

合同開催

第19回 生物学技術研究会

第30回 生理学技術研究会

## 予稿集

日時：平成20年2月14日(木)、15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

基礎生物学研究所 技術課

生理学研究所 技術課



# 第19回 生物学技術研究会

# 第30回 生理学技術研究会

(同時開催：第4回 奨励研究採択課題技術シンポジウム)

会期：平成20年2月14日(木)～15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：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)55-7655, FAX:(0564)55-7657

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

## プログラム

### 2月14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：基礎生物学研究所 発生遺伝学研究部門・  
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 発生遺伝研究部門 小林 悟教授)
- 14:50 ～ 15:10 記念撮影・休憩
- 15:10 ～ 16:20 ポスター発表グループⅠ [P1、P3、P5、・・・：奇数番号]
- 16:20 ～ 17:30 ポスター発表グループⅡ [P2、P4、P6、・・・：偶数番号]
- 17:30 ～ 17:50 自由討論
- 18:00 ～ 20:00 懇親会

### 2月15日(金) (1階 大会議室・中会議室)

#### (口演会場1 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 ～ 11:20 口演発表 (A5～6)
- 11:20 ～ 12:00 話題提供 (T1：基礎生物学研究所 技術課 山口 勝司)
- 12:00 ～ 13:00 昼食 (1F 中会議室)
- 13:00 ～ 14:20 口演発表 (A7～10)
- 14:20 ～ 14:30 研究会のまとめ

#### (口演会場2 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 (1F 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 ～ 14:30 研究会のまとめ
- 14:30 ～ 14:45 休憩
- 14:45 ～ 15:45 特別講演 (SP1：株式会社国際電気通信基礎技術研究所 脳情報研究所 川人 光男先生)

# 目次

プログラム	1
参加者へのお願い	7
発表者へのお願い	8
研究会会場周辺地図	9
岡崎コンファレンスセンター案内図	10

## 研修講演（1階 大会議室）

(L1) ショウジョウバエを材料として用いた生殖細胞形成機構に関する研究	
小林 悟 教授（基礎生物学研究所 発生遺伝学研究部門・ 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 発生遺伝研究部門）	12

## 特別講演（1階 大会議室）

(SP1) 脳・ブレインマシンインタフェース・ロボット	
川人 光男先生（株式会社国際電気通信基礎技術研究所 脳情報研究所）	14

## 口演発表（1階 中会議室）

(A1) 収束イオンビーム（FIB）によるSEM内微細解剖過程のビデオ記録	
浜松医科大学 医学部 実験実習機器センター 太田 勲 村中 祥悟	16
(A2) ヒト腫瘍におけるThymidylate Synthase とKi-67発現解析 —免疫染色と画像解析半自動カウント法を用いた検討	
<sup>1</sup> 島根大学 医学部 循環器・呼吸器外科 <sup>2</sup> 島根大学 医学部 附属病院病理部 <sup>3</sup> 十条リハビリテーション病院 <sup>4</sup> 島根大学 医学部 環境保健医学講座 環境予防医学 ○梅 とも子 <sup>1</sup> 丸山 理留敬 <sup>2</sup> 仁尾 義則 <sup>3</sup> 山根 史嗣 <sup>4</sup> 嘉数 直樹 <sup>4</sup> 岸本 晃司 <sup>1</sup> 織田 禎二 <sup>1</sup>	17
(A3) 新規骨質評価法による下顎骨の骨質解析	
大阪大学 大学院工学研究科 藤谷 涉	18
(A4) マウス受精卵凍結等の受託業務について	
基礎生物学研究所 技術課 林 晃司	19
(A5) 都合によりキャンセル	
(A6) 生物情報データベースを利用したプロテオーム解析支援ソフトの作成	
九州工業大学 情報工学部 楠本 朋一郎	21
(A7) 作業環境測定における空気中の自然放射性物質の影響	
基礎生物学研究所 技術課 飯沼 秀子	22
(A8) 教員養成系大学における児童を対象とした農業体験教室の試み	
<sup>1</sup> 秋田大学 教育文化学部 <sup>2</sup> 工学資源学部 ○山下 清次 <sup>1</sup> 逸見 洋子 <sup>1</sup> 谷口 智行 <sup>2</sup> 嵯峨 多美男 <sup>2</sup>	23

- (A9) 三波長合成ハイパワー白色LEDによる果菜類栽培の研究  
福井大学 工学部 技術部 岡井 善四郎 24
- (A10) レーザの保護メガネ II —機構内技術連携—  
<sup>1</sup>核融合科学研究所 <sup>2</sup>分子科学研究所 <sup>3</sup>生理学研究所 <sup>4</sup>基礎生物学研究所  
○山内 健治<sup>1</sup> 加藤 清則<sup>2</sup> 大庭 明生<sup>3</sup> 古川 和彦<sup>4</sup> 25

### 話題提供（1階 中会議室）

- (T1) ゲノムサイエンスを支えるシーケンステクノロジー — DNA シーケンシングの新展開を臨む —  
基礎生物学研究所 技術課 山口 勝司 28

### 第4回 奨励研究採択課題技術シンポジウム（1階 大会議室）

- (S1) 実験機材製作時の材料選定指針の検討（代表的樹脂の切削性の検討）  
生理学研究所 技術課 加藤 勝己 30
- (S2) 最新ものづくりにおける異種材の共削り加工の最適条件を導き出す工作実習の検討  
鹿児島工業高等専門学校 技術室 原田 正和 31
- (S3) Web ブラウザによる遠隔操作  
名古屋工業大学 技術部 祖父江 孝之 32
- (S4) 耳鼻咽喉科における電子カルテと聴覚検査システムのインターフェースに関する研究  
富山大学 医薬系技術部（耳鼻咽喉科） 武田 精一 33
- (S5) マウスの異常行動における環境エンリッチメントが与える影響  
北海道大学 大学院医学研究科 附属動物実験施設 土佐 紀子 34
- (S6) ラット顔面神経軸索切断後の生存神経細胞の形態学的特徴  
金沢大学 医学系研究科 教育研究支援センター 大林 正朗 35
- (S7) 教育用及び展示標本としての血管鋳型標本作製法の改良について  
鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科 神経病学講座 歯科応用解剖学分野 福重 和人 36
- (S8) 放射線硬化樹脂の樹脂包埋解剖実習標本作製への応用  
秋田大学 医学部 構造機能医学講座 形態解析学分野 二部 恒美 37
- (S9) CCDカメラを用いた切削状況観察装置の開発  
神戸大学 大学院工学研究科 技術室 道脇 昭 38
- (S10) ロボット監視カメラによる獣害被害防止の対策技術開発  
福井大学 工学部 技術部 小川 勇治 39
- (S11) 音楽と映像によるストレス抑制効果を用いた実時間体調モニタ付き屋内歩行訓練機の開発  
<sup>1</sup>熊本電波工業高等専門学校 技術センター <sup>2</sup>鳥羽商船高等専門学校 制御情報工学科  
<sup>3</sup>中部大学 経営情報学部 ○上杉 一秀<sup>1</sup> 清田 公保<sup>2</sup> 足達 義則<sup>3</sup> 40
- (S12) マウス、ラット用飲水量連続計測装置の開発  
生理学研究所 技術課 佐治 俊幸 41

## ポスター発表（1階 大会議室、エントランスホール）

(P1)	固定時の緩衝液が透過電顕像に及ぼす影響	基礎生物学研究所 技術課 近藤 真紀	44
(P2)	植物細胞における衝撃波負荷痕跡の SEM 観察	熊本大学 衝撃・極限環境研究センター 嶽本 あゆみ	44
(P3)	内耳外有毛細胞の膜電位 - 細胞長変換素子 Prestin の単粒子構造解析	生理学研究所 技術課 山本 友美	45
(P4)	EM-IGL を用いた post-embedding 免疫電子顕微鏡法	生理学研究所 技術課 神谷 絵美	45
(P5)	走査電顕による透過二次電子像のための試料ホルダ開発	浜松医科大学 実験実習機器センター 村中 祥悟	46
(P6)	透明薄膜のエッチングレート評価技術の開発	東京農工大学 工学府 電気電子工学専攻 吉岡 一也	46
(P7)	海外出張報告：米国における TEM 技術の調査	生理学研究所 技術課 山口 登	47
(P8)	農学研究科共通施設電子顕微鏡室のあり方について	東北大学 農学研究科 電子顕微鏡室 伊東 久美子	47
(P9)	小型蛍光顕微鏡の開発	徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 庄野 正行 中村 教泰	48
(P10)	蛍光トレーサー法を用いた神経回路網の時空間的解析	生理学研究所 技術課 石原 博美	48
(P11)	アポトーシス性容積減少に関与するリン酸化シグナル同定の試み	生理学研究所 技術課 小原 正裕	49
(P12)	蛍光画像データの取得と解析	基礎生物学研究所 技術課 諸岡 直樹	49
(P13)	ImageJ を用いた、顕微鏡画像計測用バッチ処理マクロとプラグイン作成	生理学研究所 技術課 前橋 寛	50
(P14)	X 線 CT 装置による生体観察と形態計測	国立遺伝学研究所 技術課 前野 哲輝	50
(P15)	ハンディ型ピペットを併用したマイクロディセクター剥離切片の採取	浜松医科大学 病理学第一講座 加茂 隆春	51
(P16)	マウス初期胚を用いた肝発生研究のための Whole-mount immunohistochemistry (WIHC) 法の基礎的検討	高知大学 医学部 病理学講座 林 芳弘	51
(P17)	植物組織を用いた whole mount <i>in situ</i> hybridization 法の検討	基礎生物学研究所 技術課 田中 幸子	52
(P18)	FACS によるショウジョウバエ胚からの生殖系列細胞の単離	基礎生物学研究所 技術課 野田 千代	52
(P19)	フローサイトメトリーによる浮遊細胞と接着細胞の比較	浜松医科大学 実験実習機器センター 柴田 清	53

(P20)	アグロバクテリウムを用いたオジギソウの形質転換系の検討	基礎生物学研究所 技術課 住川 直美	53
(P21)	BAC Tg マウス作製技術の条件検討	基礎生物学研究所 技術課 岡 早苗	54
(P22)	BAC を用いた Tg マウス作製における工夫	富山大学 医薬系技術部 和泉 宏謙	54
(P23)	イムノブロットィングにおける検出条件の最適化	基礎生物学研究所 技術課 壁谷 幸子	55
(P24)	SDS-PAGE ゲル抽出糖鎖からの 2 次元 HPLC 法による解析法の開発	生理学研究所 技術課 山田 元	55
(P25)	Q-TOF MS に用いる各種ナノスプレーヤーの問題点と改良	基礎生物学研究所 技術課 高見 重美	56
(P26)	亜鉛金属型錯体分子の高分解能質量分析	京都大学大学院工学研究科 合成・生物化学専攻 桑田 啓子	56
(P27)	質量分析技術者 近畿ブロック会議の紹介	<sup>1</sup> 大阪大学 <sup>2</sup> 奈良先端科学技術大学院大学 <sup>3</sup> 京都大学 <sup>4</sup> 京都工芸繊維大学 <sup>5</sup> 基礎生物学研究所 <sup>6</sup> 分子科学研究所 <sup>7</sup> 大阪市立大学 安達廣 <sup>1</sup> 市原敏雄 <sup>1</sup> 福田和夫 <sup>1</sup> 山田等 <sup>1</sup> 千原容子 <sup>1</sup> 藤原久美子 <sup>1</sup> 守口寛 <sup>1</sup> 塚本潤子 <sup>2</sup> ○西川嘉子 <sup>2</sup> 久本泰明 <sup>3</sup> 八田博司 <sup>3</sup> 吉田裕美 <sup>3</sup> 塩田憲司 <sup>3</sup> 山口加乃子 <sup>3</sup> 寺田知子 <sup>3</sup> 桑田啓子 <sup>3</sup> 大西宣昭 <sup>4</sup> 四方眞由美 <sup>4</sup> 森友子 <sup>5</sup> 牧野由美子 <sup>5</sup> 牧田誠二 <sup>6</sup> 下中智美 <sup>7</sup> 三宅里佳 <sup>7</sup>	57
(P28)	マルチメディアコンテンツのネットワーク配信を利用した教育訓練の試み	東北大学 加齢医学研究所 情報ネットワーク室 小森 和樹	57
(P29)	東北大学加齢医学研究所における eduroam 対応無線 LAN アクセスポイントの構築	東北大学 加齢医学研究所 情報ネットワーク室 小森 和樹	58
(P30)	高機能なメールサービス用ソフトウェア DEEPMail の導入と運用	生理学研究所 技術課 村田 安永 吉村 伸明	58
(P31)	フリーソフトを利用して	大阪大学 微生物病研究所 和田 多佳志	59
(P32)	WGTA のシステム開発	生理学研究所 技術課 戸川 森雄	59
(P33)	明暗往来試験装置の製作	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	60
(P34)	USB-シリアル変換デバイスを用いた実験装置の製作	生理学研究所 技術課 竹島 康行	60
(P35)	伴侶動物の腫瘍細胞の株化の確立について	生理学研究所 技術課 廣江 猛	61
(P36)	新規縦型飼育ケージを用いたサル飼育の試み	九州大学 医学部統合生理学分野 水口 洋子	61
(P37)	紙製の組み立て式 Nest box が Tabby jimpy ミュータントマウスに及ぼす延命効果	生理学研究所 技術課 窪田 美津子	62
(P38)	動物飼育実験棟について	情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所 技術課 吉岡 裕輝	62
(P39)	小規模ミルクプラントにおける HACCP 導入による品質管理	帯広畜産大学 畜産フィールド科学センター 村上 文朗	63

(P40)	栽培廃液水質浄化に使用した浄水ケーキ再利用の検討 名古屋大学 全学技術センター 生物技術系 前坂 昌宏	63
(P41)	放置竹林内の植生と照度の調査 静岡大学 教育学部 重岡 廣男	64
(P42)	KEK PS-LINAC と 30 年の保守・改善 高エネルギー加速器研究機構 加速器研究施設 第3 研究系 竹中 たてる	64
(P43)	放射線を使った学生実験を支援して 京都工芸繊維大学 高度技術支援センター 尾崎 誠	65
(P44)	生物物理学生実験の紹介 東京大学 理学系研究科 技術部 佐伯 喜美子	65
(P45)	理科教育推進のための「ガキ大将方式学習法」の開発とその実習の紹介 浜松医科大学 医学部 総合人間科学講座 外山 美奈	66
参加者名簿.....		67



## 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

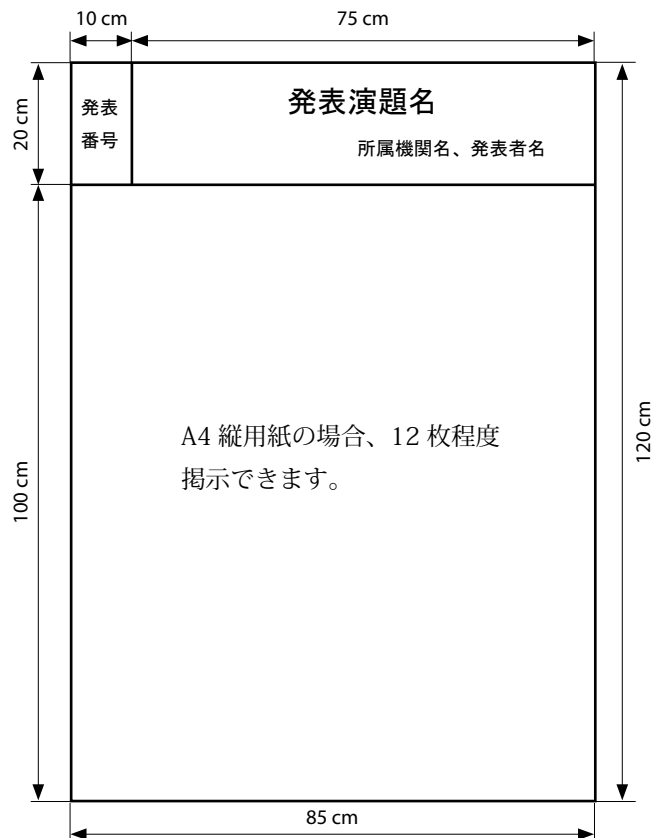
1. ポスター発表は、ポスター討論の前に画像ビューワーを用いて説明をしていただきます。説明用の画像は一人1枚で、発表時間は1分間を予定しています。（画像は事前に指定の方法でご提出願います。）発表は2グループに分けて行います。グループⅠのスライド説明とポスターの閲覧および討論を行った後、グループⅡを同様に行います。
2. 口演発表は20分（発表15分、質疑応答5分）、奨励研究採択課題技術シンポジウムは20分（発表15分、質疑応答5分）です。十分な質疑応答の時間が取れるよう、発表をまとめてください。
3. ポスター発表者は早めに受付を済ませ、13:30までにポスターを展示してください。
4. 発表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120 cm×横85 cm 縦長です。上部20 cmに発表演題名、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。

