊土社

F A B / M S によるキラル識別評価法の新しい試み

大阪大学大学院 理学研究科 技術部 安達 廣

【目的】 元本学産研の澤田らにより提案されたF A B / M S エナンチオマーゲスト重水素ラベル法 (F A B / M S / E L ゲスト法) は重水素化ラベルしたエナンチオマーゲストともうひとつのエナンチオマーゲストを同量混合した擬ラセミゲストを用いる方法で、クラウンエーテル類のキラル識別能を簡便、迅速に評価できることが確認されている。12回の研究会でオリゴ糖とアミノ酸の相互作用についてポスター発表をさせていただきましたが、今回はホストをシクロフラクタン類として数種類のゲストによるキラル識別能の同時分析を試みましたのでその結果を報告する。

【方法】 ホストはシクロフラクタンの位置選択的化学修飾されたものを、ゲストとしてはアミノ酸イソプロピルエステル塩酸塩を試用した。すべてのゲストで、S-エナンチオマーの方を同位体標識したものを使用した。

質量分析装置は日本電子のJMS-SX102をもちいた。

【結果】マススペクトルはゲストの同位体標識分だけm/zが異なるホストゲスト錯イオンピーク対が複数観測された。

【考察】それぞれの相対ピーク強度値、IRIS値からキラル識別能を評価した。ベンゾイル基で修飾したシクロフラクタンが完全メチル化シクロフラクタンに比べて大きなキラル識別能を示した。完全メチル化シクロフラクタンの場合にフルクトフラノース3位のメチル基の立体効果がキラル識別に寄与していることがこれまでに明らかになっている。この立体効果が部分ベンゾイル化により大きくなったことが、キラル識別能が大きくなった原因だと推定される。

【参考文献】1) T. Uchiyama et al, Carbohydr. Res, 1989, 192, 83.

2) M. Sawada, Mass Spectrom. Rev., 1997, 16, 73. 1)

TGF- β 1 による活性化 PKA の核内移行抑制効果の解析

島根大学 医学部 生化学講座分子医学 成相 裕子

【目的】

Cyclic AMP (cAMP) が関与する遺伝子発現は、細胞内 cAMP の上昇に伴って引き起こされる活性化 cAMP dependent protein kinase (PKA) が細胞質から核内に移行し、cAMP responsive element binding protein (CREB) をリン酸化することによって調節されている。発現されたタンパク質は免疫応答、細胞増殖、分化、細胞外マトリックス形成、細胞死や記憶等数多くの生理作用を導くことが報告されている。最近、我々はマウスマクロファージ系 RAW 264.7 細胞を用い、cAMP 上昇に伴う IL-6 や NO 合成酵素 (iNOS) の遺伝子発現が Transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) によって著しく抑制されること、この抑制効果は活性化 PKA の核内移行が阻止されることに起因することを見出した。本研究では TGF- β 1 による活性化 PKA 核内移行の抑制機序を解明することを目的とする。

【方法】

RAW 264.7 細胞 (マウスマクロファージ様セルライン) を TGF- β 1 で前処理後、PKA の活性化物質である Forskolin や cAMP の細胞膜透過性アナログである dBcAMP の処理によって引き起こされる IL-6 及び iNOS の誘導を RT-PCR で、更に、pCREB や PKA はウエスタンブロット、Electro mobility shift binding assay (EMSA) 及び共焦点レーザー顕微鏡 (CLMS) を用いて検索した。

【結果と考察】

細胞内 cAMP 濃度を上昇させると IL-6 及び iNOS が誘導されるが、TGF- β 1 で前処理すると両者の誘導が著しく抑制される。この抑制効果は核内 pCREB の減少に基づくことが明らかとなった。ウエスタンブロット及び CLMS により TGF- β 1 前処理による pCREB の核内減少は活性化 PKA の核内減少の低下に基づくことを明らかにした。また、TGF- β 1 による核内移行抑制効果は活性化 PKA と importin (核内輸送タンパク質) との結合低下を伴っていること、この低下は活性化 PKA と importin との結合を Smad が競合的に阻害することによって引き起こされることが明らかとなった。

大腸菌リポ蛋白質輸送装置の立体構造と機能

東京大学 分子細胞生物学研究所 細胞形成研究分野 横田 直子

【目的】細菌性リポ蛋白質は、脂質によって修飾されたシステイン残基をアミノ末端にもち、その部分で膜にアンカーしている膜タンパク質である。グラム陰性菌である大腸菌の外膜には、約80種が存在している。これらの外膜リポ蛋白質は、シグナル配列をつけた前駆体として細胞質で転写翻訳された後、Sec装置を介して細胞質膜(内膜)を透過する。そして、内膜ペリプラズム側で、脂質修飾とシグナルの切断が完了した成熟体リポ蛋白質は、ABCトランスポーターLolCDEの働きによりキャリアであるLolAと可溶性複合体を形成し内膜から遊離、ペリプラズム空間を移動して、外膜受容体LolBに受け渡される。リポ蛋白質外膜局在化に関わるこれらのLol因子の立体構造と因子間の連携を分子レベルで解明することを目指し、X線結晶構造解析用の蛋白質の大量精製をこれまで行ってきた。

【方法】目的蛋白質を大腸菌ペリプラズムに過剰発現する株を構築。大量培養後、ペリプラズム画分を抽出し、液体クロマトグラフィー(FPLC)システムを使用して精製する。結晶化に成功したサンプルは、さらに多波長異常分散(MAD)法により位相を決定するためにセレノメチオニンで標識した蛋白質サンプルの精製を行う。

【結果】LolA、LolB、LolCとLolEのペリプラズムループ部分、LolA変異体R43L、LolB変異体L62RとL62Eの蛋白質精製を行った。膜蛋白質であるLolBは、受容体活性を保持している可溶性変異体mLolB[LolB(C1A)]を使用した。これまでに、LolA、mLolB、LolA変異体R43Lの立体構造が明らかになった。

【考察】結晶用蛋白質精製これまでに生じた主な問題と対応策を以下に挙げる。

- 1) セレノメチオニンを培地に添加するとmLolBの発現量が著しく低下する。
⇒大量培養のスケールを、2Lから1Lに変更すると、解決した。
- 2) LolA変異体R43Lでは、精製蛋白質毎に得られる結晶が異なる。
⇒R43Lは、open型と(野生型に近い)closed型の二つの立体構造をとる。サンプル精製の際にMonoQカラムを使用するとclosed型のみになると考えられる。
- 3) mLolBの結晶化条件が安定せず、サンプルによっては、結晶化できない。
⇒N末端、C末端のアミノ酸が不安定化の原因になっている可能性が考えられる。この部分を削ったmLolBを構築し、結晶化条件の再現性を確認する。さらに、基質リポ蛋白質との安定複合体を精製する実験系の構築を目指す。

【参考文献・資料】

・Takeda, K., Miyatake, H., Yokota, N., Matsuyama, S., Tokuda, H., and Miki, K. : Crystal Structures of Bacterial Lipoprotein Localization Factors, LolA and LolB. *EMBO J.* **22**, 3199-3209 (2003)

動画像によるソフトウェア習得及び教育システムの開発

基礎生物学研究所 技術課 三輪 朋樹

【目的】 計算機の管理者やソフト開発者はシステムの開発と同時に、利用者に対する操作方法や利用方法の説明が必要となる。これまでは Web や紙面に記述した利用マニュアルの配布を行っていたが、なかなか読まれない傾向がある。これまでのマニュアルは、操作画面推移のポイント画像を添えて説明文を加える手法で作成してきたが、利用者がマニュアルを最後まで読む労力と時間の負担が大きいと考える。そこで、一連の操作手順を、画像＋文字ではなく、そのまま動画＋音声としたマニュアルの作成を試みた。

【方法】 (1) ソフトウェアの操作画面については、MacOS X をベースに、画面推移をそのまま動画としてキャプチャできる "Snapz Pro X" を用いている。また、利用者の環境が MacOS, Windows の 2 つが考えられるため、"Parallels Desktop" で Windows の仮想環境を MacOS X 上に構築し、Windows に特化する部分については同様に "Snapz Pro X" で操作手順を動画化している。(2) ハードウェア操作方法については、ビデオカメラによる撮影を行っている。これには、機器に記載されている型番や配線など微細な情報を記録する必要があるため家庭用ハイビジョン VTR を使用している。(3) 動画像の編集については、単純な編集については QuickTime Pro、複数ビデオトラックを扱うなど高度な編集については Final Cut Pro を使用した。(4) 配布方法については、現在公開しているマニュアル関係のホームページに MOV 形式及び WMA 形式で公開を行った。また、動画マニュアルの蓄積及び整理ができた段階で DVD VIDEO による配布を行った。

【結果】 今回は、当研究所で導入しているユーザ及び端末管理システムである「ORION 認証システム 2001」のマニュアル化を行った。これは、メールアドレス申請や、PC をネットワークへ接続する時に必要となり、基生研に特化したルールに従った操作でオリジナリティのある素材であった。この動画マニュアルをホームページ及び DVD で配布を行った。

【考察】 (1) 作成作業のルーチン化について、実際には動画像キャプチャについては 3～5 回、アフレコを 10 回程度行っている。動画編集についても、1 分程度の動画像で 30 分の作業が必要となり、効率が悪い。(2) ビデオカメラ動画像フォーマットの互換性について、今回使用した家庭用ハイビジョンカメラは AVCHD フォーマットを用いているため編集ソフトとの互換性がない。また、MPEG-2 形式における音声コーデックも未対応であった。(3) コンテンツの蓄積について、操作一つ一つを細分化し動画像を管理できないか検討中。(4) アフレコについて、魅力ある説明音声を入れることが意外に難であった。

CT 法によるトリインフルエンザウイルス(H5N1)の立体視

浜松医科大学 実験実習機器センター 熊切 葉子、村中 祥悟

【目的】 ウイルスが細胞から発芽する像は多数撮影されているが、切片の厚さが影響し、細胞とウイルスの関係を詳細に把握するのは困難である。そこで CT を応用した 3D 再構築像によって立体的に構造解析を試みた。

