

合同開催

第21回 生物学技術研究会

第32回 生理学技術研究会

## 予稿集

日時：平成22年 2月 18日(木)、19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21回 生物学技術研究会

# 第32回 生理学技術研究会

(同時開催：第6回 奨励研究採択課題技術シンポジウム)

会期：平成22年2月18日(木)～19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18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 生物進化研究部門 長谷部 光泰 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 (1階 中会議室)

### 2月19日(金) (1階 大会議室、2階 小会議室)

#### (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 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)
- 12:00 ～ 13:00 昼食 (1階 中会議室)
- 13:00 ～ 14:00 口演発表 (A7～9)
- 14:00 ～ 14:20 休憩
- 14:20 ～ 15:20 口演発表 (A10～12)
- 15:20 ～ 15:30 研究会のまとめ

#### (口演会場2 2階 小会議室)

- 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 ～ 14:00 奨励研究採択課題技術シンポジウム (S9～11)
- 14:00 ～ 14:20 休憩
- 14:20 ～ 15:20 奨励研究採択課題技術シンポジウム (S12～14)
- 15:20 ～ 15:30 研究会のまとめ

# 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) 進化学における技術革新と今後の展望	
長谷部 光泰 教授（基礎生物学研究所 生物進化研究部門）	12

## 口演発表（1階 大会議室）

(A1) KO マウス作製の実際	基礎生物学研究所 技術課 竹内 靖	14
(A2) C57BL/6J 由来ES 細胞樹立の試み	国立遺伝学研究所 技術課 水品 洋一	15
(A3) 生化学実験への工業用アルコールの適用	九州工業大学 情報工学部 楠本 朋一郎	16
(A4) RNA 保存試薬が及ぼす組織脱灰作用：マイクロ CT Scan を用いた検証	島根大学 <sup>1</sup> 医学部法医学講座 <sup>2</sup> 医学部解剖学講座発生生物学 <sup>3</sup> 医学部循環器・呼吸器外科 <sup>4</sup> 医学部病理学講座 梅 とも子 <sup>1</sup> 、宇田川 潤 <sup>2</sup> 、織田 禎二 <sup>3</sup> 、丸山 理留敬 <sup>4</sup> 、竹下 治男 <sup>1</sup>	17
(A5) 農学国際教育協力人材データベースのWeb インターフェース構築について	名古屋大学 全学技術センター 共通基盤技術支援室 情報通信技術系 大川敏生	18
(A6) スキャナを活用した沖縄産植物の画像データベース構築の試み	国立沖縄工業高等専門学校 技術支援室 渡邊 謙太	19
(A7) 単為結果性ミニトマトの冬季での無加温栽培における品種比較	京都大学大学院 農学研究科 附属農場 西川 浩次、榊原 俊雄、黒澤 俊	20
(A8) 光合成リズムに合わせた間欠照明栽培法	福井大学 工学部 技術部 岡井 善四郎	21
(A9) 蛍光顕微鏡による3次元解析～共焦点 vs デコンボリューション～	基礎生物学研究所 技術課 諸岡 直樹	22
(A10) 初期胚の三次元蛍光イメージング	基礎生物学研究所 技術課 小林 弘子	23
(A11) 大学におけるソフトウェアライセンス管理方法の検討	東北大学 加齢医学研究所 小森 和樹	24
(A12) 波長可変レーザーを用いた大型スペクトログラフ高度化新規照射装置導入の検討と考察	基礎生物学研究所 技術課 東 正一	25

## 話題提供（1階 大会議室）

- (T1) 生物学技研報告 ONLINE -技術研究会報告論文のデータベース化と Web 公開-  
基礎生物学研究所 技術課 水谷 健 28

## 第6回 奨励研究採択課題技術シンポジウム（2階 小会議室）

- (S1) プログラマブルデバイスを用いたワイヤレス通信・制御実験システムの開発  
東北大学工学部 工学研究科 阿部 茂樹 30
- (S2) 地震時における初期微動をトリガーとした危険回避の手法における一考察  
東京大学生産技術研究所 基礎系 片桐 俊彦 31
- (S3) 新規高機能性めっき膜の断面構造 TEM 観察試料作成法の開発  
長岡技術科学大学 分析計測センター 程内 和範 32
- (S4) 化学を専門としない学生・教員を対象とした化学物質に関する環境安全教育の取り組み  
富山高等専門学校 技術室 戸出 久栄 33
- (S5) LC/MS/MS によるアルギニン特異的 ADP-リボシル化ペプチドの同定  
島根大学 医学部 代謝生化学 長子 晴美 34
- (S6) サシバにおける遺伝的多様性と遺伝的構造の解析  
岩手大学 技術部農学系技術室 長井 和哉 35
- (S7) 共焦点レーザー走査顕微鏡による生体親和性色素の評価  
宮崎大学 工学部 教育研究支援技術センター 松本 朋子 36
- (S8) ホルマリン固定臓器に含有するホルムアルデヒド低減法の開発  
鳥取大学 医学部 技術部 杉原 弘貢 37
- (S9) 磁気式モーションキャプチャを用いた手指の高精度 CG アニメーション生成法の検討  
秋田大学 工学資源学部 電気電子工学科 齋藤 正親 38
- (S10) 線虫の行動計測 —液中運動への応用—  
岩手大学 技術部 工学系技術室 計測技術分野 星 勝徳 39
- (S11) 【温度刺激チャンバーの作製】 —アフリカツメガエル卵母細胞の膜電流測定用—  
生理学研究所 <sup>1</sup>技術課 <sup>2</sup>細胞生理部門 福田 直美<sup>1</sup>、佐治 俊幸<sup>1</sup>、齋藤 茂<sup>2</sup>、曾我部 隆彰<sup>2</sup> 40
- (S12) 神経トレーサーを用いたマウス大脳基底核からの出力経路の解析  
生理学研究所 技術課 石原 博美 41
- (S13) 2光子 *in vivo* イメージングへの応用を指向した骨細胞染色法の開発  
生理学研究所 技術課 吉友 美樹 42
- (S14) Non-R1（非放射性）による代謝解析  
生理学研究所 技術課 齊藤 久美子 43

## ポスター発表（1階 大会議室、エントランスホール）

- (P1) パルスフィールド電気泳動法を用いた出芽酵母リボソーム RNA 遺伝子安定化機構に関わる因子の網羅的探索  
国立遺伝学研究所 技術課 坂 季美子 46
- (P2) 自然突然変異率検証の為のゲノム DNA 抽出条件の検討  
基礎生物学研究所 技術課 高瀬 洋子 46
- (P3) 転写因子 Sox21 の欠損は周期的な脱毛を引き起こす  
国立遺伝学研究所 技術課 木曾 誠 47
- (P4) 新規ラット胚性幹細胞 (ES 細胞) の樹立  
生理学研究所 技術課 三寶 誠 47
- (P5) ミヤコグサにおける形質転換体作製迅速化の試み  
基礎生物学研究所 技術課 田中 幸子 48
- (P6) 衝撃波による植物細胞破壊現象のヒノキチオール抽出技術への応用  
熊本大学 衝撃・極限環境研究センター 嶽本 あゆみ 48
- (P7) MALDI-TOF MS を用いた微生物種同定の基礎検討  
基礎生物学研究所 技術課 牧野 由美子 49
- (P8) 16BAC/SDS-PAGE を用いた髄鞘に存在する糖蛋白質の解析  
生理学研究所 技術課 小池 崇子 49
- (P9) プロテオミクスにおける試料調製の検討  
基礎生物学研究所 技術課 壁谷 幸子 50
- (P10) recombinant Ca<sup>2+</sup>-ATPase の精製と結晶化  
東京大学 分子細胞生物学研究所 生体超高分子研究分野 杖田 淳子 50
- (P11) オープン代謝型受容体 Prnr3 のマウス脳と心臓における発現と共発現蛋白の解析  
生理学研究所 技術課 山本 友美 51
- (P12) フローサイトメトリー解析におけるインキュベーション顕微鏡の有用性について  
浜松医科大学 実験実習機器センター 柴田 清 51
- (P13) GABA 作動性ニューロンの免疫染色  
生理学研究所 技術課 山口 登 52
- (P14) レーザー顕微鏡の分解能測定  
生理学研究所 技術課 前橋 寛 52
- (P15) 薄切ブロックの保護処理に粘着テープを用いた検討  
浜松医科大学 病理学第一講座 加茂 隆春 53
- (P16) 凍結超薄切法における包埋剤の比較  
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 53
- (P17) 培養細胞における Correlative Light and Electron Microscopy (CLEM) の条件検討  
大阪大学微生物病研究所 中央実験室 大森 弘子 54

(P18)	深海性魚類における網膜の構造と眼球サイズについて 浜松医科大学 医学部 総合人間科学 外山 美奈	54
(P19)	次世代DNAシーケンサーから得られる配列情報のバイオインフォマティクス解析 基礎生物学研究所 技術課 山口 勝司	55
(P20)	2009 生物情報解析システム更新 基礎生物学研究所 技術課 西出 浩世、三輪 朋樹、中村 貴宣	55
(P21)	仮想化環境で構築するネットワークサーバシステム - コスト削減と信頼性向上を図る - 生理学研究所 技術課 吉村 伸明	56
(P22)	技術研究会報告集データベースへの集録報告 分子科学研究所 技術課 水谷 文保	56
(P23)	サーバ認証におけるUPKI 証明書の利用 名古屋大学 全学技術センター 部局系技術支援室 藤原 富未治	57
(P24)	耳鼻咽喉科検査部門システムの構築 (平衡機能検査への対応) 富山大学 医薬系技術部 (耳鼻咽喉科) 武田 精一	57
(P25)	web による計算機群の温度モニタの作成 福井大学 工学部 技術部 松山 幸雄	58
(P26)	RTK-GPS を用いた車載カメラの画像処理に関する研究の環境整備 九州工業大学 <sup>1</sup> 情報工学部技術部 <sup>2</sup> 大学院情報工学研究院 荒川 等 <sup>1</sup> 、石川 正士 <sup>1</sup> 、榎田 修一 <sup>2</sup> 、延山 英沢 <sup>2</sup>	58
(P27)	エルジロイ線焼き入れ装置の製作 生理学研究所 技術課 小原 正裕	59
(P28)	ILC(STF) 空洞冷却用クライオスタットの開発 (変位測定) 高エネルギー加速器研究機構 超伝導低温工学センター 寺島昭男	59
(P29)	実験用としてのLED 照明の検討 生理学研究所 技術課 佐治 俊幸	60
(P30)	超音波による水中レーザーアブレーション現象の制御 名古屋大学 全学技術センター 高田 昇治	60
(P31)	半索動物ヒメギボシムシのモデル動物化への試み 広島大学技術センター (臨海実験所勤務) 山口 信雄	61
(P32)	真珠貝殻粉末におけるラット体脂肪減少効果の検討 徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 <sup>1</sup> 先端医研 <sup>2</sup> 代謝栄養学 庄野 正行 <sup>1</sup> 、原田 永勝 <sup>2</sup>	61
(P33)	Class5 インジケーターを用いたAC 滅菌条件の検討 生理学研究所 技術課 廣江 猛	62
(P34)	形質転換生物研究施設における飼育規模の拡大時に備えた対策についての検討 基礎生物学研究所 技術課 野口 裕司	62
(P35)	実験動物施設における除染方法の検討 生理学研究所 技術課 窪田 美津子	63

(P36)	名古屋大学環境医学研究所実験動物飼育施設の紹介 名古屋大学 環境医学研究所 近未来環境シミュレーションセンター 森 ララミ、伊藤 麻里子	63
(P37)	生理研、行動様式解析室の紹介 生理学研究所 技術課 市川 修	64
(P38)	RI 実験室の運営面からみたオープンキャンパス、教育訓練及び学生実験についての 費用対効果についての検証 京都工芸繊維大学 高度技術支援センター 尾崎 誠	64
(P39)	小中高等学校の医学生理学における教育実習教材の開発 生理学研究所 <sup>1</sup> 技術課 <sup>2</sup> 広報展開推進室 永田 治 <sup>1</sup> 、戸川 森雄 <sup>1</sup> 、小泉 周 <sup>2</sup>	65
(P40)	長岡技術科学大学 生物系の学生実験への取り組み 長岡技術科学大学 学務課 技術班 高柳 充寛	65
(P41)	東北大学農学部生物化学系学生実験の概要と支援への取り組み 東北大学農学部 農学研究科 技術部 岡田 夏美	66
(P42)	植物生命科学系学生実験 -課題と対策- 東北大学 農学研究科 清野 佳子	66
(P43)	技術職員間の業務連携について -オープンキャンパスにおける動物展示を例に- 東北大学大学院 農学研究科 ( <sup>1</sup> 雨宮地区、 <sup>2</sup> 川渡地区) 西村 順子 <sup>1</sup> 、千葉 純子 <sup>2</sup> 、伊東 久美子 <sup>1</sup> 、佐々木 友紀 <sup>2</sup> 、遊佐 文博 <sup>2</sup> 、大友 由紀子 <sup>1</sup>	67
(P44)	地域貢献型創造性育成授業を担う 東京工業大学 大学院生命理工学研究科 鈴木 陽子	67



## 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。帰りの半券は後日郵送してください。

### ■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をお願いします。

### ■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。

### ■不明な点がございましたら

基礎生物学研究所技術課(TEL: 0564-55-7655, FAX: 0564-55-7657) または  
生理学研究所技術課(TEL: 0564-55-7702, FAX: 0564-52-7913) 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、本研究会で用意した「テンプレートファイル」を使用してください。本研究会ホームページ(<http://techdiv.nibb.ac.jp/giken/sanka.html> 又は <http://www.nips.ac.jp/giken/2010/>)よりダウンロードが可能です。

原稿は、平成 22 年 2 月 15 日 (月) までに、Word File と PDF File を事前に指定されたアドレス「[giken@nibb.ac.jp](mailto:giken@nibb.ac.jp) 又は [giken32@nips.ac.jp](mailto:giken32@nips.ac.jp)」にメール添付で送付してください。PDF File はレイアウト等の確認のために必要です。

### ■発表について

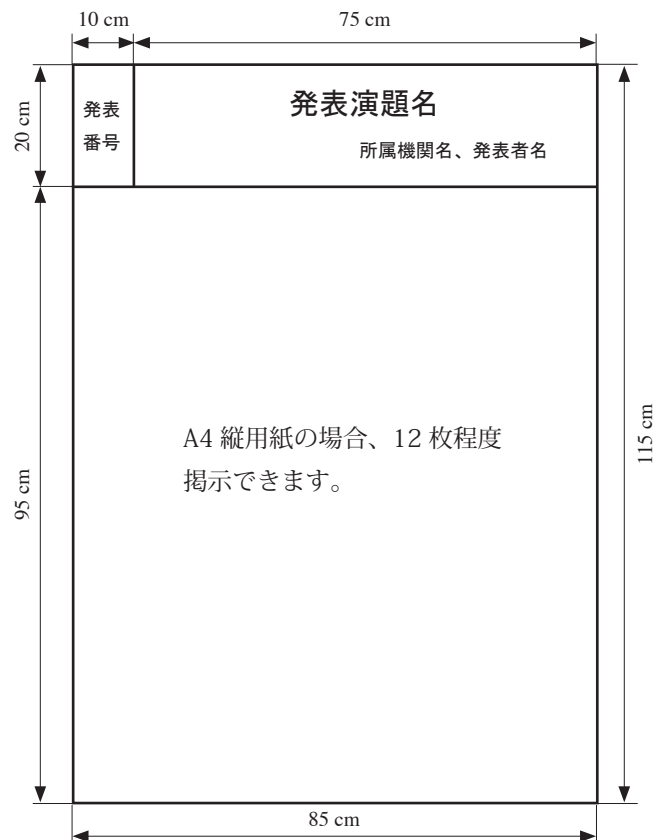
1. ポスター発表は、ポスター討論の前に画像ビューワーを用いて説明をしていただきます。説明用画像は一人 1 枚で発表時間は 1 分間です。画像は事前に指定の方法でご提出をお願いします。発表は 2 グループに分けて行います。グループ I のスライド説明とポスターの閲覧および討論を行った後、グループ II を同様に行います。
2. 口演発表は 20 分 (発表 15 分、質疑応答 5 分)、奨励研究採択課題技術シンポジウムは 20 分 (発表 15 分、質疑応答 5 分) です。十分な質疑応答の時間が取れるよう、発表をまとめてください。
3. ポスター発表者は早めに受付を済ませ、13:30 までにポスターを展示してください。なお、ポスターは研究会終了まで展示をお願いします。
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 115 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 山口登** または **基礎生物学研究所技術課 大澤園子** までお問い合わせください。