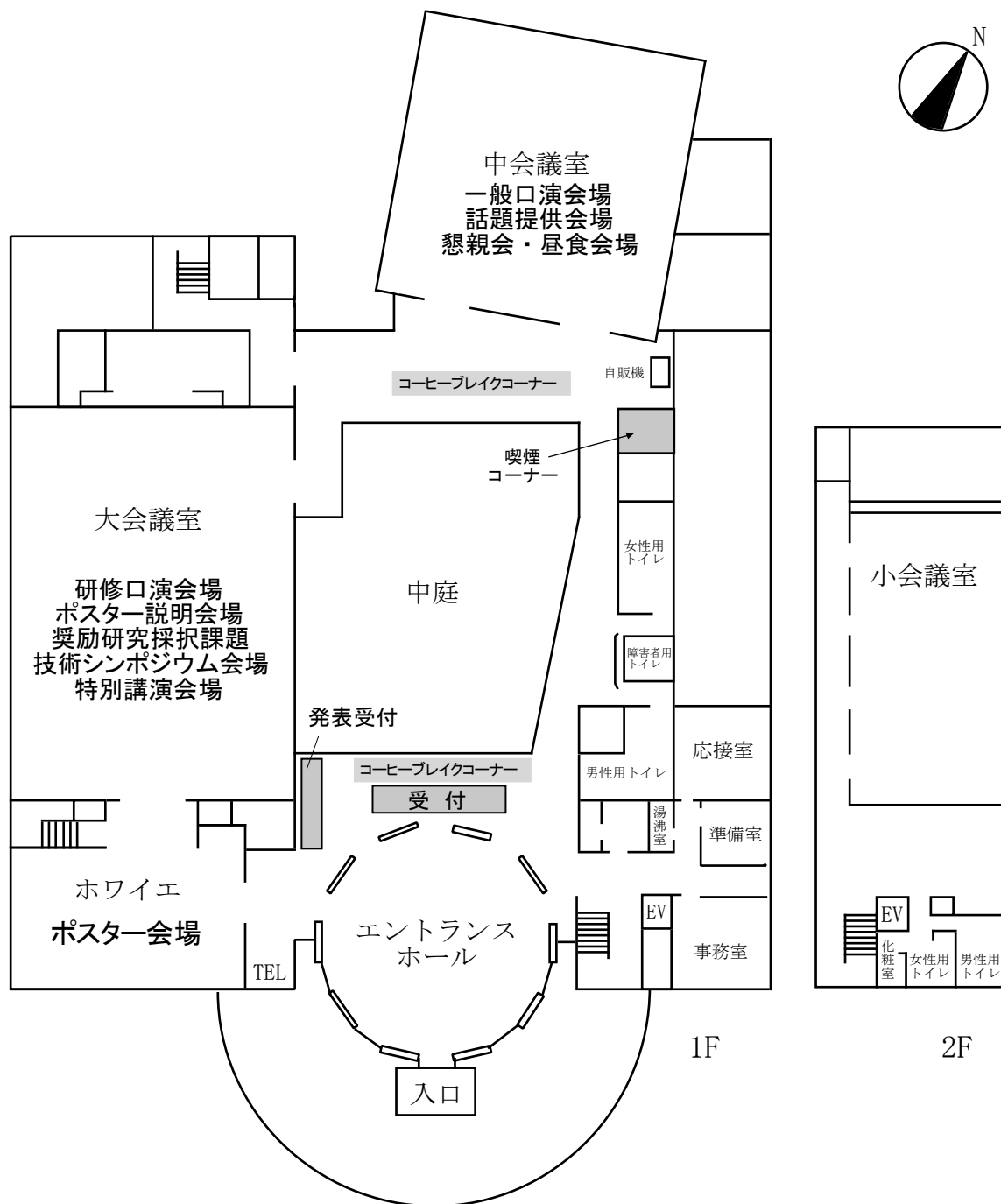


# 研究会会場周辺地図



- ◆ 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、バス停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 の間（逆は、発 6:27、最終 23:12）、運賃 120円、7、8時台および16時～22時台は1時間4本（9～15時台は1時間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  
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  
基礎生物学研究所 技術課 Tel.0564-55-7670、FAX.0564-55-7669  
生理学研究所 技術課 Tel.0564-55-7702、FAX.0564-52-7913

# 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 Tel. 0564-57-1870

基礎生物学研究所 技術課 Tel. 0564-55-7670

生理学研究所 技術課 Tel. 0564-55-7702



# 研修講演

# ショウジョウバエを材料として用いた生殖細胞

## 形成機構に関する研究

小林 悟

自然科学研究機構・岡崎統合バイオサイエンスセンター・  
基礎生物学研究所・発生遺伝学研究部門

生殖細胞の形成機構の研究は、100年以上の歴史を持つ。その間、多くの研究者が多様な動物を材料として生殖細胞の形成過程の組織学的な観察を行ったり、実験操作を加えてきた。私の研究は、先人たちの膨大な観察や仮説を遺伝子の言葉に翻訳する作業であったように思う。最近では、ゲノム情報が利用可能となり、いくつかの現象を遺伝子の言葉に翻訳する過程も加速しつつある。

ショウジョウバエの生殖細胞は、胚の後極に形成される極細胞に由来する。極細胞は胚生殖巣へと移動し、その中で生殖細胞に分化する。極細胞が生殖細胞にまで分化する過程を制御するメカニズムを明らかにする目的で、Fluorescence Activated Cell Sorting (FACS) により単離した極細胞および生殖巣中で発現する遺伝子をショウジョウバエの全ゲノム遺伝子を含むマイクロアレイを用いて同定し、それら遺伝子の機能解析をおこなってきた。単一細胞種の発生過程における遺伝子発現を網羅的に解析した例はまだ少なく、このような先駆的な解析から、生まれてきた研究について紹介したい。また、私たちは、卵へのマイクロインジェクション技術や細胞移植技術など優れた微細操作技術を保持し、それを駆使して研究を行なっている。たとえば、dsRNA を卵のマイクロインジェクションすることにより、簡便かつ速やかに遺伝子機能をノックアウトすることができる。また、このように遺伝子機能をノックダウンした極細胞を標識した後に、正常胚に移植することにより、移植した細胞の挙動を詳細に観察することができる。このように古めかしい実験発生学的な技術により、いまだに新たな発見が生まれているのである。

### 参考文献

- S. Shigenobu, K. Arita, Y. Kitadate, C. Noda and S. Kobayashi (2006) Isolation of germline cells from *Drosophila* embryos by flow cytometry. **Develop. Growth Differ.** **48**, 49-57.
- S. Shigenobu, Y. Kitadate, C. Noda and S. Kobayashi (2006) Molecular characterization of embryonic gonads by gene expression profiling in *Drosophila melanogaster*. **Proc. Natl. Acad. Sci., USA.**, **103**, 13728-13733.
- Y. Hayashi, M. Hayashi and S. Kobayashi (2004) Nanos suppresses somatic cell fate in *Drosophila* germline. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** **101**, 10338-10342.

# 特別講演

# 脳・ブレインマシンインタフェース・ロボット

株式会社国際電気通信基礎技術研究所 脳情報研究所 川人 光男

## 【概要】

脳の機能を解き明かし、情報通信に役立てるためには、脳の中に情報がどのように表現され、処理されているのかを調べなくてはなりません。しかし、これは生物学がこれまで得意としてきた物質や場所に関する研究に比べて格段に難しくなります。このような困難を克服するために、ATRでは脳を創ることによって脳を理解する研究を続けて参りました。まず、脳の記憶・学習などに関わる機能についての理論を作り、それを神経科学の実験で検証するとともに、理論に基づいてロボットを学習させました。その結果、ロボットが人の持っている学習能力の一部を備えるようになりました(図A, B, C)。またヒトの脳を傷つけずに、脳の外側から脳の活動を記録して、必要な情報を抽出して、ロボットを動かすことができるようになりました(ブレイン・ネットワーク・インタフェース技術; 図D, E)。

これまで情報端末やロボットの操作は、プログラムを書くか、手や音声を用いて行なわれてきました。しかし、脳とネットワークを直結し、考えるだけで情報通信機器を動かせる革新的な技術がSFから現実のものになろうとしています。このような技術は、工学として革新的なだけではなく、脳内の情報を実時間で抽出し、解読し、計算理論の予測に基づいてこれに操作を加え、直接または間接に操作した情報を脳にフィードバックする新しい方法論も可能にします。これは、脳シグナルの操作を可能とし、分子生物学における遺伝子工学と同様な役割を果たす可能性を秘めています。

今回の講演では、急速に発展しつつある、ブレイン・ネットワーク・インタフェースやサイボーグ技術と、それに基づく未来の情報通信に関して、ATRの研究動向と実用化への道筋などを解説いたします。

## 【参考文献・資料】



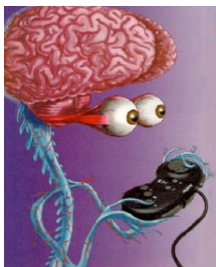
A: けん玉学習ロボット



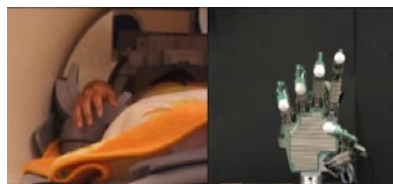
B: エアホッケーを学習する DB (JST-ERATO)



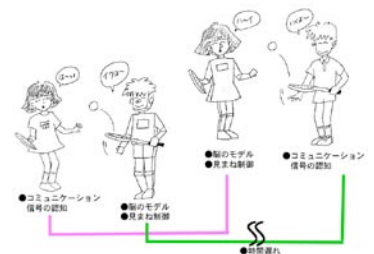
C: 新型二足歩行ロボット CB-i (JST-ICORP)



D: ブレイン・ネットワーク・インタフェースの概念図



E: 磁気共鳴画像法で計測した脳の情報で準実時間でロボット手を制御 (ホンダリサーチインスティテュート・ジャパンとの共同研究)



F: BNI, ヒューマノイドロボット、脳の定量的モデルを用いた未来の情報通信



口 演 発 表  
( 一 般 口 演 )

## 収束イオンビーム (FIB) による SEM 内 微細解剖過程のビデオ記録

浜松医科大学 医学部 実験実習機器センター 太田 勲、村中 祥悟

Faculty of Allied Health Sciences, National Univ. of Malaysia, Hing Hiang Lian

【目的】走査電子顕微鏡 (SEM) で試料内部を観察するには、収束イオンビーム (FIB) を用いて任意の部位を鏡筒内で微細解剖できる優れた方法がある。この方法を用いて SEM で試料表面を観察しながら切断面を決め、任意の切断面の観察を続けてきた。近年、FIB による切断と SEM 撮影とを交互に連続して得た画像を用いて動画を作成するシステムが登場した。あらかじめ切断する範囲と撮影枚数を設定することによって、自動的に切断面の画像を取り込ことができ、このシステムを炭疽菌、酵母などの微生物やマクロファージ、肝細胞などの生物試料に応用した。

【方法】FIB 照射装置は Carl Zeiss 株式会社および SII ナノテクノロジー株式会社 Dual Beam 型 FIB-SEM 複合装置を用いた。試料は通常の SEM 観察用に作製し、酵母と炭疽菌の試料には補強のため金コーティングを施した。用いた試料と FIB 照射および条件は以下の通りである。

(1)材料：酵母 (*Schwanniomyces occidentalis*)、炭疽菌 (*Bacillus anthracis*)、マウス腹腔内マクロファージ、マウス肝細胞、(2)FIB 照射：プローブ電流 2pA~10pA、(3)ビデオ記録：Cut and See Pro ソフト (断面観察位置追尾機能およびフォーカス連動機能) にて約 1500 枚以上撮影し、これらの画像を元に 3 分以上の映像を作製した。

【結果】本システムで得た動画では、細菌の任意の位置から断面が露出し、微細な加工終点を逃すことなく、数~十数 nm 単位で研磨される断面 SEM 像をリアルタイムで観察できた。また、自動取得された断面画像のレビューによって試料内部構造の一部始終が観察でき、さらに三次元構築ソフトウェアと組み合わせることで立体的観察ができた。

【考察】自動 Cut and See 機能ソフトを搭載した FIB 装置による微細加工は、時間のかかる複数点の断面加工および等間隔断面画像を無人自動取得することができ、作業の省力化にも有用である。本装置は高価ではあるが、SEM で得られる試料内部構造の情報は格段に多く、SEM による構造解析が期待できる。

### 【参考文献・資料】

- 1) 村中祥悟 (1999) . 収束イオンビーム (FIB) エッチング法による生物試料の内部構造 SEM 観察. 医・生電顕技術会誌 14 (2) : 34-38.
- 2) 村中祥悟、記野秀人、他 (2005) . 収束イオンビーム照射装置を応用した医動物の微細解剖. 医・生電顕技術会誌 19 (1) : 77.

# ヒト腫瘍における Thymidylate Synthase と Ki-67 発現解析—免疫染色と画像解析半自動カウント法を用いた検討

<sup>1</sup>島根大学 医学部循環器・呼吸器外科 <sup>2</sup>島根大学 医学部附属病院病理部  
<sup>3</sup>十条リハビリテーション病院 <sup>4</sup>島根大学 医学部環境保健医学講座環境予防医学  
梅 とも子<sup>1</sup> 丸山 理留敬<sup>2</sup> 仁尾 義則<sup>3</sup> 山根 史嗣<sup>4</sup> 岸本 晃司<sup>1</sup> 織田 禎二<sup>1</sup>

## 【目的】

Thymidylate Synthase (TS) は癌化学療法において重要な標的酵素であり、この発現解析はテーラーメイド癌医療に有用である。また癌化学療法の目的は腫瘍の死滅または増殖活性抑制にあり、その細胞増殖指標となる Ki-67 発現解析もまた癌化学療法の効果判定に有用である。そこで、第 29 回生理学技術研究会で発表した免疫染色プロトコールと画像解析半自動カウント法を用いて TS と Ki-67 発現について検討を行った。

## 【方法】

腫瘍(乳・膝)40 症例のホルマリン固定パラフィン連続切片を抗 TS 抗体(clone TS 106)、抗 Ki-67 抗体 (clone MIB-1) による免疫染色を行った。これら一次抗体での検体切片インキュベートの前処理として、下記抗原賦活処理を行った。: 脱パラフィン切片を 1mmol/L EDTA 含有 10mmol/L トリス塩酸緩衝液 pH9.0 (TE) に浸漬、オートクレイブ 121°C で 15 分加熱処理。二次抗体はポリマー法を用いた。連続切片のほぼ同一視野の TS 発現と Ki-67 発現を顕微鏡デジタル画像で取得後、画像解析ソフト Image-Pro Plus (IPP) で解析を行い、それぞれの発現陽性個数をエクセルに自動転送し記録した。また免疫染色で TS と Ki-67 抗原の二重染色を行い、その顕微鏡デジタル画像解析による発現解析を行った。

## 【結果】

連続切片で TS と ki-67 発現は有意に相関した ( $r=0.594$   $p<0.0001$ )。二重染色で多くのがん細胞で TS と ki-67 両方が発現していることが確認できた。

## 【考察】

TS は DNA 合成に必須酵素である。また Ki-67 は細胞周期の  $G_1$ , S,  $G_2$ , M 期に発現するが  $G_0$  においては発現しない。したがって TS と Ki-67 発現の正相関は予想どおりであるが、今後臨床応用に向けてさらに TS と Ki-67 発現と病理学的悪性度、治療効果、予後との関連についての解析が必要である。その解析に免疫染色とデジタル画像解析は有用であると考えられる。しかし、免疫染色はそのプロトコールにより抗原発現の結果が大きく異なるので、プロトコールの選択には十分な検討が必要である。

本研究は平成 17～18 年度科学研究費補助金 (基盤研究 (C)) 課題番号: 17591400 の助成により行った。

## 新規骨質評価法による下顎骨の骨質解析

大阪大学 大学院工学研究科 藤谷 渉

【目的】生体硬組織中の生体アパタイト (BAp) は、部位に応じて適正な力学特性を発揮できるようにコラーゲン線維と BAp が優先的な配向性を示す。例えば、下顎骨における BAp の配向性は、近遠心方向へ優先配向軸をもち、成長や咀嚼にともなう *in vivo* 応力分布の変化とともに協調的に制御されることが期待される。つまり、硬組織の力学機能は骨体積、骨密度、そして配向性に代表される骨質変化などのパラメータによって支配されるものと考えられる。したがって、臨床的に歯科インプラントを考える場合には、これらのパラメータを十分に理解する必要がある。

本研究では、骨成長や咀嚼開始にともない、下顎骨への *in vivo* 応力分布が極端に変化すると考えられる成長期から成熟期の骨モデリングに注目し、ラット下顎骨の皮質骨密度および BAp の c 軸配向性の解析を試みた。さらに、リモデリング動物として、ビーグル犬を用いて、下顎骨での骨微細構造への咀嚼障害の効果についても検討した。

【方法】調査対象として成長期の SD ラットおよびビーグル犬下顎骨を選択した。これらの試料において、歯冠から外れた部位および歯冠を含む部位での近遠心垂直断面内の骨量・骨質解析を行った。また、ビーグル犬における一部下顎骨の歯牙は抜歯し、咀嚼障害モデルとした。とりわけ、下顎骨荷重支持方向である近遠心方位、咀嚼荷重の影響を受ける歯根直下部位に注目し、反射法、透過法にて微小領域 X 線回折測定による BAp 配向性の解析を行った。また、皮質骨断面積および骨密度の定量は pQCT 法により行った。

