

合同開催

第33回 生理学技術研究会

第22回 生物学技術研究会

予稿集

日時:平成23年 2月17日(木)、18日(金)

会場:岡崎コンファレンスセンター

大学共同利用機関法人 自然科学研究機構

生理学研究所 技術課

基礎生物学研究所 技術課

第33回 生理学技術研究会
(同時開催：第7回 奨励研究採択課題技術シンポジウム)
第22回 生物学技術研究会

会期：平成23年2月17日(木)～18日(金)
会場：自然科学研究機構 岡崎コンファレンスセンター
主催：生理学研究所 技術課
〒444-8585 愛知県岡崎市明大寺町字西郷中38
<http://www.nips.ac.jp/giken/>
TEL: (0564) 55-7702, FAX: (0564) 52-7913

基礎生物学研究所 技術課
〒444-8585 愛知県岡崎市明大寺町字西郷中38
<http://techdiv.nibb.ac.jp/>
TEL: (0564) 55-7655, FAX: (0564) 55-7657

プログラム

2月17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: 生理学研究所 神経分化研究部門 吉村 由美子 教授)
14:50 ～ 15:20 記念撮影、休憩
15:20 ～ 16:25 ポスター発表グループI [P1、P3、P5、・・・: 奇数番号]
16:25 ～ 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18日(金) (1階 大会議室、1階 中会議室)

(口演会場1 1階 大会議室)

8:50 ～ 9:00 挨拶、事務連絡
9:00 ～ 10:20 奨励研究採択課題技術シンポジウム (S1～4)
10:20 ～ 10:40 休憩
10:40 ～ 12:00 奨励研究採択課題技術シンポジウム (S5～8)
12:00 ～ 13:00 昼食 (1階 中会議室)
13:00 ～ 14:00 奨励研究採択課題技術シンポジウム (S9～11)
14:00 ～ 14:30 話題提供 (T1)
14:30 ～ 14:40 まとめ

(口演会場2 1階 中会議室)

8:50 ～ 9:00 挨拶、事務連絡
9:00 ～ 10:20 口演発表 (A1～4)
10:20 ～ 10:40 休憩
10:40 ～ 12:00 口演発表 (A5～8)
12:00 ～ 13:00 昼食 (1階 中会議室)
13:00 ～ 14:20 口演発表 (A9～12)
14:20 ～ 14:30 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) 大脳皮質神経回路解析における技術開発と今後の展望
生理学研究所 神経分化研究部門 吉村 由美子 教授 12

奨励研究採択課題技術シンポジウム（1階 大会議室）

- (S1) 脂肪酸合成・脂肪酸化の律速酵素ACCの測定法開発
生理学研究所 技術課 斉藤 久美子 14
- (S2) タンパク質翻訳後修飾解析のための部位特異的モノクローナル抗体の作製
島根大学医学部 生化学講座病態生化学 成相 裕子 15
- (S3) *In situ*ハイブリダイゼーションによる骨変異モデルラットの解析
東海大学 教育・研究支援センター 石川 久美子 16
- (S4) マウスにおける椎間板特異的ノックアウトシステムの開発
東海大学 医学部基礎医学系 分子生命科学 谷河 麻耶 17
- (S5) 新規装置を用いたマウスの行動解析と薬物の評価法の検討
理化学研究所 脳科学総合研究センター 研究基盤センター 本間 千尋 18
- (S6) 無拘束型センサを用いた心拍・呼吸監視システムの開発
秋田大学 工学資源学部 機械工学科 石川 広美 19
- (S7) 組込みシステム開発研修のための脳波でコントロール可能な小型ロボット教材の開発
仙台高等専門学校 教育研究技術支援室 菅原 浩弥 20
- (S8) プログラムの動的三次元グラフィックス化の研究
大阪市立大学 大学運営本部研究支援課 長谷川 浩史 21
- (S9) 微細構造の再現に優れた走査電子顕微鏡用の血管鋳型試料作製方法の改良開発
岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 人体構成学分野 檜崎 正博 22
- (S10) 痛覚伝達を担うラット脊髄ニューロンの形態学的特徴の解析
生理学研究所 技術課 石原 博美 23
- (S11) 「出前おもしろ教員研修」プログラムに基づく小学校理科支援
鳥取大学 工学部技術部 丹松 美由紀 24

話題提供（1階 大会議室）

(T1) 生理研の広報とアウトリーチ

生理学研究所 技術課 永田 治 2 6

一般口演（1階 中会議室）

(A1) 蛍光タンパク質 mCherry 発現細胞のセルソーティング

基礎生物学研究所 技術課 野田 千代 2 8

(A2) 動物と藻類の共生機構とその進化を解き明かすための新たなモデル動物ワミノアの開発

広島大学 自然科学研究支援開発センター 遺伝子実験部門 彦坂 智恵 2 9

(A3) セルソータを用いたマウス精子形成過程細胞群の分取

基礎生物学研究所 技術課 高瀬（水口） 洋子 3 0

(A4) 小規模ミルクプラントにおける北海道 HACCP 認証取得までの取り組み

帯広畜産大学 畜産フィールド科学センター 村上 文朗 3 1

(A5) 組織固定法の再検討（海洋深層水と超音波の利活用）

富山大学 医薬系技術部 病理診断学 八田 秀樹 3 2

(A6) 電子顕微鏡染色における塩化ハフニウム染色法の発展性の検討

愛媛大学 総合科学研究支援センター生物機能解析分野 首藤 政親 3 3

(A7) マウス粥状動脈硬化病変における脂肪染色 en face 解析後のパラフィン切片作成と組織学的解析 -本法による動脈硬化病変形成における MMP-2 の関与の検討-

浜松医科大学 解剖学講座¹⁾, 同 実験実習機器センター²⁾, 名古屋大学医学部 老年科³⁾ 3 4
佐々木 健¹⁾, 葛谷 雅文³⁾, 成 憲武³⁾, 中村 香江³⁾, 鈴木 直美²⁾, 川端 弥生²⁾, 佐藤 康二¹⁾

(A8) 薄切した保存標本における D2-40 抗体を用いた免疫染色性の変化

浜松医科大学 技術部(実験実習機器センター)¹⁾, 同(解剖学講座)²⁾ 3 5
川端 弥生¹⁾, 佐々木 健²⁾, 鈴木 直美¹⁾, 小島 俊男¹⁾

(A9) 非密封の放射性同位元素の使用施設の廃止について

基礎生物学研究所 技術課 松田 淑美 3 6

(A10) RI 施設の法改正に対する対応

九州工業大学情報工学部 楠本 朋一郎 3 7

(A11) 次世代 DNA シーケンサーを用いたシロイヌナズナ変異体の迅速な原因遺伝子同定法の確立に向けて

基礎生物学研究所 技術課 山口 勝司 3 8

(A12) 実験装置におけるコンピュータウイルス対策の検討

東北大学 加齢医学研究所 小森 和樹 3 9

ポスター発表（1階 大会議室、エントランスホール）

- (P1) 髄鞘に存在する糖タンパク質の解析
生理学研究所 技術課 小池 崇子 4 2
- (P2) 相互作用解析のための核タンパク質溶出条件の検討
基礎生物学研究所 技術課 壁谷 幸子 4 2
- (P3) MALDI-TOF MS を利用した *Lactobacillus gasseri* の同定
東北大学大学院 農学研究科 動物資源化学分野¹⁾, 基礎生物学研究所²⁾
西村 順子¹⁾, 牧野 由美子²⁾, 川井 泰¹⁾, 北澤 春樹¹⁾, 重信 秀治²⁾, 齋藤 忠夫¹⁾ 4 3
- (P4) 脊椎動物の心臓発生・疾患理解のための3次元イメージング解析
東京大学 分子細胞生物学研究所 心循環器再生研究分野 横田 直子 4 3
- (P5) 肝細胞癌転移における fascin-1 の機能とバイオマーカーとしての評価検討
高知大学 医療学系連携医学部門病理学 林 芳弘 4 4
- (P6) タンデムリピートコンストラクトの高効率作成法
生理学研究所 技術課 山本 友美 4 4
- (P7) アフリカツメガエル胚を使った *in situ* hybridization における漂白条件の検討
基礎生物学研究所 技術課 高木 知世 4 5
- (P8) 微生物の分離・観察を行う学生実験で使用する培地組成と培養方法の検討
筑波大学 生命環境科学等技術室 木澤 祥恵 4 5
- (P9) LC-MS 活用のためのコツとメンテナンス
基礎生物学研究所 技術課 森 友子 4 6
- (P10) Ion Trap Mass spectrometry を用いた ESI/Infusion 法による海洋性抗腫瘍成分構造解析
高知大学 総合研究センター 生命・機能・物質部門 小西 裕子 4 6
- (P11) MR マイクロイメージングによるラット顎関節撮像法の検討
獨協医大 医 生理学¹⁾, 日本大 松戸歯 顎顔面外科²⁾, 生理研 ナノ形態生理³⁾
横井 実佳¹⁾, 今泉 好偉¹⁾, 佐藤 かおり^{1,2)}, 佐藤 慶太郎¹⁾, 村上 政隆³⁾, 瀬尾 芳輝¹⁾ 4 7
- (P12) Dual fMRI 実験装置の紹介
生理学研究所 技術課 伊藤 嘉邦 4 7
- (P13) CT 画像データの連結と3D化の検討
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 小笠原 勝利 4 8
- (P14) X線CT装置を用いたマウス眼球毛細血管の3次元画像化
国立遺伝学研究所 技術課 前野 哲輝 4 8
- (P15) DPI により誘導されるヒト培養 HepG2 細胞死の DNA 構造の解明
徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 先端医研 庄野 正行 4 9
- (P16) IR-LEGO 顕微鏡の紹介
基礎生物学研究所 技術課 斎田 美佐子 4 9