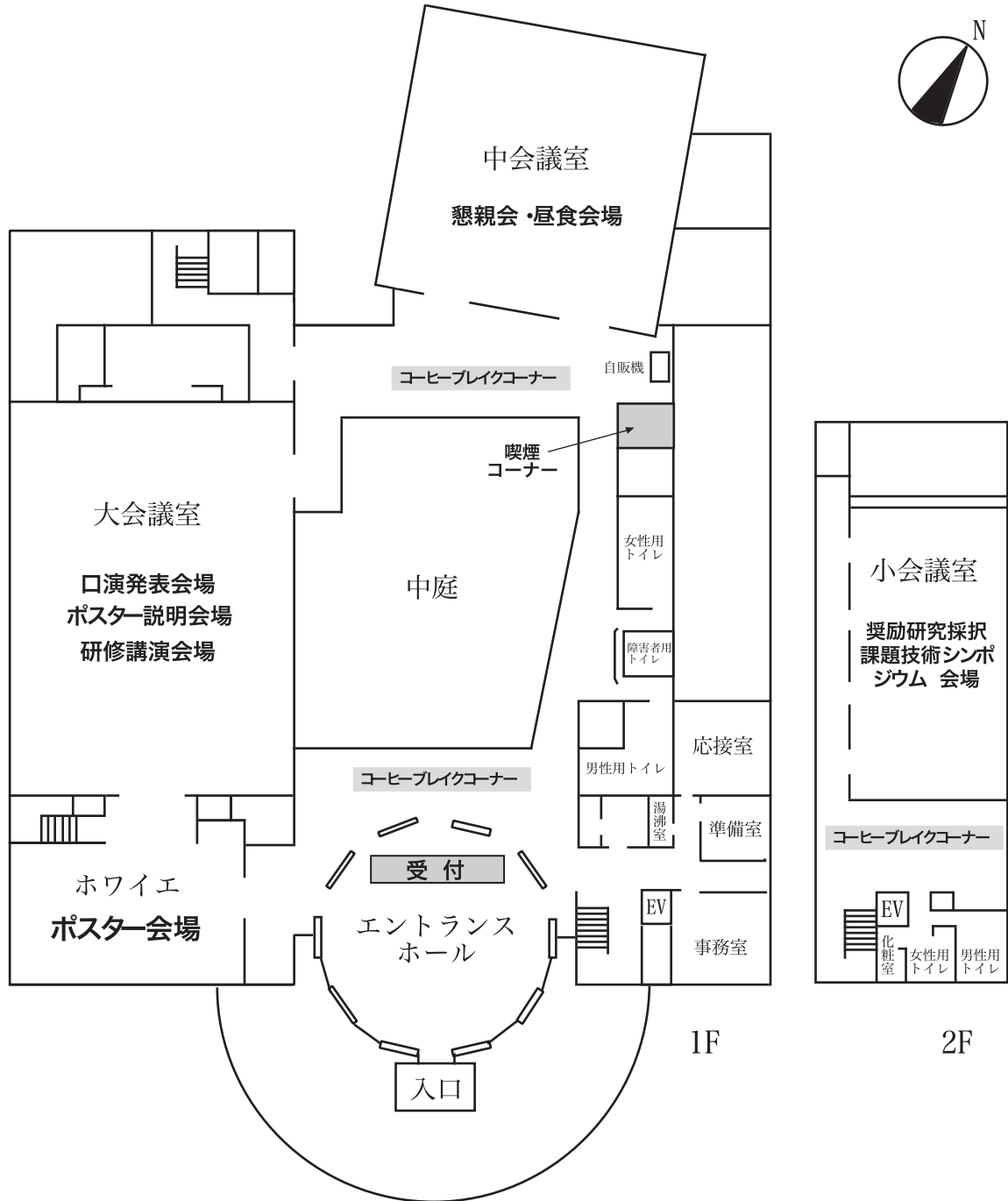


# 研究会会場周辺地図



- ◆ 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22:57）、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.0564-55-7655, FAX.0564-55-7657  
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局 Tel. 0564-57-1870

基礎生物学研究所 技術課 Tel. 0564-55-7655

生理学研究所 技術課 Tel. 0564-55-7702

# 研修講演

## 進化学における技術革新と今後の展望

自然科学研究機構 基礎生物学研究所 生物進化研究部門 長谷部 光泰

私は植物と昆虫を用いて進化学分野で研究をしています。本日は、私の関連してきた研究周辺において、進化学を進展させるのに必須だった技術革新は何だったのか、また、その技術革新は従来のものであったのか、また、その技術革新は従来のものであったのか、また、その技術革新は従来のものであったのか、そして、今、どんな技術が求められているのかについて考えてみたいと思います。さらに、研究職員と技術職員の違いは何か、互いにどのように連携していったら新しい発見につながるのか。私見を述べさせていただきます。ご批判をいただければ幸いです。

1. 記載：野外調査、知識と体力、DNA バーコーディング、保全生物学；

進化学の原点（比較から見つかる問題点）；技術職員が研究職員の運命を変えた例

2. 系統：分子系統学、オルガネラ遺伝子、系統樹構築法、統計的検定、根；

Hasebe et al. 1994 PNAS 91:5730；進化学の地図（古典分類学者の究極の夢）

植物分子系統技術のセンター（共同研究の鉄則）

3. 細胞進化：可視化技術 Murata et al. 2005 Nature Cell Biol. 7:961；

細胞進化が多細胞生物の多様性を生み出した；盟友村田隆は技術者か研究者か

4. 発生進化：モデル生物、遺伝子系統樹、形質転換

Tanabe et al. 2005 PNAS 102:2436；Maizel et al. 2005 Science 308:260；

遺伝子重複とアミノ酸置換；植物の培養技術

5. ゲノム進化：ゲノム解読；Rensing et al. 2008 Science 319:64；

植物と動物の違い；ゲノム土方は技術者か

6. 究極の進化学-過去の復元：クロマチン修飾、化石；Okano et al. 2009 PNAS 106:16321；

複数形質の進化；掘る技術

7. わからないこと：複合形質の進化、食虫植物、ハナカマキリ、クルミホソガ

8. 科学の面白さ：共通祖先、一般性と特殊性、一般化

9. 技術職員と研究職員の違いは何か。我々はどう協調していくか。

口 演 発 表  
( 一 般 口 演 )

## KO マウス作製の実際

基礎生物学研究所 技術課 竹内 靖

【目的】 マウスに限らず遺伝子の解析を行う場合は遺伝子を破壊して、その表現形を調べる事が求められる。マウスの場合はES細胞が確立されていて、かつ培養方法、相同組換えの技術等も確立されているため、KOマウスの作製が研究室単位で可能である。

ところが実際にKOマウスの作製を行うと当然ながら、様々な困難に直面する。私が研究室で担当している部分は相同組換え済のES細胞をマウス胚に導入する部分以降である。ES細胞をインジェクションする場合、8細胞期胚と胚盤胞が有るがそれぞれの特徴がある。キメラマウスを順調に得る事が出来ない場合には、インジェクションのステージやインジェクションするES細胞の数の変更等を行い、試行錯誤する事になる。今回はES細胞のクローンが複数準備できたのでその差や、得られたキメラマウスの数、その後得られたヘテロマウス等、実際の数を示したい。

【方法】 従来のKOマウスの作製と変わる部分は無く、相同組換え済のES細胞を8細胞期胚もしくは胚盤胞にインジェクションを行う。その後、仮親マウスに移植する。

生まれたマウスの毛色は1週間過ぎから判別可能となる。

得られたキメラマウスを交配させて、得られた仔の毛色がES細胞由来ならばヘテロマウスが得られている可能性がある。その後PCRによるgenotypingを行う。

【結果】 2種類のKOマウスの作製を行い、それぞれ2種類・6種類のES細胞を順番にインジェクションを行った。2種類のES細胞をインジェクションした系では一方のみでしかヘテロマウスは得られなかった。6種類のES細胞をインジェクションした系は現在キメラマウスが得られている段階である。

【考察】 KOマウス作製のためには相同組換え済ES細胞のクローンが複数必要である。

ES細胞をインジェクションする技術等よりもESのクオリティーの方が重要かもしれない。



## C57BL/6J 由来 ES 細胞樹立の試み

国立遺伝学研究所 技術課 水品 洋一

【目的】これまでノックアウトマウス作成に用いられてきた ES 細胞は、129 系統もしくは交雑動物に由来するものが多く、作成されたノックアウトマウスは、遺伝的背景の影響を除くために戻し交配を行って解析を行うことがよく行われる。

我々は C57BL/6J 系統より ES 細胞を樹立し、純粋な遺伝的背景を持つノックアウトマウス作成を試みている。本発表では、上記の過程で得られたデータを紹介する。

【方法】過排卵処理をした雌マウスを雄マウスと交配し、膣栓確認後 3.5 日目に子宮を環流して胚盤胞を得た。得られた胚盤胞は透明帯除去後、15% KSR、 $10^3$ U/ml ESGRO を加えた D-MEM を用いて feeder 細胞上で培養した。培養 4～5 日後、盛り上がってきた ICM 由来細胞塊をガラスキャピラリーで単離し、トリプシンで分散後再び feeder 細胞上で培養した。数回継代した後、コロニーの形態を観察して ES 様細胞株とした。

【結果】53 個の胚盤胞期胚を培養し、14 ラインの ES 様細胞株を得た。得られた ES 様細胞株を用いてキメラマウスを作成したところ、12 ラインで毛色キメラが誕生し、そのうち 3 ラインで生殖系列伝達を確認した。

【考察】現在、得られた C57BL/6J 由来 ES 細胞を用いてノックアウトマウス作成を行っている。

### 【参考文献・資料】

Improved generation of C57BL/6J mouse embryonic stem cells in a defined serum-free media. Cheng J, Dutra A, Takesono A, Garrett-Beal L, Schwartzberg PL. *Genesis*. 2004 Jun;39(2):100-4.

Establishment of a new embryonic stem cell line derived from C57BL/6 mouse expressing EGFP ubiquitously. Shimizukawa R, Sakata A, Hirose M, Takahashi A, Iseki H, Liu Y, Kunita S, Sugiyama F, Yagami K. *Genesis*. 2005 May;42(1):47-52.

The ground state of embryonic stem cell self-renewal. Ying QL, Wray J, Nichols J, Batlle-Morera L, Doble B, Woodgett J, Cohen P, Smith A. *Nature*. 2008 May 22;453(7194):519-23.

## 生化学実験への工業用アルコールの適用

九州工業大学 情報工学部 楠本 朋一郎

【目的】生化学実験では従来価格が安価であることからメタノールが使用されてきた。しかし、メタノールは、有機溶剤中毒予防規則に該当し作業環境測定の対象となり、特殊健康診断も必要となる。また、法令上は適用除外を受けない限り、局所排気装置内でしか使用できない上に、毒物・劇物法の適用も受ける。これに対し、メタノールと性状が近いエタノールは酒税法の適用は受けメタノールよりも高価であるが、上記の2法令の適用は受けない。

今回、エタノールにメタノールを4%混合させた工業用アルコールをウェスタンブロッティングなどに適用した例を紹介する。

【方法】アミノ酸発酵菌である *Corynebacterium glutamicum* の電子伝達系タンパク質複合体中の succinate dehydrogenase (SDH) の部分精製品を用いて SDS-PAGE を行い、PVDF 膜 (ポアサイズ  $0.2\mu\text{m}$  及び  $0.4\mu\text{m}$  の2種類を使用) に転写した。SDS-PAGE に用いたゲルは10%ポリアクリルアミドゲルを用いた。工業用アルコールは、今津薬品 95%メタノール変性アルコール (エチルアルコール 88.40%、メタノール 4.67%、水分 5.49%、ビトレックス 10 ppm) を用いた。また、ウェスタンブロッティングの緩衝液の組成は、20% (w/w) 工業用アルコール、29% (w/v) トリスヒドロキシアミノメタン、145% (w/v) グリシン、5% SDS で、タンク式の装置を用いて 50V、1もしくは2時間の転写時間にて PVDF 膜への転写を行った。タンパク質の染色は、Coomassie Brilliant Blue (CBB) 染色にて行った。

【結果・考察】工業用エタノールを用いて SDS-PAGE 後のアクリルアミドゲルの染色・脱染色を行い、メタノールと同様に扱えることが分かった。また、*C. glutamicum* の SDH を PVDF 膜に転写を行い、メタノール同様に PVDF 膜上に SDH の各サブユニット A, B, C ともに転写できることを確認した。酒税法が適用される特級エタノール、特級メタノール、工業用アルコールを 14kg (エタノールは 18L) の購入単価で比較すると、約 33000 円、3800 円、5700 円となりエタノールの価格が突出するのが分かる。年間、3、4 缶注文するとなるとかなりの金額になってしまう。また、メタノールだと作業にドラフトチャンバが必要、有機溶剤中毒予防規則に関わる特殊健康診断、作業環境測定ということを考えると、できればエタノールに変更したいと考えるところであるが前述したようにコストの問題がある。今回、工業用アルコールがメタノール同様に使用できることが確認できたので、今後大学内にも水平展開を図っていきたいと考えている。

# RNA 保存試薬が及ぼす組織脱灰作用：マイクロ CT Scan を用いた検証

島根大学 <sup>1</sup>医学部法医学講座 <sup>2</sup>医学部解剖学講座発生生物学  
<sup>3</sup>医学部循環器・呼吸器外科 <sup>4</sup>医学部病理学講座

<sup>1</sup>梅 とも子 <sup>2</sup>宇田川 潤 <sup>3</sup>織田 禎二 <sup>4</sup>丸山 理留敬 <sup>1</sup>竹下 治男

## 【目的】

心臓弁膜・血管、また乳腺や甲状腺組織におこる組織の石灰化は臨床病理学的に興味深い現象である。その石灰化の機序に係る遺伝子発現解析をリアルタイム PCR 遺伝子相対発現定量実験により行うために、ヒト大動脈新鮮組織検体を RNA 保存試薬 RNAlater (ABI) に浸漬保存した後に、組織石灰化の有無をマイクロ CT Scan により確認し、その後その組織から RNA を抽出する試みを行い、前回の研究会において発表した。その過程で RNAlater 浸漬後組織の CT 画像は新鮮組織のそれと比較して明らかに微小石灰が消失、あるいは縮小していることがわかった。今回 RNAlater が及ぼす組織脱灰作用をマイクロ CT Scan により計測し、検体保存条件と組織石灰化程度を判定するための基準検討を行ったので報告をする。

## 【方法】

- (1) 手術中採取したヒト大動脈血管組織を検体として CT Scan をした。
- (2) CT Scan には SKYSCAN 社製卓上型マイクロ CT スキャナ SKYSCAN 1174 (X 線源 50kV, 40W) を用いた。X 線照射時間を 25 分に設定した。
- (3) RNAlater 浸漬が組織に及ぼす影響を調べるために新鮮血管組織の CT Scan を行った後に RNAlater に浸漬保存し、浸漬期間 1 日、4 日及び 35 日の条件で CT Scan を行い、画像比較および石灰化部分の容積を計測し比較した。
- (4) 新鮮血管組織の CT Scan を行った後に RNAlater に浸漬保存し、RNAlater 浸漬後 1 日後の CT Scan 画像、さらに、その後、同組織を液中から取出し、35 日間冷凍保存 (-40°C) 後再度 CT Scan をした画像を比較し、また石灰化部分の容積量を計測し比較した。

## 【結果】

CT Scan による組織石灰化病巣の容積量計測の結果、RNAlater 浸漬 1-4 日間でその容積量は、新鮮組織の容積と比較して平均 18% (n=7, SD=6.1) 減少した。さらに 35 日浸漬では半減した。一方 RNAlater 浸漬後その組織を液中から取出して冷凍保存を行うと冷凍期間中の石灰化組織病巣容積には変化がなかった。

## 【考察】

RNAlater 浸漬で、検体中 RNA は 4°C で 1 ヶ月保存可能だが、我々は今回の結果を踏まえ検体を 4°C で一晚浸漬後、取出して冷凍庫で保存することを推奨する。RNAlater の脱灰作用を CT Scan で確認、計測したことは、今後の組織石灰化の研究に有意義であった。

## 農学国際教育協力人材データベースの Web インターフェース構築について

名古屋大学 全学技術センター 共通基盤技術支援室 情報通信技術系 大川敏生

### 【目的】

名古屋大学 農学国際教育協力研究センターでは、農学分野の国際協力要請に応じるために、1999年より農学高等教育や技術協力を興味や関心を有する人材のデータベース、「農学国際教育協力人材データベース」を構築した。

当初のデータベースは、紙面による調査書からスプレッドシートへのテキストデータ抽出のほか、登録者の情報更新もメールや電話等により手作業で行われていた。

これらの煩雑な作業を効率化するために、ホームページからの情報更新サービスの構築が必要とされた。

### 【方法】

当データベースは、情報収集する農学国際教育協力研究センター職員によるレコードの検索作業等が必要なため、汎用のデータベース言語を使用しない市販のデータベースソフトウェアによる運用が必要である。

また、ホームページサーバの運用も併せて行うため、安定な運用を行う必要もある。

さらに、登録者による編集作業の操作性とデザイン（体裁）も重要な要件である。

- (1) ホームページサーバとして、Apple 社 MacOS X server
- (2) データベースとして、FileMaker server, FileMaker PRO
- (3) 開発環境として、PHP 言語と FX.php ライブラリ
- (4) Smarty によるプログラミングとデザインを分業

### 【結果】

今回、Smarty というテンプレートエンジンをホームページ作成業者より提案され、プログラミングとデザインの切り分けによる作業が可能となった。

これは、デザインを考慮しながらプログラミングをしなければならない今までのスタイルと違い、作業時間の短縮を行うことができたので、これらの事例を紹介する。

### 【考察】

一般的に、これらのシステムを外注する場合、データベース構築を含むシステムとなるが、今回は大学内でプログラミングすることで、個人情報や外部に出すことなく安全に高機能なサービスを構築することができた。