【結果】ラットにおいて、皮質骨断面積は、成長とともに比較的単調に上昇した。一方、骨密度や BAp 配向性は、部位に強く依存し、ビーグル犬においても、同様の結果が得られた。ラットでは咀嚼にともない、歯根直下にて複雑な局所応力分布の影響を受け、近遠心方向のみならず、咀嚼方向へも強い配向性を示す領域が現れた。一方、ビーグル犬においても咀嚼の荷重を主に支える舌側にて類似の傾向が認められたが、海綿骨の存在により咀嚼による負荷応力を分散する傾向が推察された。また、咀嚼障害を引き起こしたビーグル犬では、急速な骨密度分布の平坦化と配向性の変化が認められた。こうした骨量・骨質の協調的変化は、成長度合い、さらには咀嚼に基づく *in vivo* 応力分布と密接に関係することが明らかとなった。

【考察】本研究で用いた新規骨質評価法は、骨成長や咀嚼、さらには咀嚼障害などによる下顎骨での複雑な *in vivo* 応力分布を直接的に反映するものでその有効性が示された。

## マウス受精卵凍結等の受託業務について

基礎生物学研究所 技術課 林 晃司

【目的】基礎生物学研究所・形質転換生物研究施設では、施設利用者に対する支援業務の一つとして、マウスの受精卵凍結・移植などの受託業務を行っている。これらの技術は、マウスの遺伝形質の維持において、また、飼育スペースや経費の削減などにおいて有効な手段であり、遺伝子改変マウスの飼育施設においては、頻繁に用いられている技術の一つである。しかし、これらの技術を用いて良好な結果を得るためには、ある程度の習熟が必要であるため、当施設においては、研究者に代わって、習熟した施設スタッフによる受託業務としても行っている。

【方法】受精卵は、体外受精もしくは自然交配により得た。目的の遺伝子型を有するオスマウス2匹を依頼者より受け取り、ホルモン投与によって過排卵誘起した野生型メスマウス（遺伝子改変メスマウスを用いることもあった）との間で体外受精を行った。得られた2細胞期受精卵を超急速凍結法（簡易ガラス化法）によって凍結保存するとともに、一部を融解して仮親マウス（レシピエントマウス）にテスト移植し、目的の遺伝子型を持ったマウスが得られることを確認した。個体生産が目的の場合は、得られた受精卵を数匹から10匹程度の仮親マウスに移植した。自然交配により受精卵を得る場合、交配の成立したメスマウスを依頼者より受け取り、卵管を摘出後、卵管灌流により受精卵を得て凍結を行った。

【結果】2004年4月に施設が稼働、その後まもなくこの業務を開始し、2007年12月末までに107件を行ってきた。体外受精に関して、当初はメスマウスからの採卵数が少ない、受精率が低いなどの理由から、用いたメスマウスの数に対して得られた受精卵数が少なかった。その後、ホルモン投与時間の変更、投与量の調整を行い、また実施回数を重ねるにつれ、成績が改善された。現在、メスマウス1匹当たり10個以上の受精卵が得られるようになり、受精率も大半は80～90%となっている。

【考察】凍結卵の融解や仮親マウスへの受精卵移植において、成績の良くないことも見られた。このため、手技や用いる試薬類の再確認を行い、常に良好な結果を維持できるようにしたい。個体生産が目的の場合、通常より大規模なスケールでの体外受精や、多数の仮親マウスへの移植が必要となることもあり、場合によっては複数の実施者が必要である。現在は、これらの業務を遂行できるスタッフが1名のみであるため、新たな担当スタッフの育成が求められている。



## 生物情報データベースを利用したプロテオーム解析支援ソフトの作成

九州工業大学 情報工学部 楠本 朋一郎

【目的】細胞全てのタンパク質の挙動を俯瞰するプロテオーム解析では、着目したタンパク質の迅速で、確実な同定が必要となる。現状の解析手段では、二次元電気泳動によりタンパク質を展開し、注目するタンパク質に対してペプチドマスフィンガープリンティング法などを用いて同定を行うが、MS装置の精度が低いと同定確率が低くなる。一方で、遺伝子解読が種々の生物でなされ、かつ遺伝子にコードされたタンパク質全てのタンパク質の機能予測、分子量、等電点などのアノテーション情報が登録されたデータベースが存在する。今回、このようなデータベースの1つである Pedant database <http://pedant.gsf.de> から情報を抽出し、二次元電気泳動像予測プログラム及び対象生物のみのデータを対象としたペプチドマスフィンガープリンティング法解析プログラムを作成したので報告する。

【方法】菌種ごとの情報が網羅された PEDANT database から、*Corynebacterium glutamicum* 及び *Pseudomonas putida* の情報をダウンロードした。次に、Perl 言語のマッチング機能を用いてタンパク質名、分子量、等電点、機能予測情報、アミノ酸配列などのデータを種毎に取り出した。このデータを用いて二次元電気泳動像予測パターンを Excel にて表示させた。また、アミノ酸配列情報をもとに各種酵素での切断ペプチドの分子量パターンを計算させ、MSによる実際の酵素処理ペプチドの分子量の測定値セットを入力すると任意の数マッチしたタンパク質の情報を出力するプログラムを作成した。

(プログラム作成及び動作環境)Perl 言語 : ver. 5.6.1 for MSWin32-x86-multi-thread, 編集ソフト : サクラエディタ sakura 1.5.15.3, プログラム動作 : コマンドプロンプト, 動作環境 : Microsoft Windows XP Intel® Pentium®4CPU 2.40GHz 512MB RAM

【結果・考察】二次元電気泳動像予想プログラムを用いて描画させたものと、実際二次元展開した画像とを比較したところかなりパターンが異なっていた。細胞膜タンパク質を二次元展開すると酸性側にスポットが集中する傾向にあり、以前より問題ではないかと考えていたがこのプログラムによる描画によりそのことが実証された。また、ペプチドマスフィンガープリンティング法解析プログラムにより、これまでの MASCOT のみでの解析と異なりデータを詳細に検討できる状況となったと考えている。

### 【参考文献・資料】

「バイオインフォマティクスのための Perl 入門」オライリージャパン

## 作業環境測定における空気中の自然放射性物質の影響

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が、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。これは、実験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が原因と考えられるが、その数値の原因を明確にする必要がある。そこで自然放射性物質の変動を見るため、昨年度、自然放射性物質を定期的に測定し、冬場に高い傾向が見られたことを本研究会で報告した。今回は、昨年度と同様に行った定期測定の結果と、検出された核種の同定を試みた結果について報告する。

### 【方法】

#### (1) 定期測定

昨年度と同様に、定期的なサンプリングを管理区域外で毎週一回行った。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した。より正確な測定を行うため、測定開始時間と場所を検討した。サンプルは、液体シンチレーションカウンタを用いて測定し、サンプリング時の気象条件（温度、湿度、天候）との関係を調べた。

#### (2) 核種の同定

空気中の放射性物質を(1)と同様にダストサンプラーを用いてフィルターに捕集した。サンプルは、ゲルマニウム $\gamma$ 線スペクトロメータおよび、低バックグランド液体シンチレーションカウンタで測定し、核種の同定を試みた。

また、放射性物質を使用する施設で汎用されている液体シンチレーションカウンタおよびオートウェル $\gamma$ カウンタでは一般的に核種の同定は難しいが、検出された核種と実験で使用する核種 ( $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{125}\text{I}$ ) とを見分けられるかを検討した。

### 【結果と考察】

(1) 定期測定の結果、明確な季節変動はなかったが、採取日によって測定値に変動があった。また、採取後の測定値の減衰が採取日によって異なることがあった。

(2) ゲルマニウム $\gamma$ 線スペクトロメータでの測定の結果、検出された主な自然放射性物質は $^{224}\text{Ra}$  および  $^{226}\text{Ra}$  由来のものと考えられる。



## 教員養成系大学における児童を対象とした 農業体験教室の試み

秋田大学 教育文化学部 ○山下 清次 1) 逸見 洋子 1)  
谷口 智行 2) 嵯峨 多美男 1)

1)秋田大学教育文化学部 2)秋田大学工学資源学部

### 【目的】

「食農教育」や「食育」が学校教育などで注目されるようになってきたが、現在に至っても、学習の過程全般にわたる基本的な枠組みが確立されているとは言い難い。また、教職を目指す学生においても栽培などの学習体験が乏しく、学校教育での実践力を養えないことである。このような理由から、本研究では、教員養成系の学生に「食農教育」に対する問題意識と、「総合的な学習の時間」を想定した「食農教育」の実践力を高めてもらうことを目的として、農業体験教室を開設し、「総合的な学習の時間」を想定した児童対象の学習プログラムを試作していく。

### 【方法】

実施場所は秋田大学教育文化学部栽培実験・実習圃場である。用いた作物は子ども達がスーパー等でよく目にしている作物である。参加児童の対象は地域の児童、10名程度。指導は技術職員を中心に教員、教職を目指している学生が当たった。実施期間は4月～翌年3月で、夏期休業中は毎週1回、それ以外の期間は週に1～2回（土曜日）とした。子ども達には各自1畝を与え、責任を持って管理してもらった。参加児童と学生にはノートを配布し学習・作業内容・感想等を記入してもらい。ノートは最後に提出してもらった。その他にアンケートを行い、アンケート結果、ノートから分析を行い反省点や、改善点を抽出した。

### 【結果】

参加した子ども達の変化として、1)回を重ねるごとに自発的に挨拶をするようになったこと、2)作業では子ども達の間には協調性が見られるようになったこと、3)講義での話や作業の説明に集中するようになってきたこと、4)身近な作物と食との関係について関心が高まったこと等々が見られた。

### 【考察】。

子ども達は学年層によって発達程度が著しく異なり、同学年層の中でも興味の持ち方や理解度の程度に大きな差異が見られるので、低・中・高学年層での細かなプログラムを組む必要があると考えている。

## 三波長合成ハイパワー白色 LED による果菜類栽培の研究

福井大学工学部 技術部 岡井 善四郎

【目的】近年、地球温暖化の影響と思われる異常気象、また収量を上げるため多くの化学物質（肥料・農薬）を使用してきたため土壌の老朽化が進んでいる。特に施設園芸では雨水か注がないことから塩類の集積が加速され、乾燥地帯の土壌に似てきている。このような状況のもとで天候に左右されることなく、自然環境を保持し増産できる栽培の一つに、完全制御型人工栽培システムとして、植物工場が世界中で注目されてきている。葉菜類については研究が進み、実用化が目前である。しかし LED による果菜類栽培についてはほとんど行われていないのが現状である。照明用光源として今後ますますの発展が期待されている白色 LED を用い、果菜類栽培について最適栽培条件を見出すことを目的とする。

【方法】人工光源で唯一太陽光に近いインコヒーレントな光源である三波長合成ハイパワー白色 LED 素子を基板に取り付け、他の栽培用光源に劣らない光源パネル(光源下 10cm で PPF:光合成有効光量束密度  $500 \mu \text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{s}$  達成)を製作し、栽培実験を行う。太陽光栽培と栄養価、果実の大きさの違いを調べる。栽培方法は土壌栽培より優れた特徴を有している水耕栽培を取り入れる。

【結果】本研究で使用した三波長合成ハイパワー白色 LED は、果菜類栽培において太陽光と同様栽培可能であることを見出した。育成装置内では、高さに限度があるため 2 段栽培で行った。花芽形成、着果とも太陽光と大差はなかった。しかし最終的にはトマトでは、果実が小さめ、糖度、酸度とも、太陽光より若干劣った。

【考察】この原因としては、窓ガラスを通しての太陽光の光量 ( $1,500 \mu \text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{s}$ )、と LED の光量 ( $500 \mu \text{mol}/\text{cm}^2 \cdot \text{s}$  LED 面より 10cm での測定)の違いが大きな原因と考えられる。

日本では果菜類を製品として出荷するには、検査が非常に厳しく品質の良さが問われる。トマトでは形状はもちろん、味を構成する糖度と酸味の比率が多様な好みに答える要素となる。糖度 5 度以上、酸度 0.4%以上を目標に、葉緑素計で植物の光合成をモニターする。また、ph 計、EC メータで養液を監視しながら栽培条件を変えて最適栽培条件を見出していく必要がある。連続照射から光合成のリズムに合わせた間欠照射を行い、光合成効率を高める。

【参考文献・資料】河本、康太郎、他 : LED の農林水産分野への応用、pp37-49 (2006)

渡辺博之 : LED 光源の植物工場への適用、SHITA REPORT 11 31-41 (2006)

## レーザーの保護メガネⅡ —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。昨年度の生理学技術研究会で試作した「レーザーの保護メガネ」について報告したが、実際に使用して問題点が指摘されたので、更に改良を行った。

【方法】1、ビーム・パターンの可視化と改良    今回、YAG レーザの波長 1.06 ミクロンの赤外線にも感度のある小型 CCD カメラと小型液晶ファインダとを組み合わせで直接ビームを見なくて済む保護メガネを試作した。しかし実際にこの保護メガネを使用してビーム調整を行った研究者から視野が狭く作業を行うには不安があると指摘を受けた。試作した保護メガネは、小型液晶ファインダが両眼を覆うゴーグル型のもので CCD カメラからの映像しか見ることができない。CCD カメラの視角は約 60 度で肉眼の視角約 120 度に比べて狭い範囲しか見ることができない。レーザー・ビームの調整のためには狭い場所や高所での作業を伴うために、視野が狭いことは安全面で問題があることが分かった。

改良した保護メガネ    この点を改善するために片目のみ装着できる小型液晶ファインダを購入し、従来から使われている光吸収型保護メガネの片眼に取り付け他方は裸眼で作業ができるようにし、視野の確保をはかりながら片眼でレーザー・ビームが見える保護メガネを試作した。

また暗い場所で使用できるように映像信号の増幅回路を製作している。

2、ビーム光路の可視化：レーザーの光路の可視化の要望については、光路に微粒子を浮遊させて、光の散乱によって可視化させる。この方法を応用する場合に、使う微粒子によって周囲の機器が汚れない物質であることや安全性の高い散乱物質であることが求められる。試験した物質として殺虫成分を使わないで温度を下げて虫を殺す殺虫剤があり散布すると、空気が冷えて霧状になる薬剤があることが分かり試験している。



# 話題提供

# ゲノムサイエンスを支えるシーケンステクノロジー — DNAシーケンシングの新展開を臨む —

基礎生物学研究所 技術課 山口 勝司

## 【背景】

ここ数年、様々な生物種でゲノムプロジェクトが進められ、すでにモデル生物や他の多くの生物でも全ゲノム配列が決定されるに至っている。これによって、ゲノムサイエンスという新しい学問分野が切り開かれ、ゲノム情報から様々な遺伝子やタンパク質の機能を解析していく研究はもちろんのこと、さらに生物種間のゲノム比較や種分類・種分化・生物進化に至る、様々な研究分野に新たなブレイクスルーを引き起こした。このゲノムサイエンス躍進の原動力になっているのはDNAシーケンステクノロジーの発展に他ならない。演者は第15回本研究会でゲノム塩基配列情報の解析法に関して、「ポストゲノムシーケンス時代のバイオインフォマティクス解析のススメ」と題した、話題提供をおこなった。今回はこの配列情報を産出するDNAシーケンステクノロジーそのものに焦点を当て、これまでの発展をふり返り、さらに最近開発された次世代シーケンサーについて紹介し、今後のDNAシーケンシングの新展望を臨んでみたい。

## 【シーケンシングテクノロジーの発展】

分子生物学が広まり始め、「DNA配列を決める」こと自体が研究課題や論文の題目になり得た時代、DNAシーケンスは非常に煩雑で骨の折れる作業であった。化学反応を利用したマクサム・ギルバート法は多量のDNAサンプルと煩雑な作業工程が必要で、反応の安定性や再現性も低く多大な苦勞を要するものであった。サンガーらによって報告された初期の方法も、同様に煩雑であり、また両方法ともDNAにラジオアイソトープ(RI)のラベルが必要であることから手軽な実験とは到底言い難かった。その後、サンガー法は様々な改良が加えられ、ジデオキシ法やnonRI化、DNA合成酵素の改良、PCRを用いるサイクルシーケンス法、ダイターミネーター法の確立など反応の再現性・安定性・簡便性が向上した。さらに分離・検出過程をシステムティックにおこなうことができる蛍光DNAシーケンサーが開発され、解析効率が格段に向上するに至った。現在、もっとも主流となっているDNAシーケンサーはキャピラリーに高分子ポリマーを詰めた状態で、サンプルが電気泳動される方式のもので、同時アプライできるサンプル数によって、いくつかの機種が販売されている。さらに近年開発された次世代シーケンサーは、個々のDNAサンプルを微細な固相に固定し、固相上でのシーケンス反応を蛍光画像として解析できるようにしたものになっている。これにより、今までの方法より遙かにハイスループットな解析が可能となっている。

# 口 演 発 表

( 奨 励 研 究 採 択 課 題 技 術 シ ン ポ ジ ウ ム )

# 実験機材製作時の材料選定指針の検討 (代表的樹脂の切削性の検討)

生理学研究所 技術課 加藤 勝己

## 【目的】

近年、当研究所では脳機能の解明に様々な動物を用いて様々な手法(脳波、PET、fMRI、MEGなど)で研究が進められている。このうち、fMRIやMEGを用いた実験では、実験器具に金属を用いることが出来ないため、様々なエンジニアリングプラスチックをはじめとする材料が使用されている。しかし、樹脂などについては、切削特性も良くわからないまま加工しているのが現状である。そこで、研究所で比較的良好に使用されている樹脂などについて機械加工性や特性などの検討を行い、生理学分野での装置・器具・部品作成の際の材料選びの指針作成を目的に、その手始めとして切削特性の比較検討を行う。