- (P17) アミロイドのコンゴレッド染色における封入剤の効果
愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所 病理学部門 河村 則子 5 0
- (P18) しじみ貝の殻を含む全体組織染色（非脱灰硬組織凍結標本作製技術（川本法）を応用して
島根大学 医学部法医学講座 梅 とも子, 木村 かおり, 藤原 純子, 高橋 節典
高山 公子, 阿草 哲郎, 大塚 洋輔, 竹下 治男 5 0
- (P19) 瞬間的高圧処理による米粉の処理条件による比較
熊本大学 衝撃・極限環境研究センター 嶽本 あゆみ 5 1
- (P20) ESEM（環境制御型走査電子顕微鏡）による花粉観察
基礎生物学研究所 技術課 牧野 由美子 5 1
- (P21) 電子顕微鏡講習会の開催に関して
生理学研究所 技術課 山田 元 5 2
- (P22) Web オートメーション技術による業務効率化
生理学研究所 技術課 村田 安永 5 2
- (P23) ネームプレートシステムの作成と改修
基礎生物学研究所 技術課 三輪 朋樹 5 3
- (P24) 全方位カメラを用いたワークレコーダーの試作
九州工業大学 情報工学部 技術部 荒川 等 5 3
- (P25) NIH Image J のプラグインの開発
生理学研究所 技術課 前橋 寛 5 4
- (P26) ゲノムワイドなデータベース検索プログラムの作成
生理学研究所 技術課 高橋 直樹 5 4
- (P27) 太陽光発電システムのための最適充電方式
徳島大学 ソシオテクノサイエンス研究部 情報システム技術分野 石田 富士雄 5 5
- (P28) ミヤコグサ種子の硬実休眠打破に用いる種子擦り器の作製
基礎生物学研究所 技術課 田中 幸子 5 5
- (P29) サル用手指運動課題訓練装置の製作
生理学研究所 技術課 戸川 森雄 5 6
- (P30) マーモセット用チェアの製作
生理学研究所 技術課 佐藤 茂基 5 6
- (P31) 多チャンネル神経細胞ネットワーク素子の開発
分子科学研究所 技術課（装置開発室） 高田 紀子 5 7
- (P32) 窒化チタン(TiN)薄膜作成と二次電子放出率(SEY)測定
高エネルギー加速器研究機構 加速器研究施設 久松 広美 5 7
- (P33) Presentation に対応した文字コード送信装置の開発
生理学研究所 技術課 竹島 康行 5 8
- (P34) 「マッスルセンサー」デモ用ロボットハンド
生理学研究所 技術課 佐治 俊幸 5 8

- (P35) 最近の感染症への対応経験について —長崎大学動物実験施設の場合—
長崎大学 先端生命科学研究支援センター 山本 直土, 久保 憲昭, 大沢 一貴 59
- (P36) 長期保存胚の現状報告
福井大学 ライフサイエンス支援センター 生物資源部門 糸崎 悦子, 前田 秀之 59
- (P37) マウス系統の導入依頼に対する取り組み
基礎生物学研究所 技術課 林 晃司 60
- (P38) 液体シンチレータの再利用について
基礎生物学研究所 技術課 澤田 薫 60
- (P39) R I排水設備の更新について
福井大学 ライフサイエンス支援センター放射線同位元素実験部門¹⁾,
医学部生命情報科学講座薬理学領域²⁾ 和田 真由美¹⁾, 赤壁 悦子¹⁾, 西宗 敦史^{1,2)} 61
- (P40) 放射線施設の変遷
国立遺伝学研究所 技術課 谷田 勝教 61
- (P41) オープンキャンパスにおける X線透過装置展示ブース設置と来場者への放射線啓蒙
京都工芸繊維大学 高度技術支援センター 尾崎 誠 62
- (P42) 施設利用者のための教育訓練教材の作成
基礎生物学研究所 技術課 飯沼 秀子 62
- (P43) 名古屋大学博物館野外観察園の紹介
名古屋大学 全学技術センター 吉野 奈津子 63
- (P44) 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参画を例に—
東北大学大学院 農学研究科 技術部 (雨宮地区¹⁾, 川渡地区²⁾) 大友 由紀子¹⁾, 千葉 孝²⁾,
佐々木 三智¹⁾, 清野 佳子¹⁾, 岡田 夏美¹⁾, 高橋 依里¹⁾, 伊東 久美子¹⁾, 西村 順子¹⁾ 63
- (P45) 社会貢献事業との関わり—この5年間
浜松医科大学 医学部 総合人間科学 外山 美奈 64

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、領収書と航空チケットの半券 (半券が無い場合には搭乗券) をお持ちください。
帰りの分は、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。

■ご不明な点がございましたら

生理学研究所 技術課 (TEL: 0564-55-7702, FAX: 0564-52-7913) または
基礎生物学研究所 技術課 (TEL: 0564-55-7655, FAX: 0564-55-7657) 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://www.nips.ac.jp/giken/2011/> 又は <http://techdiv.nibb.ac.jp/giken/>）よりダウンロードが可能です。

原稿は、平成23年2月14日（月）までに、Word File と pdf File を指定されたメールアドレスへ添付にて送付してください。 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、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。

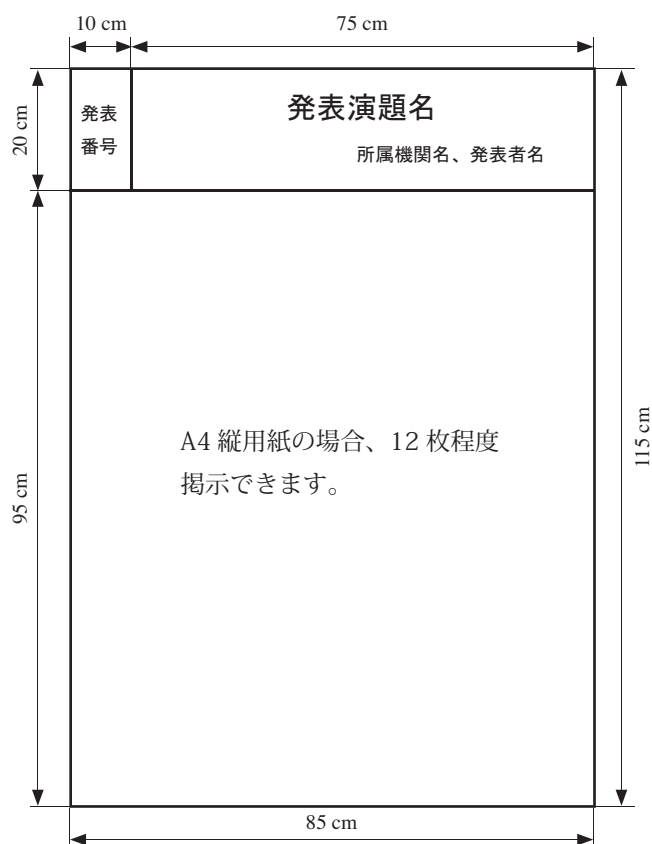
■ポスター作成について

ポスターは一発表演題につき1枚です。
サイズは縦115cm×横85cm 縦長です。
上部20cmに演題名、所属機関名、発表者名を右図の様に記入してください。

パネルの左上に発表番号が貼ってあります。所定のパネルにご展示ください。

■ご不明な点がございましたら、以下へお問い合わせください。

- ・生理学研究所 技術課
giken33@nips.ac.jp
- ・基礎生物学研究所 技術課
giken@nibb.ac.jp



研究会会場周辺地図



◆ 東岡崎駅から「岡崎コンファレンスセンター」までは徒歩で10～15分程度です(ほとんど上り坂)

タクシー乗り場とバス停は、ともに東岡崎駅の南側にあります。

バスは「竜美丘循環線、のりば 東岡崎駅 南口11番、おりば 岡崎高校前」始発 6:50、最終22:55

(逆は、始発 6:27、最終23:12)、運賃120円、7, 8時台及び16～22時台は1時間に4本、9～15時台は1時間に2本です。

行き先	発	着	発	着	発	着	発	着
竜美丘	8:10	→ 8:12	8:40	→ 8:42	11:25	→ 11:27	12:23	→ 12:25
	8:25	→ 8:27	8:55	→ 8:57	11:55	→ 11:57	12:53	→ 12:55

◆ 宿泊連絡先(参考)