これは、今後のホームページサービスの構築において、分業の可能性とそれによる作業時間の短縮、経費の削減、安全な情報の取り扱いを期待できる。

もちろん、作業をするにあたりコミュニケーションが最も重要であると考えている。

## スキャナを活用した沖縄産植物の 画像データベース構築の試み

国立沖縄工業高等専門学校 技術支援室 渡邊 謙太

【目的】 沖縄本島北部には固有種を含む多様な植物が生育し、進化や生態、有用成分の探索など様々な研究において重要な材料を提供している。しかし、これまでこの地域の植物を網羅した画像情報が乏しいこともあり、特に花や果実のない状態では植物を同定することがきわめて難しく、研究を進める上で大きな障害となっている。また植物を材料とした研究では植物標本が非常に重要となるが、沖縄県内には状態良く標本を保存できる施設（標本庫）がほとんどない。そのため植物の画像と標本の新しい収集・保存・活用システムが求められている。本研究では沖縄高専に隣接する辺野古・大浦湾周辺をモデル地域として、沿岸の植物を網羅したフロラ（植物相）リストを作成し、押し葉型のスキャナ画像と生態写真を合わせたデータベースシステムを構築する。これを web 上に公開し、教育や研究のための基礎的な情報を一般に提供することを目的とする。

【方法】 今回はその第一段階としてデータベースシステムの構築と野外での撮影・採集からデータベースへの登録及び標本の保存までの一連の作業の規格化を試みた。今回植物の記録手段としてスキャナを用いたが、スキャナ画像は生の押し葉の状態を記録するため、花や葉のつき方・托葉や毛の有無など細部の形態から、生育時の色まで正確に記録することが可能であり、花や果実のない際の同定・検索にも有効な情報である。また作業は比較的簡単で、手順と規格を統一することにより、ゆくゆく学生をはじめ多くの市民が自ら信頼性の高いデータの収集・拡充に参加することが可能となる利点がある。

【結果】 利用上の必要性からギャラリー・スキャン図鑑・スキャン標本庫という 3 種類から構成されるデータベースシステムが立ち上がり、標本のラベルや標本庫との連動も可能となった。また野外で撮影・採集した植物がデータベースに登録され、ラベルとともに標本庫へ収蔵される一連の流れが実際上、継続的に運用可能であることが確認された。

【今後の展開】 今後データベースの一般公開に向けて最適な方法を検討してゆく。また辺野古・大浦湾地域の植物についてのデータを拡充していく予定である。また A 3 スキャナの導入、スキャナデータを用いた検索表の作成やラミネート標本の展示、GPS データとのリンクなどを順次試みる予定である。

### 【参考文献・資料】

- 1) 大場 (2000) 植物の記録手段としての”スキャノグラフィー”
- 2) 小川 (2008) 高精度植物標本画像のインターネットでの公開
- 3) Herbarium digitization Kew Royal Botanic Gardens

参照 HP [http://www.kew.org/data/herb\\_digitisation.html](http://www.kew.org/data/herb_digitisation.html)

## 単為結果性ミニトマトの冬季での 無加温栽培における品種比較

京都大学大学院 農学研究科 附属農場 西川 浩次, 榊原 俊雄, 黒澤 俊

【目的】一般のミニトマトの冬季での栽培では暖房機などの設備が必要である。12℃を下回る気温では受精障害が発生し、結実が妨げられるからである。一方、単為結果性を有するミニトマトは気温の影響に関わらず結実することができる。この性質を利用すれば栽培コストの削減が見込める。そこで、当農場にて保存している6系統を用いて無加温栽培に適している系統を調査した。

【方法】大阪府高槻市にある京都大学大学院農学研究科附属農場と京都市西京区大原野にある京都市開発種子配布センターで栽培を行った。京都大学大学院農学研究科附属農場では、硬質フィルムハウス内に単為結果性ミニトマト‘MPK-1’、‘OK-10’、‘AQ-K’、‘KK-long’、‘KK-oblong’、‘No.2’の6系統を2008年10月10日に各10株定植した。また、対照品種として‘桃太郎’を2008年10月17日に10株定植した。調査は2008年11月10日から2009年4月27日までのハウス内温度と収穫した果実について秀品と規格外の個数と重量とした。京都市開発種子配布センターでは、ビニールハウス内に単為結果性ミニトマト‘MPK-1’、‘KK-long’、‘KK-oblong’、‘No.2’の4系統を2008年9月27日に各15株定植した。調査は2008年10月27日から2009年4月26日までのハウス内温度と収穫した果実について総重量、個数、糖度とした。

【結果】京都大学大学院農学研究科附属農場では各品種で収穫開始時期にばらつきがあり、そのことが収量にも影響した。‘桃太郎’は2009年の1月中旬より低温による影響で10株中8株が枯死した。単為結果性ミニトマトでも‘OK-10’および‘AQ-K’で低温障害が発生した。その中で‘MPK-1’は収量・品質とも他の系統よりも優れていた。京都市開発種子配布センターでは‘MPK-1’が収量・品質とも他の系統よりも優れていたが、‘No.2’では京都大学大学院農学研究科附属農場の結果と異なり収量が多くなった。以上の結果より冬季の無加温栽培では‘MPK-1’が安定した生産が可能であることが示唆された。

【考察】今回の調査で無加温栽培が可能な系統は‘MPK-1’および‘No.2’であったが、‘No.2’に関しては2箇所の栽培地で結果が異なった。その要因として栽培方法の違いが考えられる。この‘No.2’は心止まり型であり、今後、多様な用途が考えられることから有望な系統であると考えられ、生産を安定させる栽培体系の構築が必要である。

## 光合成リズムに合わせた間欠照明栽培法

福井大学 工学部 技術部 岡井 善四郎

【目的】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】光合成は光化学反応と炭酸(CO<sub>2</sub>)固定反応から成り立っている。光化学反応は 10 ナノ秒より早い反応で、CO<sub>2</sub>固定反応は 1~100 ミリ秒と比較的遅い反応速度である。連続照射では CO<sub>2</sub>固定反応が律速となって、CO<sub>2</sub>固定反応が完了していないとき(反応中心が閉じているとき)の照射光は無効になる。このことから間欠照明による光合成効率の向上が考えられる。

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<sub>D</sub>:光合成有効光量束密度 500 μmol/cm<sup>2</sup>・s 達成)を製作し、連続照射から間欠照射に変更し、昨年行った葉菜類栽培結果を考慮して、パルス周期を 400 μsec に設定しデューティ比(一波長の中に LED が発光する割合)をパラメータに栽培実験を行う。連続照明との相違を栄養価、果実の大きさから調べる。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で行う。

【結果】デューティ比 60%までは連続照明と変わりなく生育した。しかしデューティ比 60%を切ると生育状態は悪くなった。このことから、スイッチング回路の損失を差し引いても 30~40%の電力節減効果を得ることができた。花芽形成、着果とも太陽光と大差はなかった。しかし最終的にナスでは、表面の色(太陽光では濃い紫)が薄かった。

【考察】この原因としては、ナスなどに含まれるアントシアニンのようなフラボノイド系色素は紫外線により誘導され、また促進することが培養細胞や植物体の研究によって明らかにされていることから鑑み、今回使用した LED は紫外線がほとんど含まれていないためと思われる。

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。そのためナスのような作物では見栄えも大切であり、補助光源として紫外光が必要である。

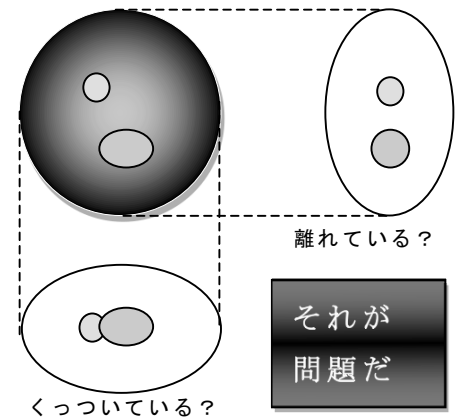
### 【参考文献・資料】

河本、康太郎、他 : LED の農林水産分野への応用、pp37-49 (2006)。

## 蛍光顕微鏡による3次元解析 ～共焦点 vs デコンボリューション～

基礎生物学研究所 技術課 諸岡 直樹

【目的】所属する研究室ではゲノム構造のダイナミックな変化を様々な手法で追いかけている。今回、酵母を使った研究で3次元解析を行うこととなった。酵母は球体に近い形をしている。そのため、細胞内の局所的な位置関係を理解する際、これまで大腸菌で行ってきた平面的な解析では判断を誤る可能性がある。そこで2種類の特徴のある蛍光顕微鏡システム（共焦点顕微鏡あるいはデコンボリューション蛍光顕微鏡）を使い、3次元像構築における分解能や像の綺麗さ、さらには使いやすさ等を比較検討した。



【方法】 (1) 使用した機材：共焦点顕微鏡（ニコン A1R、オリンパス FV1000）

デコンボリューション蛍光顕微鏡（Applied Precision Deltavision）

(2) 観察対象：酵母（蛍光色素：核＝DAPI、核小体＝mCherry、特異的配列＝GFP）

(3) 方法：酵母を最小培地で培養し、スライドガラスに固定する。それぞれの顕微鏡の操作手順に従い蛍光観察をする。デルタビジョンではセクションの撮影後、デコンボリューション処理を行ってから三次元構築する。共焦点顕微鏡ではセクションを撮影後、三次元構築をする。他の PC でも閲覧可能な動画ファイルへ変換する。

(4) 改善点：共焦点顕微鏡では一度にすべての励起光を当てるモードから、波長ごとに励起光を変えていくモード（シーケンシャルモード）に変更し撮影する。

【結果】デコンボリューション蛍光顕微鏡（以下デコンボ）および共焦点顕微鏡いずれでも3次元構築できた。しかしながらデコンボでは計算前に像を確認できないため、目視でセクションの上下端を決められず、お椀状に像が途切れることがあった。また、PCの性能が低く、3次元ではファイルも大きいため、枚数多く撮影できないなどの不満点が残った。

共焦点では比較的簡単に3次元像を得られたが、励起光の関係で早い撮影では波長ごとにうまく撮影できなかった。そのため、シーケンシャルモードを使い一視野あたり15分程度かけて撮影を行った。その結果、良好な像が得られた。

【考察】今後は共焦点でのみで撮影を行い、条件検討を進めてより綺麗な3次元像の取得を目指す。また、計算で立体的な距離を求める必要があるため、その技術の習得を目指す。



## 初期胚の三次元蛍光イメージング

基礎生物学研究所 技術課 小林 弘子

【目的】生物の発生において、受精卵から胚が形成される過程はダイナミックな形態の変化を伴う。このような初期胚の形成過程における、細胞の挙動や、遺伝子・蛋白質の時間的・空間的に特異的な発現を追跡することは、発生過程を解析するために重要である。

ライトシート型顕微鏡「DSLM」(Digital Scanned Light-Sheet Microscope)では、非常に薄いシート状のレーザー光を試料に照射し、その照射光と直交する CCD カメラで照射層からの蛍光画像を検出する。この特殊な光学系により、DSLM は、生体試料を傷つけずに深部まで観察でき、胚などの比較的大きな生体試料を丸ごと、ライブイメージングが可能な顕微鏡である。また、試料を回転することにより多方向からの観察が可能で、得られた画像を重ね合わせることで試料の全体像を三次元画像で捉えることができる。

現在、メダカ、ゼブラフィッシュ、カエル、マウス等の初期胚について観察を行なっているが、DSLM の利用に向けて、種々の生物についての測定条件を確立すると共に、撮影した画像を蓄積することも必要と考えられる。そこで、DSLM を用いて、様々な発生段階の胚について三次元蛍光像を撮影し、細胞の挙動や、遺伝子発現、組織・器官の形成の様子等をまとめ、アトラスを作成することを目的とする。

【方法】現在までの条件検討で、測定条件がほぼ整っているメダカを観察試料に用いる。様々な発生段階で、メダカの胚、及び稚魚をサンプリングし、生きたまま、あるいは固定後、低融点アガロースゲルに包埋し、DSLM の観察試料とする。生きたまま観察する場合は、撮影中に試料が動かないように麻酔等の処置をする。DSLM で、試料を光シートに対して移動させて撮影した Z-stack 画像、及び試料を回転しながら多方向から撮影した Multi-view での蛍光画像を取得する。得られた画像データは、MATLAB、ImageJ 等の画像解析ソフトを用いて処理し、試料の全体像の三次元画像を構築する。

【結果・考察】メダカの固定胚を用いて、試料を回転しながら多方向から撮影し、三次元画像の構築を行なった。胚の全体像を捉えるために低倍率での観察、及び目的の器官や組織にフォーカスした高倍率での観察を行なった。精度良く三次元画像を構築し、高解像度の画像を得るためには、観察試料の大きさや透明性等により、適切な撮影角度を設定する必要がある。また、得られた画像によってはデコンボリューション等の画像処理が必要と考えられ、より解像度の高い三次元画像を得るための測定条件、及び画像処理について更に検討中である。

# 大学におけるソフトウェア ライセンス管理方法の検討

東北大学 加齢医学研究所 小森 和樹

【目的】ソフトウェアライセンス契約違反などの著作権侵害問題については、近年社会問題として取り上げられることが多くなり、違法コピーなどが発覚すると多額の損害賠償金の請求および社会的信頼の低下を招いてしまう。大学においてもこのような事態を避けるため、違法コピーなどに対するリスクマネジメントを行うことは重要な課題の一つになっている。しかしながら、現在公開されているソフトウェアライセンス管理体制を構築するための手法は一般企業が対象となっており、それをそのまま大学において実行するにはいくつかの問題があった。そこで一般企業向けソフトウェアライセンス管理体制を参考に、大学に適したソフトウェアライセンス管理方法を検討することにした。

## 【方法】

- (1) ライセンス管理台帳とハードウェア管理台帳を作成し、ライセンス管理を行う。なお、ライセンス管理台帳とは所有するソフトウェアの情報（ライセンスの種類やインストール先など）を管理するための台帳であり、ハードウェア管理台帳は所有するハードウェアの情報（利用者、インストールしているソフトウェアの一覧など）を管理するための台帳である。
- (2) 研究室ごとに代表者を立て、研究室内のライセンス管理を行うものとする。

【結果】(1)により、各々のソフトウェアのインストール先と、各々のハードウェアにインストールされているソフトウェアの素性を、相互に把握できるようになった。また(2)により、代表者1人あたりが管理するソフトウェアライセンスの数を抑えることができた。

【考察】2つの台帳を用いる方法により、ライセンス違反の発生を予防できる可能性が示された。また、大学における研究活動の実行単位である研究室あるいは研究グループ単位でライセンス管理を行うことで、最小限の負担で実効的な管理を実現できると考えられた。

## 【参考文献・資料】

社団法人コンピュータソフトウェア著作権協会：<http://www2.accs.jp.or.jp/>  
大学向けソフトウェア管理支援ポータル：<http://www.bsa.or.jp/univ/>

# 波長可変レーザーを用いた 大型スペクトログラフ 高度化新規照射装置導入の検討と考察

基礎生物学研究所 技術課 東 正一

【目的】大型スペクトログラフは共同利用に特化した施設として30余年にわたり運営を続けてきた。10年ほど前より新世代の光生物学実験に寄与するために施設の高度化を順次進めてきた。その一つとして光を作る機能に関して光源をレーザーに換装し、波長を自由に変更できる波長可変レーザーを導入した。必要な予算等の問題により単純に光源としてのみ導入されたが、光源のみでは、光生物学実験を行うに当たり十分な装備とは言えず、環境整備が待たれていた。生物への照射を行うに当たり、実現したかった照射手法として

- 1) 微光束照射
- 2) 均一面照射（パターン照射）
- 3) 追尾（トラッキング）照射

これらが可能な照射システムを考案し開発を行う必要があった。

【方法】光をイメージ照射する方法

現時点で購入可能な方法を洗い出し、個別に検討を行い、最適化した。

- i) イメージ投影法
- ii) DMD, DM 法
- iii) LCOS-SLM 法

これらの中でスポット・追尾照射、大仰角照射などの、実際の光実験に対応した方法を検討した。

【結果】多くのメーカーや文献を当たり、対応可能なメーカーと交渉を続けた結果、導入可能との回答を得るところまでこぎ着けた。

【考察】納入に必要な予算の確保および今後の運用の方法を検討する事が必要。

装置（ハード）は入手できるが制御ソフト（ソフト）の開発が今後の急務である。そのあたりを考慮しつつ設置計画を進める予定である。



# 話題提供

# 生物学技研報告 ONLINE

## -技術研究会報告論文のデータベース化と Web 公開-

基礎生物学研究所 技術課 水谷 健

【目的】生物学技術研究会の報告論文は、生理学技術研究会との合同研究会を含め、その著者は勿論、生命科学に携わる多くの技術者にとっても大きな財産である。報告論文のデータベース化・Web 公開に関する協議は、以前より行われてきたが、基生研、生理研両技術課（以下両技術課）の見解の相違等から先送りされてきた。しかし今年度の7月より、報告論文のデータベース化・Web 公開に向けた機運が高まってきた。これを受け、基生研技術課としてのデータベース化と Web 公開の為、生物学技研報告 ONLINE を構築した。

【方法】Web への公開に際して、両技術課の間で「技術研究会報告のデータベース化、Web 公開に関する申し合わせ」を交わした。その中で公開システムに求める仕様として、索引情報の検索・表示部は外部へ公開、また報告論文の詳細表示や PDF ファイルの配布部分は、登録ユーザーのみ公開と定めた。基生研技術課では、基生研技術課 Web サイト TechDivWeb (<http://techdiv.nibb.ac.jp>) に組み込む形での運用を目指した。これは TechDivWeb に使用されている CMS、XOOPS のユーザー管理機能を使用する為である。上記仕様を満たす XOOPS 用のモジュールはなく、索引検索部とファイル管理部は、別個のモジュールを用いて構築を行った。索引検索部は汎用データベースモジュール stdb を、ファイル管理部はダウンロードモジュール d3downloads を用いた。別々のモジュールをシームレスに稼働させるため、管理モジュール altsys を用いて、表示のカスタマイズを行った。索引情報の管理・編集は、Microsoft Excel、Numbers(Apple computer)、Jedit (Artman21) 等を用いローカル環境で行った。