## 【方法】

今回は研究所でよく使われているプラスチック材料14種類(アクリル樹脂、塩化ビニール、ポリアセタール樹脂、ポリカーボネート、テフロン、MCナイロン、ピーク樹脂、ベークライト、ポリサルフォン、ガラスエポキシ、ABS樹脂、6ナイロン、PET樹脂、ポリウレタン)を選び、旋盤(ワシノ機械株式会社製LR-55A)及びフライス盤(日立精機株式会社製MS-V)を用いて、いずれも切削油なしの条件で、切削工具(旋盤は4種類(高速度鋼、超硬チップ、Tiコートチップ、ダイヤモンドチップ)、フライス盤は5種類(タックルミルに取り付けた超硬チップ、ハイス、超硬、Tiコート、ダイヤモンドのエンドミル))の違い、切り込み量の違い、送りスピードの違いなどにより、仕上がり面を目視および触診と表面粗さ計を使用して評価を加えた。

## 【結果・考察】

旋盤による結果は、バイトホルダーに超硬チップ(TH10)を取り付けたものおよびダイヤモンド工具がほとんどの材料で比較的良好に加工することが出来たが、工具の価格を考えると超硬チップが良いように思われた。また、フライス盤による切削テストの結果は、顕著な差は認められなかったが、どの樹脂に対してもタックルミルに取り付けた超硬(TH10)および高速度鋼のエンドミルが比較的良好な切削性がよかった。また、フライス加工については樹脂専用のエンドミルとの比較を行ったが、価格ほどの成果は見られなかった。

今後は、樹脂のみでなく材料全般について、旋盤、フライス盤、ボール盤加工を行い、加工特性を調べ、物理・化学的特性や電気的特性、耐薬品性、価格、入手の難易度などから実験器具、部品への適合性を体系的に整理し、総合的に検討して、ホームページに掲載出来たらと考えている。

## 【参考文献・資料】

- 1)「プラスチック加工技術便覧」プラスチック加工技術便覧編集委員会、日刊工業新聞社
- 2)「プラスチック技術」高野菊雄、工業調査会



## 最新ものづくりにおける異種材の共削り加工の 最適条件を導き出す工作実習の検討

鹿児島工業高等専門学校 技術室 原田 正和

【目的】近年、IT産業や航空宇宙産業の発展にともない、いくつかの異なる材料を組み合わせた製品が多くなってきた。その加工手段のひとつである共削り加工の場合は、単一なものと比較して良好な仕上げ面を得るのは非常に困難である。今回マシニングセンタのエンドミルを用いた共削りの輪郭加工を行い、加工条件と加工面品位との関係について検討した。そして、この成果についてのプレゼンテーションを行い、学生が自ら最適な加工条件を導き出せるような工作実習の内容について検討することを目的とする。

【方法】金属と非金属の組み合わせの被削材として、1mmの銅板の両側面を2mmの亚克力板で挟んだものを治具に取り付け、マシニングセンタのエンドミルを用いた輪郭加工を行った。切削終了後、加工段差について2つの接合部を含む3枚連続して粗さ測定機にて最大高さ $R_y$ を測定した。それぞれ同じ条件につき実験を3回を行い、1つの試料について測定を5回を行い、最大と最小を除いた平均値をデータとして取り扱った。これらの成果について工作実習の中で「最新の加工」というテーマのプレゼンテーションを行った。

【結果】銅と亚克力の組み合わせた被削材の輪郭加工を行い、共削り加工における加工面品位について実験的に検討した。その結果、銅と亚克力の双方に良好な仕上げ面を得るための加工条件を導き出すのは困難であったが、亚克力の欠けが発生しない条件で加工すればいくぶん良好な仕上げ面を得ることが明らかになった。これらの一連の加工法や結果などについて工作実習の中で学生に紹介した。

【考察】今回は「最新の加工」というテーマで、エンドミルの輪郭加工の成果について学生に紹介した。今後は他の加工法についても検討し、最近のものづくりに対応できる技術者育成のために学生に紹介していきたい。

### 【参考文献・資料】

- (1)狩野勝吉(2001)難削材・新素材の切削加工技術-22,機械と工具,45,11,105
- (2) (財)機械振興協会技術研究所(1991)加工技術データファイル平成3年度事例加補切削加工編,1534

## Web ブラウザによる遠隔操作

名古屋工業大学 技術部 祖父江 孝之

**【目的】** 今回、ブラウザ(Internet Explore など)で Web サーバーの外部インターフェース(RS232C, USB など)を操作して実験装置を動かしたり(リレーを ON, OFF など)、また実験装置から情報(電圧値など)を収集して Web サイトに掲示するシステムを開発した。目的は実験装置の状態を遠隔地から把握したり、または操作することである。実験装置を常時監視して事故の予防、被害を最小限に留めることは研究者にとっては重要な課題である。実験装置の状態を Web サイトで監視できるようにし、実験装置に異常な事態を検知したら、Web サーバー側で被害を最小限にする処置を行う。(周囲の人にブザーなどで異常が発生したことを周知させたり、実験装置の停止を自動的に行うなど)そしてあらかじめ設定したメールアドレス(装置責任者)に異常が発生した状況をメールを送信して通知するとともに Web サイトで装置の故障、異常の状況と自動的に処理した結果を表示する。必要があればクライアントが Web サイトから実験装置を操作して必要な処理をできるようにした。

**【方法】** 実際に行った実験・測定方法や作製方法など、技術的ポイントを簡潔に明記してください。

- (1) 今回、開発したシステムは、Web サーバー部分と外部インターフェース制御部分の2つに大きく分けることができる。OSは Windows Server2003, Web サーバーには Apache2.2 と Active Perl 5.10, 外部インターフェースの制御には Visual Basic.NET 2005 を使用した。
- (2) Web サーバー部分(Perl)と外部インターフェース制御部分(Visual Basic.NET)のデータの連携について、Perl と Visual Basic.NET では直接データをやりとりするドライバは元々存在しないが、これらはテキストファイル进行处理(文字の書き込み, 読み込み)できるので、テキストファイルを媒介にしてデータをやりとりを可能にした。

**【結果】** 上記の方法で得られた結果について書いてください。

当初、異種ソフト間(Perl と Visual Basic.NET)の連携ができ、Web サーバーの入力、出力がうまく外部インターフェースに反映させることができた。

**【考察】** 結果についての問題点や今後の方針などを書いてください。

Web サーバーはネットワークに常時接続なので、セキュリティ面を随時強化したいと思う。

# 耳鼻咽喉科における電子カルテと聴覚検査システムの インターフェースに関する研究

富山大学 医薬系技術部(耳鼻咽喉科) 武田 精一

【目的】近年、病院では電子カルテシステムの導入が進んでいる。電子カルテ導入による医療の質の向上は多々あるが、診療業務の内容は非常に多岐にわたり、大学病院等の電子カルテ化に際しては膨大な作業が必要となり、開発コストや時間の制約などにより検査データなどのカルテとのリンクは一般的な生理検査や病理検査など全ての診療科の利用が期待されるデータまでしか電子化されないことが多い。耳鼻咽喉科領域では聴覚検査や平衡機能検査などは大変重要な検査ではあるが多数の検査機器がそれぞれのインターフェースを持つなど電子カルテ化、ペーパーレス化の障害ともなっている。聴覚検査の特徴としてほとんどの検査は患者の自覚を頼りに行っている検査であり、このため検査を行う人間が必ず必要であり検査の信頼性の判断等、単純にオンライン化することだけが検査データの効率も含めた信頼性を向上させる手段とは成り得ない。本研究では、このような商業的な価値が低いがために実用化されにくい、既存の種々の聴覚検査設備と電子カルテシステムがうまくリンクするような仕組みを少ない費用で実現できるインターフェースを検討する。電子カルテの形態には、大病院から診療所まで様々なシステムがあるが、今回は本学附属病院の電子カルテシステムを対象に検査システムのインターフェースの検討を行った。

## 【方法】

(1) 検討した検査機器はオーディオメータ（聴覚検査全般）、インピーダンスオーディオメータ（チンパノメトリー、耳小骨筋反射検査等）、聴性誘発反応検査装置、人工内耳マッピングシステムなどを対象とした。

(2) 機器の出力インターフェースのデータフォーマット、および言語聴覚士による検査業務の手順を調査、検討した。

(3) 電子カルテ部門システムへ検査データの発生源での入力、登録の実現方法を検討した。

(4) オンライン自動登録できる検査から言語聴覚士による手入力まで、段階に応じた検討を行い、一部はインタフェース用スクリプトを作成した。

## 【結果及び考察】

聴覚系の検査機器について、電子カルテ環境での検査業務の円滑化、検査データの電子化を目的に検討を行った。オーディオメータを始めとするいくつかのデジタルインターフェースを有する検査機器においてはソフトウェア作成により実現可能と思われた。検査機器のコンピュータ化は著しいものがあり、特に汎用PCをベースとした検査機器では追加スクリプトなどで容易なリンクの可能性が示唆された。

## マウスの異常行動における 環境エンリッチメントが与える影響

北海道大学 大学院医学研究科 附属動物実験施設 土佐 紀子

【目的】 近年、「動物福祉 (animal welfare)」、という言葉が盛んに聞くようになり、実験動物に関しても動物の「幸福な暮らし (psychological well-being)」を実現するための環境エンリッチメント (environmental enrichment) の役割が注目されている。実験動物の飼育では、飼育環境が抱える物理的または社会的な問題により、繁殖障害、発育障害、異常行動といった異常がしばしば観察される。これらの問題点における環境エンリッチメントが及ぼす影響についてのデータは非常に少なく、詳細な研究が必要とされている。

医学や生物学の研究に使用するマウスを飼育するための施設は、遺伝子学の発展に伴い、近年急激に不足するようになってきている。一方で、飼育環境の質が薬物試験など科学的実験の成果に重要な影響を及ぼすという見識が高まっており、今後は、限られた飼育スペースでより質の高い飼育環境を実験動物に提供する必要性があり、環境エンリッチメントの果たす役割は益々重要になると考えられる。

マウスの飼育においては、常同行動や攻撃問題等の異常行動が常時観察され問題となっている。これらの問題に対して、環境エンリッチメントが及ぼす影響についてのデータは非常に少なく、詳細な研究が必要と考えられる。そこで今回は、環境エンリッチメントの中の一つ要素であるマウス専用玩具に注目し、マウスの常同行動と攻撃問題に対する影響について、行動学的・生化学的に解析したので報告する。

【方法】 1) マウスの系統は、一般的に良く使用される系統の中で常同行動や攻撃行動が常時観察される C57BL/6、ICR、BDF1 を用い、2) マウス専用の玩具は、既に市販されている身を隠す事ができるタイプのもので私が新しく考案したボールタイプものを使用し、3) 環境エンリッチメントの評価としては、生化的方法と行動学的方法で行った。すなわち、常同行動に関しては、飼育室で発生する常動行動の種類と発生率を調べ、発生率の高い常動行動に関して各種の玩具を施し、2週間観察し常動行動が消失されるか評価した。攻撃行動に関しては、飼育室で攻撃行動が発生したマウスのいるケージに各種玩具を入れ、マウスのケガの状態を観察し評価した。供試動物のうちサンプリング可能なマウスに関して、下垂体を採取して副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) の mRNA の発現量を測定し、ストレス軽減の度合いを調べた。

【結果】 飼育室で発生する常動行動のうち一番発生率が高かった自動給水ノズルを悪戯するケージに、市販されている身を隠すタイプの玩具と木片を一緒に施すと 78 例中 32 例 (41%) で悪戯が消失した。一方、攻撃行動が認められたケージに上記と同じ玩具を施すと 8 例中 8 例 (100%) でケガの治癒が認められた。

## ラット顔面神経軸索切断後の 生存神経細胞の形態学的特徴

金沢大学医学系研究科 教育研究支援センター 大林 正朗

(目的) 神経細胞傷害の研究には傷害後の生存細胞数の正確な算出が重要である。生存細胞数の算出には Nissl 染色した脳組織切片で傷害及び非傷害部位を顕微鏡観察し、生存細胞数を比較する方法が一般的である。しかしながら、この方法では同一神経核で投射部位の異なる細胞の傷害を区別して研究する事は出来ない。そこで逆行性ニューロトレーサーを用いて投射神経細胞を特定し研究する方法が用いられている。多くのトレーサーの中でもジアミジノイエロー(DY)は細胞の核に取り込まれるため、細胞体に核を含む神経細胞の同定が容易で、組織切片での細胞数算出の基準が客観的に明確になる為、観察者及び実験動物の間でのデータのバラツキを少なくする事が出来る。そこで本研究では、DY を用いて種々の顔面筋に投射する顔面神経細胞を区別して標識した後に顔面神経軸索を切断し、筋特異的に投射する神経細胞の間で傷害に対する反応が異なるかを調べると共に軸索切断後も生存する神経細胞の形態学的特徴を明らかにすることを目的とした。

(方法) ラットの顔面の皮膚を切開し茎乳突孔より末梢の主要顔面神経枝(下顎、上顎、眼瞼、耳介)を剖出し、解剖顕微鏡で写真撮影し茎乳突孔より末梢の各分岐枝の長さを計測した。同時に顔面筋特異的に投射する神経細胞を標識するため、ラット顔面神経の各分岐枝を切断し DY を満たしたカプセルを中枢側神経断端に固定した。2 日後に切断部位が神経細胞体から一定の距離になるように軸索を小脳橋角部で切断した。その後 7、14、28 日の生存期間において環流固定後脳を摘出し、顔面神経核を含む脳幹部の凍結前頭断切片を作製した。これらの切片を蛍光 Nissl 染色、アセチルコリン合成酵素(ChAT)及び神経再生のマーカーとして知られている c-jun の抗体を用いて免疫染色を行い、トレーサーとの二重標識標本を作製し顕微鏡観察を行い、経時的にその発現率及び生存率を調べた。

(結果) ラットの顔面神経細胞体の大きさや形態については支配顔面筋の相違による差異はないが神経軸索長は主要四分岐枝の間で大きく異なっていた。神経軸索切断後の反応は筋特異的に投射する顔面神経細胞の間で ChAT の発現率には差がないが、生存率は全ての生存期間において短い軸索を持つ細胞ほど高く、軸索が長くなるにつれて生存率は低下した。また c-jun の発現率は長い軸索を持つ細胞ほど高い発現率を示した。

(考察) 神経軸索切断による神経細胞死のメカニズムとして、標的器官由来の神経栄養物質の枯渇が従来から考えられているが、上記結果から顔面神経軸索切断後の神経細胞の生存には標的器官のみならず、神経軸索構成細胞由来の神経栄養物質の量も重要な役割を担っていることが示唆される。また c-jun の発現率が低生存率の神経細胞で高いことから、再生に不利な環境下では c-jun は再生誘導よりもむしろ細胞死に関与する事も示唆される。

# 教育用及び展示標本としての血管鑄型標本作製法の 改良について

鹿児島大学大学院 医歯学総合研究科 神経病学講座 歯科応用解剖学分野 福重 和人

【目的】血管鑄型標本は標本としては従来からあるものであるが、目的が毛細血管等の微細構造の研究であり、透過型電子顕微鏡などを用いての観察が主であった。これに対し筆者は生体の中での血管の構造をそのままにリアルにレプリカを作成できるという点に注目し、血管鑄型標本の改良を行った。従来の方法では血管に流し込む樹脂にポリエステル系の樹脂を用いていたが、この樹脂では細部の血管の強度が弱く脆いものとなってしまったため、取り扱いが非常にデリケートで細心の注意を払わねばならなかった。ゆえに、気軽に手に取り脈管系の構造を観察するという目的には適するものではなく、教育用などの用途には不向きであった。しかし、弾力性にとみある程度の強度を有するシリコン樹脂であれば、教育用としてマクロ的な観察に耐えうると考えられるため、シリコン樹脂による標本作成に至った。

【手技】8週齢から10週齢のウイスターラットを用いネンブタールで麻酔後心臓剖出を行い左心室へ直接留置針を挿入しカンシで固定しシリコン樹脂を点滴用のシリンジポンプを用い注入した。さらに、右心室を切開し還流法により注入を行った。

## 放射線硬化樹脂の樹脂包埋解剖実習標本作製への応用

秋田大学 医学部 構造機能医学講座 形態解析学分野 二部 恒美

【目的】解剖実習は医学教育に必須の科目である。現在実習に供する遺体の保存にはホルマリンが使用されるが、ホルマリンによる健康障害が報告される（WHO Regional Office for Europe, [www.euro.who.int/document/aicq/5\\_8formaldehyde.pdf](http://www.euro.who.int/document/aicq/5_8formaldehyde.pdf)）一方で、実用に足る人体により安全な代用品は存在しない。また、解剖実習を医学生のみでなく、コメディカル、パラメディカルへ実施する必要性が説かれる中で、今後献体の供給量が問題になる可能性もでてきた。

考えられる対策の一つは Dr. Gunther von Hagens らが普及させた Plastination による臓器標本の併用である。しかし、この方法では標本の完成に約3ヶ月と時間がかかり、また、標本が変形することがある（Biomed. Papers 148(2), 237- 238、2004）など、一般に普及するのに不利な一面がある。これは基材に silicone を使用することが原因である。