岡崎セントラルホテル TEL : 0564-51-2830

岡崎シングルホテル TEL:0564-21-1088

グリーンホテル徳川園 TEL : 0564-53-3151

スーパーホテル岡崎 TEL: 0564-28-9000

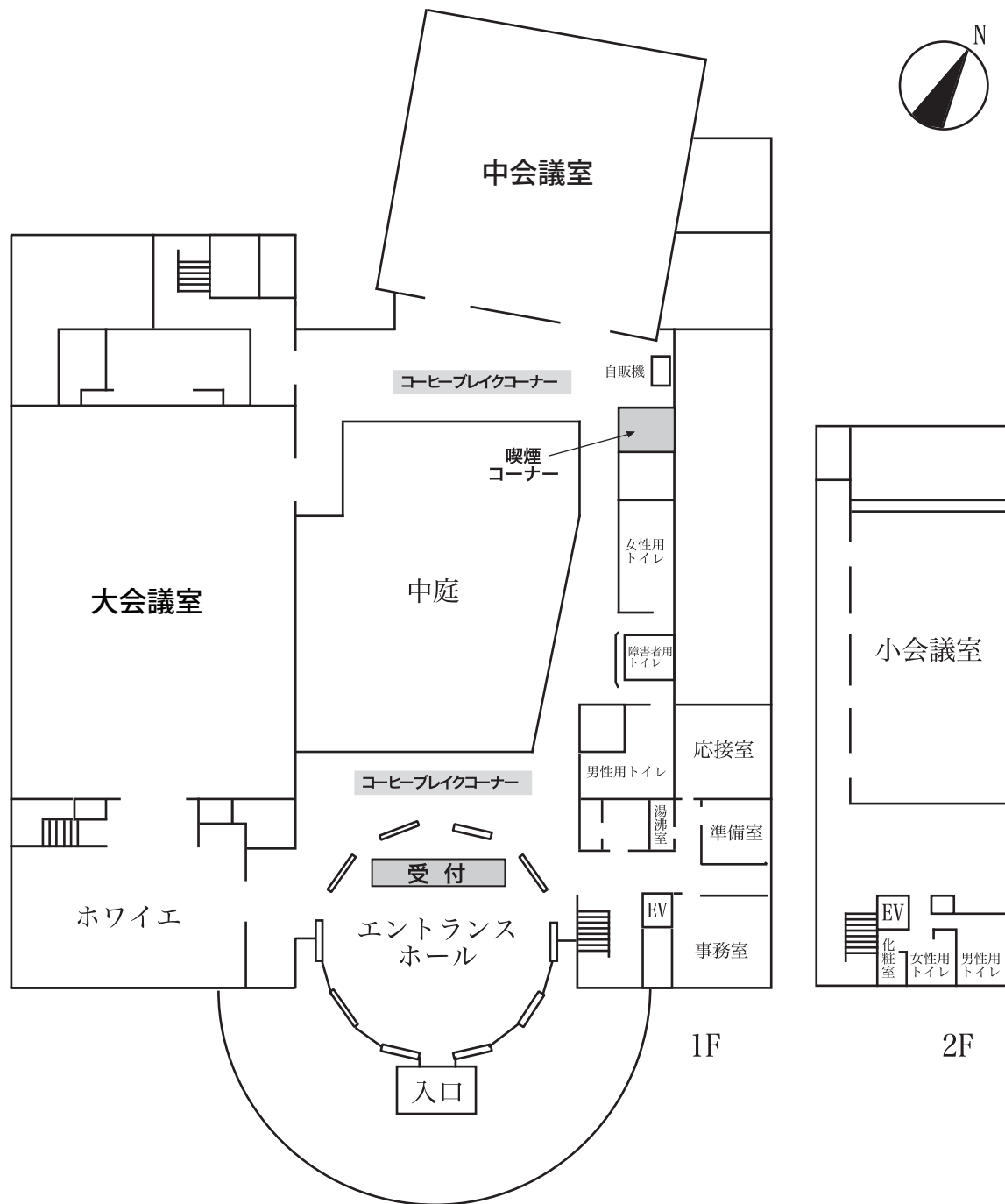
岡崎ニュージャパンホテル TEL:0564-21-5111

岡崎第一ホテル TEL:0564-26-3111

◆ 会場連絡先

岡崎コンファレンスセンター TEL : 0564-57-1870

岡崎コンファレンスセンター案内図



【会場案内】

1日目

研修講演 大会議室
 ポスター説明 大会議室
 ポスター発表 大会議室前ホワイエ
 懇親会 中会議室

2日目

生理学技術研究会主催
 奨励研究採択課題技術シンポジウム 大会議室
 話題提供 大会議室
 生物学技術研究会主催
 一般口演 中会議室
 昼食会場 中会議室

研修講演

大脳皮質神経回路解析における技術開発と今後の展望

自然科学研究機構 生理学研究所 神経分化研究部門 吉村 由美子

大脳皮質が担う様々な機能は、その神経回路を基盤として成立しています。大脳皮質には数百億個のニューロンが存在し、個々のニューロンは数千個のシナプス入力を受けているため、その神経回路は極めて複雑です。私は、大脳皮質で行われている情報処理の仕組みを知りたくて、その神経回路を調べています。

自然科学の分野において新規な知見を得るためには、新技術の開発・導入が重要なことは言うまでもありません。神経回路解析の分野における、最近の大きな技術的発展のひとつとして、光を用いた神経回路刺激法の利用があげられます。シナプス・神経回路を活性化するために、従来は金属電極を用いて電気刺激をしていました。電気刺激法には多くの利点があるものの、そこに位置する神経細胞のみならず通過する神経線維も同時に刺激してしまうため、大脳皮質のように入力と出力が混在する複雑な神経回路において特定の細胞のみを刺激することは極めて困難です。電気刺激に代わって、特定の波長の光によりケージが解除され、生理活性物質が放出されるケージド化合物を用いた刺激が行われています。この方法を用いると、光照射した部位に位置するニューロンあるいはシナプスのみを選択的に刺激することができるので、解析対象とする神経回路を局限して活性化することができます。また、遺伝子工学的手法により特定の種類のニューロンに光感受性チャネルを発現したマウスを用いることで、光感受性チャネルを発現しているニューロンのみを光により活性化させることができるようになりました。これらの刺激法と従来から用いられてきた電気生理学的記録法を組み合わせた実験により、多くの成果が報告されています。

大脳皮質の情報処理はどのような神経回路により実現されているか、脳機能の発達に伴い神経回路はどのように変化するかについては、まだまだ解明されていないことが多いと思います。その理由のひとつとして、これまでの神経回路の解析は主に脳切片標本や培養細胞のような *in vitro* の標本を用いて、脳機能の解析は覚醒動物や麻酔動物等 *in vivo* の動物を用いて進められていることが考えられます。別々の標本から得られた解析結果を対応づけるのは困難です。今後は、脳機能と神経回路を直接対応づけて、それぞれの階層で得られた知見を統合するような解析が重要だと考えられます。その実現にむけて、新しい技術を独自で開発することも重要ですが、他で開発された技術を既存の技術とうまく組み合わせていくことも重要です。例えば、先述した光刺激法をこれまで使用している実験系に導入する等、2つの技術を組み合わせることで効率よく研究を行うためには、緻密かつ有機的な技術サポートは欠かせません。本研修会では、我々がこれまで行ってきた神経回路の機能解析についてご紹介し、これから新しい発見をするためには、どのような技術支援が望まれるのかについて私見を述べさせていただきます。

口 演 発 表

(奨励研究採択課題技術シンポジウム)

脂肪酸合成・脂肪酸化の律速酵素 ACC の測定法開発

生理学研究所 技術課 齊藤 久美子

【目的】 肥満・糖尿病の原因として糖・脂質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・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。そこで、糖・脂質代謝経路の代謝産物及び酵素活性の測定方法を開発している。昨年の本研究会で、非放射性 2-デオキシグルコースによる酵素法を用いた糖代謝測定法の開発について報告した。

今回は、脂肪酸合成および脂肪酸酸化の律速酵素である acetyl-CoA Carboxylase (ACC) 活性測定法の開発について紹介する。ACC は、アセチル-CoA をマロニル-CoA に変換する酵素で、マロニル-CoA は脂肪酸合成の基質であるとともに、脂肪酸をミトコンドリアに取込む律速酵素 CPT1 の強力な阻害剤である。それゆえ、ACC の酵素活性を阻害することは、脂肪酸合成を抑制するだけでなく、脂肪酸酸化を促進する。これらの理由から ACC 酵素活性阻害剤は、抗肥満薬になると考えられ、その開発が進められている。

【測定方法】

ACC の酵素活性は、アセチル-CoA からマロニル-CoA への変換量で測定する。マウス肝臓から部分精製した ACC を用いて、¹⁴C-sodium bicarbonate、アセチル-CoA、ATP、クエン酸を加えて反応させ、生成された ¹⁴C-マロニル-CoA 量を定量する。

ACC 活性阻害剤のスクリーニングは、既知 ACC 阻害剤 (TOFA、CP-640186) を添加し、阻害効果が得られる測定条件を検討する。次に ACC 阻害候補化合物による阻害効果を測定する。

【結果】

マウス肝臓より部分精製した ACC を用いる事で、既知阻害剤 (TOFA) における濃度依存的な阻害効果を測定することができた。現在、他の既知阻害剤 (CP-640186) についても阻害効果調べている。

【最後に】

さらに条件検討を行ない、より簡便で正確な測定法の開発をめざす。また、候補化合物をスクリーニングし、より選択性の高い阻害効果の強い化合物を探索する。

タンパク質翻訳後修飾解析のための 部位特異的モノクローナル抗体の作製

島根大学医学部 生化学講座病態生化学 成相 裕子

【目的】

タンパク質は、生合成後、リン酸化、糖鎖付加、脂質付加、メチル化、アセチル化などの翻訳後修飾を受け、その修飾によってタンパク質の局在や機能発現が調節されている。ユビキチンや SUMO(Small Ubiquitin-related Modifier) のようなポリペプチドによる翻訳後修飾も存在し、タンパク質分解、DNA 修復、シグナル伝達などの生命現象にかかわることが明らかになってきている。

本研究では、ポリペプチドによるタンパク質翻訳後修飾に関する部位特異的翻訳後修飾の機能解析ツールとして部位特異的翻訳後修飾を認識するマウスモノクローナル抗体の作製を目的とする。

【方法】 1) 免疫用抗原の作製

2) 免疫および抗体価のチェック

3) モノクローナル抗体産生細胞の作製とスクリーニング

4) モノクローナル抗体の樹立および精製

【結果と考察】

大腸菌内 SUMO 化発現システムを用いて抗原を精製し、マウスに対して、SUMO化標的タンパク質を免疫し、その抗血清について SUMO 融合標的タンパク質発現細胞株のイムノブロットにより抗体価の判定を行った

マウス骨髄腫細胞 NS-1と抗体価の高かったマウスの脾臓より取り出したBリンパ球をポリエチレングリコールを用いた細胞融合法により融合させた。HAT 選択培地により選択培養し、その培養上清について SUMO-1、標的タンパク質および SUMO-1化された標的タンパク質の3種類を用いた ELISA 法により初期スクリーニングを行った。その後、イムノブロット法、免疫沈降法により、特異的なハイブリドーマの選別を行い、選択したハイブリドーマをさらに限界希釈法によりクローン化した。