【方法】 ベトナム等で人に感染しているインフルエンザ A 型ウイルス (H5N1) を、サルの胎児腎細胞・Vero 細胞 (アフリカミドリザル腎細胞由来) に感染させた試料を用いて超薄切片を作製し 3D 像を構築した。切片の厚さは、100nm および 150nm とし、ウイルス全体が切片内に収まる厚さとした。加速電圧 120kV と 200kV にて -60° から $+60^{\circ}$ までを 50,000 から 150,000 倍にて 1° 毎に撮影した。121 枚の TEM 像から CT ソフトを用いて 3D 像を再構築した。

【結果】 3D 像では Vero 細胞から発芽するウイルスの立体的関係を把握することができた。また、3D 効果が最も得られる切片の厚さ、撮影倍率等の条件を得ることができた。

省エネルギー化に向けた実験植物の栽培用光源の検討

基礎生物学研究所 技術課 住川 直美

【目的】 発光ダイオード（LED）は光変換効率が高く、応答が早い、省スペース、長寿命で有害物質を含まない、といった優れた特長を持ち、環境問題等の視点から今後の普及が期待されている。さらに近年、急速に高輝度化、低価格化が進み、次世代光源として様々な分野で注目されている。農業分野においても、植物の成長に有効な波長を選択して照射することが可能であることを活かし、植物工場の光源として実用化されつつある。実験植物栽培には従来、熱陰極蛍光灯（以下、蛍光灯）がよく用いられてきた。蛍光灯は安価であり、比較的発熱が少ないため植物に近接照射が可能であるが、実験に必須な高密度栽培では照明装置の発熱による庫内温度の上昇は避けられず、温度制御に多くの電力を消費してしまう。また実験植物の場合、農作物のように最終産物がどれだけ収穫できるかだけでなく、生育状態への影響を十分に検討する必要がある。そこで今回、LEDを実験植物の栽培用光源として利用できるかどうかについて、観察の容易なヒメツリガメゴケを用いて検討を行った。また、実際にどの程度の省エネ化が期待されるかについても検討した。

【方法】 1. 光源) 白色LED照明ユニットはLEDプランター（ICI 製）を、赤色/青色混合LED照明ユニットは IS-mini（CCS 製、中心波長 660 nm/470 nm）を、蛍光灯はネオルミスーパー（MITSUBISHI 製）を用いた。光量の調整にはNDフィルター（HOYA 製）を用いた。LEDのパルス照射は 400 μ s 周期とした。

2. 植物材料) ヒメツリガメゴケの原糸体より調製したプロトプラストを寒天培地と混和し、セロハンを敷いた再生培地上に広げて蛍光灯下で2日間培養。これをセロハンごと伸長培地に移し、各光環境下で数日間培養して原糸体を伸長させた。成長量の定量は、カルコフロー染色した原糸体の蛍光顕微鏡写真を ImageJ で画像処理することで行った。コロニーの観察には、蛍光灯下で栽培中の原糸体を少量、伸長培地に移植し各光環境下で培養したものを用いた。

【結果、考察】 プロトプラストからの原糸体の伸長速度およびコロニーの成長量は、赤色/青色LEDで最も大きく、白色LEDと蛍光灯では同程度であった。これは、赤色/青色LEDが光合成に有効に利用できる波長領域の光をより多く含んでいるためと考えられる。これまでの観察では、各光源間で植物体に多少の形態的な差異がみられるものの、いずれも健全に成長している。サラダナ等ではLEDのパルス照射による成長の促進効果が報告されているが、ヒメツリガメゴケを用いた今回の実験では確認できなかった。同じ光量を得るための電力、温度制御にかかる電力は共にLEDでは蛍光灯の半分以下であった。さらに、蛍光灯で得られる光量は限られているのに比べ、LEDは近年の高輝度化により調整可能な光量範囲が拡大しており、より自由な実験植物の栽培環境設定を可能にする光源としても有用であると考えられる。

【参考文献・資料】 BIO INDUSTRY 2006-3 Vol. 23 No. 3 シーエムシー出版

代謝熱測定法による炭化水素ガス加圧下の酵母の増殖挙動解析

徳島大学 ソシオテクノサイエンス研究部 総合技術センター 河内 哲史

【目的】近年、二酸化炭素や酸素などのガス加圧を利用した食品殺菌技術が注目されている。この手法は、加圧による気体濃度の増加を利用している。この気体加圧法を用いれば、微生物を利用した気体の毒性評価（バイオアッセイ）が可能となる。そこで、我々は微生物の増殖が連続的に観測できる代謝熱測定法を利用して、加圧下での増殖観察から気体毒性評価が可能であることを示してきた。一方、炭化水素ガスは自動車の排気ガスや天然ガスにも含まれており環境中に大量に存在するため、微生物を用いたこれらのガスの毒性評価は非常に重要であると考えられる。そこで、一連の炭化水素ガス加圧下で、酵母の増殖挙動を熱測定・解析し、その毒性を定量的に評価した。

【方法】微生物は、高等動物に比べ反応が迅速に現れ、コスト、操作面からも優れており試料として酵母 *Saccharomyces cerevisiae* IFO10149 を用いた。高压容器に 5 ml の菌懸濁液を入れ、直接高压気体で接触させ 30°C の恒温槽内で培養し、微生物の増殖に伴い発生する代謝熱を熱量計で検出した。測定装置には等温型マイクロ熱量計（日本医化器械製作所 Biothermo Analyzer H-201）を使用した。

【結果】図1にメタンガス圧力下における酵母の増殖サーモグラム（熱 - 培養時間曲線）を示す。圧力の増加とともに、増殖サーモグラムのピークは長時間側に移動、ピークの高さも低下している。これは、メタンガス加圧による酵母の増殖阻害効果を表している。各圧力下における増殖阻害を定量化するために、増殖速度定数、増殖遅延時間などのパラメーターを決定した。さらに、これらのパラメーターから酵母の増殖を完全に阻

止する最小増殖阻止圧力 MIP (Minimum inhibitory pressure) を得た。MIP は値が小さいほど、毒性が強いことを示す。メタンガスの増殖速度定数、増殖遅延時間から得られた MIP はそれぞれ 19.6 MPa、18.6 MPa となった。他のガスによる結果も併せて報告する。

【考察】化学物質の疎水性を表す指標であるオクタノール・水分配係数と MIP との関係について検討を行ったところ、疎水性と毒性には強い相関関係があることが明らかとなった。

【参考文献】Arao, T., Hara, Y., Suzuki, Y., and Tamura, K., Effect of high pressure gas on yeast growth. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 69 (7), 1365-1371 (2005)

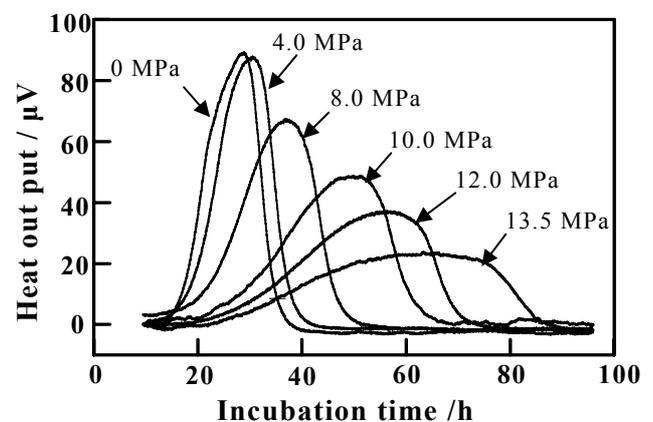


図1 メタン加圧下における酵母の増殖サーモグラム

マウス精子を用いた DNA メチル化の解析

国立遺伝学研究所 技術課 古海 弘康

【背景】DNA メチル化は、エピジェネティックな遺伝情報の発現制御に重要な役割を果たしており、様々な生命現象と関係している。その研究対象は植物から動物まで幅広く、さらに発生過程における変化や、組織間の違いにまで研究が及んでいる。病気の原因や生殖補助技術のリスク、品種改良などの応用場面での関心も寄せられており、ポストゲノムの目玉として「エピジェノム」計画が準備段階に入った今、研究者はもとより、一般市民にとってもエピジェネティクスについて無関心では済まされなくなってきた。

DNA メチル化解析法も進歩し、Bisulfite sequencing が必須の技術となっている。

【目的】そのような状況下での今回の発表では、まずエピジェネティクスが関与する生命現象の例を紹介したい。そして、現在私がマウス精子を材料として行っている、DNA メチル化解析手法の COBRA (Combined bisulfite restriction analysis) 法について、留意点などを述べたい。

【方法】エピジェネティクス研究の先駆けであるゲノムインプリンティングの成立時期は配偶子形成期である。精子は卵子よりも多くの細胞をサンプリングできるメリットがある。精子の DNA メチル化異常を示す個体は、ゲノムインプリンティングの成立に関与する遺伝子の突然変異体の可能性があり、そのメカニズム解明の貴重な材料となる。メチル化異常個体の検出には、大量のサンプルを迅速かつ感度よく解析する必要があり、COBRA 法を用いた。COBRA 法で異常を示した個体の PCR 産物をそのまま Sequencing 反応に回すことで、塩基レベルのメチル化まで詳細に解析できる。Bisulfite 反応にエアーインキュベータを使えば、同時に大量のサンプルの処理が容易。遠心機はチューブホルダーが可動式のものの方が便利で作業効率改善に貢献。COBRA 法で使用する制限酵素の選択は結果の判定に重要。Bisulfite 処理後の PCR は、プライマーの設定、必要最小限のサイクル数を設定することが結果の偏りを防ぐために重要。精子 DNA 抽出の際の留意点は、精子の核タンパクはプロタミンなので還元剤を加えないと全く取れないこと。微量なサンプル用のキャリアーには安価なグリコーゲンを用いた。その他の留意点については発表の際に述べたい。

【結果および考察】COBRA 法でメチル化異常を示したサンプルの Sequencing 結果は、ほぼ同一傾向を示し、メチル化異常検出スクリーニング法としての信頼性が確認できた。DNA が微量なサンプルの解析のために、今後は multiplex-PCR の系を確立していきたい。

【参考文献】「エピジェネティクス」佐々木裕之編：シュプリンガー・フェアラーク東京、2004 年 4 月。「エピジェネティクス制御とその異常」古海弘康、佐々木裕之：臨床検査（医学書院）、第 48 巻 13 号 1673-1679 頁 2004 年 12 月 15 日発行