他の基材を用いて、より簡便かつ迅速に均一な品質を保証できる方法を開発できれば、今後生じてくる状況への対策が取れると考えた。

【方法】10% formaline/PBS にて1週間以上浸漬固定した食用のブタ肝臓を用いて、標本試作を行った。日本原子力研究開発機構高崎研究所の協力で、silicone に替わる基材に放射線照射により硬化する親水性モノマーを用いた。2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA), Polypropylene Glycol 1000 Dimethacrylate (n = 23) (NK エステル 23G), 水の混合液に1cm角の立方体に成形したブタ肝臓を浸漬し、放射線照射により重合、硬化させた。様々な混合比で試作を行い、硬化が十分で変形の少ない処方を選定した。放射線照射は日本原子力研究開発機構高崎研究所の施設内で実施した。決定した処方で半切したブタ肝臓、ヒト臓器での試作を行った。

【結果】HEMA/NK エステル 23G/水 = 14/6/80, 浸漬時間3日、30 Gy ガンマ線照射にて半切したブタ肝臓の硬化に成功した。同様の手法を用い浸漬時間7日でヒト脳標本の試作に成功した。

【考察】脂肪組織の置換が良好でなく、今後検討が必要である。また、組織切片の作製も可能な処方を検討し、他分野のユーザーも獲得したい。

## CCDカメラを用いた切削状況観察装置の開発

神戸大学 大学院工学研究科 技術室 道脇 昭

工作機械の切削加工実演は安全面の配慮から作業扉を閉じて行われるため加工状況の目視観察が困難な場合がある。また切削加工時の工具磨耗や破損状況を調べる場合もPL法により電源を落として検査する必要が生じる。安全に加工状況把握が行える装置があれば問題解決になるが、切削加工時には切りくず排出による飛散等で装置を破損する場合も考えられ切削状況を観察する装置には特別な工夫が要求される。

本研究は CCD カメラを利用し、切削液や切りくずの影響を受けない切削状況観察装置の試作・開発を行い、切削加工時における状況観察、切削時の前後画像データによる比較検討が可能な装置の検討を目的とした。目的達成のため、(1) 切削状況観察装置の「目」となる CCD カメラを切削液や切りくずから保護する方法として、圧縮空気を使用したエアーカーテンによる防護方法を検討した。(2) 切削状況観察装置の構成要素として防護装置を付加した CCD カメラ(本研究開発装置)、切削時の状況観察には CCD カメラによる画像収集と AE センサによる波形観測を行った。また、同時に突発的イベント発生時における情報収集及び処理装置として PIC マイコンにて開発した感知装置、およびイベント発生と同時に前後の状況を画像にて観察が可能な「ドライブレコーダー」を組み合わせ、「切削状況観察装置」として構築した。

その結果、(A1) 切削時に発生する切りくず回避・除去装置について、予想以上に飛散力が大きく圧縮空気による排除は困難を極めた。特に旋削時の起こる工作物への切りくずのからみつきを排除する方法はなかった。しかし切削条件次第では連続排出の切りくずの回避・除去や断続切削による切りくず等は、開発した切りくず回避・排除方法は効果があることがわかった。(A2) 切削時の工具刃先の「摩耗状況」や「工具欠損の状態」等の状況把握はこの観察装置は有効に認識できることが確認された。特に CCD カメラにクローズアップレンズを取り付け工具刃先を拡大し、切削前、切削時、切削後の工具刃先の状況が鮮明な画像として収録が可能となった。(A3) 「切削状況観察装置」は AE センサによる切削時の波形観測から摩耗やチッピング等の突発的な波形を感知し、前後の状況を画像として記録することができた。さらに収集画像を解析することで突発的イベント発生の原因究明が可能な装置であることが確認できた。

なお、本研究は平成 19 年度科学研究費補助金(奨励研究、課題番号 19917032)を受けて実施した。



# ロボット監視カメラによる獣害被害防止の対策技術開発

福井大学 工学部 技術部 小川 勇治

## 【目的】

近年、イノシシなど野生獣生息域の拡大と個体数増加により、各地で農作物被害や交通事故、更にハクビシンなど外来種による農作物被害増加が大きな社会問題となっている。一方、農作物被害防止対策や効果的な獣害防止装置・技術資料はあまり見あたらない。

そこで、一般農林業者や高齢者でも、比較的簡便手軽・安価に野生獣による獣害被害防止と電気柵等用具・施設の日常管理可能な手法や対策技術の開発が強く求められている。

本研究では、Web上で双方向通信・制御できるロボット監視カメラ(ネットワークカメラ)による、監視・追い払い機能と獣害防止機器を連携した獣害被害防止対策の技術開発を行った。

## 【方法】

研究方法は、イノシシなどを監視・検出・撃退するため、ネットワークカメラ(SNC-RZ25N)を装備し簡易屋外(ソーラー電源)・昼夜監視可能なロボット監視カメラによるシステム構築を行った。イノシシの感知・監視に、赤外線センサーや動体検知、メール通知、モニター・記録システム、赤外線投光器、光や音の追い払い機能をロボット装置に付加した。

野生獣の農作物田畑侵入路と被害状況の現況調査を実施し、ロボット監視カメラを設置し装置システムの試験運用を行い獣害被害防止・予防抑止効果を試験実験中である。

## 【結果】

Webを活用した屋外・昼夜監視可能な獣害被害防止用ロボット監視カメラのシステム構築ができた。ロボット監視カメラ設置により、農地や家屋周囲の野生獣の出没を監視・検知、通知・警報が可能で、野生獣からの安全性を一定評価できるものとする。今年、監視地でのイノシシなど野生獣出没が少ないが、現在装置の機能試験を実験中である。

ロボット監視カメラ装置は、野生獣の監視や防止機器の管理など獣害被害防止・予防抑止効果に十分応えられると考える。

## 【考察】

設置に当たり監視地が里山近くに離れており、電源確保や双方向通信の信号処理が必要であった。監視カメラやセンサーの感知・監視・しきい値精度を高め効果的な野生獣追い払い手法と簡易移動可能な装置開発を行う予定である。同時に、野生獣行動形態の科学的データ収集と獣害被害防止の対策技術により、自然環境保全や獣害に強い土地利用、農林業と自然環境が共生する野生動物管理対策の基礎データ収集を行う予定である。

## 【参考文献・資料】

- 1) 江口祐輔(2003) イノシシから田畑を守る。(農文協)
- 2) SONY(2005) ネットワークカメラユーザーガイド・設置説明書。

## 音楽と映像によるストレス抑制効果を用いた実時間体調 モニタ付き屋内歩行訓練機の開発

熊本電波工業高等専門学校 技術センター 上杉 一秀  
鳥羽商船高等専門学校 制御情報工学科 清田 公保  
中部大学 経営情報学部 足達 義則

【目的】これまでの歩行訓練機は、事前にセットされた歩行メニューを消化するだけの場合が多く、稼働時の患者の体調を把握しながらリアルタイムに歩行メニューを可変できるものとはなっていない。しかしながら、療養中の患者は体調が変動しやすく、常にその状況を把握しながら、歩行訓練を行うことが望ましい。これまでの研究で癒し効果が認められた音楽と映像によるストレス抑制効果を用いて、患者の状況に応じた歩行メニュー設定が可能な歩行訓練システムの開発を目的とした。

【方法】被験者に測定内容の説明をし、結果公表に同意をもらい、内容を理解し測定がスムーズに行えるようにした。事前調査として歩行訓練機を使用する前にテンポ計を装着し、1周400mの運動場を歩いてテンポの違いによる歩き易さなどの測定をした。実験の最初と最後に血圧の測定とアンケートにより体調を調べた。まず、普通に歩行訓練機を5分間歩いた。その後、5分間椅子に座り休憩した。次に好きな音楽を聴きながら同様に5分間歩いた。その後、音楽を聴いたまま5分間休憩した。さらに、映像を見ながら5分間歩いた。5分間休憩後、音楽と映像を同時に提示しながら歩行訓練機を5分間歩いた。心拍数の変化をパソコン画面でモニターしながら行った。測定終了後、心拍計の付属ソフトを使用して心身状態の解析を行った。生体情報は客観的評価の観点から脈波形と心拍数を計測し、また、主観的評価として7段階SD法のアンケート調査を採用した。測定時のパソコン操作やタイム・キーパーおよび被験者を含めて3名以上の協力を得て実験した。

【結果】事前調査の結果から、ある範囲ではテンポに合わせて歩行していた。テンポを変化させる事で歩行速度のコントロールができた。また、歩行訓練機を使用した測定において、パソコン画面に心拍数が表示されていたので、その値を気にしながら歩行の強弱を考えて歩いていた。歩行訓練機を普通に5分間歩いた時は4分ほど歩いた時点で、時間が気になる人がいた。それに比べて音楽を聴きながらの歩行では時間を気にせず無心で歩けた。映像による効果はあまり認められず、音楽だけでいいといった意見が得られた。

【考察】音楽と映像によるストレス抑制効果を脈波形や心拍数で客観的に評価しようとしたが、個人変動が大きく非常にむずかしく、また、同じ条件のデータを多数吟味することができないから、個人ごとに評価するしかなく、一般的な評価尺度を作ることが困難であった。あえて評価するとすれば、アンケートによる主観的評価を採用せざるを得ず、本研究の歩行訓練機の場合には、『BGM』効果として、訓練環境の良し悪しを主観的に調査することに留めるしかなかった。

## マウス、ラット用飲水量連続計測装置の開発

生理学研究所 技術課 佐治 俊幸

【目的】 実験動物の飲水量を計測することは、動物実験において一般状態観察における基本事項の一つであり、通常は代謝ケージを用いて計測されている。また、飲水量測定は、単に一般状態観察だけにとどまらず、腎臓疾患等の代謝系の動物実験には不可欠なパラメータであり、近年盛んに行われる行動解析におけるパラメータとしても有用な指標となっている。しかし、給水瓶を用いた飲水量計測では、必ず飲みこぼしが発生し、正確な飲水量の測定が困難である。このため、代謝ケージには、この飲みこぼした飲水を回収し計測値を補正する工夫が懲らされているが、多数の動物を用いたスクリーニングや行動解析実験に使用するには煩雑すぎる。また、単位時間当たりの飲水量を長期間にわたって連続的に測定出来ない。そこで、通常の飼育ケージを用いて、容易にまた正確に飲水量の計測が可能な飲水量連続測定装置を試作した。

【方法】 近年、滅菌水パックに滅菌ノズルを刺入して給水する給水システム(ハイドロパック\*<sup>1</sup>)が考案され実用に供されている。このハイドロパックを自然科学研究機構動物実験センターの協力の下に試用試験をしたところ、飲みこぼしをしないことが判った\*<sup>2</sup>。そこで、飲みこぼしが無いことを前提にすれば、ハイドロパックの重量のみの計測で飲水量を計測できると考え、このハイドロパックを使用した飲水量連続測定装置を試作した。

試作装置では、ハイドロパックは、飼育ケージやケージ蓋に接触しないように設置され、ハイドロパックの重量を電子天秤で計測できるようにした。電子天秤は、Windows 上で動作する VBA を用いて制御している。VBA のみでは、通信ポートの制御が困難であるため、EasyComm\*<sup>3</sup>をインポートして使用した。今回は、5 台の装置が制御可能な Access 用のプログラムを作製したが、電子天秤からの RS232C 信号 を USB に変換してコンピュータと通信しているため、理論的には 1 2 7 台までの制御が可能である。

【結果・考察】 この飲水量連続測定装置を用いることで、一日当たりの飲水量の計測だけでなく、単位時間当たりの飲水量の計測が容易に行える。電子天秤とコンピュータとの通信は、USB を使用するため、複数台の測定ケージを 1 台のコンピュータで制御することができる。これらのことから、飲水量連続測定装置は、行動解析学・代謝生理学の実験に使用可能と思われる。また、通常の飼育状態で計測が可能なためにホームケージ行動解析装置と組み合わせることで、表現型解析プロジェクトの推進に役立つと期待される。

\*<sup>1</sup> Lab Products 製 参照 HP: <http://www.labproductsinc.com>

\*<sup>2</sup> Hydropac 給水システムの評価試験 第 40 回 日本動物実験技術者協会総会

\*<sup>3</sup> 木下隆氏作成 参照 HP:<http://www.activecell.jp/>



# ポスター発表

## 固定時の緩衝液が透過電顕像に及ぼす影響

基礎生物学研究所 技術課 近藤 真紀

【目的】固定液をどの緩衝液で作るかは、結果にさほど影響しないと思いがちである。しかし、植物材料で緩衝液の種類を変えたところ、微細構造がほとんど見えなくなるという経験をした。そこで、固定時の緩衝液が最終的な透過電顕像に及ぼす影響を調べた。

【方法】カコジル酸・HEPES・リン酸各緩衝液で、固定液作製やその後の洗浄を行った。試料には高等植物の本葉・花卉・乾燥種子（脂肪性種子）を用いた。

【結果】カコジル酸緩衝液は、全ての試料で良好な像が得られた。リン酸緩衝液は、電顕像は良好だったが、カコジル酸緩衝液と比べ電顕像の印象が多少異なった。HEPES 緩衝液は、本葉・花卉で微細構造が見えなくなった。乾燥種子では、プロテインボディやオイルボディが判別できるため一見正常に見えるが、オルガネラ膜等の微細構造が不鮮明だった。

【考察】HEPES 緩衝液は、動物組織や培養細胞（動物由来）で評価が高かったが、植物材料には不適當だった。カコジル酸緩衝液かリン酸緩衝液が適している。

【参考文献・資料】<http://www.hitachi-hitec.com/em/emworld/technique/index.html>

## 植物細胞における衝撃波負荷痕跡の SEM 観察

熊本大学 衝撃・極限環境研究センター 嶽本 あゆみ

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。衝撃波は伝播する媒体物質の密度境界面において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。

今回は衝撃波を負荷した植物細胞を、走査型電子顕微鏡観察によりスポール破壊の痕跡を探索した結果を発表する。試料は 184MPa の衝撃波を負荷した豆類を用い、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、走査型電子顕微鏡（日本電子株式会社製 JCM-5700）による観察を行った。

## 内耳外有毛細胞の膜電位 - 細胞長変換素子 Prestin の単粒子構造解析

生理学研究所 技術課 山本 友美

【目的】内耳外有毛細胞は、脱分極に伴いその細胞長が変化する。この現象は、聴覚感度を高めることに極めて重要な役割を果たしている。この機能を担う分子として膜蛋白 Prestin が同定され、現在、膜電位変化に伴う Prestin の構造変化が細胞長の変化をきたすと想定されている。その構造を知ることが目的として、Prestin の単粒子構造解析を行った。

【方法】C 末端に FLAG-tag を付加した Prestin のコンストラクトを Baculovirus - Sf9 細胞発現系を用いて発現させた。その膜画分を回収し、界面活性剤 dodecyl - $\beta$ -D-maltoside を含む溶液で懸濁したのち、FLAG カラム、Superose 6 ゲルろ過カラムを用いて精製した。得られた最終産物を酢酸ウランにより負染色後、電子顕微鏡で撮影し、画像解析を行った。

【結果】Prestin は、大きさが  $77 \text{ \AA} \times 77 \text{ \AA} \times 115 \text{ \AA}$  の 4 方対称を示す分子で、弾頭を細胞外に向けた弾丸状の形状をしており、分子内には、Cl<sup>-</sup> が抱え込まれると推測される空間 (inner cavity) があることが明らかになった。

## EM-IGL を用いた post-embedding 免疫電子顕微鏡法

生理学研究所 技術課 神谷 絵美

【目的】細胞の微細構造とそこに発現する分子との対応関係を定量的に明らかにするには、post-embedding 免疫電子顕微鏡法が有用であるが、技術的に難しく習熟を要する。そこで免疫標識工程を半自動で行うことのできる装置 (EM-IGL, ライカ社製) を用い、さらに実験工程に工夫をすることで、初心者でも簡単に post-embedding 免疫電子顕微鏡法を行うことができるようにする。

【方法と結果】ラットを灌流固定後、液化プロパンによる急速凍結法で組織を凍結し、凍結置換法を用いて Lowicryl 樹脂に包埋した。超薄切片を作成し EM-IGL を用いて免疫標識し、電子染色後に電子顕微鏡で観察した。これらの工程の中で、固定液の組成、急速凍結法、EM-IGL による標識実験、電子染色に関して工夫を行った。その結果、初心者でも容易にかつ安定してサンプルを作製できるプロトコールができたので紹介する。

## 走査電顕による透過二次電子像のための試料ホルダ開発

浜松医科大学 実験実習機器センター 村中 祥悟

【目的】前回、走査電顕で超薄切片などの薄膜試料を透過像で観察する試料ホルダの開発を報告した。今回更に本ホルダの用途を拡大できる改良を加えると共に、その試用成績を報告する。

【方法】透過像の分解能、S/N の向上のための二次電子発生面の改良、および病理標本のための広視野観察仕様、X線分析仕様などの製作を試みた。

【結果】二次電子発生面の加工精度の向上は分解能を更に向上させ高分解能仕様のホルダに効果を発揮する。また、対物絞りを大きくすることによって低倍率広視野観察を容易にし、カーボン材を主体とした材料を用いてノイズの少ないX線分析を可能にした。さらに、反射電子像も容易に観察でき、透過像と反射電子像とを瞬時に切り替えて観察することもできる。これは金粒子標識の免疫電顕に有効である。