【結果・考察】stdb による索引管理は csv 形式での一括登録が可能であり、ローカル環境で編集・管理が容易である。またフィールドの値にハイパーリンクを使用でき、それを d3downloads との連携に利用した。d3downloads はアップロード機能を持ち、サーバ上の非公開領域へファイル名を暗号化して格納する機能を持っている。これにより、ユーザーが PDF ファイルを、直接ダウンロードする事を制限することができた。しかし、ファイルの一括アップロード機能が無く、PDF ファイルの登録に相応の時間と労力を要した。

ユーザーの操作環境については、ほぼ当初の要求を達成することができ、2010年1月4日より運用を開始した。個々の PDF ファイル登録については、一括登録のための何らかの方策を、今後検討していきたい。また外部の文献インデックスサービスへの登録・連携も積極的に推進を図っていきたい。

# 口 演 発 表

( 奨 励 研 究 採 択 課 題 技 術 シ ン ポ ジ ウ ム )

# プログラマブルデバイスを用いたワイヤレス通信・制御 実験システムの開発

東北大学工学部 工学研究科 阿部 茂樹

【目的】 近年、パーソナルコンピュータと周辺機器、携帯電話間でのデータ交換あるいは家電製品制御用として通信距離が10m程度の近距離無線技術が注目されている。一方、再構成型デバイスの一つであるFPGA(Field-Programmable Gate Array)は、研究教育用として半導体設計、論理回路実験ツールに使用されているだけでなく液晶テレビ、携帯基地局、携帯電話などの汎用製品から火星探査車などの特殊な用途にまで使用されている。

しかしながら、今後の技術を支えていく学生に対しては、実践的な教育を目的としたこれらの技術に関する知識の獲得機会が少ないことが問題であると考えられる。

本研究では、ワイヤレス通信技術や再構成型デバイスを学生実験に取り入れ、今後の情報化社会を支える技術を容易に習得できるシステムを開発することを目的としている。

【実験方法】 従来から行われているRS-232CやUSBなど有線シリアル通信は、1対1通信であるのに対し、ワイヤレス通信は、1対多あるいは多対多通信が可能となり1つのシリアルポートで効率的な通信ができる。

1. パーソナルコンピュータおよび各ボード間でRS-232CやUSBなど有線シリアル通信ができるように、プログラマブルデバイスに組み込む通信ドライバの設計を行った。
2. 1で作成した通信ドライバが正常に通信動作していることを確認後、Zigbeeを用いた1対1ワイヤレス通信ができるようにシステムを構築した。
3. パーソナルコンピュータとプログラマブルデバイス搭載ボード間で、各通信方式によるワイヤレス通信実験および動作確認を行った。現在、プログラマブル搭載ボードを複数用意し、多対多通信可能な制御システムを構築中である。

【結果】 多対多通信を可能とするワイヤレス通信技術とプログラマブルデバイス搭載ボードを融合したシステムでは、様々な分野に応用することができる分散システムを構築することができることを実験的に確認できた。

【考察】 現在は、Zigbee ワイヤレス通信によるシステム構築および動作実験を行っており、今後は Bluetooth ワイヤレス通信を使ったシステムの構築を検討している。同時に、学生実験へ適用するための実験プログラムおよびマニュアルを作成中であるとともに、このシステムを利用した応用についても検討している。

## 【参考文献・資料】

1. 杉浦、“ワイヤレスネットワークの基礎と応用”、CQ 出版社。
2. 鄭、“Zigbee 開発ハンドブック”、リックテレコム。



## 地震時における初期微動をトリガーとした危険回避の 手法における一考察

東京大学生産技術研究所 基礎系 片桐 俊彦

【目的】地震に対する事前防災対応情報として、初期微動情報を基にした地震発生までの時刻を知らせる気象庁緊急地震速報情報がある。これまでの状況では事前にメディアを通して地震発生情報を伝達するなど大変有効に機能する点もあるのだが、ケースによっては必要地域への速報の遅れ等、発生するなどといった共存した問題点も発生している。家や職場などの生活空間における小規模な防災対策を考えた場合、初期微動を生かし独自のシステムを構築することで、生活空間内での危険回避防災策を提案できないかを考えた際に、あらゆる可能性を備えた簡易モデルを製作し示すことで、実際にどの様に機能、応用するかの基礎的アイデアの一考察としてここに報告するものである。

【方法】システム構築方法としてはPCでの制御プログラム（ソフト）、簡易モデルの製作や制御系回路（ハード）の開発に大別される。地震記録取得や制御指令を1台のマスターPCが行い、無線加速度計を介し、それに接続される制御回路系を通じ、簡易モデル制御を行う。マスターPCを1台置けば、無線を使用する為ノートPCのUSB端子電源供給があれば設置自由度がある。生活空間内で部屋毎に危機回避装置として設置可能で、必要に応じた簡易モデルを応用することで機動的な対策が可能となる。

【結果】地震時における危険回避システムによる機動的な対策例を簡易モデルで示し、動作確認も終え、今後の機能拡張を考える上で将来的な有用な結果が得られた。地震観測、また生活空間内での危険回避両面における地震波の利用による2つの機能の両立が可能である点については工学的な付加価値も得られ、考え方として十分満足の行く結果であった。

【考察】システム系の拡張に伴い、電源の確保が重要になってくる為、如何にコンパクトに全体系を整理していくのか、また地震データ取得後のデータの整理を行う点のソフトの充実化などを踏まえた、応用範囲の詳細な考察、改良など可能性の発展的追求を図りたい。

【参考文献・資料】平成13年度科学研究費補助金(奨励研究(B)) 課題番号 13914008  
加速度センサーICを用いた地震計製作とソフトを含めたシステム系開発およびその応用  
気象庁 緊急地震速報について：<http://www.seisvol.kishou.go.jp/eq/EEW/kaisetsu/index.html#eewgenri>

# 新規高性能めっき膜の断面構造 TEM 観察試料作成法の開発

長岡技術科学大学 分析計測センター 程内 和範

【目的】膜成長プロセスを直接観察できる断面方向からの TEM 観察（断面構造 TEM 観察）は、めっき膜の研究開発において重要で本質的な情報を与える。これを行うには、電子線が透過できる数十 nm 程度の超薄試料が必要である。本研究では、所属研究室で開発中の新規めっき膜をターゲットとし、イオンミリング法による断面試料作成を行い、新規めっき膜に適した断面構造 TEM 観察試料作成法を検討した。

【方法】Ar イオンミリングには、GATAN 製 Model 691 PIPS を使用した。Ar イオンミリングに供する前に、①2枚のめっき膜を接着剤で基板ごと貼り合わせ、②Si等の補強剤に挟んで補強、さらに③打ち抜き、④埋め込み、⑤切断、⑥研磨、⑦ディンプル加工といった複雑な前処理工程が必要である。本研究では観察試料数の多いめっき膜に対し、この一般的な方法に適宜改良を加え、オーダーメイドの作成プロセスで断面試料を作製した。

【結果および考察】 1. ポリイミド(PI)上に形成された新規無電解めっき膜への適用

このめっき膜は高度な平面性、密着性を有する。断面試料作製では工程全体を見直し、可能な範囲でシンプルにする事を心がけた。TEM 観察メッシュ (3mmφ) に貼り付け可能な 1×3mm に切り出すことで、3mmφへの打ち抜き、埋め込みを省略した。しかし幅 1mm 以下では割れ、剥れが見られた。研磨は、3種類の粒度で 80μm 前後まで行った。ディンプル加工は、りん青銅刃で 20μm 程度まで薄くし、フェルト刃により更に薄く仕上げた。試料は可能な限り薄くする事が望ましいが、ディンプル加工による過剰な薄膜化で、試料薄膜領域の破壊、剥離等が起きた。イオンミリングは、電圧 5~6keV、電流 20~25μA、ビーム角度 3~5 度で行い、穴が開く直前、電圧、ビーム角度を調節して仕上げた。現在までに PI/めっき膜界面付近に、密着性向上に結びつく微細な凹凸のある断面構造写真が得られた。

2. Cu 基板上に形成されたナノダイヤモンド(ND)含有 Ni-P 新規無電解めっき膜への適用

このめっき膜は ND (粒径 5nm) を多量に含有し、潤滑剤を用いずに摩擦係数  $\mu=0.05$  以下という固体超潤滑性を示す。この断面試料作製では、めっき膜の貼り合わせ、イオンミリング工程を、前項試料と同様の処理を行ったが、りん青銅刃を用いたディンプル加工が困難であった。これは、含有 ND が優れた潤滑性、硬度を示すためと考えられる。そこで全てフェルト刃を用いたディンプル加工を行った。作製した断面試料による TEM 観察で、めっき膜部分に 5nm 程度の微粒子の分散がみられる断面構造写真が得られた。

3. 装置のメンテナンス

主にディンプル加工装置、イオンミリング装置のメンテナンスについて種々検討した。

## 化学を専門としない学生・教員を対象とした 化学物質に関する環境安全教育の取り組み

富山高等専門学校 技術室 戸出 久栄

【目的】 最近、化学工場の火災や爆発事故のニュースを耳にする。企業や大学等でも安全教育を行っているが、事故をゼロにすることは、残念ながらできない。富山高専においても、化学薬品の事故がおこっており、安全教育の必要性を強く感じている。一般的に化学反応は、何が起きているか分かりにくいという特性や、拡散しても分かりにくいという性質がある。したがって、適切な実験設備のもと実験を行うことはもとより、ひとりひとりが注意を払うべきものである。

また我々技術職員は、学生が安全に実験・研究を行うためのサポートだけでなく、学生自身が高い環境安全意識をもつことができるよう指導していく必要がある。化学物質を扱う上で、環境配慮姿勢を身につけることや危険を予知、回避するための判断力をもつ人材の育成を目的としている環境安全教育は、社会に技術者、科学者を輩出する教育機関にとって極めて重要であると考えます。

大阪大学の安全衛生管理部に報告された事故に関する調査報告によると、薬品との接触事故を専攻別にみると、化学系は4割を占めているが、それ以外の物理系、生物系を合わせると、6割を占めている。この点に着目し、本校においても、化学系だけでなく、それ以外の学生・教職員に対して、化学薬品に関する環境安全意識の向上を目指して、本取り組みを行ったので報告する。

【方法】 個々の教員がそれぞれ行うのではなく、これからは職員間での環境安全に対する共通認識をもち、実験指導を行っていく。今回は以下の取り組みを行った。

- (1) ヒヤリハット事例収集
- (2) DVD教材（基礎化学実験安全オリエンテーション）の活用
- (3) 外部組織との連携および情報交換
- (4) 学内外の教職員および学生を対象とした環境安全教育セミナーの実施

【結果】 授業の中で、環境安全について考える時間を設けることができた。それに伴い学生らは実験時に保護眼鏡をかけるなどの安全配慮姿勢がみられるようになった。環境安全教育セミナーを実施したが、学生の参加は少なく、大変残念であった。しかしながら、近隣大学からの職員の参加があり、ネットワークづくり等もできた。

次回のセミナーからは、安全衛生委員会からの推薦を受けることができたことなど、学内での本取り組みへの理解が得られてきているものと考えている。環境安全教育への取り組みは、すぐに結果はでないが、継続していくことで少しずつ効果があがることが期待される。

## LC/MS/MSによる アルギニン特異的 ADP-リボシル化ペプチドの同定

島根大学 医学部 代謝生化学 長子 晴美

### 【目的】

多くのタンパク質は翻訳後修飾を受けることによってその機能が調節されている。“アルギニン特異的 ADP-リボシル化”は翻訳後修飾のひとつで、タンパク質のアルギニン残基に ADP-リボースが結合するものであり、コレラなどの細菌毒素の例がよく知られている。この修飾が真核生物でも重要な役割を果たしている可能性があるが研究は進んでいない。その大きな理由はこの修飾を受ける標的タンパク質を同定することが困難なためである。

4年前の本会で、“アルギニン特異的 ADP-リボシル化”の標的タンパク質を同定するために抗体を作成したことを紹介した。今回、検出されたタンパク質が実際にアルギニン残基に ADP-リボシル化を受けていることを証明する手段として、質量分析計を用いた翻訳後修飾の解析を“アルギニン特異的 ADP-リボシル化”に応用することを試みた。

### 【方法と結果】

- (1) モデルペプチドを酵素によって ADP-リボシル化した後、HPLC により精製修飾モデルペプチドを得た。
- (2) LC-ESI/トリプル四重極型 MS/MS を用いて修飾および未修飾モデルペプチドを解析し、修飾部分に特異的な解裂パターンとして、ADP-リボシル-カルボジイミドとオルニチンが生じることを発見した。
- (3) ADP-リボシル-カルボジイミドをマーカーイオンにしたプリカーサーイオンスキューン法により、ペプチド混合物から修飾ペプチドのみを選択する条件を決定した。
- (4) 修飾ペプチドの偽-MS<sup>3</sup>を行うことにより、修飾部位とアミノ酸配列を決定する方法を開発した。

### 【考察】

LC-ESI/トリプル四重極型 MS/MS によって、アルギニン特異的 ADP-リボシル化ペプチドをプリカーサーイオンスキューン法によって特異的に選択する方法、Pseudo-MS<sup>3</sup>によってペプチドのアミノ酸配列および修飾残基を同定する方法を開発した。これらの方法を組み合わせることにより、生体内のアルギニン特異的 ADP-リボシル化タンパク質を同定できると予想される。

## サシバにおける遺伝的多様性と遺伝的構造の解析

岩手大学 技術部農学系技術室 長井 和哉

【目的】サシバ (*Butastur indicus*) は東アジアにのみ生息する中型の猛禽類である。夏季に日本の本州、四国、九州で繁殖するために飛来し、温暖な東南アジアで越冬する。近年の環境変異に伴い生息数が著しく減少しており、2006年に環境省鳥類レッドリストにより絶滅危惧種 (VU) に定められた。早急な保護対策のためにも、本種の遺伝的多様性の調査が必要である。また、本種がどのような地域個体とつがいを形成するのかといった繁殖動態や、それぞれの地域で繁殖する個体群間の遺伝的な交流の有無などについては不明なままである。そこで本研究では、サシバ個体群の遺伝的多様性と、どのような遺伝的構造を有しているのかを調査・推定するために、ミトコンドリア DNA (mtDNA) のコントロール領域の塩基配列を用いて解析を行った。

【方法】解析に用いた材料には、研究協力者から提供を受けた捕獲時の脱落羽毛および繁殖地等での拾得羽毛や卵の殻を用いた。実際には羽毛の羽軸基部という部分や卵の殻に付着している組織から DNA を抽出し、その後の解析に用いた。材料の中にはサンプル提供者が長年リビングに飾っていた羽根や、糞組織、干乾びてぼろぼろになった卵の殻組織など保管状況が極めて悪いものも含まれており、折角提供いただいたサンプルであるため失敗できないという思いから、効率よく DNA が抽出できるように既存の DNA 抽出法を若干改良し、抽出後は RNase A, Pro K,  $\alpha$ -アミラーゼ等で処理して精製した。

DNA は抽出後、PCR 反応を行い、本種の mtDNA コントロール領域を増幅させた。まずは本種の mtDNA コントロール領域とその周辺にあるいくつかの遺伝子の全塩基配列約 5kb を決定し、その後、目的のコントロール領域を増幅させるプライマーを設計した。シーケンスはダイレクトシーケンス法で行った。

【結果】本種の mtDNA のコントロール領域付近の遺伝子の並び方は、報告例のある他の猛禽類と同じであることが分かった。また、得られた結果から、他の希少猛禽類と比較すると、本種の遺伝的多様性は十分に高いことが示された。また、得られたそれぞれの塩基配列を用いて系統解析、ネットワーク解析を行ったところ、解析した個体数や地域による偏りはあるものの、全国的に二つの集団に分かれる傾向があることが示唆された。

【考察】現時点では、本種の遺伝的多様性は低下してはいなく、種を保つのに十分であると思われる。サンプル数が少ないため、今後は解析数を増やすことが必要である。

## 共焦点レーザー走査顕微鏡による生体親和性色素の評価

宮崎大学 工学部 教育研究支援技術センター 松本 朋子

【目的】 生体試料と薬剤との相互作用は、新薬の開発および生体现象の解明等において重要である。生体試料の観察には共焦点レーザー走査型顕微鏡(Confocal Laser Scanning Microscope: CLSM)が従来より汎用的に使用されている。そこで、私は薬剤の生体親和性評価として、CLSMを用いる吸光光度定量分析法の開発を目的に研究を行った。

【方法】 (1) 測定装置：本研究に用いた CLSM では、本体(OLYMPUS 製 FV-300)に分光器(Seki Technotron 製、STFL 250)をガラスファイバーでつなぎ、画像解析だけでなく蛍光および吸収スペクトルの測定ができる。吸光光度分析では顕微鏡の透過照明装置のハロゲンランプを光源として用い、試料の微小領域を透過した透過光は対物レンズで集光され、分光器および検出器(PMT)で検出されて吸収スペクトルを与える。

(2) 実験：モデル色素として、水溶性のアルキルオキシ(メトキシ)テトラフェニルポルフィリナトアンチモン臭化物錯体(1)を用いた。1の水溶液(100  $\mu$ l; 10  $\mu$ M)を酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)菌体水溶液(900  $\mu$ l;  $1 \times 10^5$  cells/ml)へ加え、さらに菌体のブラウン運動を止めるために寒天溶液(1 wt%、1000  $\mu$ l)を加えた試料を調製した。厚さ 50  $\mu$ m の口の字型シリコン製スペーサーをスライドガラス上に準備し、そこへ適当量の試料溶液を滴下し、カバーガラスで覆い CLSM のステージ上に固定した。倍率 60 倍の対物レンズを用いた場合、測定範囲の直径は 1.42  $\mu$ m となり、菌体の平均直径 4.32  $\mu$ m に比べて十分小さい値になっている。CLSM によって吸光度および菌体直径を計測して、Lambert-Beer 式にしたがい、吸着した 1 の濃度 ( $[1]_{ad}$ ) を見積った。

【結果】 1 のジオキサンおよび水に対する溶解度  $C_0$  および  $C_w$  を測定し、それぞれ親油性および親水性のパラメーターとした。その結果、 $[1]_{ad}$  は  $C_w$  よりも  $C_0$  と良い相関を示した。このことは、1 の脂溶性が高まるほど、脂溶性の酵母の細胞壁を通過しやすく、菌体内に多く吸着することを示している。1 は菌体外濃度 10  $\mu$ M に対して、22.5~54.2 mM の菌体内への吸着濃度を示し、高い生体親和性が示されたことから、殺菌剤、PDT などの新しい用途開発への展開が期待できる(文献 1)。

【考察】 CLSM を用いる吸光度分析法は、菌体中の色素の定量分析に有効な手段であることが確認された。

### 【参考文献・資料】

- 1) 松本朋子, 中原卓郎, 松本仁, 白上努, 保田昌秀, 分析化学 **58**, 357 (2009).