「Bisulfite Genomic Sequencing によるメチル化 DNA の検出」古海：生物学技研報 2002

いろいろな細胞内小器官を蛍光標識した トランスジェニックガエルの作出

基礎生物学研究所 技術課 高木 知世

【目的】アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) は、飼育するのが簡単であること、一度に数百〜1千程の卵が季節を問わず採卵できること、卵の直径が約 1.2mm と比較的大きく胚操作が可能であること、ほ乳類と異なり母体外で受精・発生するため発生過程の形態観察が容易であることなど多くの利点があるため、古くから発生生物学上、重要なモデル動物とされている。また、近年、オワンクラゲ由来の緑色蛍光タンパク質 GFP (Green Fluorescent Protein) を利用して生きた細胞または個体において時間的、空間的なタンパク質の動きを観察することが可能になっている。GFP を使うことで細胞内小器官を標識し可視化することも可能である。実際に細胞内小器官の可視化は培養細胞で成功している。しかしながら個体レベルの解析はあまり行われていない。個体レベルで細胞内小器官を可視化し容易に観察できれば、発生に伴う細胞内小器官の動態をより正確に知ることができる。さらに、カエルを用いれば、形態形成にともなった細胞内小器官の様々な変化を容易に観察できる。核膜を GFP 標識したトランスジェニックガエルの作出については、第 16 回本研究会で紹介した。今回は、核、細胞膜、小胞体、ゴルジ体、ミトコンドリアを蛍光タンパク質で標識したトランスジェニックガエルの作出について紹介したい。

【方法】1996 年に Kroll と Amaya によって発表されたトランスジェニックガエルの作製方法に従った。使用したベクターは pCS2。プロモーターは CMV。

細胞内小器官	局在化タグまたは遺伝子
核	SV40T 抗原の核移行シグナル、ゼノパスヒストン 2B
細胞膜	Ha-Ras 由来のファルネシル化配列
小胞体	カルレティキュリンの局在化配列；KDEL 回収配列
ゴルジ体	ヒト β 1 由来の局在化配列；4-ガラクトシル基転移酵素
ミトコンドリア	シトクロム c オキシターゼサブユニット VIII 由来の局在化配列

【結果および考察】各細胞内小器官を蛍光標識したトランスジェニックガエルを数匹ずつ作出することができた。しかし、局在化タグとして SV40T 抗原の核移行シグナルを用いた「核移行シグナル GFP」ガエルのみ成長阻害が観察された。これらのカエルと同時期に作製した核への局在化にヒストン 2B を用いたカエルの体長を比較したところ、約 2/3 の大きさだった。他のトランスジェニックガエルの GFP 融合タンパク質が発生および成長阻害を起こしていないことから、この局在化タグが成長阻害の原因となっていると示唆された。

話 題 提 供

クローン技術について

生理学研究所 技術課 三寶 誠

近年、核移植技術の発達により分化した体細胞の核を用いたクローン動物の作製が可能になった。世界で最初に体細胞からつくられたクローン動物は、1997年に誕生したクローン羊のドリーである。1998年には牛とマウスで体細胞クローン作製が成功し、その後、ヤギ、ブタ、ウサギ、そしてウマというように様々な動物でクローンが作られるようになった。しかし問題点も多い。まず、その成功率がどの動物種でも非常に低いということ。また、たとえ作製に成功しても、異常があったり、すぐに死んでしまうことが多い。最近では、これらの原因として、インプリンティング遺伝子の発現異常やDNAメチル化の異常などが報告されている。しかしこれらの現象が核移植技術のどの部分に起因するのか、分化した体細胞の核を未分化な状態にするための核の初期化が不十分なのか、核の活性化に問題があるのか、あるいは導入する体細胞自体に異常があるのかは分かっていない。

一方、核移植によって作出されたクローン胚は再生医療への応用が盛んに研究されている。核移植によって作出されたクローン胚から樹立したES細胞は、受精卵由来のES細胞と同様に、ある培養条件下で様々な細胞へ分化させることができる。すなわち、それぞれ個人のES細胞がクローン技術を用いて樹立できれば、個々と同じ遺伝子を持つ様々な細胞を得ることができる。近い将来、臓器提供者を待たずに、移植手術が可能になるかもしれない。

クローン動物をつくるためには卵子から核を抜き取って、体細胞から核を取り出し、その取り出した核を、核を抜き取った卵子の中に導入する。体細胞の核を導入された卵子を活性化させると、受精卵と同じように発生が進む。発生が進んだクローン胚をレシピエントとなる雌の卵管や子宮に移植するとクローン動物が誕生する。操作自体は単純であるが、熟練した技術が必要である。私はハワイ大学の柳町隆造教授の研究室において、クローンマウス作製技術を習得し、この技術を用いて生理学研究所でクローンマウスの作製に成功した。しかし、成功率は低く、現在も試行錯誤が続いている。また、このクローンマウス作製技術を応用して、クローンラットの作製を試みている。

今回は、クローンマウス作製技術について私の経験してきたこと等、およびクローン技術の現状について話題提供を行う。

ポスター発表

P1

走査電子顕微鏡による超薄切片の透過像観察

浜松医科大学 実験実習機器センター 村中 祥悟

【目的】走査電子顕微鏡(SEM)はバルク試料の表面観察の装置として開発・応用されているが、透過電子顕微鏡(TEM)観察用の超薄切片の透過像観察への実用化を試みた。

【方法】SEM は通常の二次電子検出器を用いた二次電子による描画で、特別な検出器等を用いない。SEM の試料台を超薄切片が貼り付けられたグリッドを装着できる形状(グリッドホルダ)に加工し、さらに二次電子が効率よく取り出せ、コントラストの得やすい形状にした。電界放射型、タングステン型、卓上型など各種の走査電子顕微鏡による像質の比較、実用性を検討した。

【結果】電界放射型 SEM を使用した場合は、直接倍率 10 万～20 万倍以上、タングステンフィラメントの卓上型に於いても、3 万倍程度まで解像度の高い透過像を得ることができた。また、グリッドのほぼ全面が観察可能領域で、観察位置の移動も容易であった。

【考察】特殊加工したグリッドホルダを使用することによって、SEM があれば超薄切片、ネガティブ染色像を観察することができる。卓上型 SEM でも腎炎の腎臓バイオプシーからの病理診断も十分に可能であることがわかった。

P2

レーザ顕微鏡用生物チャンバーの試作とその応用

徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 先端医研 庄野 正行

【目的】顕微鏡には正立型と倒立型の2種類のタイプがある。正立型は主に解剖、病理学分野で使用され、倒立型は主に生理学や薬理学分野で生細胞の実験を行うために用いられている。今回の生物チャンバーは正立型で生細胞を測定できるように試作した。

【方法】チャンバーの材料は、アクリル、ステンレスチューブ、シリコンチューブ、塩化ビニール板、シリコンリング、カバーガラス(マツナミ #3、22x22)、低速ペリスタルポンプ、輪ゴム、マグネットクランプ等を用いて工夫し試作した。

【結果】正立型顕微鏡観察下で液交換ができる新方式の灌流型チャンバーを完成した。現在、正立型レーザ顕微鏡に取り付け、アポトーシスや細胞内ミトコンドリア膜電位の測定を行い良好な結果を得ている。

【考察】まだ改良点は多くある、例えば、カバーガラスを押さえるために塩化ビニール板をネジを使って絞めているが、もう少し簡単にできる方法を考えていく必要がある。

P3

共焦点レーザー顕微鏡による細胞容積変化計測の試み

生理学研究所 技術課 小原 正裕

【目的】生体の細胞は容積調節機能を持っている。その容積変化の計測は、これまでセルソーター、コールターカウンターなどで計測を行ってきた。これらの方法では、観察時に細胞を分散させる必要があるため、今回は細胞を基質に接着したままで測定するために、共焦点レーザー蛍光顕微鏡による細胞容積測定法によって細胞容積変化の計測を試みた。

【方法】顕微鏡システムは、倒立型顕微鏡に Argon/Krypton レーザーを組み合わせたものを使用し、バスチェンバーと溶液灌流システムを製作した。細胞は、GFP が発現するように調整された HeLa 細胞を使用し、等張液から低張液に交換する過程における細胞容積変化を記録した。画像データは、Scion Image により面積計算を行った後グラフ化した。

【結果】予備実験ということで計測時間がわずか3点であったが、浸透圧変化による容積変化を確認することができた。

【考察】本システムで容積変化の計測が確認できたので、今後は測定時間を1分間隔に細分化するとともに、RVD 阻害剤投与時における容積変化の計測と解析を行いたいと思う。

P4

走査電顕加熱観察法の植物試料への応用

鳥取大学医学部 技術部 長武 均

【目的】近年、走査電顕生物試料加熱観察法を開発し、これまで技法に加えて動物試料の組織や細胞の観察結果を本技術研究会でも報告を行ってきた。今回は本加熱観察法によって植物試料の観察が可能か否かについて試みたので、その結果について報告する。

【材料と方法】植物の花弁や茎を材料として用いた。

採取した植物材料をカルノア液で固定した後、オスミウムで再固定した。固定後はタンニン酸とオスミウムによる導電染色を施し、脱水を行なった後、t-ブチルアルコールに置換して凍結乾燥を行なった。乾燥した試料を通常の蒸着装置の真空中で 300~310°C で約 10 分間加熱し、加熱後室温に戻し、そのまま蒸着を行わず、高分解能 SEM で加速電圧 15~25kV にて観察した。

【結果と考察】加熱した植物試料に蒸着を行わず、そのまま高加速電圧で観察したところ、チャージアップ現象や異常コントラストが発生せず、明瞭な像を観察することができた。これまで観察してきた動物試料と対比による検討の結果、動物試料と同様に良好な結果が得られたことから、本加熱観察法の植物試料への応用が可能であることが判明した。

極超薄切片の有用性

岩手医科大学 共同研究部門 バイオイメージングセンター
花坂 智人、石田 欣二、林 秀一郎

【目的】通常には厚さ 70nm 前後の超薄切片を作製し、透過電子顕微鏡で組織や細胞の微細構造を観察する。しかし、この厚さではシナプス小胞などの小型の細胞内小器官は重なり、正確に微細形態を把握することができない。そこで、私たちは通常より薄い超薄切片（厚さ 20–30nm 程度）を取得し、その有用性を検討した。