【考察】本ホルダによって、走査電顕が透過電顕の凡その機能を兼ね備えることができる。

【参考文献】第19回生理学技術研究会報告, 29巻 P74-P75, 2007。

## 透明薄膜のエッチングレート評価技術の開発

東京農工大学 工学府 電気電子工学専攻 吉岡 一也

【目的】光学的手法を用いて、膜厚  $1\ \mu\text{m}$  以下の透明酸化ゲルマニウム ( $\text{GeO}_2$ ) の、水溶液中におけるエッチングレート (速度) を決定する方法を開発した。本稿では、その手法と実験デモの結果について報告する。

【方法】ガラス基板上にアモルファスシリコン膜、その上に  $\text{GeO}_2$  膜が形成されたサンプルを用いる。水溶液中へ上記サンプルを投入すると同時に、レーザー光を上記サンプルに垂直に照射し、透過レーザー光を電気信号に変換して透過率の変化を観測する。レーザー光の透過率が一定になるまでの時間を計測することで、 $\text{GeO}_2$  膜のエッチングレートを決定する。

【結果】ガラス基板上にアモルファスシリコン  $100\text{nm}$ 、その上に  $\text{GeO}_2$  を  $500\text{nm}$  形成したサンプルを  $80^\circ\text{C}$ 、 $\text{pH}=1.0$  の塩酸水溶液  $\text{HCl}$  に浸漬したところ、 $0.77$  秒で  $\text{GeO}_2$  の完全溶出を確認でき、 $0.65\ \mu\text{m}/\text{s}$  のエッチングレートを得ることができた。

【考察】 $80^\circ\text{C}$ 、 $\text{pH}=1.0$  の  $\text{HCl}$  溶液に膜厚  $3\ \mu\text{m}$  の  $\text{GeO}_2$  のサンプルを浸漬したところ、そのエッチングレートは  $1.5\ \mu\text{m}/\text{s}$  になった。この値は膜厚  $500\text{nm}$  の  $\text{GeO}_2$  に対するエッチングレートの2倍以上になる。膜厚によって溶出の機構が異なるものと思われる。詳しくは当日のポスター発表にて紹介したい。



## 海外出張報告：米国における TEM 技術の調査

生理学研究所 技術課 山口 登

【はじめに】平成 19 年 3 月 4 日～3 月 11 日に永山國昭教授（岡崎統合バイオサイエンスセンター）らと共に米国に出張した。目的は米国における生物用超高圧電子顕微鏡の利用・運用実態の把握とクライオ電子顕微鏡を用いたトモグラフィー法など最新の TEM 技術の技術調査と技術交流である。

【訪問先】今回訪問したのは、1. ローレンス・バークレイ国立研究所、2. カリフォルニア大学サンディエゴ校（UCSD）、3. 国立衛生研究所国立生物医学画像・生物工学研究所（NIBIB）、4. ニューヨーク州立ウォズワース・センター の 4 つの研究所・大学である。

【まとめ】いずれも TEM 技術に関して米国を代表する研究機関であり、CCD カメラやクライオステージなど最新のハード開発から凍結試料作製技術やコンピュータ画像技術に関する情報を得ることができた。また、ウォズワース・センターは米国で唯一生物用超高圧電子顕微鏡（AEI 製）を設置した研究機関であり、米国における超高圧電子顕微鏡の活用実態について確認することができた。

## 農学研究科共通施設電子顕微鏡室のあり方について

東北大学農学研究科 電子顕微鏡室 伊東 久美子

東北大学農学研究科の電子顕微鏡室は開設以来、40 年以上に渡り、正規の技術職員が 1 名配置されている。正規ではあるが 1 名だけの配置であるために、試料作成については各研究室で行っていただき、当施設では試料作成のアドバイス・前処理・電子顕微鏡の調整および持ち込まれた試料の観察補助を行っている。また、3 年生の学生実習に限っては、学生実験室に行き、試料作成の補助も行っている。

農学研究科は平成 23 年度中の大学移転が計画されており、予算・面積が限られている中で、利用者が利用しやすい電子顕微鏡室の設計について日々検討している。また、国立大学法人化以降は、共通施設とはいえ、一般への大学施設開放も求められるようになり、現在の農学研究科に限った利用ではなく、他研究科さらには東北大学以外の研究機関等へも電子顕微鏡室を開放をするよう求められており、その利用システムについても模索中である。

## 小型蛍光顕微鏡の開発

徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 庄野 正行、中村 教泰

- 【目的】迅速ウイルス凝集反応を検査ができるための携帯小型蛍光顕微鏡を開発した。
- 【方法】光源は、安全性と長寿命を得る為に、405nm 固体レーザーを採用し、光ファイバーで小型顕微鏡に接続した。レーザー光を直視できないように接眼部は除去、その代わりに CCD カメラからモニターで観察を行なうようにした。また、対物レンズから照射したレーザー光が散乱して眼に入らないように安全のため円筒の遮蔽プラスチックを付けた。尚、製作は特別注文した。
- 【結果】小型蛍光顕微鏡は市場には販売されているがレーザー光を用いた物は無いようで、現在、国際特許出願を中村教泰講師と共同出願をしている。
- 【考察】現在、蛍光凝集反応は、バクテリオファージを用いて行ない、良い結果が得られている。将来、例えば鶏舎で鳥インフルエンザウイルスの検査ができることや基礎研究および教育実習に利用されることを期待している。

## 蛍光トレーサー法を用いた神経回路網の時空間的解析

生理学研究所 技術課 石原 博美

- 【目的】内側毛帯から視床 VB 核へシナプス応答を記録する場合、通常の水平断、矢状断スライス（300 $\mu$ m 程度）では、記録できる VB 核の範囲が極めて限られている。内側毛帯軸索走行を十分に保ったスライスを作製する事は視床の電気生理学的実験を行う上で重要な課題である。そこで、脳幹部の三叉神経主感覚核(Pr5)にトレーサー物質を入れ、内側毛帯軸索から VB 核内への走行を明らかにする事を目的とする。
- 【方法】生後 14 日令のマウスを灌流固定し、脳幹部 Pr5 核が見えるところで冠状断に脳を切り出し、作製した脳ブロックの脳幹部 Pr5 核に蛍光色素 DiI の結晶をおく。一定期間を置いた後、マウス脳の冠状断、矢状断、水平断標本を作製し、内側毛帯の軸索が視床 VPM 核内へ投射する様子を観察する。
- 【結果および考察】生後 14 日令マウスの脳幹部 Pr5 核に DiI の結晶（直径約 100 $\mu$ m）を仕込んだところ、10 週経過後に視床で DiI の蛍光を観察できた。また、今回の実験で、DiI は固定脳を用いた神経束の走行を研究する上で、有用な方法である事が確かめられた。

## アポトーシス性容積減少に関する リン酸化シグナル同定の試み

生理学研究所 技術課 小原 正裕

【目的】細胞には外環境の浸透圧ストレスに対し、細胞容積を常に一定に保つ細胞容積制御機構がある。この制御機構に破綻が生じると細胞死を誘導するシグナルとなり、アポトーシスなどの細胞死の際に浸透圧ストレスなしに細胞容積が変化することが知られている。しかし、どのようなシグナル経路を介して細胞容積制御機構が誤動作するのかは明らかではない。そこで今回、アポトーシス刺激による容積減少 (AVD) に関するシグナル伝達系の解明を行うために、細胞断面積変化をモニターできるスクリーニング系を確立するための実験を行った。

【方法】細胞膜をターゲットとする EYFP を発現させた HeLa 細胞を用い、蛍光画像解析システムで AVD 誘導物質や阻害物質による細胞断面積変化を測定した。

【結果と考察】AVD 誘導物質である STS や阻害物質である NPPB の効果を本システムで検出することができた。今後はこのシステムにより、タンパク質リン酸化や脱リン酸化に関する酵素の各遺伝子を RNAi によりノックダウンし、AVD に関するリン酸化シグナルの同定を試みたい。

## 蛍光画像データの取得と解析

基礎生物学研究所 技術課 諸岡 直樹

【目的】我々が行っている顕微鏡観察からは一枚の画像につき 3 色 (位相差像、蛍光像 2 枚) の画像データが得られる。それらを加工し論文掲載のための図を作成している。また、客観的な評価のため、画像を数値化して評価する必要がある。

【方法】顕微鏡から得られるデータは付属のワークステーションで解析可能であるが、より身近な Windows パソコンで使用することを前提としてソフトを選び解析を行った。画像処理には Adobe Photoshop CS2、解析には NIH ImageJ を使用した。擬似カラーで出力される色をマゼンタやグリーンに割り当て輝度の調整を行い、モノクロの像と合成した。ImageJ で細胞の大きさ、各ドット間の距離を計測した。

【結果と考察】2 細胞 (あるいはそれ以上) が重なり合った像が多く、セルサイズの自動解析などは難しかった。また、蛍光画像を含んだ RGB カラー画像の場合、直接セルサイズを測ることはできなかった。いくつかの操作をキーに割り当てて簡便に操作できるようにした。これらのソフトの使用方法についてアドバイスいただければ幸いである。

## ImageJ を用いた、顕微鏡画像計測用 バッチ処理マクロとプラグイン作成

生理学研究所 技術課 前橋 寛

【目的】顕微鏡画像を計測する場合、処理画像が多いと、間違えや操作ミスが多くなり効率が良くない。マウス操作やキー入力の繰り返し部分を自動化すれば、高速処理をすることができる。プラグインを作成すればさらに、高速処理ができ、機能が拡張できる。今回、ImageJ を用いたマクロとプラグインの作成についての経験を報告する。

【結果】マクロをプラグイン化することにより高速処理することができた。ImageJ の機能では操作を記録してマクロを作成することができ、すぐにテキストウィンドウから実行できる。変数に型を宣言しないので、マクロは比較的短時間に作成することができた。

【考察】マクロではグローバル変数を使用できるが、ImageJ のバージョンアップしたらグローバル変数が参照できなくなった。これは、メモリ不足が関係しているらしいので、メモリ増設するか、メモリの多い機種を用いて検討したい。

## X 線 CT 装置による生体観察と形態計測

国立遺伝学研究所 技術課 前野 哲輝

【目的】我々の研究所では2006年にマウスの骨形態の観察と計測を目的として、X 線 CT 装置と3次元画像解析ソフトを導入した。そこで、本システム運用の最初の段階として、様々な生体材料を撮影し3次元画像化を行った。その画像を紹介する。また、現在検討中である、種々のマウス系統の長骨の微細構造解析の現状についても報告する。

【方法】X 線 CT 装置は ScanXmate-E090S in vivo ((株) コムスキャン) を使用した。3次元画像解析ソフトは TRI/3D-BON((株)ラトックシステムエンジニアリング)を使用した。撮影材料としてマウス全身、摘出したマウス頭部及び心臓、ハゼ、アリを用いた。マウス長骨の微細構造解析には、雄マウス(9~15週齢)から摘出した左後肢を使用した。

【結果】今回撮影対象とした種々の生体材料は、電圧や電流等の撮影条件や、画像処理などを工夫することにより三次元画像化しての観察が可能であることがわかった。今後は、マウスの骨微細構造解析の方法について検討する予定である。

## ハンディ型ピペットを併用した マイクロディセクター剥離切片の採取

浜松医科大学 病理学第一講座 加茂 隆春

【目的】 エッペンドルフ マイクロディセクターは、振動微小針と電動式ピペッターで構成するが、ハンディ型に替え、サンプル回収効果と一連作業の節減による基盤手技の確立。

【意義】 長時間作業は効率や解析に影響する。設備運用上で、排気装置内に機器を設置。

【方法】 ①《マウス胃粘膜細胞と他の区別》凍結切片  $20\mu\text{m} \times 20$  をスライドガラスに貼付け、冷風乾後 HE 染色し風乾。②切片にレモゾール液を  $60\mu\text{l}$  滴下 ③必要部分を振動微小針で削り顕微鏡ステージからはずす ④スライドガラス角をチューブの口に入れ傾ける ⑤ハンディ型ピペッターで、削片を流し込むよう切片にレモゾールを滴下。⑥顕微鏡でスライドガラス上の残削片確認 ⑦チューブを遠心、上液を②～⑥の操作に再利用。

【結果】 作業時間が大きく削減し、採取サンプル損失も少なく改善された。

【考察】 ヒトの検体を用いた、DNA 抽出から解析までの検討。

【参考文献・資料】 Michael Harsch, et al: A New Method for Histological Microdissection Utilizing an Ultrasonically Oscillating Needle. Am J Pathol 2001, 158:1985-1990

## マウス初期胚を用いた肝発生研究のための Whole-mount immunohistochemistry (WIHC)法の基礎的検討

高知大学 医学部 病理学講座 林 芳弘

【目的】 全胚組織化学法 (Whole-mount immunohistochemistry ; WIHC 法) は、マウスの初期胚を用いた発生生物学的な研究において、様々な発生段階の発現パターンを解析するためには不可欠な方法である。しかし、手技が非常に煩雑であり、胚の取り扱いに苦勞することも多い。今回、肝発生研究を行うにあたり、基礎的な検討を行った。

【方法】 マウス胚 (胎齢 8.5~10.5 日) を、血管内皮細胞のマーカーである CD31 に対する抗体を用いて、WIHC 法を施行するにあたり、固定法および検出法について検討した。

【結果】 固定液により胚の色調および透明度に違いが見られ、観察部位により、通常使用される 4%PFA よりも陽性像が明瞭に観察可能な場合があった。また、洗浄操作などのための胚の損傷も少なからずあり、今後の検討課題も見出すことができた。

【考察】 4%PFA の固定液を汎用するだけではなく、固定液を変更することにより、観察部位や検出タンパクにより、良好な結果が得られる可能性があることが示された。

## 植物組織を用いた whole mount *in situ* hybridization 法の検討

基礎生物学研究所 技術課 田中 幸子

【目的】植物において切片を用いた *in situ* hybridization は組織での遺伝子の発現の局在を知る手段としてよく行なわれている。実体顕微鏡レベルでたくさんのサンプルでの局在を知るには whole mount *in situ* hybridization が便利である。しかし、動物では多くの実験例があるにもかかわらず、植物ではあまりなされていない。今回、イネの各器官で whole mount *in situ* hybridization の検討を行ったので報告する。

【方法、結果】植物で問題となるのは、細胞壁が障壁となって細胞内へプローブ等が浸透しにくく、植物の種類、器官、成長によってその程度が異なるため、同一条件で多種類の試料に応用できない可能性が高いことがある。今回、根、胚、茎で固定、タンパク消化酵素、細胞壁消化酵素処理等の条件を検討した。それぞれの器官で良い条件は異なったので、それらについて報告する。

## FACS によるショウジョウバエ胚からの 生殖系列細胞の単離

基礎生物学研究所 技術課 野田 千代

【目的】極細胞はショウジョウバエ胚に形成される始原生殖細胞である。胚の後極に形成されてから、胚内を移動して胚生殖巣に到達し、生殖細胞に分化する。生殖系列の発生における分子機構を解明するうえで、ショウジョウバエ胚から出来る限り高い純度で単離した極細胞や生殖巣は様々な研究に利用できる。ここでは Fluorescence-activated cell sorting (FACS) を使用して、高純度の生殖系列細胞を単離する方法について紹介する。

【方法】生殖系列細胞で特異的かつ継続的に GFP を発現する EGFP-vasa トランスジェニック系統のハエを 10,000 匹用いて、卵を採取した。卵は卵殻除去、ホモジナイズ、トリプシン処理などを施し、最終的に  $10^6$  cells/ml の濃度に細胞を調製した。細胞は EPICS ALTRA system flow cytometer (Beckman Coulter) により、2回ソーティングをおこなった。

【参考文献・資料】S. Shigenobu et al. (2006) Isolation of germline cells from *Drosophila* embryos by flow cytometry. *Develop. Growth Differ.* 48, 49-57.