## ホルマリン固定臓器に含有するホルムアルデヒド低減法の開発

鳥取大学 医学部 技術部 杉原 弘貢

【目的】病理解剖や手術等で摘出された臓器は10%～20%ホルマリン液で固定し保存される。検索後に残った臓器は最終的に焼却されるが、焼却前には臓器を乾燥させる必要がある。固定液中から直ちに引き上げた臓器は、乾燥時に大量のホルムアルデヒドが発散するため作業環境の悪化を招き、作業従事者の健康を害することが懸念される。この問題を解決するため、臓器に含有するホルムアルデヒドを低減する方法の開発を試みた。

【方法】ホルムアルデヒドを化学的に変化させる薬品として、水酸化カルシウムおよび炭酸アンモニウムの水溶液にホルマリン固定された臓器を浸漬させ、臓器に含有するホルムアルデヒドの低減を図るための簡易的な実験を行った。

- ① 各水溶液中にホルマリン固定された臓器を浸漬させたのち、この実験のために作製した装置内に臓器を一定の時間静置した。
- ② ホルムアルデヒドの低減効果を判定するために、水溶液に浸漬しない臓器と比較した。
- ③ 臓器を取り出し、実験装置内のホルムアルデヒド濃度をデジタル式測定器（ホルムアルデメータ htV：ジェイエムエス社）および検知管式測定器（GV-100S：ガステック社）を用いて測定した。

【結果】ホルマリン固定された臓器を水酸化カルシウムまたは炭酸アンモニウムの水溶液に浸漬することで、臓器に含有するホルムアルデヒドの低減が認められた。

【考察】水酸化カルシウムは水に完全に溶解せず多量の沈殿物が残り、炭酸アンモニウムは強いアンモニア臭を発するなどの問題があるため、使用方法を工夫する必要があると考える。

## 磁気式モーショントキャプチャを用いた手指の 高精度 CG アニメーション生成法の検討

秋田大学 工学資源学部 電気電子工学科 齋藤 正親

### 【目的】

伝統芸能や熟練技術者の技を保存・継承する方法の一つとしてモーショントキャプチャが利用されている。計測した手指動作を 3DCG アニメーションとして再現することで、学習者は目の前に教師がいなくとも手指の動かし方を視点を自由に変えて立体的に観察できるようになり、技能の習得効率を向上できると期待できる。しかし、従来の手法では装着者本人の手指とは異なる CG モデルにモーショントキャプチャした動作データを当てはめるため、計測した動作を正確に再現することはできなかった。手指動作を正確に再現するためにはモーショントキャプチャ装着者の手指の正確な CG モデルが必要になるが、皮膚の上から指骨の長さをノギス等で実測することは困難であり、X 線を用いる方法は被爆の問題があり使用に制限を受けてしまう。そこで本研究では、モーショントキャプチャデータから関節位置を推定することで装着者の手指の正確なモデルを作成し、手指の巧緻動作を再現できる精度を得られるか検証した。

### 【方法】

手指用磁気式モーショントキャプチャ装置は片手につき 16 個のレシーバと 1 個のトランスミッタから構成されており、手指に装着した各レシーバの位置及び姿勢の 6 自由度のデータを最大 240Hz で計測できる。皮膚のたわみによる測定精度の低下を抑えるため、各レシーバを指骨の中央部に装着した。関節位置は関節の上位と下位に位置するレシーバと関節とが満たすべき関係から最小二乗法で求めた。また、装置の制約から計測していない中手骨の姿勢を推定した関節位置を用いて算出した。

### 【結果】

再現精度は再現した指先位置で評価した。再現した手指のモデルの指先位置を指先に装着したレシーバの位置と重なるように推定し、指先位置とレシーバの位置の距離を推定誤差とした。本手法により指合わせをする動作を再現した場合、親指を除いて 3mm 以下の精度で再現することができた。



## 線虫の行動計測 —液中運動への応用—

岩手大学 技術部 工学系技術室 計測技術分野 星 勝徳

【目的】線虫 *C.elegans* の行動記録と解析を行っている。レスキュー種の行動記録前に、レスキュー具合を簡単にテストできる方法が欲しいと思い、液中での運動を観察することにした。観察のため、従来のアガー上での運動記録・解析の手法を応用した解析システムの構築を目指し検討を行っている。

【従来の計測方法】*C.elegans* は土壌線虫なので運動は本来三次元であるが、行動実験は寒天上で行うため、情報は二次元となる。解析のポイントは線虫だけに線化することである。寒天上での方法を次の通り。(1)行動の記録：ズーム式の顕微鏡に CCD カメラを付け、映像を VTR に録画する。倍率は 1.5～3 倍。録画時は線虫が画面から出ないように電動ステージをパソコンから制御する。実験後 VTR を再生し 3 フレーム/秒で取り込む。(2)線データ化：取り込んだ画像を 2 値化し、虫領域を細線化する。得られた線の両端を画像間で関係付けし、時間に沿って端点の関係を維持する。(3)移動方向：線上の midpoint に対する 2 端点の移動方向から虫の移動方向を決める。(4)頭/尾割当：2 値領域の端点周囲の形状、端点の運動量、移動方向の 3 点から両端点に頭と尾を割り振る。(5)解析：寒天上の運動は、(4)までで得られた両端点と midpoint の情報から運動状態、運動方向、速度、軌跡などの二次情報を得え、これに実験条件を合わせて、解析を行う (三次情報)。

【液中運動への適応結果】既存の実験装置で取得実験を行った。その結果、次のことが判った。(i)運動が早い。3 フレーム/秒の画像では日齢の進んだ虫で実験する必要がある。(ii)液中では透明度が高くなる。咽頭後部からしか 2 値化できなかったが、それでも野生種-変異種-レスキュー種の運動比較は可能と思われる。(iii)液中では運動が 3 次元になる。液体を薄くアガー上に広げることで 2 次元的な運動が多くし、その部分だけを利用すれば、従来の手法がそのまま使える。(iv)液中では体の向きは無視できる。(v)液中でも後退するようだ。

【考察】行動解析では 30 分から 1 時間の記録を必要とした。液中運動なら数秒で済む。運動そのものの解析ではなく、野生種または変異種との差が表せれば十分であると考え、システムの構築は容易であろう。また、液中運動から得られたヒントが、従来の行動解析に新たなアイデアを提供してくれそうだ。

## 【温度刺激チャンバーの作製】 －アフリカツメガエル卵母細胞の膜電流測定用－

生理学研究所 技術課 福田 直美、佐治 俊幸  
生理学研究所 細胞生理部門，齋藤 茂、曾我部 隆彰

【目的】 生物にとって、外界の温度を感じ適切に対応することは生命維持・種の保存という観点から非常に重要である。哺乳動物は体温を一定に保つために代謝を変動させて熱産生量を調節し、昆虫は生存に適した温度を求めての移動や侵害的な温度からの回避、産卵時期を変化させるなどの行動をとる。近年、環境温の感知に関わる温度センサー分子として、温度感受性 TRP チャンネルが同定され、生理機能が明らかにされつつある。哺乳類では詳細な活性化温度閾値の解析が進められてきたが、昆虫では TRP チャンネルの分子レベルの解析はこれまでほとんど行われてこなかった。解析の遅れは、解析手法が確立されていないことが大きな要因となっている。季節や環境温をセンスする昆虫の温度感受性チャンネルは、多くが室温付近に活性化閾値を持つことが予想されている。従来のチャンネル研究は哺乳類由来の培養細胞を発現系に用いてきたが、培養温度である 37℃では昆虫 TRP チャンネルの活性化温度閾値を大幅に越えていると予想される。昆虫由来の培養細胞では培養温度条件はクリアできるが、当研究室の準備実験で細胞自身に温度応答性があるなど温度刺激実験に不適な面があることを確認している。そこでアフリカツメガエル卵母細胞での強制発現系を用いることを検討している。この系は培養温度が 16℃であり、電気生理実験の手法も確立している。さらに、細胞自身に温度応答性電流がないことが明らかになっている。問題となるのはよく使用されるヒト由来の HEK293 細胞が直径 20  $\mu$ m 程度の平たい細胞であるのに対して、卵母細胞は直径 1mm の球状で大きいため、通常の還流システムでは還流液の上流と下流で温度差を生じて全体の温度を均一に変化させることが難しく、正確な活性化温度閾値を求めることができないという点である。そこで、アフリカツメガエル卵母細胞に任意の温度を均一に負荷できるチャンバーの作製を試みた。

### 【方法】

チャンバーの材質； 熱伝導がよいステンレスを使用。測定部は絶縁コートした。

チャンバー形状； 内容積を減らし内液温度が速やかに均一かつリニアに変化するよう配慮した。また、電極が設置しやすいような形状を工夫した。

温度制御； チャンバーの測定部外周に温度コントロール用還流液を流すことで行う。

(還流液は外部に用意した冷却・加温水の混合により温度コントロールする)

温度制御の評価； チャンバー内に電極型の温度プローブを設置して行った。

【結果・考察】 チャンバーの温度コントロール用灌流液を流すパイプの太さや形状を工夫することで、チャンバー内液温度の変化速度を速く、また到達温度を高くすることができた。今後は、還流システム全体を工夫することで、常に同じ温度変化を与えられるようにしたい。

## 神経トレーサーを用いた マウス大脳基底核からの出力経路の解析

生理学研究所 技術課 石原 博美

【目的】脳における神経細胞の活動を電気生理学的に記録する為に、スライスパッチクランプ法が用いられるが、実験に使用される脳スライスの厚さは約 0.3 mm 程度と薄く、脳スライス内でシナプス応答が記録出来る範囲は限られている。離れた神経核の神経細胞とそれらを結ぶ軸索を保つ脳スライスを作製するには、軸索が切れない方向でスライスを作製する必要がある。そのためには、詳細な神経線維の走行を知る事が非常に重要になる。

出向先の研究部門では、大脳基底核から視床への出力を電気生理学的に調べているが、マウスにおける大脳基底核から視床への軸索走行が明らかになっていない為に、両者を結ぶ軸索を保った脳スライスを作成する事は困難である。大脳基底核からの出力経路を解剖学的に調べる事で、電気生理学実験に有用な、軸索を保った脳スライスを作成出来るものと考えている。そこで、順行性および逆行性のトレーサーを用いる事で、大脳基底核からの出力経路を明らかにする事を目的とする。

【方法】① Adult C57BL/6 マウス (23g~30g 程度) にイヤーパーを取り付け、Bregma と Lambda が水平になる様に脳定位固定装置に固定する。頭蓋骨に穴を空け、そこからガラス電極 (先端直径 30  $\mu\text{m}$  程度) を挿入し、黒質に 10% BDA (MW:10,000) を圧力注入 (0.15  $\mu\text{l}$ ~0.2  $\mu\text{l}$ ) または電気泳動的 (10  $\mu\text{A}$ (7sec ON / 7sec OFF) で 30 min) に注入する。術後、頭部をデンタルセメントで埋め、飼育室に戻す。② 1 週間後、4 % PFA/0.1M PB でマウスを灌流固定し得られた脳ブロックを、ビブラトームを用いて矢状断または水平断で 100  $\mu\text{m}$  ずつ薄切する。③ ABC 法を用い、ニッケルで増感した DAB で BDA を発色させ、顕微鏡で軸索の走行を確認する。

【結果および考察】黒質に順行性トレーサーの BDA を圧力注入し、矢状断と水平断で軸索の見え方を比較したところ、視床 VM 核に投射する軸索は水平断の方がより多く観察された。また、黒質からの投射先である視床 VM 核内では、ブートン状の形態が見られ、順行性に投射している様子が観察された。一般的に、BDA は順行性トレーサーとして知られているが、今回の実験においては逆行性に輸送されているものも多く観察された。黒質網様部には多くの核から入力を受ける事から、数多くの軸索が観察され、BDA を圧力注入したものは軸索を追跡する事が難しかった。しかし、BDA を電気泳動的に注入したところ、逆行性に標識された軸索も観察されたが、全体の軸索数は減り、一本一本の軸索を追跡する事が可能なレベルになった。今回、黒質から VM 核内への投射において主に 2 つの経路が観察されたが、まだ軸索の数が多く詳細は不明である。そこで、軸索数を減らし、黒質から VM 核内への投射に部位特異性が見られるか等の詳細な検討を行いたいと考えている。

## 2光子 *in vivo* イメージングへの応用を指向した 骨細胞染色法の開発

生理学研究所 技術課 吉友 美樹

日本のような高齢化社会においては、QOLの維持の大きな障害として、骨粗鬆症などの老化による骨疾患の急激な増加が問題視されてきており、このような骨疾患に対し新たな治療法の開発や骨細胞再生医療などへの早急な対応が求められている。その為、骨組織細胞の機能を解明することは、非常に重要な課題と言える。これまで、骨芽細胞や破骨細胞に関する研究は、細胞や組織切片の培養系を用いて盛んに行われてきた。一方、骨細胞は、骨組織の中に埋まっているため、細胞自体を観察する技術がこれまで全く無く、死んだ個体から取り出した標本や、骨密度や骨重量の計測以外ほとんど解明が進んでいなかった。

さて近年、革新的光学系である2光子励起レーザー顕微鏡（以下、2光子顕微鏡と略す）が開発され、厚みのある生体組織、“生きたままの状態”で生体の奥深くまでの蛍光観察が可能となってきた。当所属機関においては、2光子顕微鏡を用いてマウス大脳皮質のイメージングを行っており、その際、偶然ではあるが、頭蓋骨の骨細胞が染色観察可能であるらしいことを発見した。これは、骨の奥深くに存在する骨細胞でも生きたまま観察できる可能性があることを意味する。

そこで本研究では、2光子顕微鏡によるイメージング法を用いた骨細胞の可視化を目的として、蛍光色素投与方法や染色の至適条件の検討を行い、骨細胞染色法の開発を試みることにした。

本課題における主な検討事項は以下の通りである。

- 1) 蛍光色素の選択： これまで、国内外での骨細胞の生体イメージングは殆ど無く、2光子励起法で観察可能な蛍光色素の選択が重要な課題にある。先に、Sulforhodamine101で観察できることは確認しているため、同蛍光物質類似の試薬を試み、最適な蛍光色素を選出する。
- 2) 骨細胞の生体内イメージングのための手術法の開発： 現在、当部門では世界最深部（1mm）の生体組織構造が観察できる。しかし、場合によっては観察するために骨表面を削る必要が出てくる。そこで、電動ドリルの回転及びドリル歯の改良を行い、骨細胞へのダメージを最小限にする最適条件を決定する。
- 3) 長期観察技術の開発： 発達や老化、閉経後における細胞の形態・機能の変化を経時的に観察することを目的として、同じ個体で長期間観察する技術を開発する。観察した細胞を周辺細胞を含めたマッピングを行い、数日～できれば数ヶ月後に同じ骨細胞を繰り返し観察できる技術を構築する。

以上のことをふまえ、今回の報告では、現段階における進捗状況などを報告する。

## Non-RI（非放射性）による代謝解析

生理学研究所 技術課 斉藤 久美子

### 【はじめに】

肥満・糖尿病の原因として、糖や脂質の代謝異常があげられる。肥満・糖尿病の発症過程において各臓器の糖や脂質代謝変化を測定することは、肥満・糖尿病の発症メカニズム、治療法の開発に重要である。現在、糖や脂質の代謝変化を解析するには、放射性化合物(RI)を用いた方法で行なわれている。RIの利用は、特別な実験施設を必要とし、実験の制約も多くある。そこで、non-RIによる糖・脂質代謝測定法の開発を行っている。

本報告では、マウス組織の *in vivo* におけるグルコース取込み速度の測定を non-RI による酵素法を用いて行なう方法と、脂肪酸代謝産物の測定として、脂肪酸合成系の一分子であるアシル CoA の測定法について紹介する。