In situ ハイブリダイゼーションによる 骨変異モデルラットの解析

東海大学 教育・研究支援センター 石川 久美子

【目的】化学的変異源 ENU (*N*-ethyl-*N*-nitrosourea) で誘発された変異動物では、引き起こされる変異のほとんどが点突然変異である。このため機能欠損のみならず部分欠損や過剰機能型など様々なタイプの変異が生じ、ヒト疾患モデル動物の作製に適した方法である。ENU を用いて得られた *Oune* 変異ラットは優性突然変異系統であり、尾椎の形成不全を指標として単離された。本研究では *Oune* ラットの脊椎形成異常における分子メカニズムを解析するため、透明骨格標本での脊椎骨の観察や *in situ* ハイブリダイゼーション (ISH) 法を用いて胎仔期の遺伝子発現を調べた。

【方法】新生仔を用いて、アリザリンレッド・アルシアンブルー染色による透明骨格標本作製し、野生型と変異型についてそれぞれ脊椎骨の形態を観察した。ISH 法は組織切片上で RNA プローブを用いて、組織中に発現する mRNA とハイブリダイズさせ、そのシグナルを検出することによって遺伝子発現を調べる方法である。椎骨は胎仔期の体節に由来するので、体節形成関連遺伝子群の発現を調べることにより脊椎形成パターンを解析することができる。RNA プローブの作製には、まず遺伝子の cDNA を PCR 法によって合成する。それをテンプレートとして、ジゴキシゲニン (DIG) で標識した UTP を用いて RNA ポリメラーゼにより DNA に相補的な RNA が合成される。脊柱形態形成に異常が認められる時期の胎仔サンプルをパラフィン包埋し、6-10 μ m の薄切標本作製し ISH 法を行う。また ISH では組織中に発現している mRNA を検出するため、胚や組織の採取からパラフィン切片の作製までには RNA レベルの細心の注意が必要となる。

【結果および考察】透明骨格標本において、尾椎のみならず頸椎も数が減少し、仙椎・腰椎でも椎骨の椎体・棘突起の欠失や融合が認められた。ISH 法では胎仔期の脊柱が形成される前の体節形成期において体節前半部と尾部で体節形成に関与する *Uncx4. 1*、*D111* 遺伝子の発現が低下していることが認められた。以上の実験の結果から、*Oune* は *Uncx4. 1*、*D111* やその関連遺伝子の起因する体節の形成の乱れによる異常であろうと推測される。体節は原腸陥入直後の傍軸中胚葉が分節化を伴って形成する基本単位であり、その分節化のメカニズムはまだ十分には解明されていない。今回の研究結果は *Oune* ラットの原因遺伝子の変位部位の探索に役立つものと思われ、この実験結果をふまえ、今後さらに他の関連遺伝子の発現について検索を進めていきたいと考えている。

【参考文献・資料】

A. Nagy : マウス胚の操作マニュアル<第3版> 近代出版 (2005)

M. H. Kaufman : The Atlas of Mouse Development : Academic Press (1992)

マウスにおける椎間板特異的ノックアウトシステムの開発

東海大学 医学部基礎医学系 分子生命科学 谷河 麻耶

【研究目的】

椎間板は背骨を構成する椎骨を連結し、中央部の髄核、外周部の線維輪から成る組織である。これまで椎間板特異的に発現する遺伝子は報告がなく、椎間板において遺伝子機能を欠損させるコンディショナルノックアウト実験系の構築は困難であった。仙波らは、マウスにおける遺伝子トラップ法により椎間板で機能する *Sickle tail* 遺伝子 (*Skt*) を同定した (1)。*Skt* 遺伝子は発生の過程で、椎間板の誘導体である脊索に発現し、その後、髄核に発現する。この *Skt* 遺伝子の発現を利用し、椎間板でのみ遺伝子の組換えを起こすことができれば、椎間板特異的に遺伝子機能を欠損させることが可能になる。一方、ファージ由来 Cre-lox システムでは、Cre 酵素が *lox* という特定の塩基配列を認識して組換えを起こす。*Skt* 遺伝子領域に Cre を挿入し、椎間板で Cre 酵素を発現するマウスを作製、その後 *lox* 配列を持つマウス系統と交配させれば、椎間板で組換えを起こすことができる。このシステムを利用して本研究では、椎間板特異的ノックアウト実験系を構築することを目的とする。

【計画・方法】

Skt 遺伝子トラップ系統では、可変型遺伝子トラップベクター (U-8) が *Skt* 遺伝子座に挿入されている。U-8 内部には、変異型 *lox* である *lox71* と *loxP* の 2 種の配列が挿入されている。*lox71* は *lox66* と、また *loxP* は *loxP* との間で組換えを起こす。これを利用し、*lox71* と *loxP* に挟まれた U-8 の一部を、*lox66* と *loxP* で挟んだ Cre 遺伝子に置換する。この方法により、*Skt* 遺伝子座で Cre を発現するマウス *Skt^{cre}* 系統を作製する。*Skt^{cre}* 系統は、レポーターマウス *Rosa26^{lacZ}* 系統と交配し、得られた F1 マウスにおいて、Cre 発現による椎間板特異的な組換えを lacZ の発現によって可視化する。また、lacZ の発現と内在性 *Skt* の発現を *in situ* ハイブリダイゼーションで比較する。さらに、椎間板組織を任意に破壊することが可能であるか探るため、*Skt^{cre}* 系統と *lox* 配列の下流にジフテリア毒素遺伝子 *DT-A* をもつ CETD 系統 (2) との交配を行う。CETD 系統は、*DT-A* の上流に *loxP* で挟まれたストップコドンをもつため、通常では *DT-A* は発現しない。ところが、交配により Cre 発現が起こると、組換えによりストップコドンが外れ、目的の組織内に *DT-A* が発現し組織破壊が起きる仕組みになっている。これを利用し、交配により得られた F1 マウスにおいて、椎間板変性が起きているか解析を行う。

【結果・展望】

Skt^{cre};Rosa26^{lacZ} の成体マウスでは、lacZ 活性は髄核だけでなく繊維輪にも認められた。しかし成体での内在性 *Skt* の発現は、髄核のみで繊維輪には認められなかった。この発現様式の差異の原因を探るため、発生過程における lacZ 活性と内在性 *Skt* 発現を比較した。受精後 9.5 日より 12.5 日胚では、lacZ 活性と *Skt* 発現は脊索に局限していた。しかし 14.5 日より 15.5 日胚では lacZ 活性および内在性 *Skt* 発現の両方が、髄核及び繊維輪の一部で認められた。このことから発生過程において *Skt* は脊索に発現し、椎間板形成期には髄核と繊維輪の一部に発現するが、成体椎間板では髄核に局限して繊維輪での発現は抑制されると考えられた。これらの結果より、*Skt^{cre}* 系統と *lox* 系統を交配させることで椎間板特異的ノックアウトが可能であることが示された。現在、*Skt^{cre}* 系統と CETD 系統の交配を行い、椎間板変性モデルマウスの作出を試みている。

【参考文献】

(1) *Genetics*, 172, 445-, 2006. (2) *Mol Reprod Dev*, 72, 54-, 2005

新規装置を用いたマウスの行動解析と 薬物の評価法の検討

理化学研究所 脳科学総合研究センター 研究基盤センター 本間 千尋

【目的】 遺伝子改変マウスの表現型解析や薬物の薬効効果の評価を目的としたマウスの行動解析法は多く確立され、使用されている。オープンフィールドテスト、高架式十字迷路試験など、不安反応の評価法にはさまざまな試験が用いられているが、それらは同じ不安を評価しているわけではなく、解析には多岐にわたる試験が必要だと考えられている。そこで本研究ではマウスの新奇環境での探索行動に着目し、既存の装置とは異なったマウスの情動性の評価および薬物の薬効評価の試験を行うことを目的として装置を作成し、その有用性を検討した。

【方法】 直径 40 cm, 高さ 20 cm の円筒状の外円の内側に直径 8 cm の円筒を設置した、ドーナツ型の塩化ビニル製の装置を作成した。連続した区画を作るため、底辺に 3 x 3 の通路となる穴のある仕切り版を用いた。計測時間は3分とし、ビデオカメラにより画像を取得した。画像は画像解析ソフト(EthoVision)を用い、移動距離等を算出した。

実験 1: 2-8 と区画数を変化させることでどのような反応が見られるかを確認した。

実験 2: ジアゼパム、フルボキサミンなどの薬物投与後の反応を観察した。また、これらの実験と並列して、薬物投与の結果が装置の特性によるものなのかを確認するため、ホームケージ (SCANET) を用いて活動性の評価も行った。

【結果】 実験 1 では連続した区間にマウスを置くことによって様々な指標で特徴がみられた。特に移動距離では連続した区画が多いほど減少する傾向が見られた。実験 2 においても各薬物でホームケージにおける測定データとは質の異なった、特徴的な反応が見られた。

【考察】 今回の結果より連続した区画存在下にマウスを置くことで移動距離に影響を及ぼすことがわかった。不安は探索行動や自発的交替行動を減少させることが知られており、本装置の不安反応測定のための有用性が示唆された。また、今回薬物投与実験を行ううえでホームケージを用いた活動性の測定を行ったが、薬物の鎮静効果、衝動性の上昇などのバイアスによる装置への影響を考慮する上で重要であった。技術的な問題点としては、画像はいったんビデオカメラで記録してからオフライン解析で行ったため解析に多くの時間が費やされた点であった。リアルタイムで行うなど、この点を改善する予定である。

無拘束型センサを用いた心拍・呼吸監視システムの開発

秋田大学 工学資源学部 機械工学科 石川 広美

【目的】心拍数・呼吸数などの生体情報のモニタリングは、医療・スポーツ分野等では大変重要である。一般的な方法として、体の所定部位に電極やゲージバンドなどを取り付けて計測する方法がある。しかし、肌のかぶれ、センサの外れ、装着による違和感等いくつかの問題点もある。これを解消するために、無拘束でのモニタリングのためのセンサ開発を行ってきた。これまでの研究により、無拘束により一定程度の測定が可能であるという結果を得ている。