## フローサイトメトリーによる浮遊細胞と接着細胞の比較

浜松医科大学 実験実習機器センター 柴田 清

【目的】フローサイトメータは、血球系などの浮遊細胞の測定に適している。しかし、上皮系細胞などの接着細胞は、一度、シャーレなどから剥がして測定するため細胞への傷害が危惧される。今回、両者に細胞死を誘発させフローサイトメータにより測定し接着細胞の傷害度を把握した。

【材料と方法】浮遊系の細胞として対数増殖期にある K562 細胞を、また接着細胞として Hela 細胞を使用した。両者の細胞死に至る差を測定するために、K562 細胞は、アクチノマイシン D (AD) 処理、また Hela 細胞は、スタウロスポリン、カンプトテシンによりアポトーシスを誘導した。フローサイトメータにより、アポトーシスのマーカーである AnnexinV、SubG1 期を Propidium Iodide (PI)、Viability を FDA にて測定した。

【結果及び考察】K562 細胞と Hela 細胞の Viability は、分散の差に表された。また、AnnexinV の結果から Hela 細胞は、k562 に比較すると陰性と陽性領域の境界が分かりづらかった。この差が、接着細胞を剥離したときの影響ではないかと考えられた。

## アグロバクテリウムを用いたオジギソウの形質転換系の検討

基礎生物学研究所 技術課 住川 直美

【目的】オジギソウの接触敏感な運動は古くから興味を持たれ、生理学的な研究がなされてきているが、遺伝学的なアプローチが困難であることから、未だ不明な部分が多い。そこで、オジギソウの形質転換系を確立することを目的とし条件検討を行った。

【方法】オジギソウ実生の組織片を、様々な濃度のオーキシン (NAA) とサイトカイニン (BAP) を加えた寒天培地上で培養し、シュート誘導効率を比較した。形質転換にはアグロバクテリウム菌株 C58C1 Rif<sup>r</sup>、バイナリーベクター pCAMBIA1302、pCAMBIA2301 を用いた。

【結果・考察】子葉片を向軸側が上になるように培地上に置いた場合に効率よくシュートが誘導された。この時の培地組成は 1/2×MS, 0.05 μg/ml NAA, 2.0 μg/ml BAP が最適であった。シュートからの植物体全体の再生方法およびアグロバクテリウム感染方法については現在検討中である。

【参考文献・資料】モデル植物の実験プロトコール 秀潤社

## BAC Tg マウス作製技術の条件検討

基礎生物学研究所 技術課 岡 早苗

【目的】トランスジェニック (Tg) マウスの作製には、目的遺伝子の発現を制御している転写調節領域が同定されていない場合等、インタクトな発現を再現するために、その遺伝子と前後の遺伝子まで含む BAC DNA (100kb 以上) を用いることがある。所属する研究室では、BAC DNA を用いた Tg マウス作製は、plasmid DNA よりも injection 操作が難しく、効率も下がるといわれていた。そこで、技術の習得も兼ねて BAC Tg マウスの作製を行い、その問題点を明らかにすると共に、改良方法について検討した。

【方法】主に、大腸菌からの BAC DNA の抽出方法による操作の違い、Tg 効率等について検討した。マウス受精卵へ DNA を injection し、移植後 18 日で摘出した胎仔で、遺伝子が導入されているかを PCR で確認した。またレポーター遺伝子の発現も確認した。

【結果・考察】BAC DNA の方が針が詰まりやすい等 injection 操作が困難だったが、従来のアルカリ Lysis 法による DNA 抽出を市販のカラム抽出に変えることで、幾分改善され、Tg 効率も上がった (1.6%→6.7%)。針の径を太くする等して無理に injection したことが、胚の生存率や Tg 効率を下げた一因と考えられる。今後さらに検討を加えたい。

## BAC を用いた Tg マウス作製における工夫

富山大学 医薬系技術部 和泉 宏謙

【目的】Tg マウス作製は、個体レベルでの分子機能解析の有力な手段の一つであるが、時間、費用、特殊機器などが必要で難易度が高い技術である。そこで、BAC を用い新たな Tg ベクター作製技術に工夫を加え、Tg マウス作製の効率化を検討した。

【方法】DNA の受精卵注入のみならず、ES 細胞での相同組換えを用い Tg マウス作製を行えるベクターを構築するために、大腸菌と ES 細胞の両方で選択可能で、かつ必要に応じ除去できる薬剤耐性マーカー遺伝子 (FRT-loxP-pgk-EM7-Neo-pA-loxP-FRT) を構築した。

【結果】作製したマーカー遺伝子を相同組換えにより BAC に導入し、カナマイシンによる選択を行い、計画通りの BAC ベクターを構築した。さらに FLP によりマーカー遺伝子を除去し、通常の DNA 注入法により Tg マウス作製を行った。

【考察】マーカー遺伝子による大腸菌選択、FLP によるマーカー遺伝子除去は期待どおりに作動し、BAC を用いた Tg マウスの作製も可能であった。今後 ES 細胞由来 Tg マウス作製を行い、Tg マウス作製効率を比較・検討する予定である。



## イムノブロッティングにおける検出条件の最適化

基礎生物学研究所 技術課 壁谷 幸子

【目的】イムノブロッティングは、電気泳動、転写、ブロッキング、抗原抗体反応を経て目的のタンパク質を特異的に検出する方法で、試料中の標的タンパク質を簡便に、かつ高感度検出できるため広く利用されている。しかし、実際には様々なトラブルが生じ、明確なバンドパターンを得ることは難しい。今回、検出が難しいとされるリン酸化タンパク質を検出対象とし、検出条件の最適化を図った。

【方法】出芽酵母を材料とし、検出は Atg31 タンパク質に対する抗体を用いた。はじめに、試料調製について、アルカリ法とアルカリ法+TCA（トリクロロ酢酸）沈殿の2種類を検討した。次に、その条件で試料を調製し、電気泳動、転写、ブロッキング、抗原抗体反応について、得られるバンドパターンとシグナル強度を比較して検討した。

【結果・考察】アルカリ法+TCA沈殿で試料調製し、タンパク量 20  $\mu\text{g}$  を泳動、転写するとよい結果が得られた。また、ブロッキングを 5%、抗原抗体反応を 0.1% スキムミルク濃度で行った場合、明瞭なバンドパターンを得ることが出来た。今後は、さらにバンドの定量性をあげるための工夫を行っていきたい。また、他のタンパク質にも応用できるかどうか確認したい。

## SDS-PAGE ゲル抽出糖鎖からの 2 次元 HPLC 法による解析法の開発

生理学研究所 技術課 山田 元

【目的】糖蛋白質構造決定は糖鎖と病態との密接な関係が注目される中、病態の早期発見を企図した新たな糖鎖マーカーの探索法として不可欠な技術である。

この探索技術として本研究室では SDS-PAGE 法により蛋白質を分離したゲルから蛋白質を含むゲル片を切り出し、切り出したゲル中に含まれる蛋白質の糖鎖の 2 次元 HPLC 法による解析方法の開発並びにその同定法の開発を試みた。この技術について報告する。

【方法】① 2 次元電気泳動を行ったゲルからの蛋白質同定法の取得（PMF法）

② ゲルからの 2 次元 HPLC 法を用いた糖鎖の同定

③ LC-MS を用いた PA 化糖鎖の解析

というような技術段階を経、それぞれの方法の改良、検討を行った。

【結果】① PMF 法による蛋白質同定が可能となった。

② 1  $\mu\text{g}$  程度の Human IgG の糖鎖パターンの同定が可能となった

③ LC-MS の操作、解析方法を取得し、糖鎖の同定を行うことが出来た。

【考察】今後、更に微量な糖蛋白質からの糖鎖の同定を目指してゆきたい。

## Q-TOF MS に用いる各種ナノスプレーヤーの問題点と改良

基礎生物学研究所 技術課 高見 重美

【はじめに】昨年度末、四重極-飛行時間型質量分析計(Q-TOF MS)が分析室に新しく導入された。この装置は、エレクトロスプレーイオン化(ESI)法というイオン化法を用いている。ESI 法は高電場中に溶液を噴霧することで微細帯電液滴を形成し、イオン蒸発過程を経てイオン化を行う方法である。よって試料は、溶液でなければならない。

【構造及び改良】試料溶液は、接続されたシリンジポンプまたはLCを通り、スプレーヤーで噴霧することでイオン化される。スプレーヤーには、内部にガラスキャピラリーを使用するタイプと、フューズドシリカキャピラリーを使用するタイプの2種類がある。前者は、組み立てが容易だが詰まりやすく、後者は、組み立てに熟練を要するが詰まりにくいというように、それぞれに問題点がある。この問題点を改良し、フューズドシリカキャピラリーを使用した組み立ての容易なスプレーヤーをメーカーが手作りして使用している情報を得た。現在、同等品の作成を試みているので、その経過について報告をする。

## 亜鉛金属型錯体分子の高分解能質量分析

京都大学大学院工学研究科 合成・生物化学専攻 桑田 啓子

【目的】演者は複数の研究室からの質量分析依頼測定を業務としているため、多種多様なサンプルを取り扱っている。そのため、依頼サンプルの性質に応じた測定方法の選択および確立は重要な課題のひとつとなっている。そのなかで、亜鉛金属錯体型分子は導入される蛍光団に応じたマトリックスの選択が高分解能質量分析に効果的であることが判明した。

【方法】(1) 質量分析測定には、JMS-HX110A (イオン化法: Fab) JMS-SX102A (イオン化法: EI) を用いた。(2) 細胞内外においてタンパク質機能を可視化するためのプローブである亜鉛錯体型分子(左図)はスパーサー(S) + 蛍光団(F1) + リガンド(L) + 亜鉛(Zn) からなる。今回、蛍光団の種類および亜鉛二核錯体の有無がマトリックスの種類を決定することが明らかとなった。

【結果】このようにイオン化方法およびマトリックスの種類を経験側から分類することで、効率よく測定ができるようになったので、研究支援業務を数多くこなせるようになった。

【考察】今後は、他のサンプルに関しても分類を行っていく所存である。

## 質量分析技術者 近畿ブロック会議の紹介

大阪大学 1, 奈良先端科学技術大学院大学 2, 京都大学 3, 京都工芸繊維大学 4, 基礎生物学研究所 5, 分子科学研究所 6, 大阪市立大学 7

安達廣 1, 市原敏雄 1, 福田和夫 1, 山田等 1, 千原容子 1, 藤原久美子 1, 守口寛 1, ○塚本潤子 2, ○西川嘉子 2, 久本泰明 3, 八田博司 3, 吉田裕美 3, 塩田憲司 3, 山口加乃子 3, 寺田知子 3, 桑田啓子 3, 大西宣昭 4, 四方眞由美 4, 森友子 5, 牧野由美子 5, 牧田誠二 6, 下中智美 7, 三宅里佳 7

### 【はじめに】

一昨年、大学及び大学共同機関等の技術系職員で質量分析に関わっている方に声をかけ、質量分析に携わる技術職員のスキルアップを目指し、各々が特定のテーマについて専門的な知識および技術を持ち寄り、討論や情報交換を行うことで、互いの技術力の向上、技術開発を図ることを目的として「質量分析技術者 近畿ブロック研究会」を発足、昨年度 2 回今年度 1 回研究会を開催した。その内容を紹介する。

## マルチメディアコンテンツのネットワーク配信を利用した教育訓練の試み

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】放射線・RI の安全取扱いのための利用者教育は、定期的に多人数(数百人規模)を対象とするため、会場手配や参加者の都合調整が大きな問題となっていた。そこで、ネットワーク配信を利用することでこの問題を解決できないか検討した。

【方法】コンテンツ作成システム (Mediasite Live Recorder, mediasite 社) を利用して講習の様子をマルチメディアコンテンツ化した。作成したコンテンツを Web サーバ (OS: Windows 2003 Server, ソフト名: Mediasite Server) にてストリーミング配信した。

【結果】都合の良い時間にどこからでも受講できるようになった。

【考察】今回用いた「Mediasite Live Recorder」は講習内容をリアルタイムでデータ化する事が可能な機材であり、編集作業を必要としないため、非常に簡便にコンテンツを作成することができた。今後は RI 関連のみならず幅広い教材作成ツールとしての活用やネットワーク配信を生かした広域利用なども含めネットワーク技術の教育活用を考えていきたい。

## 東北大学加齢医学研究所における eduroam 対応 無線 LAN アクセスポイントの構築

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】会議室における無線 LAN アクセスポイント(以下、AP という)の構築を行った。会議室の性質上、外部の人間の利用も想定されるため、所内ネットワークに対するセキュリティ強化と外部利用者の利便性の両立を図った。

【方法】マルチ SSID 対応の AP を利用し、利用形態別に専用のネットワークを立てることで、外部の人間が所内ネットワークにアクセスできないようにする。また、国際的な無線 LAN ローミング基盤である eduroam に対応し、外部の者が利用しやすい環境を構築する。

【結果】所内の者と所外の者向けにそれぞれ専用のネットワークを用意することで、セキュリティの高い無線 LAN 環境が実現した。

【考察】現状では、eduroam はユーザに対する知名度が低く、本研究所の無線 LAN AP においても有効活用されているとは言いがたい。国際的な無線 LAN ローミングは有意義であり、今後の普及に期待したい。

## 高機能なメールサービス用ソフトウェア DEEPMail の導入と運用

生理学研究所 技術課 村田 安永、吉村 伸明

【目的】本研究所のメールサービスにおける 1) SMTP、2) POP、3) アンチウィルス、4) メール転送、5) メーリングリスト管理、6) ログ統計 といった複数のソフトウェア構成で運用している機能をディープソフト社製の DEEPMail に統合して、管理負担を軽減する。また、DEEPMail のウェブメール機能を新サービスに追加して、利用者の利便性を向上する。

【方法・結果】DEEPMail の運用開始後、想定外の問題が何件も発生したが、その都度メーカーに報告して対応してもらった。実装に反映された機能もある。

【考察】移行作業は大変苦労したが、ほとんどの問題は解決し、目的は達成できた。また、DEEPMail が有する 1) セキュアなメール送受信 (POP over SSL、SMTP over SSL)、2) 条件付きメール転送、3) 添付ファイルの投稿制限 などの機能を活用することでサービスを大幅に向上できた。今後の検討課題は、アンチスパムシステムとの連携方法、次期システムへの移行方法、暗号通信のための認証局取得方法などである。

## フリーソフトを利用して

大阪大学・微生物病研究所 和田 多佳志

【目的】 PC を利用する場合、通常は市販されているソフトを購入しますが、複数の PC を使用している場合は、ライセンス等を購入しなければなりません。最近、フリーソフトがよく話題に上っています。PC をできるだけ安価に有効に利用する方法を考えてみました。

【方法】 ワードプロ、表計算ソフト、プレゼンテーションソフト等の事務用ソフトとしては OpenOffice を選択しダウンロードしてインストールしました。OS も Windows や Mac 以外を利用したい、或は機種が古くてそれに対応した OS が見つからないと言う事を想定し、Knoppix という Linux を利用しました。

【結果】 OpenOffice に関しては、従来の MicrosoftOffice との互換性を有し全く問題が無く、Knoppix に関しても、抵抗なく通常の Windows 或いは Mac の様に使用が可能です。

【考察】 インターネットに接続する場合は、セキュリティに十分注意する必要が有る。

【参考文献・資料】 <http://unit.aist.go.jp/itri/knoppix/> <http://ja.openoffice.org/>

## WGTA のシステム開発

生理学研究所 技術課 戸川 森雄

【目的】 WGTA(ウィスコンシン汎用テスト装置)は、実験用ケージと刺激提示部から構成される装置でサルを被験体とする認知実験で広く用いられている。我々はヒトやサルが物体表面の光強度分布に関するどのような情報を用いて物体色の認知を行っているかを WGTA により行動学的に解析することを試みている。今回、この実験を可能にするため我々の実験に適合した WGTA を製作し、更にシステム上の開発を行ったので報告する。

【方法】 製作した WGTA は、ケージを使わずにサルをモンキーチェアに乗せたまま課題を行わせる方式にした。そしてシステムを自動化するため、スクリーンが開いてからサルが物体を弁別するまでの反応時間の測定、スクリーン施錠用ソレノイドの ON/OFF、正誤判定用ブザー音などの制御をすべてパソコンで行っている。

【結果】 実験者が一人で操作し問題なくトレーニングできるシステムに仕上がったものの刺激物体の照明条件が一様でないなどの問題が生じた。今後これらの問題を解決しより良いシステムに仕上げていきたい。

## 明暗往来試験装置の製作

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】明暗往来試験は、遺伝子改変動物や疾患モデル動物の情動機能，特に不安関連行動の行動的表現型を検索する為にテストバッテリーの一つとして用いられている．研究内容によってカスタマイズの必要性に対応させる為，装置を製作したので報告する．

【方法】明暗テストケージの設計製図は CAD で行い，材料には寸法精度に優れ，比較的加工が容易で透明度や強度の低下は極めて低いアクリル素材を使用した．動物の検出は赤外線 USB カメラ・ビデオカメラを用い，データ処理は ImageJ 及び VisualBasic でシステムを構築した．

【結果・考察】上記システムの構築によりデータ処理が自動化され，適切に且つ簡便に測定できることが可能となり，良好な評価を得ることができた．今後も他項目においてプログラムの拡張を行っていききたい．

## USB-シリアル変換デバイスを用いた実験装置の製作

生理学研究所 技術課 竹島 康行

【目的】作製する装置に PIC などのプログラマブルなマイクロコントローラを用いることで単純な I/O の処理だけではなくインテリジェントな処理を組み込むことができるようになり、通信機能を備えたマイクロコントローラを用いればパソコン等とデータのやり取りも簡単にできるようになった。しかし、マイクロコントローラの備える通信機能は RS-232C に準拠したものであり、近年のパソコンでは機器を接続するためのインターフェースとして RS-232C と互換性のない USB しか付いていない機種も多く、パソコンに接続するためには RS-232C を USB の機能に変換する仕組みが必要となる。

【方法】このような変換機能をおこなうデバイスが幾つか販売されて入手も容易になっている。Future Technology Devices International 社が開発した FT232 シリーズのデバイスは、作製した装置を USB 接続することでパソコンからは COM ポートの機器として使用することができるようになる。このデバイスをしてリアクションタイム計測装置、カウンタ装置、信号制御装置などを製作したので報告する。

## 伴侶動物の腫瘍細胞の株化の確立について

生理学研究所 技術課 廣江 猛

【目的】腫瘍細胞が産生する生理活性物質が生体の機能に様々な影響を及ぼすことがわかっている。しかし伴侶動物について腫瘍細胞を株化し、保存する例は極めて少なく、ガン研究のために研究者間での授受も行われていない。ガン研究に用いることのできる伴侶動物の腫瘍バンクを立ち上げるべく、腫瘍細胞の保存技術および継代方法を習得したため、報告する。