### 【*in vivo* におけるグルコース取込み速度の測定】

昨年の本研究会において、non-RI 2-デオキシグルコース (2DG) による酵素法を用いた糖代謝測定法の原理と培養細胞 (3T3-L1 adipocyte) におけるインスリン刺激によるグルコース取込み量の測定について報告した。non-RI 2DG をマウスに投与すると、各組織に取り込まれた 2DG は、リン酸化され 2-デオキシグルコース-6-リン酸 (2DG6P) となり、その後は代謝されず組織内に蓄積する。そこで、一定時間後の各組織に蓄積した 2DG6P 量を酵素法により測定し、組織におけるグルコース利用速度を算出する。

### 【脂肪酸代謝産物の測定】

最近の研究で脂肪酸合成系の一分子であるアシル CoA が代謝のみならず脳内において摂食調節に関与することが明らかとなった。この摂食調節の鍵分子であるアシル CoA を non-RI による酵素法で測定する方法について紹介する。試料中のアシル CoA は、アシル CoA オキシダーゼの作用により酸化し、過酸化水素 ( $H_2O_2$ ) を生成する。生成された  $H_2O_2$  をペルオキシダーゼに作用させ、比色定量する。

### 【結果】

*in vivo* におけるグルコース取込み速度の測定は、マウスへ投与する 2DG 量と測定する組織の処理条件を検討することによって、測定が可能となった。アシル CoA の測定は、現在、試料組織の処理方法や酵素反応の基質濃度、酵素量、反応時間の検討を行なっている。

### 【最後に】

これらの方法は、肥満・糖尿病研究、動物を用いた治療薬の開発、スクリーニングに大きな威力を発揮するものと考えられる。



# ポスター発表

## パルスフィールド電気泳動法を用いた出芽酵母リボソーム RNA 遺伝子安定化機構に関わる因子の網羅的探索

国立遺伝学研究所 技術課 坂 季美子

【目的】出芽酵母においてリボソーム RNA 遺伝子 (rDNA) は 12 番染色体上に約 150 コピーが繰り返して存在する。rDNA のコピーは独自の安定化機構によって安定に保たれているが詳細なメカニズムについては不明な点が多い。そこでこの安定化メカニズムの全貌解明を目指し、関与する遺伝子の網羅的同定を行う。

【方法】出芽酵母遺伝子欠損ライブラリー (全 4800 株) の中からパルスフィールド電気泳動法により、12 番染色体のバンドに異常が認められる変異株を探索した。泳動の際、アガロースゲルを 3 枚重ねて一度に大量のサンプルを解析できるよう工夫した。更に rDNA 領域を高感度で検出するためサザンハイブリダイゼーション法も行った。

【結果・考察】これまでに約 1000 株を解析した所、rDNA が 400 コピーに増えている株が 1 株、rDNA の組み換え頻度が上昇している株が 19 株見つかった。上記の方法で rDNA 安定化機構に関わる新規遺伝子の同定及び更にそれらの機能からメカニズムの解明が期待される。

## 自然突然変異率検証の為のゲノム DNA 抽出条件の検討

基礎生物学研究所 技術課 高瀬 洋子

【目的】マウス精子形成過程における遺伝情報複製の正確性を評価するため、Big Blue<sup>®</sup> システム (Agilent 社) の利用を計画した。そこでまず、培養細胞を用いた *in vitro* の系を立ち上げ、突然変異率の検証に必須である  $\lambda$  フェージ作成条件を検討した。

【方法】Big Blue<sup>®</sup> Rat2 fibroblast から SDS-ProK 法でゲノム DNA を抽出し、*in vitro* パッケージングにより  $\lambda$  フェージを得た。パッケージング効率を高めるため、DNA 抽出時の①使用細胞数 ②工程 ③エタ沈時のグリコーゲン添加の効果など種々の条件を検討した。

【結果】①良好な DNA 収量を効率良く得るための、適正な使用細胞数を求めた。②除タンパク及び除塩工程の追加により、抽出された DNA 純度は高まったが収量は減少した。③グリコーゲン添加は DNA 収量を増加させ、かつパッケージングの効率に影響しなかった。

【考察】得られた最適条件を用いた *in vitro* の系を基盤に、今後、*in vivo* での評価系を開発する。作成されるフェージ数を増やして評価系の精度を高めるために、パッケージング効率向上のための更なる条件検討を行う。



## 転写因子 Sox21 の欠損は周期的な脱毛を引き起こす

国立遺伝学研究所 技術課 木曾 誠

【目的】転写因子 Sox21 の解析。性を問わずおこる脱毛や薄毛の原因の一つを解析し、今後の医療の発達に活かされることを希望しています。

【方法】遺伝子が発現するためのスイッチの役割をする転写因子 (Sox21) を働かなくさせたマウス (ノックアウトマウス) を作製し、周期的な脱毛の原因を解析しました。

【結果】このマウスは正常に発毛しますが、生後 15 日ごろから頭部より脱毛が始まり、全身の毛が抜け、完全なヌードマウスになります。しかし再び発毛が起こり、この現象が約 25 日周期で繰返されます。すなわち、発毛・脱毛サイクルは正常に機能していますが、毛を維持するための構造に異常が見られ、次の毛が生えて来るまで毛を維持することが出来ないことが分かりました。この転写因子 Sox21 は毛の最外層を構成するキューティクル層に特異的に発現しており、キューティクルの重要な構成タンパク質であるケラチン遺伝子の発現を制御していることが分かりました。

【参考文献・資料】米国科学誌「PNAS」(2009 年 6 月 9 日号)

## 新規ラット胚性幹細胞 (ES 細胞) の樹立

生理学研究所 技術課 三寶 誠

【目的】これまでラットでは、ES 細胞の樹立が困難であり、ES 細胞を用いたジーンターゲティングが不可能だった。しかし、マウス iPS 細胞樹立の報告にともない、三つのインヒビターを含む培地を使用することによりラット ES 細胞の樹立が可能になった。今回、ジーンターゲティングを目的として行った、ラット ES 細胞の樹立、ラット ES 細胞を用いたキメララットの作製について報告する。

【方法】(1) ラット胚盤胞を採取し、培養および継代を繰り返して ES 細胞を樹立する。(2) ラット胚盤胞へのマイクロインジェクションによりキメララットを作製する。

【結果】(1) 複数のラット ES 細胞株が樹立できた。(2) 複数のラット ES 細胞株でキメララットが作製でき、ES 細胞の生殖系列細胞への分化が確認できた。

【考察】ラット ES 細胞に遺伝子を導入し、相同組換え体を作製する。作製した相同組換え ES 細胞を用いてジーンターゲティングラットを作製する。

## ミヤコグサにおける形質転換体作製迅速化の試み

基礎生物学研究所 技術課 田中 幸子

【目的】 ミヤコグサはマメ科のモデル植物として広く実験に用いられており、遺伝子導入による形質転換体が安定して得られている。しかし、形質転換体作出にかかる期間が非常に長いことが問題である。本発表では植物栽培法と形質転換法において迅速化を試みたので、報告する。

【方法と結果】 1) 植物栽培法 - 幼植物から種子結実までの栽培期間の短縮には開花を早める必要があり、蛍光灯を植物に近づけることによって開花、種子結実を促進できた。

2) 形質転換法 - 従来法の胚軸に変わり、未熟子葉より生じた未熟胚にアグロバクテリウムを感染させて形質転換を行なった。未熟胚より形質転換体を作製することには成功したが、作出までの期間を短縮することができなかった。

【考察】 栽培期間の短縮に成功したが、形質転換体幼植物作出期間については短縮することができなかった。その問題点等について報告する。

【参考文献・資料】「細胞工学」別冊 改訂3版 モデル植物の実験プロトコール

## 衝撃波による植物細胞破壊現象の ヒノキチオール抽出技術への応用

熊本大学 衝撃・極限環境研究センター 嶽本 あゆみ

【目的】 衝撃波は伝播媒体に密度変化が存在すると、伝播の過程で衝撃波である透過波と膨張波である反射波とに分かれる。反射波による引っ張り力が引き起こす高速破壊現象はスポーリング破壊と呼ばれる。この現象は、植物の細胞壁や組織を破壊する。本研究の目的は、有用な生理活性をもつ芳香族化合物ヒノキチオールを多く含む、アオモリヒバの精油を、衝撃波負荷により高効率に抽出する技術の確立にある。

【方法】 ひも状爆薬である導爆線を用いて、ヒバオガクズにおよそ 120MPa の水中衝撃波を複数回負荷し、水蒸気蒸留によって精油を抽出した。

【結果】 抽出効果の向上ならびにフローラルウォーター部分に高い油含有量が確認された。

【考察】 今後は最適な衝撃波負荷条件の検討ならびにフローラルウォーターに含まれる油の分離も検討の必要がある。

## MALDI-TOF MS を用いた微生物種同定の基礎検討

基礎生物学研究所 技術課 牧野 由美子

【目的】 未知の微生物種の同定には、生化学的試験やリボゾーム DNA シーケンシングなどが多く用いられる。近年、MALDI-TOF MS を用いた、微生物に含まれる主なタンパク質の質量値とデータベースとの比較による同定が可能となった。測定は、コロニーからの抽出物、或いはコロニーそのものにイオン化促進剤であるマトリックスを加えて行われる。

今回は、実際に微生物の違いにより固有な質量値のピークリストが得られるのか、そしてコロニーのまま用いても判別可能なスペクトルが得られるのかどうか検討を行った。

【方法】 微生物として、大腸菌、アグロバクテリウム、根粒菌の 3 種類を用いた。

(1) コロニーからタンパク質を抽出し、スペクトルが種固有であるかを比較した。

(2) コロニーを直接サンプルプレートに塗布し、そこに加えるマトリックスの溶媒組成を変えるなどして、良好なスペクトルが得られる条件を検討した。

【結果】 微生物種固有のピークリストが得られることが確認できた。また、マトリックスの溶媒は、2.5% TFA 70~80% CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O で良好なスペクトルが得られた。

## 16BAC/SDS-PAGE を用いた髄鞘に存在する糖蛋白質の解析

生理学研究所 技術課 小池 崇子

【目的】糖鎖は細胞表面などに存在し、細胞間相互作用や情報伝達に重要な役割を果たす。しかし、髄鞘に存在する糖鎖に関する知見は乏しい。そこで、髄鞘に存在する糖蛋白質を網羅的に解析することを目的とし、16BAC/SDS-PAGE を用いて糖蛋白質解析を行った。

【方法】髄鞘に含まれる糖蛋白質は疎水性に富むため可溶化が難しい。そこで陽イオン性界面活性剤 benzyltrimethyl-*n*-hexadecyl-ammonium chloride (16-BAC) を使用して可溶化し、特殊な電気泳動で分離した後、糖蛋白質の解析を行った。

【結果】電気泳動によって髄鞘蛋白質のスポットを得ることができた。また、泳動後のゲルからペプチドと糖鎖を抽出し、質量分析と HPLC を用いた糖鎖解析を行った。

【考察】今後は Pro-Q エメラルド染色や PAS 染色を用いることで糖蛋白質を検出し、網羅的に解析を進めていく予定である。

【参考文献・資料】 Yamagichi et al., J Neurosci Res, 86, 755-775, 2008

## プロテオミクスにおける試料調製の検討

基礎生物学研究所 技術課 壁谷 幸子

【目的】プロテオミクスは、細胞内タンパク質の網羅的発現、動態、相互作用などの解析を通して、細胞内の機能情報ネットワークを解明するための手法である。一般的に、細胞から抽出したタンパク質を精製し質量分析計にかけるが、用いる材料や標的タンパク質の性質に適した試料調製が必要である。今回、ヒメツリガネゴケから核タンパク質 X 複合体を精製するための試料調製について検討を行ったので報告する。

【方法】タンパク質 X の C 末に GFP を融合したタンパク質を発現するヒメツリガネゴケ原糸体を材料とした。原糸体を液体窒素中で粉碎し、溶解バッファーを加え、タンパク質を抽出した。その後、タンパク質 X 複合体を濃縮するため、核分画と免疫沈降について検討を行った。

【結果・考察】標的タンパク質のロスを最小限に抑えるため、分画過程を減らしたところ、葉緑体が幾分含まれるものの、核タンパク質を濃縮することができた。また、免疫沈降に磁性ビーズを用いる方がアガロースビーズより効率が良いことが分かった。両方法を組み合わせることにより、さらにタンパク質 X 複合体の精製度が高まると考えられる。今後は、質量分析にむけて、ケラチンなどのコンタミを最小限に抑えるための工夫も検討していきたい。

## recombinant Ca<sup>2+</sup>-ATPase の精製と結晶化

東京大学 分子細胞生物学研究所 生体超高分子研究分野 杖田 淳子

【目的】筋小胞体 Ca<sup>2+</sup>-ATPase は、ATP の加水分解によるエネルギーを用いて細胞質から筋小胞体内腔へと Ca<sup>2+</sup>を輸送し、逆方向にプロトンを送るイオンポンプであり、酵素反応サイクル中に分子全体にわたる非常に大きな構造変化を起こす。構造変化の鍵となるアミノ酸残基の変異体について立体構造を決定することで、天然の蛋白質では不可能な反応中間体の構造解析を行なうことを目的として、組換え体の精製と結晶化を行っている。

【方法】アデノウィルス-COS1 細胞系で発現した Ca<sup>2+</sup>-ATPase をアフィニティクロマトグラフィーにより精製し、得られた標品を用いて結晶化を行なった。以前からあるキャピラリーを用いた透析法をより少量で再現良く行なえるよう結晶化法を改良した。

【結果】筋小胞体から精製した native Ca<sup>2+</sup>-ATPase では、上記の方法で構造解析に十分な質の結晶が得られたが、組換え体では微結晶からの成長が進んでいない。

【考察】まだキャピラリー法に最適の条件(蛋白:脂質:界面活性剤比、PEG 濃度等)を決定できていないので今後はその改良を行う。

## オーファン代謝型受容体 Prrt3 の マウス脳と心臓における発現と共発現蛋白の解析

生理学研究所 技術課 山本 友美

【目的】 Prrt3 は、長い細胞外領域と 7 回膜貫通構造を有し、family C の代謝型受容体と想定されるが、そのリガンドは未知である。機能に関する手掛かりを得るために、マウス脳および心臓における発現パターンの解析と、共発現蛋白の解析を行った。【方法】免疫組織・細胞化学実験と *in vitro* 発現系を用いた免疫共沈実験を行った。【結果および考察】マウス小脳では、プルキンエ細胞直下の、バスケット細胞シナプス前終末とアストロサイトにより構成される pinceau と呼ばれる領域に弱い発現が見られた。また、正中隆起の表層の下垂体隆起葉と称される部位に強い発現がみられ、概日リズム形成に重要なメラトニン受容体と共局在していた。心臓では、心室筋の縦・横の境界部に明確な発現が認められ、ここでギャップジャンクションを形成する Connexin 43 と共局在していた。また、両者は免疫共沈することが確認された。【考察】今後、アフリカツメガエル卵母細胞発現系を用いてリガンドの探索を行うと共に、共発現蛋白による Prrt3 の機能修飾に関する解析を行う。[連絡先] TEL: 0564-55-7824, FAX: 0564-55-7825, e-mail: tomomi@nips.ac.jp

## フローサイトメトリー解析におけるインキュベーション 顕微鏡の有用性について

浜松医科大学 実験実習機器センター 柴田 清

【目的】 接着細胞のフローサイトメトリー解析 (FCM) は、シャーレなどから一度剥離してから測定するため本来の活性を損なっている可能性がある。今回、接着細胞にアポトーシスを誘導しフローサイトメトリー解析とインキュベーション顕微鏡 (IM) を比較し相違の有無について検討したので報告する。

【方法】 接着細胞として対数増殖期にある Hela 細胞を使用した。実験は、 $5 \times 10^5$  個/ml の濃度に調節して使用した。Hela 細胞に最終濃度  $10 \mu\text{M}$  カンプトテシン (CPT) を投与した。

【結果】 FCM と IM の比較により、上清中の細胞とシャーレ上の細胞に分けて解析したことでアポトーシスのアネキシン陽性細胞の変化が詳細に把握できた。IM で観察される膜変性を起こした後の細胞は、アネキシンによる染色性とクロマチンの凝縮から明らかにアポトーシス細胞と定義できた。インキュベーション顕微鏡によるタイムラプス画像によって染色なしにアポトーシスを判定できる可能性が高いことが示唆された。

## GABA 作動性ニューロンの免疫染色

生理学研究所 技術課 山口 登

【目的】GABA 作動性の抑制性ニューロンは興奮性ニューロンに比べ多種多様なタイプが存在し、その同定や機能解明が行われている。ニューロンの同定のためには電気生理学的、形態学的など様々な手法が試みられているが、今回はニューロンに特異的に発現する化学物質（神経ペプチド、カルシウム結合蛋白など）を免疫組織化学的手法による蛍光ラベルし、その解析を行った。

【方法】動物にはラット（8週令、♂）を使用し、灌流固定後、厚さ $8\mu\text{m}$ の切片試料を作成する。その後目的とする化学物質を2重あるいは3重で蛍光ラベルし、発現状況および発現細胞の数を計測した。計測目標の大脳皮質は6層からなる層構造をつくり、各層によりニューロンの機能が異なることが知られている。よって計測は各層ごとに行った。

【結果】今回の方法により、目的の化学物質の蛍光標識ができ、発現の重なり状況などの確認ができた。また層構造を確認できる染色を組み合わせることにより、各層ごとの計測も可能であった。

## レーザー顕微鏡の分解能測定

生理学研究所 技術課 前橋 寛

【目的】ベクトルビームとパルスレーザー（波長 $830\text{nm}$ 、約 $90\text{fs}$ 、 $80\text{MHz}$ ）およびLDレーザー（波長 $473\text{nm}$ ）を用いたレーザー顕微鏡の分解能を比較検討する。ベクトルビームは東北大学佐藤研（<http://satolab.tagen.tohoku.ac.jp/index-j.html>）で研究開発されている発生源ベースのレーザー光である。生理研脳機能・支援センター 多光子顕微鏡室はCREST研究（平成20年度）として、ベクトルビームを市販のレーザー顕微鏡で実現させ、分解能を測定した。