本研究では、このモニタリングシステムを参考に、よりコンパクトに、より身近に心拍・呼吸の反応をわかりやすく表現するシステム開発を目的とする。

【方法】

- (1) 呼吸数と心拍数の検出のために、センサ部には薄く柔軟なポリフッ化ビニリデン (PVDF) フィルムを用いた。PVDF フィルムは圧力・張力の時間変化により電荷を発生する特性を持っている。
- (2) アーチ型に形成したプラスチック板にその弧長よりも短い PVDF フィルムを両端固定し、上からの圧力で左右に張力が働く構造とした。
- (3) このセンサの上に、被験者の胸郭部がくるように仰向けに寝てもらい測定する。
- (4) データ収録には AD コンバータと LabView SignalExpress を使用した。
- (5) 最終的には、出力信号を H8 マイコン等での制御により、出力が発生している場合は LED を点滅させ、出力が 0 になった場合には、連続発光とブザー音などで異常を知らせるシステムを構築する。

【結果】

現状においては、センサからの出力電圧は 20mV～50mv 程度となっている。

【考察】

ある程度の出力信号を検出できる事が確認できた事から、その信号を H8 マイコン等で制御して光や音で知らせるためのシステムを構築するための設計に入っている。しかし、出力電圧は大きい方が好ましいので、センサ部の構造もさらに改良を加える事も視野に入れながら高感度で検出して、より安定した出力機構を構成できるように実験を進めていく。

【参考文献・資料】

平成 21 年度科学研究費補助金(奨励研究(B))課題番号 21934015

組込みシステム開発研修のための脳波でコントロール可能な小型ロボット教材の開発

仙台高等専門学校 教育研究技術支援室 菅原 浩弥

【目的】

仙台高等専門学校（以下、本校）では、近年深刻な人材不足が指摘されている組込みシステム技術者の育成を目的とした社会人向け研修を積極的に行っている。研修では基礎的な開発技術修得に加え、地域企業の新分野開拓のきっかけとなることを期待し、様々な研修課題を提案している。一方本校千葉研究室では、病気等で全身の随意動作が不可能となった方のための意思表示を実現する支援技術として、脳波を利用したコンピュータインターフェースの開発研究が行われている。これらの研究のノウハウを活用し、研修課題で使用出来る脳波によってコントロール可能な小型ロボット教材の開発を行った。

【方法】

脳波による小型ロボットのコントロールは、以下のような手順で行われる。

1. 脳波を測定し、脳波信号を PC に送信する。
2. 送られてきた脳波信号に対して FFT を行いスペクトルを導出し、そのスペクトルの値により現在の状態を判別する。
3. 現在の状態に応じた制御信号を小型ロボットに送信する。
4. 制御信号を基に小型ロボットが動作する。

脳波の測定には Emotiv 社の Emotiv EPOC SDK Education Edition を、小型ロボットには株式会社北斗電子の DONKEY（ドンキー）を使用している。DONKEY はボード直径が約 20cm で、MPU と CPLD を搭載し、DC モーターによる走行が可能である。また、ZigBee 無線モジュールにより PC との通信が可能である。

【結果】

現在、「まばたき・歯噛みの検出」、「ロボットへの制御信号の送信」、「ロボットが制御信号を受信して動作」という基礎となる部分の開発が終了している。

【考察】

基礎となる部分の開発が終了し、教材として提供可能となった。現在は検出が比較的容易なまばたき・歯噛みを利用しているが、将来的には、前進・停止といった脳波を検出し、それによってロボットをコントロール出来るようにしたいと考えている。

プログラムの動的三次元グラフィックス化の研究

大阪市立大学 大学運営本部研究支援課 長谷川 浩史

【目的】筆者は、長年、プログラミング言語（C）演習の教育支援に携わってきた。この経験からも、プログラムをより直感的、視覚的、イメージ的に理解を深めさせることが可能なツールの必要性を強く感じている。現在、プログラムに関する説明、解説は、主として文字と音声に従っている。これらに教育的効果のあることは論をまたず、又、説明には、図も有効で、フローチャート等もよく使われている。しかし、用いられているのは、主に静止の平面図であり、コンピュータは逐次的処理をしていることから、この動的な要素も取り入れたほうがよりリアルになるのではと考えられる。又、近年の3Dディスプレイやグラフィックス技術の目覚ましい進歩に伴い、3D表現をパソコン等で実現することが容易になりつつある。この3D技術の適用は、見るものへの視覚的効果を一段と高めるものと期待がもてる。本研究は、このような観点から、プログラムの説明に動的で三次元的コンピュータグラフィックス(CG)技術の利用を提案し、より分かり易い表現の実現を目的としている。

【方法】動的で三次元（的）CG技術を用いて、コンピュータの原理、コンパイラの仕組み等に基づく、プログラムの処理、命令文の動作、処理を表現し、まず、初心者がミスし易い箇所等を直感的、イメージ的に理解しやすくなるような表現法を研究する。そのために、教官に、講義でこのツールを使用してもらいながら、その反応や感想をチェックし、よりよい表現法を追求することにした。現在、1)~6)のCG化の研究をベースに、7)及び8)の検討を進めている。

- 1) コンピュータによるプログラムの実行の表現
- 2) CPU、入力装置、出力装置、記憶装置等のパーツの表現
- 3) プログラムとPAD、4) 宣言、代入、出力文、入力文、演算の表現
- 5) ポインター、配列、関数の表現、6) 動きの導入、データ、処理の流れ
- 7) 3D化への研究、8) 上級者用への対応、等

【結果】教官や学生らにこのツールについての意見、評価を聞くと、講義や演習のツールとしてよいのではとの評価を得ている。

【考察】よりよい成果は、表現のうまさによるところも大きく、CGアーティストのようなセンスが必要である。今後、統合開発環境等へ動的三次元ヘルプ機能としての組込み等が課題である。

【参考文献・資料】

長谷川(2010) C言語演習とプログラムの動的三次元グラフィックス化の研究. 2010年度機器分析技術研究会報告集:100-101

微細構造の再現に優れた走査電子顕微鏡用の 血管鑄型試料作製方法の改良開発

岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 人体構成学分野 檜崎 正博

[目的] 走査電子顕微鏡試料作製用の血管鑄型樹脂を注入すると、動脈系はもちろん毛細血管・静脈系まで鑄型ができる。得られた鑄型の微解剖をおこない、実体顕微鏡や走査電子顕微鏡で観察することにより微細血管の分布・連絡や内腔面の構造が明らかになる。今回使用する樹脂はメルコックスⅡ(米国 Ladd 社製)である。製造中止となる以前のメルコックス(大日本インキ)の後継品である。使用方法は同じであるがメルコックスと比べて、粘度が低く、臓器の注入箇所によっては、硬化する速度が遅く漏れるや収縮率が大きいなどの様々な不具合が出ている。このような状態では、微細構造を備えた試料作製することは非常に困難である。よって、多種の臓器に対して、安定した試料を作製できることを目的とし、検討を行った。

[方法] メルコックスⅡに同梱されている硬化剤と自家調製による硬化剤(過酸化ベンゾイル 50%, 60%, 70%, 80%の各4種類を有機化合物に溶解)の計5種類の硬化剤で、実験検討をおこなった。

① 硬化剤の量と硬化時の温度条件についての検討: 試験管内で、樹脂に対して前述の5種類の硬化剤を2%, 2.5%, 4%, 7.5%, 10%, 16%の割合で作製し、条件の良い濃度を選び出した。その後、それを用いて、さらに重合時の温度条件(氷中4℃とマイクロウェーブ)の検討をおこない、各樹脂の重量・容積・長さ(縦・横)を計測し、経時変化を観察する。

② 動物実験による微細構造の確認: 6週齢ウィスターラット雄の血管に樹脂を注入し、試料作製後に、走査電子顕微鏡で臓器(小腸、腎臓、肝臓、胃など)の微細構造の観察をおこなう。

③ 樹脂の脱気による効果の検討: 動物に注入する前の樹脂を真空デシケータに入れ、半日置いたものを用いて作製した標本の微細構造を走査電子顕微鏡で観察する。

[結果・考察] 試験管内での硬化剤について、収縮率が少なく重合が最も良かったのは、樹脂に対して、硬化剤4%の割合で作製したものであった。硬化剤の量は、少なすぎると重合不良が起り、多すぎると不純物が多くなる為、硬化後の樹脂表面や内部に溶解しきれなかった硬化剤の析出や気泡やヒビ割れが起きた。温度条件については、試験管内実験の氷中4℃は収縮が少なく、良いと思われたが、硬化完了までに時間がかかるため、これを動物に注入した場合、血管から漏れる可能性があり、適していないことがわかった。また、マイクロウェーブは急激な温度上昇のため、気泡、ひび割れが入り、樹脂自体がもろくなり、これも適していないことがわかった。走査電子顕微鏡による微細構造は、メルコックスⅡ同梱硬化剤は、高倍率で観察すると、樹脂の表面に細かな凹凸や小さな穴が確認された為、あまり良い結果が得られなかった。自家調製した硬化剤は前述のような不具合は無く、なめらかな血管鑄型を作製できた。濃度については、自家調製60%硬化剤の条件が最も良かった。樹脂の脱気については、メルコックスⅡの樹脂内の余分な不純物(有機系物質や水分)を取り除くことにより、粘度もわずかながら高くなり、硬化速度も少し早くなることで樹脂の漏れを最小限にする事ができ、樹脂表面の小さな穴も少なくすることができた。よって様々な臓器の鑄型を観察する上で有効な方法であると考えられる。本発表までに、まとめて詳細を報告する。