【方法】①腫瘍細胞は、岐阜大学附属動物病院に来院した患畜で、機能性腫瘍と診断されたものを入手 ②無菌的に採取された腫瘍細胞を、SCID マウス(C.B-17/lcr-scid/scidJcl)に異種移植 ③ 5代継代移植して異種組織を親和させた後、腫瘍組織を凍結保存液に入れ、液体窒素下で保存 ④凍結保存した腫瘍を融解し、再び SCID マウスに接種して、生着の有無を確認

【結果】イヌ 6 種類の腫瘍細胞について 5 代以上継代移植し、株化することができた。

【考察】今後は、より多くの種類の腫瘍細胞を株化すること、また同時に株化された腫瘍細胞について病理組織検索を実施し、腫瘍細胞の産生する生理活性物質の手がかりの一端を突き止め、機能性腫瘍として供給できることを目標とし、ガン研究に貢献していきたい。

## 新規縦型飼育ケージを用いたサル飼育の試み

九州大学医学部統合生理学分野 水口 洋子

【目的】サルを実験に使用したいとの研究者の意向により、マカク属サル用飼育ケージを新規に導入する必要が生じた。そこで、飼育動物に対する福祉と、実験者にとっての利便性を両立できる新型ケージ（おり型施設）を設計し、飼育を試みたので紹介する。

【方法】NIH による飼育設備基準を基に設計図を作成した。設置場所が限局されるため、省スペースで運動量を確保する必要があり、上下に高い縦型構造とした。自動洗浄設備を設置し、清潔さなどにも配慮した設備とした。

【結果】既存のカニクイザルを新型ケージに移し数ヶ月間観察飼育を行った。身体的にも精神的にも良好な状態を保つことが出来るようになり、体重の増加も観察された。また、実験時のサルの移動も円滑に行うことが可能であった。

【考察】ケージ前面の格子の幅が広いため、飼育するサル個体の大きさによってはアクリル板を取り付けるなどの処置が必要である。また、今回は耐久性を重んじたため全体重量が大きく、飼育室への設置が困難であった。軽量化を検討する必要があるかもしれない。

## 紙製の組み立て式 Nest box が Tabby jimpy ミュータントマウスに及ぼす延命効果

生理学研究所 技術課 窪田 美津子

【目的】動物福祉のため、実験動物の飼育環境を豊かにする試みとして、巣箱を利用する実験が行われている。血液学的性状、臓器重量、繁殖成績への影響が調べられているが、客観的にあきらかな有意差をみるものは少ない。そこで、紙製の組み立て式 Nest box を用いて、致死マウスを飼育し、延命効果が現れるか検討した。

【方法】劣性致死遺伝子（神経繊維に脱髄をきたして全身が震え、強直性・間代性発作を呈して死亡する）を持つ Tabby jimpy ミュータントマウスを交配し、Nest box 群とコントロール群に分けて出産させ、出産数、離乳率、離乳時の体重、生存率の差を検定した。

【結果】Nest box 群は約 4 日寿命が延長し、両群の生存率に有意差を認めた( $p < 0.05$ )。また、離乳成績（離乳率、離乳時の体重）についても、向上がみられた。

【考察】Nest box により安寧な状態に保たれた群では、痙攣に陥る回数が軽減することにより体力が温存され、その結果生存時間が伸びたものと考えられた。

## 動物飼育実験棟について

情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所 技術課 吉岡 裕輝

【概要】動物飼育実験棟はマウスの遺伝学的研究と飼育のための施設で、研究所内のさまざまな研究グループが使用する共通施設として 2003 年 8 月に完成した。今回、この施設の概要と運営について紹介したい。

【特徴】当施設には、以下に示すような特徴がある。

- (1) 脱臭装置を用いた 70%リターンの空調システム
- (2) 陰圧ラミナフローラックの採用
- (3) ホルマリン消毒システムの導入
- (4) 凍結胚保存システムの導入
- (5) 給水瓶注水装置 等

【結果・考察】上記のシステムは、低コスト化、作業環境および作業性の向上、SPF の維持などに貢献している。現在、稼動から約 4 年半がたつが、汚染事故も起きていない。今後もこの状態を維持しつつ、利便性の高い施設を目指し運営を行なっていきたい。



## 小規模ミルクプラントにおける HACCP 導入による品質管理

帯広畜産大学 畜産フィールド科学センター 村上 文朗

【目的】近年、食品製造業は、HACCP による衛生管理が推奨されている。帯広畜産大学乳製品工場においても牛乳製造工程に HACCP を取り入れた衛生管理を導入し、その成果と実用性を検討した。

【方法】食品衛生の基本事項を示した標準衛生作業手順書（SSOP）を作成し、製造工程で発生しうる危害を分析（HA）した。食品衛生上重要な危害に関しては重要管理点（CCP）として管理基準、モニタリング方法、改善処置を決定した。導入前後で、北海道が提供する 141 項目の評価基準からなる「評価調書」により、衛生管理改善状況を検証した。

【結果・考察】SSOP により、衛生管理の徹底と記録が可能になった。また HA は 40 項目確認され、その内 7 項目を製造工程の CCP としてモニタリングを開始した。その結果、施設改修を含む管理改善により、HACCP 導入後には 24 項目の評価基準が改善した。以上より HACCP は作業環境の維持と品質管理に有効であることが確認された。

## 栽培廃液水質浄化に使用した浄水ケーキ再利用の検討

名古屋大学 全学技術センター 生物技術系 前坂 昌宏

【目的】当農場では浄水ケーキと汚砂を用いた育苗培土が開発されており、栽培廃液中のリン酸成分吸着資材に供した浄水ケーキを花卉培養土に再利用するための検討を行った。

【方法】市販培土を対照区にして廃液浄化未使用、使用済浄水ケーキおよび試験用にリン酸肥料を添加しリン酸を吸着させた浄水ケーキと汚砂を混和した用土に N、K20、P205 成分の有無、P205 成分を変量添加した培土を作成し、コマツナ他を供試して生育調査を行った。

【結果および考察】① 市販培土と比較して各浄水ケーキによる培土では 30 日程度の育苗培土としては有効であるが、60～90 日の中・長期栽培では生育が停滞した。また、② 中・長期栽培では軽度のリン酸欠乏症状がみられたことから、各浄水ケーキにもリン酸吸着固定能が維持されていると推察した。現在、学生実習での培土製造時には名大培土と同量の施肥を行い、追肥にはリン酸成分の多い緩効性肥料を使用してハボタン、ビオラを播種・栽培している。しかし、本培土では粒径の小さい種子植物（ビオラ）では発芽率が悪かった。

【課題】場内入手可能な籾殻、稲ワラなどの有機物による物理性の改善を行う予定である。

## 放置竹林内の植生と照度の調査

静岡大学 教育学部 重岡 廣男

【目的】西日本を中心に里山には竹林が著しく増殖している。こうした竹林の多くが放置され、薄暗い林内となっている。そこで本研究は放置竹林内の植生と照度を調査し、放置竹林が植相などに及ぼす影響を考察した。

【方法】静岡市内の放置竹林内（放置区）と竹林を伐採した場所（伐採区）における照度を、8月と11月にデジタル照度計（TOPCON IM-5）を用いて測定した。また、放置区と伐採区に2m×2mのコドラートを5箇所ずつ設け、そこでの植生を調査した。

【結果】伐採区における8月の照度は11月の約2倍の値（約122,000lx）を示したが、放置区の照度は、8月が約330lxで11月が約300lxとほとんど差がなかった。伐採区では45種の植物が確認されたのに対し、放置区では15種しか確認できなかった。

【考察】放置区内は一年中暗い環境条件から、植相は単純化しており、林内の生物は多様でないことが推察された。また林床は裸地状態であることから、大雨の際には表層を雨水が流れ、災害を引き起こすことが懸念された。

## KEK PS-LINAC と 30 年の保守・改善

高エネルギー加速器研究機構 加速器研究施設 第3研究系 竹中 たてる

【目的】実質的にわが国初のドリフトチューブ ライナックである KEK の PS-LINAC 部門に技官として着任し 30 年間の技術を加速器学会から「加速器の現場から」と題して原稿依頼され執筆したものの一部です。

【方法】サマリウムコバルト磁石を用いた四極永久磁石の開発から脱磁・着磁可能なアルニコ磁石の実機使用まで、それと 2kV パルス電源のコンデンサーの選択、そして Oリングの溝に施してある鍍金が薄くなり鉄板の素地が酸化し真空テストの困難に直面したことなど業務の一部について報告をします。

【結果】電気磁石は永久磁石にとって替わり実機として使用している。また、2kV のパルス電源に使用していた T 社のマイカコンデンサーは S 社のパルス用に開発されたマイカコンデンサーに替わっている。 【考察】加速器の研究会を通して纏め上げることができたものもあるが幾つか技術的に掘り下げることが必要であったことも感じている。また、技術は時代的に大きく様変わりし会社による保守が困難になっている。

## 放射線を使った学生実験を支援して

京都工芸繊維大学 高度技術支援センター 尾崎 誠

【目的】この学生実験は1999年に起こったJCO臨界事故の後、理系学部での原子力・放射線関連教育の必要性が言われたことにより購入した機材を用いた学生実験である。

【方法】アロカ社製GM式サーベイメーターTGS-136型、島津社製GM probe stand GMB-1型(0.1mm~5.0mmのAl板付属)、β線密封小線源Sr90-Y90、Tl204を用い、β線の距離と強度の関係及び遮へいによるβ線のエネルギーの算出、NaI(Tl)シンチレーション式サーベイメーターTCS-171型を用い、自然γ線における被曝について学習させた。

【結果】β線に関しては遮へいによるエネルギーは正確に求められたが、放射線の距離と強度については散乱線等の影響が大きいため逆2乗則を算出できなかった。γ線に関しては一般に言われる測定値が得られ自然放射線被曝について理解できた。

【考察】汎用型測定器の使用は放射線管理機器からの転用が可能で、経済的かつ効率的な実験が行え、また簡易な測定手法は放射線に関して初心者である学生の測定であっても安定したデータを得ることができたが、約37kBqと比較的強線量のSr90-Y90線源の測定はGM計数管の寿命を著しく短くしたための距離と強度の測定は取りやめ延命につとめた。

【参考文献・資料】滝上 誠 著 医学・薬学研究のためのラジオアイソトープ実験入門

## 生物物理学生実験の紹介

東京大学 理学系研究科 技術部 佐伯 喜美子

【目的】学部3年生を対象にした学生実験のうち、生物物理学を担当している。生物物理学生実験では、生体の重要な構成成分である核酸と蛋白質の性質を調べる実験を行い、生物物理学における基礎知識と基本的な実験技法を習得することを目指している。

【実験】まず始めに、薬品の取り扱いや廃棄、大腸菌の扱い方、実験の注意などの安全衛生面に関して指導するようにしている。学部学生は生物試料を扱う機会が少ないため、初めて実験を行う人を対象として、ピペットマンや電子天秤の使い方のような基本的なことから行っている。

核酸の実験では緑色蛍光蛋白質(GFP)の遺伝子を用いて、核酸の制限酵素地図と大腸菌による蛋白質の発現を、蛋白質の実験では、蛋白質の構造に関する2つの性質、流体力学的特性と、分光学的特性に関しての実験を行っている。生物系の実験では事故事例の報告を聞くことがあるため、実験の安全性を再確認するように気をつけている。

## 理科教育推進のための「ガキ大将方式学習法」の開発とその実習の紹介

浜松医科大学 医学部 総合人間科学講座 外山 美奈

理科教育推進のため、高校生と大学生を対象に実習教育法を開発してきた。同一の材料・研究テーマを選定するが、全員が全く同じ内容の実習を行うのではなく、学生を別々のグループに分け、生理学、生化学、形態学などの各論に対してグループ単位で実習し、その学習成果を別のグループに対して発表指導するという総合的実習を実施している。その実習実施中に、指導者の年齢が学習者に近いほど、議論が白熱し、楽しく学んでいる様子に気づいた。そこで、学習者の年齢に近い、「ガキ大将による指導」を提案し、その指導様式を開発実施して学習効果の検討をしている。今夏、本学（浜松医科大学）の大学生6名を「ガキ大将」指導者として教育し、県内の高校生12名を対象に Science & Technology Camp 2007 と銘打って、「生物が見る世界」というテーマのもとにセミナーを開催した。その結果、この「ガキ大将方式学習法」は高校生にも大学生にも、学習に対して自主的な意識を持たせ、非常に高い学習効果を与えることがわかったので紹介する。

## 参加者名簿

氏名	所属
清水 秀美	北大 解剖発生学講座
土佐 紀子	北大 附属動物実験施設
村上 文朗	帯畜大 畜産フィールド科学センター
千葉 伸一	旭川医大 実験実習機器センター
日下部 光俊	旭川医大 実験実習機器センター
高木 弘	旭川医大 動物実験施設
小林 到	秋田大 教育文化学部技術部
二部 恒美	秋田大 医学部 技術部
山下 清次	秋田大 教育文化学部
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
柿沼 俊枝	群馬大 医学系研究科
萩原 敏夫	宇都宮大 農学部
木澤 祥恵	筑波大 生命環境科学等支援室
竹中 たてる	高エネ研 加速器研究施設
徳本 修一	高エネ研 加速器研究施設
佐伯 喜美子	東大 理学系研究科物理学専攻
小田嶋 豊	東大 総合文化研究科
斉藤 守也	国立天文台 太陽観測所
岩下 光	国立天文台 MIRA推進室
沖田 喜一	国立天文台 岡山天体物理観測所
吉岡 一也	東京農工大 工学府
松下 悟	放医研 基盤技術センター
鈴木 陽子	東工大 生命理工学研究科
工藤 もゑこ	理研 脳科学総合研究センター
祖父江 孝之	名工大 技術部
浅野 直子	名大 医学系研究科
澤 由里子	名大 医学系研究科
伊藤 康友	名大 医学研究科
大川 敏生	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 全学技術センター
藤沢 郁英	豊橋技科大 物質工学系
加茂 隆春	浜松医大 病理学第一講座
鴨藤 江利子	浜松医大 総合人間科学講座
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
太田 勲	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
外山 美奈	浜松医大 医学部

重岡 廣男	静大 教育学部
宮澤 俊義	静大 理学部附属放射化学研究施設
吉岡 裕輝	遺伝研 技術課
前野 哲輝	遺伝研 技術課
谷田 勝教	遺伝研 技術課
牧田 誠二	分子研 技術課
長原 美樹	中部大 実験動物教育研究センター
河村 則子	愛知県心身障害者コロニー 発達障害研究所
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
黒澤 俊人	三重大 生命科学研究支援センター
藤谷 渉	阪大 工学研究科
和田 多佳志	阪大 微生物病研究所
塚本 潤子	奈良先端大 研究協力課
西川 嘉子	奈良先端大 研究協力課
桑田 啓子	京大 工学研究科
尾崎 誠	京工繊大 高度技術支援センター
大林 正朗	金沢大 医学系研究科
和泉 宏謙	富山大 医薬系技術部
武田 精一	富山大 医薬系技術部
小川 勇治	福井大 工学部 技術部
岡井 善四郎	福井大 工学部 技術部
道脇 昭	神戸大 工学研究科 技術室
山下 浩司	神戸大 医学部 放射線施設
宮原 秀満	広島大 技術センター 医学部等部門
彦坂 智恵	広島大 自然科学研究支援開発センター
梅 とも子	島根大 医学部
佐川 幾子	徳島大 ヘルスバイオサイエンス研究部
堀川 秀昌	徳島大 ヘルスバイオサイエンス研究部
庄野 正行	徳島大 ヘルスバイオサイエンス研究部
北池 秀次	徳島大 ヘルスバイオサイエンス研究部
友成 さゆり	徳島大 ソシオテクノサイエンス研究部
林 芳弘	高知大 医学部
水口 洋子	九大 医学部
松浦 宗寛	九工大 情報工学部 技術部
楠本 朋一郎	九工大 情報工学部 技術部
上杉 一秀	熊本電波工高専 技術センター
嶽本 あゆみ	熊大 衝撃・極限環境研究センター
甲斐 浩一	大分大 総合科学研究支援センター
福重 和人	鹿児島大 医歯学総合研究科
原田 正和	鹿児島工専 技術室

## 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	発生生物学領域 発生遺伝学研究部門 (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 発生遺伝)
内海 秀子	発生生物学領域 分子発生学研究部門 (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 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
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 (岡崎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
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
中村 貴宣	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
山口 勝司	分析室
高見 重美	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

## 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（分子生理研究系 ナノ形態生理研究部門） （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 兼務）
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 生体膜研究部門
小原 正裕	細胞器官研究系 機能協関研究部門
福田 直美	細胞器官研究系 細胞生理研究部門 （岡崎統合バイオサイエンスセンター 生命環境研究領域 兼務）
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
高木 正浩	生体情報研究系 神経分化研究部門 （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 兼務）
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（行動・代謝分子解析センター 兼務）
廣江 猛	動物実験センター
窪田 美津子	動物実験センター
小池 崇子	動物実験センター
永田 治	広報展開推進室



## 編集

- 基礎生物學研究所 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
- 生理學研究所 技術課 技術研究会委員会  
小原 正裕、山口 登、戸川 森雄、山本 友美、村田 安永