【方法】エポキシ樹脂包埋したラット小脳を Ultrasonic Diamond knife (DIATOME 社) で厚さ設定 30nm の切片（極超薄切片）を、また、比較のために通常のダイヤモンドナイフで厚さ設定 70nm の切片をそれぞれ作製し、ウラン・鉛の二重染色後、電顕観察を行った。得られた画像で粗面小胞体のリボゾームおよびシナプス小胞の分布数を比較した。

【結果】極超薄切片の微細形態は、従来のものと比較し重なりが無く鮮明であった。また、神経細胞内のリボゾーム、シナプス小胞の数は明らかに減少した。

【考察】ウルトラソニックダイヤモンドナイフを使用して得られた極超薄切片は超微細構造をより正確に解析する方法として有用である。

電顕写真のデジタル化 –論文やスライドの図を作る–

基礎生物学研究所 技術課 近藤 真紀

【目的】電顕写真を図にする場合、従来は印画紙やスライド用フィルムに直接焼き付けて作っていた。しかし最近では論文投稿が電子化され、写真もデジタルデータで送る場合が多い。発表も PC のパワーポイント等を投影するのが主流になった。そこで、電顕写真をデジタル化する場合どんな条件が適当か、論文の図とパワーポイントの図を対象に検討した。

【方法と結果】入力方法・画像解像度・加工による調整について検討した。

入力：電顕付属の CCD カメラは画素数が限られるため、論文の図には不適だった。写真をスキャナで取り込むのは全般に良い結果を得た

画像解像度：論文では、解像度指定がある場合は「150dpi 以上」が多い。取り込み時 600dpi、切り抜き & 加工後に 300dpi にするのが一般的で適当だった。パワーポイントの挿入図は、必要な図のサイズとプロジェクタの画素数（1024×768）から計算した。

加工による調整：Photoshop 等で明るさ・硬さ等を調整する機能はあるが、望む像にするのは難しい。写真を最適な濃さ・硬さに焼付けて、それを取り込むのが最適だった。

P7

携帯電話を利用した災害時連絡システムの開発

東北大学 加齢医学研究所 情報ネットワーク室 小森 和樹

【目的】地震災害等の緊急時に情報を収集・把握するためのシステムを開発する。災害時には停電等により PC が使えないことがあるため、入力・閲覧には携帯電話を使用する。

【方法】Linuxサーバ上でApache 2をWebサーバとして利用し、CGIを用いて災害時連絡システムを構築した。緊急時は携帯電話のWebブラウザ機能を利用して必要な情報を入力・閲覧する。

【結果】新しい機種携帯電話は地震災害等の緊急時でもパケット交換方式は制限がかからないため、災害時でも比較的つながり安い。そのため、障害に強いシステムを開発することができた。また、本システムではCGIにてインターフェイスを用意した為、情報の入力が用意になり、入力された情報の視認性も向上した。

【考察】今回の開発では放射線施設を対象としたが、携帯電話とWebサーバを組み合わせた本システムは、大学の事務部、評議会などの大学の管理運営に責任を持つ組織においても、緊急時の情報収集・連絡手段としてたいへん有用であると考えている。

P8

ImageJ を用いた顕微鏡画像計測自動化プログラミング

生理学研究所 技術課 前橋 寛

顕微鏡画像を計測する場合、NIH Image (Macintosh 用) や Scion Image (Windows 用) を用いてきた。しかし、Scion Image は NIH Image に比べ、ファイル処理用マクロ関数が不足しており、また付属のマクロの一部に間違いがありうまく動作しない。ImageJ は NIH Image の後継として Java 言語 (各プラットフォームで動作する) で開発されたが、現在では NIH Image より高機能化されていて、マクロ関数が充実している。getDirectory 関数でフォルダ選択しフォルダパスを得て、getFileList (dir) でフォルダ内のファイルリストを得る。ディレクトリを区別する関数が用意されているが画像フォルダ内に Thumbs.db ができる (Microsoft Windows XP の場合) ので、画像ファイルとディレクトリとそれ以外のファイルを区別する為、文字列の末尾を調べる endsWith (path, ".tif") 関数を用いた。バッチモードにすると6倍速になるとマクロ例に記載があったが OFF で行った。画像計測部のマクロはマクロレコード機能を用いて記録し利用した。今後、共焦点レーザー顕微鏡の*.lsm ファイルがプラグインで読み込めるので、前処理用のマクロの作成を行いたい。

人工内耳マップデータ参照用ビューワの製作

富山大学 医学部 耳鼻咽喉科 武田 精一

【目的】人工内耳では刺激電流値を常に装用者に適した値に設定するためのマッピングという作業を頻繁に行う必要があるが、作業を行う専用ツールだけではマップデータを経時的に参照したりすることができないため、このための参照用のビューワの作成を試みたので報告する。

【方法】人工内耳用データはデータベースに格納されているので、専用のツール(DataExtractor)にてエクスポートした後、データを Excel(VBA)にて作成したプログラムにて加工し、グラフ化して視覚的にわかりやすい形で表示できるようにした。

【結果】上記の方法で得られたグラフ等によりこれまで複雑な作業が必要であった経時的な変化や特徴を視覚的に参照できることが可能になった。

Ajax 技術を用いた Web サービス

基礎生物学研究所 技術課 西出 浩世

【目的】XML データを返す外部の Web サービス (例: NCBI の eUtils) を効率よく便利に利用するために、Ajax 技術を使った Web サービスの開発を始めた。Ajax とは「Asynchronous (非同期な) JavaScript + XML」の略で、ブラウザのページ遷移とは非同期にサーバと通信し「動的に」ページ内容を変更する仕組みを指す。

【方法】主に JavaScript で開発を行った。JavaScript はデバッグが困難で、あらゆる Web ブラウザのエラーメッセージを見ながらの作業になった。

【結果】XML データだけでなく様々なフォーマットのデータを、Ajax 技術を用いたページに応用することができる。Mac OSX Dashboard Widget や、cDNA 配列データベース表示に用いた例、文献情報自動入力画面などを紹介する。

【考察】Ajax は未だまとまった手法や方法論が確立されておらずブラウザによって動作の異なる部分があり、今後の発展に期待したい。

簡易心拍計の製作

生理学研究所 技術課 戸川 森雄

【目的】サルなどの実験動物を用いて手術や麻酔実験を行う場合、心拍、体温、血圧などのモニタリングは動物の状態を把握する上で極めて重要なことである。MRI 室などの移動先においてサルの状態を監視する場合、現在使用している機器類の持ち込みは不便であるため持ち運びに便利な簡易型のモニターが必要とされた。そこで今回、モニタリングで最低限必要と思われる心拍の測定を可能にするため簡易型の心拍計を製作したので報告する。

【方法】心拍の検出は、赤外 LED とフォトダイオードを用いた光学的方法を採用した。これは指先など血管部位にセンサを取り付け、心拍による血流の変化を透過する光量の変化として測定する方法である。光量の変化分は微弱な信号であるため OP アンプで増幅し、ゲート回路でパルス整形した後 PIC マイコンに取り込まれる。

【結果】製作した心拍計を用いて、自分の指先による心拍の測定を行った。その結果、通常使用しているバイタル機器とほぼ同じ数値を示したのでヒトの測定に関しては問題ないと思われる。今後サルに使用して有用性を確かめるつもりである。

USB イベントクロックの製作

生理学研究所 技術課 市川 修

【目的】昨年、情報転送媒体として光ファイバーを利用し、fMRI 装置への外来ノイズの侵入を防止した心理生理学実験用両手押しボタン装置の製作について報告したが、今回 PC への接続方法として USB インターフェースにも対応させた。ボタン番号に加えて、ボタン押し時刻、刺激提示後からの経過時間などの計測も可能とし、MR システムを含む実験装置等からのタイミング情報を記録可能なイベントクロックを製作した。

【方法】ハードウェアには、USB コントローラ (USB9604:National Semiconductor 社製)、Real time Clock (RX8564LC:Epson Toyocom 社製)、PIC コントローラ (PIC16F877A:Microchip Technology 社製) 等を用いて製作し、ボタン情報、時刻情報等を USB 経由で PC に転送できるよう制御ソフトを制作した。時刻等の情報は、実験目的により選択可能とした。

【結果】製作目標とした 1 ミリ秒の動作精度を確認した。両手全指の動作記録のほか、実験システムの動作記録が、ノート型 PC で可能となった。

高出力レーザーの保護メガネ ---機構内技術連携---

核融合科学研究所 山内 健治、分子科学研究所 加藤 清則
生理学研究所 大庭 明生、基礎生物学研究所 古川 和彦

目的：今日、研究にレーザーを用いることが多くなっており、高出力のレーザーを試料の加工やエネルギー伝達手段として使う実験が行われている。高出力レーザーは人間の目にとって非常に危険であるが、光軸調整などで目視しなければならない場合がある。自然科学研究機構内の研究所の実験にも高出力レーザーが使用されており、核融合研ではトムソン散乱計測やレーザー・ブローで生理研では脳内血栓の人工生成に分子研ではレーザー研究施設で、また基礎生物研ではスペクトル施設で高出力レーザーが使われている。昨年度核融合研で開催された「安全衛生に関する情報交換会」において分子研から「レーザーの障害防止規則の概要について」の報告があり、これを受けて機構内技術会議では、高出力レーザーの保護メガネを作れないか検討してきた。

方法：今回小型 CCD カメラと液晶ファインダとを組み合わせて直接ビームを見なくて済む赤外線にも感度のある保護メガネを製作した。

結果：赤外線 YAG レーザ (1.06 μ m) についても可視化できる保護メガネができた。

刺激パルス発生回路の製作と新たな試み

生理学研究所 技術課 伊藤 昭光

【目的】PIC を用いることにより回路を簡略化し、パルスの間隔やタイミング、パルスの個数などを目的に合わせて簡単に設定できるようにする。また、トレーニングなどの実習でも利用できることを念頭に、回路設計や部品、部品の配置や配線などの検討も加える。

【方法】1) 目的に合う PIC の仕様を検討する。2) PIC を使用したトレーニング用キットを用い、希望されるタイミングチャート図を基に、C 言語を用いてプログラムを試作・検討する。3) テストプログラムの結果を基に回路設計を行い、試作器を製作する。4) 使用者の希望を参考に回路をパッケージ化する。