痛覚伝達を担うラット脊髄ニューロンの 形態学的特徴の解析

生理学研究所 技術課 石原 博美

【目的】 痛覚は中枢神経への入り口である脊髄後角で有効にコントロールされている。しかし、痛覚伝達の調節が如何に行われるかなど、生理的条件下におけるシナプス・細胞レベルでの機能解析は十分には進んでいない。現在、当研究部門では、in vivo パッチクランプ法を用いた、脊髄後角における痛覚伝達・調節メカニズムの単一神経細胞・シナプスレベルでの解析が精力的に進められている。しかし、脊髄後角の痛覚伝達・調節に関して、電気生理学的手法と免疫組織学的手法を併用した研究は世界的にもあまり行われておらず、神経細胞の機能と細胞の形態や神経伝達物質タイプの関係については不明な点が多い。電気生理記録時に、標識物質である Biocytin 等を注入した細胞について、自身が免疫組織学的実験を行う事で、電気生理学的研究と免疫組織学的研究をつなぎ、痛覚伝達のメカニズムを明らかにする事ができると考えている。

【方法】 今回、神経細胞の神経伝達物質タイプを調べる為、脊髄においてすでに多くの蛍光多重染色の論文が出ている Todd グループの論文を参考にし、Biocytin または Neurobiotin を注入した細胞について VGLUT2 および VGAT 抗体を用いた蛍光多重染色を行った。① 電気生理記録時に 0.4% Biocytin または Neurobiotin を細胞に注入する。② 4% PFA in 0.1M PB で灌流固定を行う。③ 一晩後固定を行い、0.1M PB 中で保存する。④ ビブラトームを用い、矢状断で 50 - 60 μm に薄切する。⑤ Todd らの論文を参考にし(下記文献参照)、蛍光多重染色を行う。⑥ 切片をスライドガラスに貼り付け、VECTASHIELD で封入し、共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察する。

【結果】 初め、in vivo パッチクランプ法を用いて細胞に Biocytin を注入したものについて、VGLUT2 および VGAT 抗体を用いた蛍光多重染色を行い、共焦点レーザー顕微鏡で観察したところ、VGLUT2 および VGAT がバイオサイチンと二重に標識されている箇所は見つけられなかった。そこで、これ以降の実験には、Biocytin(MW:372.5)より軸索に入りやすいとされている、分子量の小さい Neurobiotin(MW:322.8)を用いたが、Neurobiotin を用いたものは、樹状突起がほとんど観察されず、また、細胞体内部に Neurobiotin の塊と考えられるいくつもの点が観察された。次に、スライスパッチクランプ法を用いて Neurobiotin を注入した細胞で染色条件の検討を行ったところ、Streptavidin-Alexa555 の希釈液に 0.2% Triton-X 100, 0.01M PBS を用いた場合には、50% EtOH のインキュベーションの有無に関わらず、軸索と思われる細い神経線維や細胞体の中まで明瞭に蛍光標識する事が出来た。VGLUT2 および VGAT 抗体を用いた蛍光多重染色による細胞の神経伝達物質タイプの判別は未だ出来ていないが、今後は VGAT-Venus ラットを用いて実験を行う事で、抑制性の細胞を容易に判断する事が出来ると考えており、脊髄でも使用可能か現在検討中である。

【参考文献】 Todd AJ, et al. J.Neurosci 27:2035-2044(2007)

「出前おもしろ教員研修」プログラムに基づく 小学校理科支援

鳥取大学 工学部技術部 丹松 美由紀

【目的】平成 14 年度から、少しでも多くの子どもたちを楽しみながら科学に接する機会を提供し興味を喚起することを目的として、県内各地の小・中学校や公民館に出向き「出前おもしろ実験室」を開催し、段階的に新しい試みを実践してきた。最近では、この活動がその場限りのもので終わらないように、保護者や地域の公民館を巻きこんだ活動や理科実験に対して敷居の高さを感じている小学校教員への講習会などの活動へ展開している。

平成 22 年度は、「科学系人材の発掘と裾野の拡大に寄与すること」を目的に、大学技術職員として可能な小学校への理科支援を模索しながら活動している。

【方法】毎年開催している児童・生徒対象の「出前おもしろ実験室」の実施と並行していくつかの活動を展開した。

- 1) 公民館職員対象講習会の実施事例：公民館からの行事依頼が増加していることを受け、鳥取市との共催により、地域理科ボランティアの育成を視野に入れた、科学実験・工作を指導する講習会を開催した（受講者 26 名）。
- 2) 「出前おもしろ教員研修」プログラムの実践事例
 - (1) 鳥取市小学校教育研究会との共催により、理科部会（23 名）と生活科部会（55 名）の研修会として講習会を開催した。
 - (2) 小学生対象「出前おもしろ実験室」を開催し、放課後小学校教員に対して、気軽にでき、教科書への導入につながる実験を指導し解説する講習会を開催した（計 2 回）。

開催前後にはそれぞれ教員の希望調査、アンケートを実施。

【結果】事後アンケート結果から、大方の受講者から高い評価を得た。小学校教員を対象とした科学や実験に対する苦手意識の克服を目的とした「出前おもしろ教員研修」を従来の児童対象「出前おもしろ実験室」に接続することで効果的なプログラムを構築できた。

【考察】私たちはこれまでの実践を通して、もともと理科嫌いな子どもは少なく、体験が不足しているだけであるという結論に至っている。また、予想以上に実験指導を苦手とする教員が多く、小学校教員の理科実験離れがあると感じている。実験を「やらなければ」という義務感ではなく、「やると楽しい」という意識をもつことが教員にも必要であろう。今後も、継続的に多様な理科授業のかたちを提案し、地域で実践することで、日々の生活や小学校理科授業での実験・体験不足を補うことに寄与できるものと考えている。

【参考文献・資料】

- 1) 第 56 回日本理科教育学会中国支部大会研究発表論文集, B3, 2007.
- 2) 日本理科教育学会第 58 回全国大会発表論文集第 6 号, P-35, 2008.
- 3) 日本理科教育学会第 60 回全国大会発表論文集第 8 号, P-441, 2010.

話題提供

生理研の広報とアウトリーチ

生理学研究所 技術課 永田 治

【生理研広報展開推進室について】

2007年10月に発足した生理学研究所・情報処理発信センター 広報展開推進室において、広報活動の重点目標は一般社会に向けた情報発信にある。

その方法として、新聞等メディアにおける成果の反映度の向上（これはおもに報道件数といった数値データとして反映される）と一般に向けた情報発信（生理研の認知度といった目に見えないものである）をおこなっているが、両者はまったく違った性格を持っているため同一の視点では表せない。

【生理研広報活動の概要】

新聞・雑誌等における報道件数としては、年間20件に満たなかった報道件数が2007年11月の広報業務開始以来、2008年度で160件、2009年度が205件、2010年度が193件と順調に増加している。

広報活動とは少し性格が異なるが、外部アウトリーチ活動においても並行して情報発信がおこなわれている。ターゲットとしては、おもに一般向けの科学啓発活動と小中高等学校に対するアウトリーチ活動がおもなものである。アウトリーチ活動としては、従来型の出前授業などによる科学講座がおもなものであるが、基本的に講義だけによる情報提示では教育効果がなかなか上がらないこともあり、おもに参加型の体験授業を中心におこなっている。同時に授業などで活用できる理科教材の開発も手掛けており、簡易筋電計については商品化されて理科教材として販売されている。

情報発信としては、先端科学における社会的リテラシー向上のために、科学情報冊子「せいらけんニュース」の発行や、定期的な市民講座の開催などにおいて、定期的な情報発信をおこなっている。特に後者においては、各地で積極的に開催されているサイエンスカフェに代表されるような、社会リテラシーと科学技術リテラシーの双方向的なコミュニケーションの構築を目指した活動であるが、最も重要なファクターは、単なる科学講座の開催ではなく、市民参加による相互の情報の交換が確立できなくてはならない。そのため、岡崎高校SSH部などの協力により市民参加型の実験ショーなども開催している。

せいらけんニュースは、小学校高学年以上を対象に、最先端の研究を画像を多用してわかりやすく解説した記事や科学イベントなどの情報誌として隔月で8500部発行している。

口演発表 (一般口演)

蛍光タンパク質 mCherry 発現細胞のセルソーティング

基礎生物学研究所 技術課 野田 千代

【目的】 mCherry は励起極大波長 580nm、蛍光極大波長 610nm の赤色蛍光タンパク質である。汎用される緑色蛍光タンパク質 GFP と組み合わせて使用することができ、かつスペクトル分離しやすい蛍光波長をもつ。構造は単量体であり、融合タンパク質として発現させたとき 8 時間ほどで蛍光を検出できる。ショウジョウバエにおいて胚発生は 24 時間で終了するため、*in vivo* で融合タンパク質を発現させ、胚発生初期に特定の細胞を識別するマーカーとして mCherry は使用可能である。また、特定のタンパク質や細胞を蛍光標識した試料を用いて、FACS (Fluorescence-activated cell sorting) により、個体・組織から特定の細胞を高純度で単離して研究に利用することに対する需要が高まっている。特にショウジョウバエでは上記のような理由のため、GFP に次ぐ第二のマーカーとして mCherry は期待されている。

本発表では、既存のセルソーターに新しいレーザーを導入することにより、mCherry を発現した細胞を単離、分取することができたのでその過程を報告する。

【方法】

GAL4-UAS システムにより、極細胞に mCherry を発現させたショウジョウバエ胚（発生ステージ 15-16）を採取し、ホモジナイズして、トリプシン処理した細胞懸濁液をセルソーティングの試料として用いた。セルソーターは BECKMAN COULTER の EPICS ALTRA を使用した。

【結果】

はじめに Ar レーザーのみを用いて励起させ極細胞の集団を検出できるか調べた。mCherry のスペクトル分布から 10% 以下しか励起できないと予想されたとおり、細胞群を検出できなかった。そこで新たなレーザーを導入することが検討され、固体イエローレーザー (Sapphire 561nm :COHERENT) が搭載されることになった。このレーザーを照射することにより、mCherry を 60-65% まで励起できるようになり、調整を加えることによって、極細胞を全細胞集団から分離できた。分離した細胞群にゲートを設定して、ほぼ純度 100% の極細胞を分取できた。

【考察】

固体イエローレーザーは mCherry を励起するには有効であることが分かったが、通常のフローサイトメーターに搭載されるのは稀なレーザーである。今後、このレーザーを効率的に励起できる蛍光タンパク質や色素にも活用していきたい。