【結果】蛍光ビーズ（Molecular Probes社、PS-Speck™ Microscope Point Source Kit (P7220)）サイズ $0.175 \pm 0.005 \mu\text{m}$ を用いたベクトルビームによるFWHMの計測は理論値に近い値が得られ、十分満足できる結果となった。

【考察】さらに、 $100\text{nm}$ ビーズによる計測を検討しているが、褪色が激しいため、より、輝度の高い、褪色の少ない蛍光ビーズが望まれる。また、Kaleida Graphを使用しないMicrosoft ExcelだけでFWHMの計測できる方法等の検討を考えている。

## 薄切ブロックの保護処理に粘着テープを用いた検討

浜松医科大学 病理学第一講座 加茂 隆春

【目的】薄切後のパラフィンブロック面に粘着テープを貼り、パラフィンで被覆すれば保護される。次の面出しはテープによる効果をみて組織に触れる粘着剤の影響を検討する。

【材料・方法】①・パラフィンブロック：ヒト大腸、乳腺および、食道、胃、大腸、肺、肝のアレイブロック ・面出し：デザインワークテープリムカ® DW-R18 ・ TaKaRa DEXPAT® (DNA Extraction)：大腸、乳腺の腫瘍部 ・濃度測定：Nano Drop®(ND-1000) ・染色：HE染色, Ki-67, p53, CyclinD1, CA19-9, E-Cadherin, HER2, PgR, EMA の免疫染色 ②切片を HE 染色, 免疫染色, 組織面を A, B に分け切片から DNA 抽出, 濃度測定。これをコントロールにして、A に PARAFILM®, A, B に DW-R18 を貼り溶解パラフィンで被覆。2ヶ月後に比較をする。

【結果】テープによる面出しは簡便、免染は略変化なしと非特異もあり、DNA 濃度の低下。

【考察】粘着剤の影響があったと思われ、具体的な改善を検討しなければならない。

【参考文献・資料】MEDICAL TECHNOLOGY 臨床検査学雑誌 免疫組織化学における精度管理. 医歯薬出版. 2009, 37:1253-1284

## 凍結超薄切法における包埋剤の比較

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

【目的】凍結超薄切法の包埋剤としてポリビニールアルコールとメチルセルロースが使用されている。試薬の調製が容易であることから私たちはポリビニールアルコールを使用しているが、ポリビニールアルコールとメチルセルロースの染色性の違いについて同一試料で比較した報告がない。本発表では両者の違いを明らかにするため、肝臓の凍結超薄切を用いて比較・検討した。

【方法】4%パラフォルムアルデヒドで固定した組織を、液化プロパンを冷媒とした急速凍結を実施し、凍結超薄切片を作製した。その後、酢酸ウラン-ポリビニールアルコール、酢酸ウラン-メチルセルロースでそれぞれ染色・包埋を施し、電顕観察を行った。

【結果と考察】ポリビニールアルコールは粘性が低く過度な吸い取りに注意が必要だが、高コントラストで解像度も良い。メチルセルロースは粘性が高く吸い取りは比較的容易であるが、コントラストはやや低い。

## 培養細胞における Correlative Light and Electron Microscopy(CLEM)の条件検討

大阪大学微生物病研究所 中央実験室 大森 弘子

【目的】培養細胞において、蛍光観察した場所と同じ場所（同一の細胞）を電子顕微鏡で観察する。免疫電顕法の欠点を補う方法としても有効である。

【方法】gridded glass bottom dish 上で培養した細胞を固定し、蛍光タンパクをつないだ分子や間接蛍光抗体法によって染色した目的分子の細胞内局在と、その細胞の dish 上の位置を共焦点レーザー顕微鏡 (FV-1000, Olympus) で把握した後、電顕観察用に二次固定、脱水、樹脂置換まで行い、蛍光観察で狙った細胞を樹脂包埋し、超薄切片 (70nm) を作製し電顕観察 (80.0kV, JEM1011, JEOL) した。

【結果】Z 軸上の数点を蛍光観察した像をもとに電顕上で同一細胞を観察することができた。

【考察】CLEM の問題点は、(1)目的分子の局在が  $1 \mu\text{m}$  以下の構造体上である場合や、凝集するなどしてある程度大きい構造体を形成していない場合は、蛍光観察像と電顕観察像を相関させるのが難しいこと、(2)できるだけ連続した切片を取らなければならない、煩雑な作業を必要とすること、(3)電子顕微鏡に CCD カメラ (高額) がない場合、結果を出すまでに非常に時間がかかってしまい、作業効率が悪いこと、である。

【参考文献・資料】小林昇平, 原口徳子: 細胞工学別冊 電子顕微鏡で読み解く生命のなぞ (秀潤社) 2008: 114-120

## 深海性魚類における網膜の構造と眼球サイズについて

浜松医科大学 医学部 総合人間科学 外山 美奈

【目的】深海に達する太陽光はとても微弱である。深海性魚類の網膜では、その微弱光に応答可能な視細胞の構造的適応がなされている。今回我々は、「深海性魚類は、夜間に表層へ移動する日周鉛直行動を行うタイプと行わないタイプに2分される」という生息域の特殊性に注目し、多様な魚種の眼球サイズ及び網膜構造を観察し、生息域との関連を調べた。

【方法】生息環境の異なる深海性魚類をサンプルとし、それぞれの眼球サイズを測定した。またその網膜を電子顕微鏡で観察し、外節のサイズを測定した。

【結果】日周鉛直行動するタイプの方が、しないタイプよりも眼球サイズが大きい。また、外節の最短径は浅い所にも移動する魚類の方が、深い所に留まる魚類よりも短かった。

【考察】深海域に留まる深海性魚類は光受容能を上げるために、視細胞の形を変え視細胞サイズは相対的に大きい。浅い所にも移動する深海性魚類は、眼球を大きくし眼の奥行きを長くし視細胞密度も高い。これは表層域での空間分解能を上げるためと考えられる。



## 次世代 DNA シーケンサーから得られる配列情報の バイオインフォマティクス解析

基礎生物学研究所 技術課 山口 勝司

【目的】次世代 DNA シーケンサーは short read 配列を決定できるシーケンス反応を、並列的におこなうことで、ハイスループットな配列情報を得ることができる DNA シーケンサーである。short read がゆえ、未知な配列の決定には向かない一方で、すでにレファレンスのある既知な配列との比較によって、塩基多型解析、コピーナンバー解析、発現解析など生物学の広範囲な課題に対する様々な解析が達成できる。今回はこれまでに行ってきたシーケンスより得られた配列情報から、次のステップであるバイオインフォマティクス解析を進める中での、基幹手法を紹介し、問題点・対処策および今度の運用政策を挙げ、次世代 DNA シーケンサーに関係する方策をまとめたい。

【方法】現在までに、遺伝子発現解析と変異体のリシーケンスによる置換塩基の検出を行っている。得られた配列情報を元に、用意された解析スクリプトおよび自作の解析スクリプトでバイオインフォマティクス解析を進める。

## 2009 生物情報解析システム更新

基礎生物学研究所 技術課 西出 浩世、三輪 朋樹、中村 貴宣

【目的】生物情報解析システムは、基礎生物学研究所における生物情報解析を支える基盤設備である。1999 年に導入され 2004 年の更新を経て、今年度レンタル期間満了に伴い二度目の更新を行った。本システムのハードウェア、ソフトウェア構成を紹介する。

【方法】構成は前システムと同様であり (1)共有メモリ型計算サーバ、(2)分散処理用計算機クラスタ、(3)大容量ディスクアレイ装置、(4)端末用 PC、(5)プリンター 群から成る。ディスクアレイ装置の容量は大幅に増やした。計算機クラスタのコア数も 32 から 256 とし、これらを管理するために新しく Rocks Cluster Toolkit を導入した。計算機の進歩は日々目覚ましいため、今回はレンタル期間を一年短縮の四年間とした。各種分子生物学用ソフトウェアに加え、新しく MATLAB を導入した。

【結果】2009 年 12 月より導入作業を行い、2010 年 1 月より運用を開始している。計算速度が大幅に向上し今後の利用が期待される一方、予想外の問題も生じており、これらの対策についても報告する。

## 仮想化環境で構築するネットワークサーバシステム - コスト削減と信頼性向上を図る -

生理学研究所 技術課 吉村 伸明

昨年度から生理学研究所の老朽化したネットワークサーバーを順次更新している。このシステムでは3台のPCとストレージなどの物理的ハードウェアリソースをVMware vSphere 4で仮想化し、論理的なPC、ストレージ、ネットワーク等のリソース上で6台のサーバー環境を構築した。これは設備投資コストと運用コストを下げると同時に、ダウンタイム減少などの信頼性向上にも期待し導入したものである。

ポスターではシステムの構成や仮想化環境の管理方法、技術的な注意点を掲げると共に、コスト削減の効果、ベンチマークによる仮想化環境の速度低下の度合いなど、さまざまな仮想化環境の利点欠点などについても考えてみたい。

## 技術研究会報告集データベースへの集録報告

分子科学研究所 技術課 水谷 文保

【目的】技術職員間の交流を推進するため、全国から自由に参加および発表が可能な技術研究会で、開始以来 35 年間にわたる発表内容をいつでも見られるように、2002 年度よりデータベース化に取り組んできた。生理学・生物学技術研究会報告集は、2006 年度より電子化作業を開始し、今年度集録が完了したので報告する。

【方法】電子情報が存在する 2004 年度より以前の報告集は、冊子のスキャニングを印刷業者に外注した。スキャニング後の PDF file は ACROBAT 9 PRO の OCR テキスト認識機能でテキスト化した。PDF からテキスト情報取りだしには、xdoc2txt を、PDF を論文毎に分割するには ConcatPDF を使用した。氏名、所属、演題情報は、論文上に記載されたものを採取し、特に組織名については統一表記となるように手動で修正を行った。

【結果】現在 8 技術研究会で発表された 5796 件の論文を全文検索して閲覧が可能となった。これまでの技術蓄積より、短時間で高品質なデータが作成できた。

【参考文献】水谷文保、「技術研究会報告集データベースの構築」、生物学技術研究会報告第 17 号

## サーバ認証における UPKI 証明書の利用

名古屋大学 全学技術センター 部局系技術支援室 藤原 富未治

Web 上で SSL(Secure Sockets Layer)を使って暗号化通信を行う場合や電子メールに S/MIME(Secure/Multipurpose Internet Mail Extension)を使用する場合、サーバ側で自ドメインの真正性の証明と通信内容を暗号化するために電子的な証明書を発行する必要がある。しかし、VeriSign に代表される商用認証局の証明書を利用するには最低年間数万円程度の費用負担が発生してしまう。そこで国立情報学研究所と全国の大学・研究機関で推進する CSI(Cyber Science Infrastructur:最先端学術情報基盤)事業の一つである UPKI(University Public Key Infrastructure:全国大学共同電子認証基盤)が発行する無償の証明書を利用し、Web 上で SSL 暗号化通信を行えるようサーバを設定し、Web メール、パスワード変更、メール転送設定などをネットワーク上で行えるよう設定をしたので、UPKI の紹介と合わせて報告する。

## 耳鼻咽喉科検査部門システムの構築 (平衡機能検査への対応)

富山大学 医薬系技術部 (耳鼻咽喉科) 武田 精一

【目的】我々は本学附属病院電子カルテシステム向けに耳鼻咽喉科部門システムの構築を数年前より行っており、今回は平衡機能検査(ENG(電気眼振計)検査による眼振の観察を中心とした検査)への対応について報告する。

【方法】従来から使用している当科開発の ENG 自動分析システムが出力した検査結果やサンプリングした眼振波形の時系列データをサーバに登録し、電子カルテ端末から Web 参照できるようにした。サーバーには MySQL、Apache、スクリプトは PHP で記述した。眼振の観察には速度の時系列変化が重要なため Web サーバー上にて算出し速度波形を表示できるようにした。

【結果】本検査が他検査と共に一元的に管理できると同時に電子カルテ端末から参照が可能となり、インフォームドコンセントの補助ツールとしても有用と思われた。

## web による計算機群の温度モニタの作成

福井大学 工学部 技術部 松山 幸雄

【目的】派遣先の研究室には、複数台のパソコンをネットワーク接続したクラスタ計算機がある。各パソコンには Pentium4 の CPU や、NvidiaGPU(Graphic Processor Unit)搭載のビデオカードの使用でかなり発熱がある。それらのパソコンの温度を監視するモニタを作成したので報告する。

【方法】監視モニタとクラスタ計算機はネットワーク(TCP-IP プロトコル)で接続され、各クラスタ計算機の CPU 等の温度取得するソフトは OS(fedora)に付随の lm-sensors を用いた。その温度データは perl によるプログラム(TCP 通信)でモニタに送られ、モニタはクラスタからのデータを php によるプログラムで受取り、その温度データと RRDtool(Round Robin Database)によるデータベースからのロググラフの画像データを web ブラウザに表示する。

【結果・考察】一定時間毎に web ブラウザからクラスタ計算機へのアクセスによって、温度データとグラフ画像を web ブラウザでモニタすることができた。その結果、クラスタのパソコンによってアイドル状態で検出温度に最大 10℃のバラつきがあることがわかった。

## RTK-GPS を用いた 車載カメラの画像処理に関する研究の環境整備

九州工業大学 情報工学部技術部 荒川 等、石川 正士、  
九州工業大学 大学院情報工学研究院 榎田 修一、延山 英沢

【目的】本研究では、リアルタイムキネマティックGPSから得られる自動車の移動軌跡と車載カメラにより撮影された画像を同期させる手法を提案し、カメラの画像と地図上の位置と運動情報が視覚的に得られるアプリケーションを開発した。

【方法】測定実験では、動画のフレームレートを大きくするために、ビデオキャプチャーとGPSからのデータ取得にそれぞれ独立してノートパソコンを用いた。

【結果】GPSの最高20Hzの測位周期に対して、時間間精度の高い静止画連続撮影モードでは約2.6[fps]、動画撮影モードでは約15[fps]の適切な抽出間隔が得られた。Visual C++、OpenCV、Google Maps API を利用して容易に実験データを検証できる環境の整備ができた。

## エルジロイ線焼き入れ装置の製作

生理学研究所 技術課 小原 正裕

【目的】サルの慢性実験では、硬膜を貫いて電極を脳内に刺入するため、電極には物理的な強度が要求される。エルジロイはこの目的に最適であるが、さらに硬度を増すための焼き入れ装置を製作した。

【方法】これまで研究室で使用していた簡易焼き入れ装置は、エルジロイ線の一端を固定し、下方に重りをぶら下げてその両端に電圧を加えて加熱していたが、焼き入れ後に伸びが生じる等の不具合が生じていたため、アルミ板の両端に絶縁用ベーク板を立て、エルジロイ線を真鍮の丸棒で両方から保持する横引き型に改良した装置を製作した。

【結果】電圧印加時のエルジロイ線の伸びは、予め弱いバネでテンションをかけておき加熱時の伸びを吸収するようにした結果、焼き入れ前後でまったく全長に変化がないエルジロイ線が作製できるようになった。また、電圧印加時間は写真用暗室タイマーで制御することで、焼き入れ状態の再現性が向上した。

## ILC(STF)空洞冷却用クライオスタットの開発 (変位測定)

高エネルギー加速器研究機構  
超伝導低温工学センター 寺島昭男

高エネルギー加速器研究機構では、リニアコライダー(ILC)用超伝導加速空洞システムの開発を目指して超伝導加速空洞試験設備(STF)を建設し、各種試験が行なわれている。そのなかで2台のクライオモジュールを開発・製作した。このクライオモジュールは、超伝導空洞、断熱真空容器、断熱サポートポスト、80K、および5K輻射シールド、RF入力カップラー等からなる。2K冷却される超伝導9連空洞を収納した4台のヘリウム容器は、ヘリウムガスのリターンパイプから懸架する構造となっている。

本報告では、クライオスタット開発の概要と、開発目的の主要課題の一つとして、アライメント誤差の原因となるガスリターンパイプの冷却による変形測定について報告する。

## 実験用としてのLED照明の検討

生理学研究所 技術課 佐治 俊幸

【目的】従来、発光表示部品として使用されてきたLEDが、最近では照明部品として使用されてきている。これは、高輝度な青色発光が可能になり、高輝度白色LEDが発売されたことが原因である。今回は、高輝度LEDのサンプルを入手したため、LEDが実験用照明として使用できるのかを検討した。

【方法】40W蛍光管型LED 3種と60W電球型LED 3種に関し、照度・配光パターン、スペクトル、発熱、消費電力、電気ノイズを計測した。

【結果・考察】LED使用の照明装置は、発熱量、紫外線の発生、消費電力が少ないことが利点である。カタログ値によれば、寿命も従来の照明装置に比べると10倍あると書かれている。欠点としては、照度が必ずしも従来の照明装置と同等ではないこと、電気ノイズが発生すること、価格が高いことである。これらのことから、実験の照明に使用する際には、スペクトルも含めて、これらの差が実験に影響を及ぼさないか確認する必要がある。

## 超音波による水中レーザーアブレーション現象の制御

名古屋大学 全学技術センター 高田 昇治

【目的】レーザーアブレーションは、レーザー治療や電子デバイス作製など多分野で応用されている。この手法を液中で適用すると、ターゲット前面にレーザー誘起プラズマやキャビテーションバブルが形成される。これらは、液体によってその膨張が抑制され、高温・高圧状態の反応場になることが知られており、新規プロセスとして期待されているが、その状態制御が重要である。本研究では、超音波によるこれらの反応場制御を目指している。