【結果】使用する PIC に Timer を 3 つ備える PIC16F88 を選択することにより、希望されるタイミングチャート図の条件を実現した。開発言語に C 言語を選択したことにより、開発、改良が比較的容易に行えることが確認できた。

【考察】試作器は大変良い評価を得ることができたが、トレーニングなどの実習では製作時間に制限がある。そこでプリント基板化について新たな試みを行ってみた。

P15

フローサイトメトリーによる強制発現と自然発現の ブレップの解析

浜松医科大学 実験実習機器センター 柴田 清

【目的】アポトーシスを誘導された細胞の特徴として細胞膜の変性（ブレッピング）、Phosphatidylserine (PS) の表出、microvilli の消失、細胞の縮小化、核クロマチンの凝縮、核の断片化、アポトーシス小体の形成が知られている。我々は、これらの種々の変化の中でブレッピング現象に着目し解析を行ってきた。今回、アポトーシスによるブレップ（自然発現）とそうでないブレップ（強制発現）の相違についてフローサイトメトリーにより比較検討したので報告する。【方法】対数増殖期にある K562 細胞に RNA 合成阻害剤のアクチノマイシン D (AD) 処理をおこないアポトーシスを誘発させブレッピング現象を誘導した。一方、アクチン重合阻害剤の Cytochalasin D を投与し強制的にブレップを誘発させた。この両者の相違をフローサイトメータにて FS、SS、FDA と AnnexinV (PE) により解析した。【結果】CD と AD 処理によるブレップの相違は、FS、SS によって明らかになった。CD 処理では、1～5 μm のブレップが多く、AD 処理では 5～10 μm が見られた。

P16

質量分析計（MS）による糖ペプチドの解析

生理学研究所 技術課 山田 元

【目的】質量分析計 (MS) 技術を利用した糖ペプチドの解析は MS の特性上、多くの構造異性体を取りうる糖鎖の同定は極めて困難である。しかも糖鎖を付加していないペプチドが糖ペプチドのイオン化を妨げるため、検出感度が極めて悪い。

そこで、糖蛋白質のトリプシン産物から、特定のカラムを用いて、糖ペプチドのみを抽出し、MSにて測定する方法を検討した。

【方法】糖鎖は、特定のカラムを使用することにより、選択的な抽出や網羅的な抽出が可能である。本来、これらのカラムは単離された糖鎖に対して適用され、糖ペプチドに関して報告された例はあまり無い。そこで、このカラムを糖ペプチドに対して適用する方法を検討した。

【結果】糖ペプチドの単離精製を行い、糖鎖並びに糖ペプチドの同定を行うことが出来た。

【考察】未知糖蛋白質に対して上記手法を適用し、糖鎖並びに蛋白質の同定を目指す。

P17

クチクラワックスの分離条件の検討

基礎生物学研究所 技術課 牧野 由美子

【目的】クチクラワックスは植物の茎、葉、鞘などの表面に存在し、それを構成する成分は長鎖炭化水素、長鎖アルコール、長鎖アルデヒド、長鎖ケトンそして脂肪酸等の脂質である。また、それぞれの脂質には炭素数等にレパートリーが存在する。ガスクロマトグラフでこれらの脂質を定量するために、予め、カラムでの分離と質量分析による同定が必要となった。各脂質を感度良く、良好な分離で検出する条件を検討した。

【方法】各脂質の分離、同定にはガスクロマトグラフ/質量分析計を用い、以下の3項目について検討した。

1. カラムの選択 : 4種類のキャピラリカラムによる比較を行った。
2. 誘導体化方法の選択 : ガスクロマトグラフでの検出のため、ガス化しやすくさせるための2種類の方法について、標準試料を用いて比較を行った。
3. 昇温条件の検討 : 良好なピークの分離が得られる温度条件を検討した。

【結果】各脂質の定量分析を行うための、良好な分離条件を得ることができた。

P18

高速液体クロマトグラフィー体験談(失敗例を中心として)

鳥取大学 医学部 技術部 三谷 秀明、足立 昭子、蓼本 小百合、長武 均

【目的】有する知識と技術の低さが如何に日々の業務に影響するのか、発表者が経験した一例としてHPLC(高速液体クロマトグラフィー)測定をあげ、失敗例とそのとき行った対処について紹介する。【方法】HPLCによるモノアミン,アミノ酸測定を行ってきたおよそ5年間に生じた数多くのトラブルのうち、測定依頼者への影響が特に大きかったと思われる数例について表や模式図により紹介した。【結果】生じたトラブルへの対処には、その原因究明に1ヶ月以上を費やしたものもあり、研究依頼者への測定結果報告へ大きく影響した。また、トラブルに気付いた時点でサンプルの劣化により学会発表や雑誌への投稿が見送られたケースもあり、これらの事態を招いたことは技術者としての信頼を大きく損ねたことはいうまでもない。【考察】本測定システムは多項目同時分析の利点は認められるが、測定と手作業によるデータ解析に長い時間を必要とし、トラブルが生じた時点での対処が非常に困難である。そのためこれまでに生じた数多くのトラブルを基に予め測定手順と予測されるトラブル対処法の確認を行うことが重要であると思われる。

P19

分析超遠心システムによるアミロイド線維の特性評価

大阪大学 蛋白質研究所 蛋白質構造形成研究室 酒井 美世

【目的】当研究室では NMR、CD、IR、顕微鏡など分光的手法と、熱量計や分析用超遠心など生物物理化学的手法により、溶液中での蛋白質の構造形成と構造安定性を探っている。その一つとして長期透析患者に蓄積する β 2M アミロイド線維について、構造特性、伸長・分解の機構を種々の手法により解析している。今回分析用超遠心による線維測定を試みた。

【方法】(1) 使用した材料や手法--- β 2M アミロイド線維を溶解し、分析用超遠心機により沈降速度、分子量、長さを測定した。(2) 実験・測定や作製の過程において苦労・工夫した点---線維溶解の条件、分析用超遠心機で測定可能な大きさにするための溶媒、温度条件の検討、超音波の破砕時間と回数の検討、サンプルの安定性、超遠心の回転数の設定 等。

【結果】短い線維なら条件の工夫により測定可能である。【考察】線維解析に超遠心は有効な手段である。【参考文献・資料】 Critical balance of electrostatic and hydrophobic interactions is required for β_2 -microglobulin amyloid fibril growth and stability. Raman, B. *et. al.* (Biochemistry 44, 1288-1299 (2005))

P20

新規骨質評価法を用いた成長期ラット下顎骨の骨量・骨質解析

大阪大学 大学院工学研究科 藤谷 渉

【目的】最近、骨量や c 軸配向性などの骨質をも含めた骨評価を行う必要性が指摘されている。成長や咀嚼に伴って *in vivo* 応力分布が極端に変化するラット下顎骨に注目し、骨密度および c 軸配向性を解析することで硬組織微細構造の形成・成長過程を解明する。

【方法】調査対象として咀嚼開始時期から成長期に対応する各週齢の SD ラット下顎骨を選択した。近遠心垂直断面において皮質骨断面積、骨密度を pQCT 法で、微小領域 XRD による生体アパタイト (BAp) の c 軸配向性の解析を行った。

【結果】皮質骨断面積は成長とともに単調に上昇した。一方、骨密度や BAp の c 軸配向性は部位に強く依存した。成長や咀嚼にともなって近遠心方向のみならず、2次元配向を示す領域が現れた。

【考察】骨量・骨質の協調的变化は、成長度合い咀嚼による複雑な *in vivo* 応力分布と密接に関わることが明らかとなった。それにより新規骨質評価法の有効性が示された。

P21

マウス肝臓における sterol regulatory element binding protein (SREBP) mRNA レベルの日周リズム変化の測定

千葉大学 医学研究院 遺伝子生化学 松本 絵里子

【目的】 SREBP は脂質・コレステロール合成系遺伝子群を統御する転写調節因子である。肝臓では各種機能の概日リズムが知られており、今回 SREBP-1 遺伝子の肝臓における発現の日周変化を調べた。【方法】 3 パターン（明暗時間比各 6:18、12:12、18:6）の明暗周期の条件下で飼育したマウスの肝臓から RNA を抽出し、ジコキシゲニン標識 RNA プロブを用い、SREBP-1 mRNA の日周変化をノーザン法で調べた。また、同一遺伝子座に由来する SREBP-1a および-1c のアイソフォームを分別的に検出するためのプライマーを設計し、リアルタイム RT-PCR を用いて各 mRNA の日周変化を調べた。一方、放出赤外線検出法により単位時間自発運動量を測定した。【結果】 SREBP-1c mRNA レベルは暗期開始後にピークを有する日周リズムを示した。また、自発運動量も暗期開始後に増加を見た。【考察】 明暗周期は覚醒・睡眠リズムを通して摂食タイミングを規定し、これと同期して肝臓における SREBP-1c 遺伝子の発現の日周リズムを制御すると考えられた。

P22

非放射性 2-deoxyglucose を用いた グルコース利用速度測定法の開発

生理学研究所 技術課 斉藤 久美子

【目的】 各組織・細胞でのグルコース利用速度を測定する方法は、 $[^{14}\text{C}]$ -2-デオキシグルコース (2DG) などアイソトープ (RI) を用いた方法があるが、RI を用いることによる様々な制約がある。そこで我々は、RI を利用せず、非放射性 2DG を用いて組織・細胞におけるグルコース利用速度測定法の開発を行った。

【方法】 2DG は、グルコースと同じように細胞内に取り込まれ、2-デオキシグルコース 6 リン酸 (2DG-6-P) となり、その後は代謝されず細胞内に蓄積する。それゆえ細胞内に蓄積した 2DG-6-P 量を測定し、グルコース利用速度を算出する。2DG-6-P は、グルコース 6 リン酸脱水素酵素を作用させて代謝し、その時産生される NADPH を酵素サイクリング法で増幅、発色試薬によって比色定量した。

【結果】 5pmol-100pmol の 2DG-6-P と 2DG を正確に測定できた。動物実験において、RI を用いた方法と同様の結果が得られた。さらに 96 穴プレートによる多数試料の測定が可能となった。