動物と藻類の共生機構とその進化を解き明かすための新たなモデル動物ワミノアの開発

広島大学 自然科学研究支援開発センター 遺伝子実験部門 彦坂 智恵

【目的】生物が異種の生命体を体内に取り込んで馴致し共生関係を成立させること（家畜化）は、環境への適応力を増すと同時に、共生体の病原性に抵抗する重要な手段でもある。微細藻類と共生する海産無脊椎動物の無腸類ワミノア (*Waminoa* sp.) は卵形成の過程で共生藻を卵母細胞内に取り込み家畜化を開始するというユニークな特徴を持つ。本研究では動物と藻類の共生研究のモデル系開発に向けて、無腸類ワミノアの人工飼育法、性成熟誘起法、産卵法の確立を行った。

【方法】 1.人工飼育：ワミノアはサンゴの体表に付着して生活している。そのため、サンゴごとワミノアを飼育することで安定的に動物を維持できるのではないかと考え、サンゴの飼育水槽を立ち上げた。飼育槽（45×30×30cm）は上下二槽をアクリル3重管で接続したオーバーフロー式で上槽にサンゴ砂 10kg を敷き、下槽にはポンプとカルシウムリアクターを設置した。約 80L の人工海水を循環させ、炭酸塩硬度を 8～10 に保った。照明にはメタルハライドランプを用いて明期 14 時間、暗期 10 時間のサイクルとし、水温を 25℃ に設定した。ワミノアの付着したハナガタサンゴ（インドネシア産）はペットショップから入手し、1ヶ月毎に乾燥アミエビを海水で戻して与え、5L の換水を行った。

2.性成熟誘起：他科の無腸類 *Praesagitifera naikaiensis* は飼育温度を下げることで性成熟を誘起できる。ワミノアにおいても飼育温度の低下が性成熟を誘起するかどうかを調べるために、サンゴ飼育槽の水温を 0.5℃ 間隔で下げていき、卵巣の発達を指標として動物の成熟度を判別した。

3.産卵：*P. neikeiensis* では卵巣が発達した個体を選び出して飼育海水を入れた容器に一晩おくと産卵する。ワミノアにおいても同様の方法で産卵させられるかどうか調べるために、サンゴの体表から性成熟したワミノアを選別して単離し、23～25℃ の人工気象器で培養した。

【結果】 1.人工飼育：飼育を開始してから約 2 年間、サンゴ体表からワミノアを失うことなく飼育を継続している。 2.性成熟誘起：飼育温度を 23℃ に下げることにより性成熟を誘起できた。 3.産卵：性成熟個体を選別して 25℃ で一晩培養すると翌日に産卵し、受精卵を得ることができた。

【考察】現在ワミノアをサンゴごと飼育し、成体、性成熟個体、受精卵、初期胚、ふ化幼生、幼若体の各ステージの個体をいつでも利用できるようになった。一方で、ふ化率の低さや、幼若体を成体に育てることができない等の課題が残っているので解決したい。

セルソータを用いたマウス精子形成過程細胞群の分取

基礎生物学研究所 技術課 高瀬（水口） 洋子

【目的】 ほ乳類の精子形成は細胞分裂が連続するにも関わらず、精子に継承される遺伝情報は正確に保たれていると示唆されている。ところが、子孫に正確な遺伝情報を伝達する保証機構の詳細や精度は明らかにされていない。Walter らは、マウス精巣から様々な分化段階の雄性生殖細胞を分画してその突然変異頻度を測定し、体細胞で観察される頻度と比較したところ、生殖細胞における変異頻度は約 10 分の 1 であったと報告した¹⁾。しかしながらこの報告で用いられた細胞群は濃度勾配遠心法により分画され、その純度は約 85% である。すなわち、突然変異頻度の異なる可能性のある細胞が 1 割以上混在するため、結果の評価が難しい。そこで我々は、精子形成過程における遺伝情報複製の正確性を保証する機構を明らかにする端緒として、セルソーティングを利用して細胞群の分画純度を高め、各群の突然変異頻度を測定し、彼らの報告の再評価を試みている。

【方法】 (1) 遺伝子改変マウスの作製 : Ngn3/Cre Tg マウス、CAG-CAT-EGFP Tg マウス、Big Blue®マウスの交配により、全ての生殖細胞が GFP でラベルされ、且つ、突然変異の定量的解析が可能な遺伝子改変 (Tg) マウスを作出した。(2) マウス精巣からの単一細胞懸濁液の調製 : マウス精巣から精細管を取り出し、酵素消化した。(3) セルソータによる分取 : 調製した細胞の核酸を蛍光標識した後、GFP と核酸蛍光強度を指標にソーティングした。必要に応じ、Forward Scatter 等のパラメータを加え条件を検討した。

【結果】 Triple Tg マウスの精巣に含まれる生殖細胞は、ほぼ全てが GFP でラベルされていた。精細管消化に用いる酵素を検討し、ソーティングに十分な量の細胞を調製することができるようになった。調製された細胞中に占める GFP 陽性細胞 (生殖細胞) は約 60% だった。GFP 陽性細胞群から、核酸蛍光強度及び Forward Scatter を指標として精原細胞 (2C)、精母細胞 (4C)、精子細胞 (C) 画分をソーティングすることができた。

【考察】 精原細胞、精母細胞、精子細胞の各群を分取する条件の検討を行った。形態学的に解析した結果、得られた各細胞群の純度は 95% 以上であった。今後、各群の突然変異頻度を検討するために、分取した細胞群からゲノム DNA を抽出し、Big Blue®システムを適応して詳細に検討する予定である。

【参考文献】 1) Walter CA et al., PNAS, 95:10015-10019 1998

小規模ミルクプラントにおける北海道 HACCP 認証取得までの取り組み

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】帯広畜産大学畜産フィールド科学センター（乳牛 155 頭飼育、常時搾乳頭数 65 頭）では、センターで生産された生乳を『畜大牛乳』として紙パックに加工し、学外販売を行っている。そこで牛乳製造工程の衛生管理をより一層徹底するために、HACCP（危害分析重要管理点）システムを導入し、このほど北海道（以下、道）が定めた『北海道 HACCP 自主衛生管理認証制度（以下、北海道 HACCP）』を取得したので報告する。

【方法】HACCP に準拠した製造に着手した 2006 年当時、築後 33 年を経過した当施設は老朽化と建築当時の衛生水準から多くの課題があった。そのため、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、衛生管理状況を検証し、以下の項目について対策に取り組んだ。

(1) **一般的衛生管理**：①衛生管理を徹底するために標準衛生作業手順書（SSOP）およびチェックリストを作成し点検、記録を開始した。②全製造室に手洗い設備（自動給水型）を設置した。③そ族昆虫の防除体制を強化するため、工場内に哺乳器を設置し飛翔性昆虫モニタリングを開始した。④照明設備を飛散防止タイプに更新した。⑤改修工事により、経年劣化していた床面の補修、高性能（HEPA）フィルターによる陽圧換気システムの導入、エアーシャワーの導入、製造ライン一部更新等を行った。⑥作業従事者（計 5 名）に対し、随時、これらの取り組みについて教育・訓練を実施した。

(2) **HACCP**：①製品仕様書に記載を義務付けられている、牛乳の特性、喫食方法、消費者層について確認・記載した。②製造工程一覧図および作業動線図を作成し、それらをもとに製造工程で発生しうる危害分析（HA）を行い、HA リストを作成した。③HA リストより食品衛生上重要な危害を重要管理点（CCP）として製造現場でのモニタリング方法、改善処置を決め CCP 整理表とした。④改修工事に伴い作業動線の見直しを行い、交差汚染防止を図った。⑤作業従事者は HACCP 専門講習会（道主催）を受講した。⑥HACCP チーム（当センター教職員）を編成し、取り組みについて内部検証を開始した。

【結果および考察】SSOP の作成およびチェックリストによる点検・記録、施設改修により一般的衛生管理が大きく改善した。また、製造工程一覧図および作業動線図に基づいた危害分析により HA は 46 項目確認され、その内 2 項目を CCP としモニタリングを開始するとともに、HACCP チームによる定期的な内部検証を導入した。これらの取り組みにより、「北海道 HACCP」を取得し、現在は紙パックに「北海道 HACCP 認証」が表示されている。

【参考文献・資料】

- 1) 豊福肇（1998）わかりやすい HACCP 改訂版（日経 BP 社）

組織固定法の再検討（海洋深層水と超音波の利活用）

富山大学 医薬系技術部 病理診断学 八田 秀樹

【目的】病理診断に用いられる組織は、摘出後、変性を防ぐ目的でただちに固定作業が施される。固定には 10～20%ホルマリン水溶液が最も広く用いられているが、ホルムアルデヒドが人体に有害な化学物質にあたるため、労働安全衛生法により厳密な環境基準が設けられている。今回の取り組みは、ホルマリン水溶液の希釈に浸透性が高い海洋深層水を用い、さらに超音波装置で高い攪拌・浸透作用を付加することで、従来のものより低濃度のホルマリン水溶液で、有効、かつ迅速な固定効果を得る方法を確立するものである。同時に、従来確実に担保出来なかった抗原性の維持についても、従来の方法と比較検討した。

【方法】予備実験として、4%寒天を用いて 1%エオジン溶液による浸透試験を行った。蒸留水（D.W）、海洋深層水原水（原水）、海洋深層水等張液（等張液）、海洋深層水淡水（淡水）の 4 種の水で 20%ホルマリン水溶液を作製して、1cm³に切り出した 4%寒天を各々のホルマリン水溶液に浸漬させて、30 分、60 分、90 分、120 分室温放置（RT）または超音波照射（US）した後、半割にして浸透具合をマクロ観察・比較検討した。何れも US の方がエオジン浸透は強く、浸透の強さは、原水≧等張液≧淡水>D.W であった。また、原水・等張液・淡水の間には殆んど差が無かった。