【実験】容器内に蒸留水を満たし、その中にターゲットを設置した。容器底部に超音波振動子を取り付け、周波数32kHzの音波を水中上方に向かって伝搬させ、水中に定在波構造の超音波振動場を形成した。定在波の振幅が最大となる位置のターゲット表面にYAGレーザー光を集光照射した。超音波振動場の有無によるターゲット前面の振舞いの違いを調べた。超音波の様々な位相においてレーザーを照射出来るように、電子回路を作製した。その結果、レーザー照射時刻における水中圧力の影響を受けて、レーザー誘起反応場が変化することがわかった。詳細なノウハウや結果については、講演で報告する。

## 半索動物ヒメギボシムシのモデル動物化への試み

広島大学技術センター（臨海実験所勤務） 山口 信雄

【目的】半索動物ヒメギボシムシは進化・発生学上で非常に重要な生物であり、ゲノム解析等の分子生物学的インフラは年々充実しているが、実験室内における飼育やライフサイクルは確立されていない。本研究はモデル動物化の障害となっているインフラ整備を行うとともに、未だ確認されていない幼生変態期における様々な知見を得る事を目的とする。

【方法】(1) 使用した材料や手法：和歌山県産、ハワイ産ヒメギボシムシの採集、受精、飼育 (2) 実験・測定や作製の過程において苦勞・工夫した点：性比の偏り、餌の選定、幼生飼育装置の開発 (3) 既存技術や方法の改良点：幼生飼育装置の変更、餌の変更 (4) 新しい手法や技術、ノウハウ：デジカメによる生きた状態の幼生の動画撮影等

【結果】初めての産卵・放精動画の撮影、餌や飼育法による変態期誘導の確立

【考察】未だ世界で誰も成し得ていない、実験室内でのヒメギボシムシの全ステージ連続観察、ライフサイクル確立のため、さらなる餌の選定が必要と考えられる。

【参考文献・資料】動物系統分類学第8巻下 半索動物 原索動物 (中山書店)

## 真珠貝殻粉末におけるラット体脂肪減少効果の検討

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・  
ヘルスバイオサイエンス研究部 代謝栄養学 原田 永勝

【目的】真珠貝殻粉末は、ミキモト製薬が独自の粉砕法により真珠貝 (*Pinctada fucata*) の内層を超微粉末化 (平均直径  $2.2\mu\text{m}$ ) した製品である。我々は、真珠貝殻粉末の投与がラットの摂食量、体長、筋肉量を変化させずに、体重、内臓脂肪量および血中中性脂肪値を減少させることを見出した。メタボリックシンドローム発症の基盤となる内臓脂肪蓄積型肥満に対して、真珠貝殻粉末の摂取は新しい抑制手段となる可能性が示唆された。

【実験方法】実験には Wistar 系オスラットを用いた。9 週齢の時点で全てのラットについて体重、体長 (鼻先から尾付根まで) を測定、記録した。その後各値が均等になるよう、ラットを 2 群 (コントロール群 5 匹および真珠貝殻粉末投与群 4 匹) に分けた。

【結果】食生活の欧米化や運動不足に伴い肥満者が急増する現代において真珠貝殻粉末は非常に有力な抗肥満 (体脂肪低下) 食品として位置づけられていくものと期待される。

## Class5 インジケーターを用いた AC 滅菌条件の検討

生理学研究所 技術課 廣江 猛

【目的】既存建物を利用し、本館地下に SPF 飼育室を構築したが、器材滅菌は、新館 3 階、本館 2 階 AC を使用する他無く、汚染防止のため、器材を梱包し、運搬する必要があった。AC 滅菌は、1 気圧、121℃、20 分以上で滅菌完了だが、被滅菌物の形状や梱包方法により、条件に満たない場合がある。今回 Class5 インジケーターを用い、滅菌条件の検討を行った。

【方法】新館、本館 AC を使用。飼育機材にインジケーターを設置し、2 重の布袋に包み、121℃20 分の条件で滅菌状態を確認。滅菌未完了の場合は、滅菌条件を変更し検討した。

【結果及び考察】新館 AC は、滅菌完了の条件を満たした。本館 AC は、一部滅菌未完了となり、123℃60 分の条件で滅菌したところ、滅菌完了の条件を満たした。新館 AC と本館 AC の差は、滅菌準備工程の違いにより、蒸気が浸透しやすさが異なるためと考えられた。今回 Class5 インジケーターを用い、AC 滅菌の条件を、出すことが出来た。しかし、蒸気が入りにくい状況が、滅菌未完了となる原因となりえるため、滅菌機への詰め過ぎに注意し、Class1 だけでなく、Class5 インジケーターを適所に使用していく必要性を感じた。

## 形質転換生物研究施設における 飼育規模の拡大時に備えた対策についての検討

基礎生物学研究所 技術課 野口 裕司

【目的】マウスなどの実験動物が多数飼育される当施設では、依然として未使用の飼育室が複数存在するため、今後も更なる飼育規模の拡大が予想される。その場合、ケージや給水瓶などの器材の使用数が増加することから、マウス飼育に関する業務（給水瓶作製、洗浄など）についても増大し、現状のスタッフ数での対応が困難に成り得る。そこで、来る事態に備えた対策の一環として、飲水用の給水瓶作製方法についての効率性を追求した。

【方法】従来の方法では、1 本ずつホースで水を充填していたため、多くの時間を要した。今回、短時間で大量の給水瓶を作製することを目的に、予め 33 本の給水瓶を収納したケースを、水を張ったステンレス製容器に入れる方法に改善した。

【結果】約 1/10 の時間で給水瓶の充填が完了し、大幅な時間短縮に成功した。

【考察】飼育規模の拡大時に備えた抜本的な対策には繋がらず、今後も取り組むべき課題を残した。



## 実験動物施設における除染方法の検討

生理学研究所 技術課 窪田 美津子

【目的】実験動物施設では、実験終了後や感染事故がおこった場合の飼育室内除染処置として、ホルマリン燻蒸が多用されてきた。しかし特定化学物質障害予防規則の改正（平成20年3月1日）により、燻蒸時に使用するホルムアルデヒドの取り扱い基準が第3類物質から第2類物質へ引き上げられ、規制の内容が強化されたため、容易に使用できなくなった。そこでホルマリン燻蒸に代わる除染を実施し、その効果の比較、検討を行った。

【方法】以下の方法で飼育室内の除染を行い、BI および培養検査で効果を確認した。

(1) 過酢酸製剤による噴霧消毒 ミンケア®（ミンテック社）

(2) 除染装置を用いた過酸化水素ガスによる消毒 STERIS VHP M100-MI（ステリス社）

【結果および考察】どちらも除染後のBI（バイオロジカルインジケータ）検査、落下細菌検査、付着細菌検査では、良好な結果が得られた。落下細菌検査では、一部陽性を示したが、これは給気側にHEPAフィルターが設置されていないコンベンショナル飼育室であったため、中性能フィルターで捕捉できなかった細菌が、飼育室に侵入したものと考えられる。

## 名古屋大学環境医学研究所実験動物飼育施設の紹介

名古屋大学 環境医学研究所 近未来環境シミュレーションセンター  
森 ララミ、伊藤 麻里子

当施設では、平成12年度より老朽化してきた施設のハード面の改装に着手し、SPF飼育環境の構築に成功してきた。また平成18-19年度には組織再編により「近未来環境シミュレーションセンター・実験動物飼育施設」を立ち上げ、ソフト面である研究支援組織の強化も図った。SPF飼育環境を構築したことにより、遺伝子組換え動物が導入され始め、現在では施設利用の大部分を遺伝子組換え動物が占めるにいたっている。一方で当施設には、クリーン飼育区域と希少な自然発症疾患モデル動物を維持するコンベンショナル飼育区域も存在する。これらの飼育区域には、SPF飼育環境が構築される前から存在する感染動物が現在も飼育されており、SPF飼育環境は常に感染の危険にさらされている。

このような背景から感染事故を防ぐため、各飼育室の飼養保管マニュアルを作成し利用者に周知を図った。さらに定期的な微生物モニタリング検査の実施や、動線・入室管理を徹底するなどの取り組みにより、SPF飼育区域で感染事故は今日に至るまで起きていない。

本発表では、SPF飼育環境の維持・拡大に努める当施設の現状と今後の課題を紹介する。

## 生理研、行動様式解析室の紹介

生理学研究所 技術課 市川 修

【目的】行動・代謝分子解析センター行動様式解析室は、マウス等の遺伝子改変動物の行動計測解析を行なうためのセンターとして設置された新しい研究施設で、明大寺地区の生理学研究所実験研究棟の2階（以前RIセンター生理研分室が設置されていた区域）にあります。施設運営等は京都大学医学研究科の生体遺伝子機能解析グループの指導を受け、2009年の5月から共同利用実験を開始しました。

【方法】当室に於ける行動解析実験とは、動物の動作・行動、ことにマウスの挙動を観察記録し、遺伝子形態に依存性のある他と異なる挙動（対照群と比較した場合の異常）の異なり具合を定量化して統計的検定をおこない、さらに複数の計測手法により特徴抽出することなどです。当施設の特徴は、二十数種類の行動実験装置による網羅的な行動解析が可能なことで、今回この機会に行動テストバッテリーや記憶学習実験装置類を含む施設の全貌を紹介し、併せて現在の技術職員の業務の一部と問題点、運営の効率化への取り組み等を紹介します。

## RI 実験室の運営面からみたオープンキャンパス、教育訓練及び学生実験についての費用対効果についての検証

京都工芸繊維大学 高度技術支援センター 尾崎 誠

【目的】オープンキャンパス及び学内放射線教育訓練において、来場者及び受講者に対し「放射線」についての教育効果と実験室の運営面からの費用対効果の検証を試みた。

【方法】これまでに3回実施されたオープンキャンパスの一般公衆への放射線知識の啓蒙活動と放射線及びX線利用者教育訓練について、実験室の運営面（予算支出）の推移と来場・受講者への教育効果の係わり合いを総合的にした。検証期間はオープンキャンパスについては実施が2年度前よりの開催であるため、教育訓練及び学生実験についても2年度行い、比較として教育訓練及び学生実験のみの開催であった3年度前との支出について対比を行った。

【結果】オープンキャンパス来場者への啓蒙及び学生実験に関しては十分な啓蒙及び教育効果を得ることができたが、楽しさの面からの効果は不十分であった。

【考察】次年度は実施テーマを弱冠変更しより教育効果を得ることを予定している。

## 小中高等学校の医学生理学における教育実習教材の開発

生理学研究所 技術課 永田 治、戸川 森雄  
生理学研究所 広報展開推進室 小泉 周

【目的】中学校理科第2分野「動物の体のつくりと働き」など、小中学校または高等学校の教育現場において医学生理学分野の実習教材は、倫理や安全性などの制約から現状として皆無に近い。そのため、筋肉の電気信号とその動く仕組みを、安価かつ安全な機材として提供し、容易に体験して学ぶための簡易筋電計を理科教材として開発し、実用化した。

【方法】本装置は、医療器材ではないので波形の出力などの定量的な情報提供は行わない。筋電位の入力を差動アンプで増幅、波形整形したのち、コンパレータによって ON/OFF のデジタル信号に変換して出力することで、圧電ブザーやランプなどを駆動して直接的な視認性を確保した。使用にあたっては理科教材であるため電極の貼り付けとゲインの微調整のみで使用でき、専門知識を必要としない構造となっている。また、部品構成は、一般に市販されている汎用オペアンプなど安価な部品で構成されており、容易に大量生産が可能な設計となっている。安全性は、電源として単三アルカリ乾電池4本で動作するため、感電などの危険性は皆無である。 特許出願中（特願 2009-293658）

## 長岡技術科学大学 生物系の学生実験への取り組み

長岡技術科学大学 学務課 技術班 高柳 充寛

【目的】長岡技術科学大学 生物機能工学課程 学生実験のよりよい実施体制の構築

【方法】3年生の学生実験は定員50人、一学期と二学期の午後週2回で、学生は2-6グループに分けて実験テーマをローテーションする。実験スタッフ(准教授、助教、技術職員、ティーチングアシスタント)側は学期中に2-6回同じ実験をすることになる。

スタッフを3つの実験グループに分け、実験内容の組み替えや学会出席、出張等のスケジュールに対応が容易なように変更した。

【結果】3つの各実験グループの中で日程調整することで学生実験とりまとめの負担が減り、実験テーマも柔軟に設定できるようになった。

グループ内で連携をとり通年のストーリーを設定した実験グループもある。

【考察】スタッフのバランスや実験内容等を考えながらグルーピングその他を今後も調整していく必要がある。

【参考文献・資料】長岡技術科学大学 生物系 学生実験テキスト

## 東北大学農学部生物化学系学生実験の概要 と支援への取り組み

東北大学農学部 農学研究科 技術部 岡田 夏美

【目的】東北大学農学部生物化学系では、学部3年生の授業の大半を占める学生実験について、技術職員を1名配置して対応している。初めて本格的な実験操作を行う学生に対して安全かつ有用な実験実習を構築することを目的とし、下記の取り組みを行った。

【方法】教員との連携の下、不用品の廃棄及び使用機器・器具の分類、機器操作方法の作成と掲示を行った。また、14の実験で使用する機器類を把握し、一部の機器・器具のメンテナンスに関する技術を習得した。

【結果と考察】環境整備・機器メンテナンス技術・学生の指導について、改善の余地が多くある。研究の遂行に必要な生物学実験の知識・技術をより良い形で学生に伝えるために、他大学・他機関での改善例があれば発表の場にてご教授いただきたい。

## 植物生命科学系学生実験-課題と対策-

東北大学 農学研究科 清野 佳子

筆者は東北大学農学部植物生命科学系所属の学部3年が受講する学生実験の補助・指導を主な業務としている。業務について3年が経過しようとしているが、この間にいくつかの課題が見えてきた。

以前は植物生命科学系学生実験を担当する技術職員は配属されておらず、実験室の管理は学生実験担当の教員同士で行っていた。しかし、全体を把握する者がいなかったこともあり、特に実験室の管理については不十分な部分が存在していると感じる。また、実験室管理についての一貫した指導を学生にすることが難しかったのではないかと感じている。

このような問題を解決し使用しやすい実験室にしたいと考え、他の技術職員との交流や研修への参加によって実験室管理に関する情報を収集してきた。本発表では課題と今後の対策について検討していきたい。

## 技術職員間の業務連携について

### -オープンキャンパスにおける動物展示を例に-

東北大学大学院 農学研究科（雨宮地区<sup>1)</sup>，川渡地区<sup>2)</sup>） 西村 順子<sup>1)</sup>，千葉 純子<sup>2)</sup>，伊東 久美子<sup>1)</sup>，佐々木 友紀<sup>2)</sup>，遊佐 文博<sup>2)</sup>，大友 由紀子<sup>1)</sup>

【目的】勤務地および職務内容がちがう農学部配属の技術職員が、お互いにオープンキャンパスの動物展示を担当することによって、業務連携のあり方を模索する。

【方法・結果】企画・運営については雨宮地区が担当し、配置先への要請文の作成、パンフレット内の原稿作成、実行委員会への出席、アルバイト学生の募集と事務手続き、担当日程の調整、担当者との打ち合わせ等に取り組んだ。

当日は川渡地区が主体的に受け持ち、展示する動物（仔ウシと緬羊の2頭）の運搬・展示を行った。じかに動物に触れ合えるような体験コーナーを取り入れたところ、参加者をはじめ関係者に大変好評であった。

【考察】今回の合同参加は、お互いの意識向上にむけての大きな一歩となった。今後さらに両地区の技術職員の交流を図り、セミナーや報告会等を一緒に実施するなど、学内外に向けた積極的な情報発信が必要と考えられる。

## 地域貢献型創造性育成授業を担う

東京工業大学 大学院生命理工学研究科 鈴木 陽子

【内容】東京工業大学生命理工学部では学生の創造性育成のため、5年前から1年生全員を対象に「バイオ創造設計Ⅰ」、3年前から3年生に「バイオ創造設計Ⅱ」という授業を開講した。両者とも、バイオ知識の普及をテーマとしている。さらにこの両授業を基に、小中高校生に授業を実施したりしている。私は、ほぼ単独でこのプログラムの運営に関わっている。

【目標】私自身、この事業の目標を以下の2点においている。

- ①1年、3年の各受講生が満足できる結果を残し、かつ受講生自身も充実感を得られること。
- ②地域住民との交流の窓口となり、本学が地域に愛される大学として認知されること。

【結果】大学からは、この2授業が「創造性育成科目」として認定され、文科省からは3年にわたり特色GPの補助金助成を受けた。担当者からみても良い授業・事業ではないかと感じている。

【課題】今後の課題を検討する時期に来ている。①授業を、学部の基幹授業として教員全員で支える体制づくり。②地域貢献事業のさらなる推進。③技術系職員の職場としての、仕事の確立。

【資料】「事業報告書」（2009年3月） 「第1回高校生バイオコン実施報告」（2008年11月）

## 編集

- 基礎生物學研究所 技術課 技術研究会実行委員会  
大澤 園子、水谷 健、小林 弘子、三輪 朋樹、  
森 友子、壁谷 幸子、林 晃司、山口 勝司、諸岡 直樹
- 生理學研究所 技術課 技術研究会委員会  
山口 登、吉友 美樹、村田 安永、山田 元、石原 博美、  
小原 正裕