【考察】 この方法は、肥満・糖尿病研究における治療薬のスクリーニングに利用できると考えられる。

P23

Ki-67 抗体(MIB-1)を用いた細胞増殖指標： その免疫染色プロトコールと画像解析半自動カウント法

¹島根大学 医学部循環器・呼吸器外科 ²附属病院病理部 ³乳腺クリニック児玉外科
梶 とも子¹、丸山 理留敬²、仁尾 義則³、織田 禎二¹

【目的】 癌化学療法のための腫瘍の死滅または増殖活性抑制にあるが、効果を判定するための良い指標がない。本研究では、細胞増殖指数(Proliferation Index(PI))を用いる指標開発のための第一 step として、PI 算出のための抗ヒト Ki-67 抗体(MIB-1)を用いた免疫染色(免染)と細胞数カウント標準化を検討した。【方法】 腫瘍 6 例のホルマリン固定パラフィン連続切片を用い、抗原賦活の熱条件をオートクレイブ(121℃)、温浴(95℃)、電子レンジ(95℃)の 3 種で免染を行い、PI の変化をみた。PI は画像解析ソフト Image-Pro Plus (IPP) と病理医による目視で算出し、結果を比較。【結果】 PI はオートクレイブ処理で温浴、電子レンジより有意に上昇した(p=0.0096, p<0.0001)。IPP と病理医によるカウントで算出したそれぞれの PI は近似した(r=0.946, p<0.0001)。【結語】 Ki-67 免染では抗原賦活の温度条件が重要で、温度設定の適正化と IPP による画像解析半自動カウント法を併用することで、検査のルーチン化による臨床応用が可能である。

P24

三重蛍光 ISH における Biotin プローブ検出の条件検討

基礎生物学研究所 技術課 大澤 園子

【目的】 3 種類の遺伝子を共発現している細胞があるかどうかを調べることを目的に、三重蛍光 ISH (*in situ* ハイブリダイゼーション)を試みた。既に確立している二重蛍光 ISH 法をもとにして、3 つ目の遺伝子の検出を追加する方向で実験系を組み、いくつかの条件検討や工夫を行ったので、その結果を報告する。

【方法】 DIG、FITC および Biotin を用いて 3 種類の RNA プローブを作製し、ラット脳の 20 μ m 切片中の mRNA にハイブリダイズさせた。DIG 標識プローブは、HNPP/Fast Red で検出した。FITC プローブ、Biotin プローブは、ISH シグナルをチラミドシグナル増幅 (TSA) 法によってそれぞれ DNP、Biotin 分子のシグナルに転換し、別々の蛍光検出を行った。

【結果および考察】 試薬の種類や濃度を検討することで、Biotin 標識プローブの検出をかなり改善することができた。また、プローブ間や抗体間で交叉反応がないことも確認できた。今後、他の遺伝子や種にも対応できるように、さらに改良を進めたい。

P25

ショウジョウバエの神経回路形成に関わる新規遺伝子の探索方法について

国立遺伝学研究所 技術課 谷口 美佐子

【目的】我々の研究室ではショウジョウバエをモデル生物として、神経回路の成立に関わる重要タンパク質の探索を行っているので、その方法を紹介する。

【方法】転写因子 GAL4 を筋肉特異的に発現する系統と、GAL4 結合配列 UAS を P 因子によってゲノム上に無作為に挿入されたターゲット系統を交配させると、その F1 子孫では GAL4 発現細胞において UAS の下流に存在する遺伝子の発現が誘導される。この方法を用いてショウジョウバエの全遺伝子の中から、細胞—細胞間の認識に関わると予想される細胞表面タンパク質および分泌タンパク質のうち、利用できるターゲット系統が存在するものについて筋肉で強制発現させ、そこに投射する軸索の形態に異常を示すものを探索した。

【結果および考察】現在、344 遺伝子の解析が終了し、そのうち 134 遺伝子について軸索の形態またはターゲティングに異常がみられた。しかしこれらの遺伝子が実際に筋肉で発現しているかどうかは不明である。今後、*in situ* hybridization により内在性の発現パターンを検証し、筋肉において発現がみられた遺伝子を最終的な候補遺伝子とする。

P26

小型魚類ゼブラフィッシュ始原生殖細胞の移植法の工夫 (不稔性異種間雑種をホスト個体とする試み)

基礎生物学研究所 技術課 内海 秀子

【目的】魚類の発生過程において、将来精子や卵を作り出す始原生殖細胞 (PGC) は特異的な遺伝子発現を示し卵割期から体細胞と区別される。また胚体内を遊走して生殖巣に到達する特徴を持つ。これらの性質を利用することによって、体細胞の異常により致死となる変異体の PGC を正常個体に移植して変異体由来の子孫を得ることが可能である。本研究ではドナー由来の子孫を選択的に得ることを目的に不稔性雑種への移植を試みた。

【方法】ゼブラフィッシュと近縁種のパールダニオとの不稔性雑種胚をホストとして用い、胞胚期に PGC を含む細胞群を予定頭部領域に移植した。

【結果】蛍光標識によりドナー細胞群を可視化すると、将来生殖巣が形成される領域に移動した細胞が見られた。さらにこれらの細胞で PGC のマーカー遺伝子が発現していた。

【考察】移植された PGC は不稔性雑種胚内でも正常な領域に移動すると考えられる。今後ドナー由来の配偶子が形成され子孫が選択的に得られるかどうかを検討する予定である。

P27

イネのオリゴDNAマイクロアレイを用いた遺伝子発現解析とデータ処理

基礎生物学研究所 技術課 山口 勝司

DNAマイクロアレイは遺伝子発現を網羅的に解析する手法として、極めて優れている。特にオリゴDNAを用いたマイクロアレイは、全体的な配列が似ている個別遺伝子間においても、配列の異なる領域を用いることで、分別した発現解析が可能である。今回、60merオリゴDNAがガラス基盤上に高密度に並べられたマイクロアレイを用い、イネの遺伝子発現解析をおこなった。このアレイは約22,000および44,000種のオリゴDNAが、1枚のスライドガラスに *in situ* 合成されている。ハイブリダイズ用のサンプルプローブとして、対象サンプルと処理サンプルの全RNAから、それぞれcy3・cy5ラベルしたcRNAをリニア増幅する。解析手順・手法はマイクロアレイが出始めた当初より遙かにシステム化されている一方、得られる数値データは格段に増加している。この得られた数値データを如何に解析するか。表計算ソフト、専用の解析ソフトを使う方法の他、今回はCGIによって専用コンピュータで計算処理をおこなわせて、解析結果を自分のパソコンのWEBブラウザで見るという方法を示し、この方法の利点を紹介する。

P28

大腸菌での組換えタンパク質の発現効率と可溶性の検討

基礎生物学研究所 技術課 壁谷 幸子

【目的】 標的タンパク質の構造解析において、培養が簡単で菌の増殖が速いため短時間に大量の組換えタンパク質を得られる大腸菌発現系は幅広く利用されているが、標的タンパク質の十分な産生が得られない場合もある。これまで、キャリアータンパク質との融合タンパク質として発現すると発現効率が上がる例や、発現条件（低温培養や低レベルの発現誘導）により可溶性が向上することが知られているため、それらについて検討を行った。

【方法】 発現ベクターのキャリアータンパク質遺伝子下流に標的遺伝子 *ATG17* を挿入し、これを大腸菌に形質転換し、薬剤により融合タンパク質の発現を誘導した。キャリアータンパク質にはグルタチオン S-トランスフェラーゼ(GST) およびトリガーファクター(TF)の2種類を用い、培養温度・発現誘導温度について検討した。

【結果および考察】 培養温度 37°C、発現誘導温度 15°C のとき、TF-Atg17の方が、GST-Atg17に比べ発現効率が高く、かつその大部分を可溶性画分に回収することが出来た。今後は、構造解析にむけてスケールをあげた大量発現・精製を行っていききたい。

P29

ディスポーザブル給水パックの評価

生理学研究所 技術課 佐治 俊幸、廣江 猛、窪田 美津子、小池 崇子

【目的】 ディスポーザブルタイプの給水システムである、Hydropac™(HP) 給水システムを試用する機会が得られたので、このHPの有用性の検証を行った。

【方法】 ICRマウス5週令、雌雄各20匹をHP及び給水瓶を用いて飼育し、一般状態観察(摂餌量、体重変化、水漏れ、細菌検査)、飲水量、飼育作業時間測定を行った。

【結果】 一般状態観察において、両給水方法に差は認められなかったが、HPでは飲みこぼしが無く、2週間使用した後でも血液寒天培地による細菌の検出はされなかった。

【考察】 HPは、水漏れや飲みこぼしが無く、2週間にわたり細菌の発生のない給水が行えた。このため、水没事故を防ぐ必要のある貴重な実験動物の飼育や行動解析学、代謝生理学での実験での飲水量の測定が簡便に行えることが期待される。しかし、給水瓶に比べ、ランニングコストが大きいため、パック装置のリースあるいは、パックされた水の購入を考慮する必要がある。

P30

遺伝子改変動物の維持、選抜に適した理想的なジェノタイピング法

京都大学 大学院医学研究科 附属動物実験施設 中西 聡

【目的】 マウスの口腔内スワブを用いた Amp-FTA 法を紹介する。Amp-FTA 法は FTA カード上に塗布した血液等を未精製のままテンプレートとして使い、Ampdirect Plus を用いて PCR を行う方法である。今回、生体において非侵襲的なサンプリング方法である口腔内スワブを試料に用いて本法を検討した。【方法】 ジェノタイピングは、BAC トランスジェニックマウスを用いたトランスジーンの有無を例にした。口腔内スワブは、滅菌綿棒を用いて採取した。同一個体の尾端から血液を採取して対照試料とした。FTA カード上に口腔内スワブと血液を塗布して乾燥させた後、試料塗布部分の FTA カードを耳パンチで打ち抜き、PCR テンプレートとした。PCR は 15 μ l の反応液中で 35 サイクル行った。【結果と考察】 口腔内スワブは血液に比べ簡便に採取できた。電気泳動後、特異的な PCR 産物を示すバンドが両方の試料から得られた。口腔内スワブを用いた Amp-FTA 法は迅速性、簡便性、安全性に優れ、動物にも優しい理想的なジェノタイピングであると考えられる。

P31

Kr/YAG レーザーを用いた脳梗塞モデルマウス作製

生理学研究所 技術課 吉友 美樹

成熟脳が障害を受けた後の脳機能回復期における神経回路網の再編成のメカニズム解明のためには障害を受けたモデル脳が必要となるが、この時、脳局所虚血障害（脳梗塞）モデル動物を用いる方法がある。脳虚血障害モデル動物作製については、八尾ら（*Stroke*, 2003）により、ローズベンガルを注入した血管に Kr レーザー（波長 568nm）を照射することによって血栓を生じさせ極局所的に虚血状態に陥らせる方法が報告されており、我々も 2005 年からこの方法を元にして脳梗塞モデルマウスの作製を試みてきた。モデル動物作成には手術手技およびレーザー操作など高度技術を必要とするため、安定して梗塞マウスを得るにはかなりの熟練度が必要となる。当初、私はこのような技術に触れることに対し全くの初心者だったため、様々な失敗を繰り返した。しかし現在では、手術成功率を上げ、ほぼ確実に脳梗塞マウスを得ることができるようになったため、今回、これまでの失敗例を含めて変更点・注意点などをまとめ、報告する。

P32

P33

ニホンザルにおけるメデトミジン-ミダゾラム不動化

生理学研究所 技術課 小池 崇子

【目的】塩酸ケタミンの麻薬指定に伴い、塩酸ケタミンに代わる麻酔薬または麻酔法の確立が早急に求められている。そこで、メデトミジン-ミダゾラム組み合わせ法（M-M 法）を代替候補のひとつと考え、M-M 法がニホンザルに及ぼす鎮静および不動化効果を検討した。

【方法】ニホンザル 5 頭を使用し、M-M 法としてメデトミジンとミダゾラムを大腿後部に筋肉内注射した。M-M 法による不動化状態、一般臨床症状の変化を観察、血液検査（8 項目）および血清生化学検査（22 項目）を行った。当センターで収集した過去のデータと比較し、M-M 法の安全性を検討した。

【結果】供試動物はいずれも M-M の投与によって深い鎮静状態が得られた。血液検査および血清生化学検査の成績は、ニホンザルに塩酸ケタミン麻酔を施した当センターの参照値と比較して、異常な値は見られなかった。

P34

ソフト酸化水導入による有効期限の検討

福井大学 総合実験研究支援センター・生物資源部門
糸崎 悦子、向川 市郎、加藤 秀次、前田 秀之

今まで約 10 年間、部門内の消毒や手指の消毒を強酸性電解水により行ってきたが、最近では、強い金属性腐食が目立ち始めたことと、作業時に強い塩素性臭気が発生し人への安全性にも良くないことから検討の結果、手荒れが少なく環境にもやさしいとされるソフト酸化水の導入を試みることになった。予算と建物の関係上、大きな装置の導入は見合わせ小型の装置を 4 台導入することになった。ソフト酸化水は次のとおり①装置から直接手洗いとして利用、②既存手洗い装置のポリタンクに移しかえ手洗いとして利用、③装置からスプレー容器等に入れ扉ノブの消毒などに利用する方法である。

当部門でも職員の高齢化や人員削減も始まり、少ない人数でいかに作業の省力化ができるかが求められる今日、新しい装置に対する今後の業務量も考え、ソフト酸化水がどの程度有効利用できるかを検討したので報告する。

トマト養液栽培における竹炭培地の検討

静岡大学 教育学部 自然観察実習地 重岡 廣男

【目的】里山に増殖する竹の有効利用を目的に、竹炭がトマトの養液栽培用培地として利用可能であるか否かを検討した。

【方法】トマトの品種「桃太郎」を供試し、竹炭を含めた7種類（竹炭、ロックウール、籾殻薫炭、やしがら、竹炭+パーライト、竹炭+バーク堆肥、竹炭+バーミキュライト）の培地を使用して養液栽培を行った。使用した培養液は園試処方¹の3/4濃度とし、給液は点滴方式で行った。トマトの栽培は果房2段までとし、草丈、葉茎生体重、果実数、平均果実重、糖度を調査した。

【結果】草丈、茎葉の生体重、果実数、平均果実重は、竹炭+バーク堆肥、竹炭+パーライトのような竹炭混入培地で優れ、竹炭の単体培地では劣る傾向がみられた。なお、糖度については処理培地間に統計的な有意差は見られなかった。

【考察】竹炭単体では保水力が劣ることから、栽培用培地としては適当でないが、竹炭にバーク堆肥やパーライトなどを混入することで養液栽培用培地として利用可能と思われる。

形質転換植物実験施設紹介

基礎生物学研究所 技術課 難波 千営子

【概要】形質転換植物実験施設はモデル植物「シロイヌナズナ」の栽培スペースを核とした施設で、2004年度、基生研 RI 分室を改修して設置された。種まきから種子収穫までの作業が施設内で完結できるよう、栽培室、作業室、機器室で構成されている。設計および備品の設置について、基生研の共通施設として必要な以下の3点について工夫した。

【工夫点】(1) 栽培室：照明タイマーを設置し明暗サイクルを変化させることで、植物の生長をコントロールできるようにした。また人為的ミスによる明暗サイクルの狂いを防止するために、暗期にはドアがオートロックされるよう設計した。(2) 栽培用棚：照明装置には照度が容易に調節できるよう、2灯に一つの割合でスイッチをつけた。また、上下の棚で種子がクロスコンタミネーションしないよう、棚板は網ではなく隙間のない板を用いた。(3) 害虫への予防策：施設内に立ち入る際には専用の履物を用いる、培養室への入室経路を決めるなどのルールを定めた。

【運営における課題】よりよい作業環境の提供を試行錯誤しながら、更なる室内ルールの作成や、備品の設置等を行なっている。また、P1P 指定の事務手続きなどを進めている。

P37

名大農場で開発された簡易コンテナ砂耕法の現状紹介

名古屋大学大学院 生命農学研究科附属農場 全学技術センター 生物技術系 前坂 昌宏

当農場の砂耕栽培法は 1990 年代に名古屋市浄水場から排出する産業廃棄物:緩速濾過池の表面掻き取り砂(汚砂)を農業用資材として再利用するために開発された。この方法を学生実習に用いて植物の栽培管理作業を行うだけでなく、「環境」を意識させている。

今回は本栽培法の栽培植物、教育支援のための改善や環境への試みの現状を紹介する。

【問題点および試み：改善点】①植物体が培地(汚砂)の水分影響を受け易いことから、春作ナス(4月～7月上旬)では水ストレスによる果皮硬化(品質低下)→各種マルチ資材で栽培・検討：故紙マルチを選択し、品質改善+栽培終了後植物残渣とともに堆肥化、②秋作ミニトマト(8月上旬～)夏季定植のため、病虫害多発→ハウスに防虫ネット設置：薬剤散布回数4～6回/月から1～2回/月に減少、③春作土耕トマトとの比較+コンテナ砂耕の特徴から、定植数・各種整枝法検討：2個体/コンテナを1個体、2本仕立て整枝選択、④施設園芸での栽培廃液は環境汚染要因となることから、廃液調査+廃液中リン酸濃度低減検討：17年栽培廃液収集槽+素堀池(2.5×1.5m、水深1m)設置→廃液浄化ビオトープ創造中。

P38

共同利用による分析機器について -原因と対応策-

徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 薬学系 北池 秀次

【目的】機器室等において分析機器を研究者、学生に利用開放を行った際、機器不調が発生する場合の原因を解析し、対応策を一部の機器事例で紹介する。

【方法】調査対象を頻繁に利用される NMR とした。2003 年 4 月から現在までの間で測定者からの情報、トラブルノート、随時対応などより原因別を算出し、対応策を検討した。

【結果、考察】操作伝達は徹底しているが、操作方法については統一性があるにも関わらず各個人によって若干異なる様である。機器の調整、操作限定の工夫、研究室毎の使用責任意識を高めてもらうことにより、改善が見られた。

P39

高校生を対象とした Science & Technology Camp 2006 「生物が見る世界-いくつもの目といくつもの世界」の 実施報告

浜松医科大学 医学部 総合人間科学講座 外山 美奈

静岡県教育委員会の進める科学技術教育研究開発推進事業の一環として、県内の高校生向けに、8月3日、4日に科学者育成セミナーScience & Technology Camp 2006を「生物が見る世界」というテーマで講義と実験形式で行った。本セミナーの目標は優秀な高校生に対して科学の先進的教育を行い、将来の科学者育成に結びつけることである。講義は「光受容と光情報処理」、「実験ノートの作成法及びレポート（論文）の書き方」とし、実験は「網膜構造に関する形態学的実験（形態学）」、「網膜内視物質の光異性化に関する生化学的実験（生化学）」、「網膜応答に関する生理学的実験（生理学）」の3つのテーマに分けて行った。つまり実験の背景を共に学んだ上で、学生をグループ分けして実験をさせ、最終的に発表形式で他のグループに理解してもらおうという学習方式を開発した。セミナーの概要とグループ別実験による教育効果および科学への関心度の上昇について報告する。

P40

生物資源部門内の環境改善と安全性の取り組み

福井大学 総合実験研究支援センター・生物資源部門

向川 市郎、糸崎 悦子、加藤 秀次、前田 秀之

近年、実験動物の飼育環境がより厳密なものが求められるようになってきたり、飼育時や実験を行う際に生じる労働災害を出来るだけ少なくすることが必要となってきた。それにより実験動物の飼育環境の改善が求められるだけでなく、利用者や職員に対しての職務上での安全性の向上がこれまで以上に必要となってきている。当部門でも以前から実験動物の飼育環境の改善を行ってきたが、これに加え利用者の部門利用の際の安全性の向上と部門職員の労働環境の改善を図ることにした。

最初に各動物室の飼育環境の測定と災害時に人の被害が出そうな箇所の洗い出しを行い現状の把握を行うことにした。その結果を部門内で検討し、空調機の風量調整など部門職員が対応できるものは自力で改善を行い、又無理なものは専門家に依頼する方法をとった。

環境の改善経過及び安全性向上の改善方法について報告する。

高エネルギー加速器研究機構における 放射線安全管理業務の紹介

高エネルギー加速器研究機構 放射線科学センター 高橋 一智

【目的】高エネルギー加速器研究機構(KEK)は約1km×2kmの敷地に数種類の大型加速器を持ち、放射線取扱施設には分散して放射線発生装置やRI取扱施設が存在している。これらは効率的に、ただしユーザーに不便が無いよう管理される必要がある。

【方法】放射線取扱施設への出入りはIDカードによる個人識別で行われている。放射線管理室で管理をしている出入口だけでも45ヶ所あり、これらの制御用PCはLANで接続され、IDカードデータベースの共有や入域者情報の取得を行っている。これらは放射線管理室からの遠隔操作が可能で、出入管理を円滑に行うことが可能である。また、200ヶ所以上で行っている、放射線施設周辺の空間線量率測定もネットワークで集中管理が行われている。その一方で各々の加速器は性能の違いなど、一括管理が難しい側面も持っており、KEK内の管理区域を7つに区分し、それぞれに管理室員を割り当て、運転グループやユーザーと情報を共有し、現場に適応しながら放射線管理を行っている。

空気中の放射性物質の濃度測定

基礎生物学研究所 技術課 飯沼 秀子

【目的】アイソトープ実験センターでは、法令に基づき、月に一度、空気中の放射性物質の濃度測定を業者に依頼し行っている。その結果、サンプリングした日に放射性物質の使用がなかった実験室で、放射性物質が検出されることが数回あった。検出された数値は、実際に使用している放射性物質によるものではなく、自然界に存在する放射性物質であると思われる。そこで、「何故、数値が検出されたか」を検証することにした。

【方法】空気中の放射性物質のサンプリングは、ダストサンプラーを用いてフィルターに捕集する。サンプリングは、管理区域外の居室と管理区域内の実験室で毎週一回行う。また、試料は、液体シンチレータカウンタおよびオートウェルッカウンタを用いて測定する。

【結果】サンプルの測定値は、季節による変動があると思われる。季節以外に天候による変動があるか検討したが、かならずしも、天候および湿度との相関性はなかった。

【今後】季節による自然放射性物質の変動があると思われるが、変動の傾向および核種の同定を行いたい。

参加者名簿

氏名	所属
成田 真澄	北大 遺伝子病制御研究所
佐藤 昌也	一関高専 技術室
花坂 智人	岩医大 共同研究部門
田澤 誠一	天文台 RISE推進室
小森 和樹	東北大 加齢医学研究所
伊東 久美子	東北大 農学研究科
山本 理恵	東北大院 農学研究科
木澤 祥恵	筑波大 生命環境科学等支援室
高橋 一智	高エネ研 放射線科学センター
徳本 修一	高エネ研 加速器研究施設
松本 絵里子	千葉大 医学研究院
大楠 美佐子	千葉大 真菌医学研究センター
横田 直子	東大 分子細胞生物学研究所
前田 宜俊	新潟大 脳研究所
武田 精一	富山大 医学薬学研究部
八田 秀樹	富山大 杉谷地区
澤田 さつき	金沢大 大学院医学系研究科
向川 市郎	福井大 総合実験研究支援センター
糸崎 悦子	福井大 総合実験研究支援センター
山本 淳子	福井大 総合実験研究支援センター
篠原 徳之	天文台 野辺山太陽電波観測所
山内 健治	核融合研 技術部
加藤 洋介	岐大 生命科学総合研究支援センター
重岡 廣男	静大 教育学部自然観察実習地
宮澤 俊義	静大 理学部附属放射化学研究施設
古海 弘康	遺伝研 技術課
谷口 美佐子	遺伝研 技術課
谷田 勝教	遺伝研 技術課
鴨藤 江利子	浜松医大 医学部
外山 美奈	浜松医大 医学部
宮田 学	浜松医大 実験実習機器センター
宮向 悦代	浜松医大 実験実習機器センター
門畑 一久	浜松医大 実験実習機器センター
柴田 清	浜松医大 実験実習機器センター
熊切 葉子	浜松医大 実験実習機器センター
村中 祥悟	浜松医大 実験実習機器センター
大川 敏生	名大 全学技術センター
伊藤 耕	名大 全学技術センター
加藤 俊之	名大 全学技術センター

前坂 昌宏	名大院 生命農学研究科
藤澤 郁英	豊技大 物質工学系
小川 倫弘	さわらび会 福祉村病院
兼坂 岳志	さわらび会 福祉村病院
石黒 雅江	さわらび会 福祉村病院
長原 美樹	中部大 実験動物教育研究センター
浅原 理	三重大院 生物資源学研究科
岩村 優子	三重大院 生物資源学研究科
中村 明子	三重大 医学部附属病院
尾崎 誠	京工繊大 高度技術支援センター
小岸 久美子	京大 再生医科学研究所
松下 隆壽	京大 再生医科学研究所
中西 聡	京大院 医学研究科
安達 廣	阪大院 理学研究科
藤谷 渉	阪大院 工学研究科
小島 愛子	阪大 蛋白質研究所
和田 多佳志	阪大 微生物病研究所
酒井 美世	阪大 蛋白質研究所
崎浜 吉昭	神戸大院 医学系研究科
伊勢 恒男	奈良先端大 研究協力課
長武 均	鳥取大 医学部
三谷 秀明	鳥取大 医学部
遠藤 実	鳥取大 医学部
小松原 祐二	松江高専 技術室
福島 正充	島根大 総合科学研究支援センター
成相 裕子	島根大 医学部
梅 とも子	島根大 医学部
矢田 範夫	岡山大 自然生命科学研究支援センター
大隅 淑弘	岡山大 総合情報基盤センター
庄野 正行	徳島大院 ヘルスバイオサイエンス研究部
北池 秀次	徳島大院 ヘルスバイオサイエンス研究部
河内 哲史	徳島大 ソシオテクノサイエンス研究部
水口 洋子	九大院 医学研究院
伊藤 康子	九工大院 生命体工学研究科
楠本 朋一郎	九工大 情報工学部
久保 憲昭	長崎大 先導生命科学研究支援センター
嶽本 あゆみ	熊大 衝撃・極限環境研究センター
安田 愛子	大分大 総合科学研究支援センター
甲斐 浩一	大分大 総合科学研究支援センター
福山 伸隆	鹿大 フロンティアサイエンス研究推進センター

生理学研究所 技術課

氏名	所属
大庭 明生	技術課長
市川 修	技術班長 (大脳皮質機能研究系 心理生理学研究部門)
大河原 浩	技術班長 (岡崎統合バイオサイエンスセンター 戦略的方法論研究領域 (ナノ形態生理))
山本 友美	分子生理研究系 神経機能素子研究部門
山田 元	分子生理研究系 分子神経生理研究部門
高橋 直樹	細胞器官研究系
小原 正裕	細胞器官研究系 機能協関研究部門
戸川 森雄	生体情報研究系 感覚認知情報研究部門
石原 博美	生体情報研究系 神経シグナル研究部門
永田 治	統合生理研究系 感覚運動調節研究部門
竹島 康行	統合生理研究系 感覚運動調節研究部門
伊藤 昭光	統合生理研究系 生体システム研究部門
神谷 絵美	大脳皮質機能研究系 脳形態解析研究部門
伊藤 嘉邦	大脳皮質機能研究系 大脳神経回路論研究部門
森 将浩	発達生理学研究系 認知行動発達機構研究部門
吉友 美樹	発達生理学研究系 生体恒常機能発達機構研究部門
斉藤 久美子	発達生理学研究系 生殖・内分泌系発達機構研究部門
山口 登	脳機能計測センター 形態情報解析室
佐藤 茂基	脳機能計測センター 機能情報解析室
吉村 伸明	脳機能計測センター 生体情報解析室
村田 安永	脳機能計測センター 生体情報解析室
三寶 誠	行動・代謝分子解析センター 遺伝子改変動物作製室
前橋 寛	電子顕微鏡室
加藤 勝己	機器研究試作室
佐治 俊幸	動物実験センター
廣江 猛	動物実験センター
小池 崇子	動物実験センター
高木 正浩	岡崎統合バイオサイエンスセンター 時系列生命現象研究領域 (神経分化)
福田 直美	岡崎統合バイオサイエンスセンター 生命環境研究領域 (細胞生理)

基礎生物学研究所 技術課

氏名	所属
古川 和彦	技術課長
小林 弘子	技術班長 (イメージングサイエンス研究領域 時空間制御研究室)
三輪 朋樹	技術班長 (培養育成研究施設 電子計算機室)
近藤 真紀	細胞生物学領域 高次細胞機構研究部門
壁谷 幸子	細胞生物学領域 分子細胞生物学研究部門
高木 知世	発生生物学領域 形態形成研究部門
岡 早苗	発生生物学領域 性差生物学研究部門
野田 千代	発生生物学研究領域 発生遺伝学研究部門 (統合バイオサイエンスセンター 時系列生命現象研究領域 発生遺伝)
内海 秀子	発生生物学研究領域 分子発生学研究部門 (統合バイオサイエンスセンター 時系列生命現象研究領域 分子発生)
大澤 園子	神経生物学領域 脳生物学研究部門
竹内 靖	神経生物学領域 統合神経生物学研究部門
田中 幸子	進化多様性生物学領域 分子遺伝学研究部門
山口 勝司	進化多様性生物学領域 分子遺伝学研究部門
諸岡 直樹	進化多様性生物学領域 ゲノム動態研究部門
住川 直美	進化多様性生物学領域 生物進化研究部門
水谷 健	環境生物学領域 分子環境生物学研究部門 (統合バイオサイエンスセンター 生命環境研究領域 生命環境)
東 正一	培養育成研究施設 大型スペクトログラフ室
中村 貴宣	培養育成研究施設 大型スペクトログラフ室
難波 千宮子	培養育成研究施設 人工気象室・実験圃場・下等真核細胞培養室
西出 浩世	培養育成研究施設 電子計算機室
林 晃司	形質転換生物研究施設
森 友子	分析室
牧野 由美子	分析室
松田 淑美	アイソトープ実験センター
澤田 薫	アイソトープ実験センター
飯沼 秀子	アイソトープ実験センター

☆☆☆☆☆☆☆☆ 編 集 ☆☆☆☆☆☆☆☆

●生理学研究所 技術課 技術研究会委員会

小原 正裕、山口 登、戸川 森雄、村田 安永、山本 友美

●基礎生物学研究所 技術課 技術研究会実行委員会

森 友子、三輪 朋樹、大澤 園子、小林 弘子、
壁谷 幸子、林 晃司、水谷 健、山口 勝司