予備実験で得た結果を元に、病理解剖で得られた肝臓組織を 1cm³に切り出し、1) D.Wで希釈した20%、10%、5%、2.7%のホルマリン、2) 原水で希釈した20%、10%、5%、2.7%のホルマリン、3) 等張液で希釈した20%、10%、5%、2.7%のホルマリン、4) 淡水で希釈した20%、10%、5%、2.7%のホルマリン、の 16 種類のホルマリン水溶液にそれぞれ一定時間（30 分、60 分、90 分、120 分）浸漬させた。各水溶液は、RTによる浸漬とUSでの浸漬の 2 通りで検討した。浸漬終了後標本を半割にして固定状態を肉眼的観察し、パラフィン包埋ブロックを作製した。各パラフィンブロックからマイクロトームで 5μm の薄切切片を作製して、ヘマトキシリン・エオジン（H・E）染色や各種特殊染色、更に各種抗体による免疫染色を行い、形態保持の状態と各種酵素の残存状態、及び抗原保持の状態を 3 段階で比較検討し、それぞれのホルマリン水溶液について評価した。

【結果】一般的に、ホルマリン水溶液は水（D.W）で希釈して用いられているが、今回の検討では海洋深層水由来の水（淡水、等張液、原水）で希釈したホルマリン水溶液が、D.W で希釈したホルマリン水溶液に比して何れもより高い固定能を示していた。今回用いた 1cm³の肝臓では、浸漬時間が短い（通常法では 24～48 時間）ために、低濃度ほど標本の中心部分で未固定領域が多く認められた（2.7%>5%>10%>20%）。しかしながら、US を併用すれば 2.7%や 5%といった低濃度ホルマリン水溶液でも 30 分程度でおよそ 0.5～0.8mm 固定完了していた。以上より、生検レベルの材料（2～3mm 大）であれば、2.7%や 5%といった低濃度ホルマリン水溶液でも US を併用することで 90 分程度の短時間でも十分な固定が得られることが証明された。

本研究は、地域イノベーション創出総合支援事業重点地域研究開発推進プログラム平成 21 年度「シーズ発掘試験」（独立行政法人 科学技術振興機構：JST）の助成を受けて実施した。

電子顕微鏡染色における塩化ハフニウム染色法の 発展性の検討

愛媛大学 総合科学研究支援センター生物機能解析分野 首藤 政親

【目的】核燃料物質のため現在購入が難しくなっている酢酸ウランに代わる電子顕微鏡染色法を検討した。第31回生理学技術研究会に発表した「リポソームの電子顕微鏡を用いたウラン染色に代わる染色条件の検討」において、塩化ハフニウム単染色では染色性を示さないが、これにカコジル酸緩衝液を用いることでリポソームの膜層構造まで染色することが確認された。さらに研究を進めていくと、エポン切片において、塩化ハフニウム・カコジル酸緩衝液とクエン酸鉛二重染色を行うことで酢酸ウラン・クエン酸鉛二重染色に近い染色性を示すことが発見された。この結果から、カコジル酸緩衝液は塩化ハフニウムの染色性と増感作用をなしているものと推測される。尚、デメリットとしては染色時に汚れが多いことが挙げられる。

カコジル酸緩衝液は、リン酸緩衝液と共に形態保持に定評があり、化学反応を起こしにくいため電子顕微鏡試料作製において広く用いられる緩衝液の一つである。カコジル酸緩衝液には生体を損なわず試料を傷めないという利点があり、生体に近いpH7付近での染色液を維持しつつ塩化ハフニウムの染色性を増感させ、併せて染色時に出る汚れを軽減させることを目指した。

【方法】まず、塩化ハフニウム・カコジル酸のメーカーの組み合わせを変え、染色性の相違及びコンタミネーションの相違の検討を行った。

次に、上記の結果の優れた組み合わせを中心に、塩化ハフニウム・カコジル酸緩衝液の濃度, pH, 温度, 洗浄時間, 浸漬時間, 洗浄方法の違いによる染色性の相違を検証した。

【結果】実験では、塩化ハフニウム・カコジル酸のメーカーの違いによる染色性・コンタミネーションの変化、pHによる染色性の違い、酸化によるコンタミネーションの影響等が表れた。現在、データの蓄積に取り組み、試行錯誤ながら最適な組み合わせについて模索し続けている。

【参考文献・資料】第31回生理学技術研究会報告誌「リポソームの電子顕微鏡を用いたウラン染色に代わる染色条件の検討」

マウス粥状動脈硬化病変における脂肪染色 en face 解析後のパラフィン切片作成と組織学的解析 -本法による動脈硬化病変形成における MMP-2 の関与の検討-

浜松医科大学 解剖学講座¹⁾、同 実験実習機器センター²⁾、名古屋大学医学部 老年科³⁾
佐々木 健¹⁾、葛谷 雅文³⁾、成 憲武³⁾、中村 香江³⁾、鈴木 直美²⁾、川端 弥生²⁾、佐藤 康二¹⁾

【目的】現在までに動脈硬化症の発症・進展に関する様々な研究が行われ、その機序については徐々に解明が進みつつある(1-4)。我々も動脈硬化病変の進展に対する matrix metalloproteinase (MMP)-2 の関与について、いろいろな手法を用いて研究している(2,5)。このような動脈硬化病変に対する解析手法の一つに、採取した血管(主に大動脈)を長軸方向に切開し、そのまま脂肪染色して解析する方法(en face 解析)があり、多くの研究者に利用されている。しかしながら、この en face 解析を行なった組織(大動脈)は、その組織中に多くの未解析情報が含まれるにもかかわらず、en face 解析以後は利用されない場合が多い。このようなことから、本研究では、この脂肪染色による en face 解析を行なったマウス大動脈から脂肪染色色素を脱色し、その後、パラフィン切片を作成して組織染色や免疫組織化学染色への転用を検討した。さらに、本手法を用いてマウスの粥状動脈硬化巣における MMP-2 の関与についても調べた。

【方法】粥状動脈硬化症のモデルマウスである Apolipoprotein E 遺伝子欠損(ApoE^{-/-})マウスと ApoE^{-/-}, MMP-2^{-/-}マウス(8 週齢)に対し、高脂肪食(21%脂質、0.15%コレステロール含有)を 8 週間にわたって負荷し、動脈硬化病変の形成を誘導した(4,5)。この後、両マウスを 4%パラホルムアルデヒドで灌流固定し、心臓と大動脈を摘出した。大動脈弓～胸部大動脈部を切開して飽和 Oil red O 溶液で染色を行ない en face 解析を行なった。解析終了サンプルは、直ちに 70%エタノールに浸漬し、その後、常法によりパラフィン包埋ブロック・薄切標本(4μm)を作成した。薄切標本は組織染色(HE 染色、マッソントリクローム染色、ピクロシリウスレッド染色)や各種抗体による免疫組織化学染色(α-actin、Mac-3、MMP-2)を行ない、組織学的な検討を行なった。

【結果】各マウスの粥状動脈硬化病変における en face 解析後に作成したパラフィン切片では、通常のパラフィン切片とほぼ同様に組織染色や免疫染色等が可能であった。また、これらの染色像からコンピューターソフト(Scion image)を用いた半定量的な解析も行うことができた。一方、本法による薄切標本の解析では、動脈硬化巣の肥厚内膜面積および平滑筋細胞マーカーであるα-actin 陽性領域は、ApoE^{-/-}マウスが ApoE^{-/-}, MMP2^{-/-}マウスに対して有意に大きい結果となった。また、肥厚内膜におけるマクロファージ陽性領域や、コラーゲン染色領域は両マウス間で有意な差はなかった。

【考察】本研究の結果から、マウス大動脈の粥状動脈硬化病変での脂肪染色による en face 解析後に、そのサンプル組織を再利用する形で、パラフィン包埋・薄切標本によるさらなる組織学的解析が可能であることが示唆された。これは一般的な組織染色のみならず、免疫染色にも応用可能であると思われる。一方、ApoE^{-/-}マウスと ApoE^{-/-}, MMP2^{-/-}マウスの比較から、動脈硬化病変の内膜への平滑筋細胞の浸潤・遊走において MMP-2 が重要な役割を担っていることが示唆された。

【参考文献・資料】

- (1)Kuzuya M and Iguchi A. J Atheroscler Thromb. 2003; 10: 275-82.
- (2)Kuzuya M *et al.*, Circulation. 2003; 108: 1375-81.
- (3)Sasaki T *et al.*, Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2006; 26: 1304-9.
- (4)Sasaki T *et al.*, Atherosclerosis. 2010; 210: 430-7.
- (5)Kuzuya M, *et al.*, Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2006; 26: 1120-5.

薄切した保存標本における D2-40 抗体を用いた免疫染色性の変化

浜松医科大学 技術部(実験実習機器センター)¹⁾、同(解剖学講座)²⁾
川端 弥生¹⁾、佐々木 健²⁾、鈴木 直美¹⁾、小島 俊男¹⁾

【目的】D2-40 はリンパ管内皮細胞マーカーとして知られている podoplanin に対するモノクローナル抗体であり、リンパ管研究や悪性腫瘍のリンパ管侵襲鑑別に汎用されている。一方、我々は、ホルマリン固定パラフィン包埋標本での D2-40 抗体を用いた免疫染色において、薄切後の保存時間の経過に伴いその染色性が大きく低下し、場合によっては殆ど染色性が認められなくなるというを経験的に認知していた。このような背景から、本研究ではホルマリン固定パラフィン包埋標本(頭皮、リンパ節)において、薄切後の時間経過に対する D2-40 抗体の染色性の変化と、この変化に対する薄切標本の保存方法(常温、4℃、-30℃、4℃+乾燥剤)の影響について検討を行なった。

【方法】本研究では、リンパ管が豊富に存在する頭皮とリンパ節を用いた。これらの組織から常法によりホルマリン固定パラフィン包埋ブロック・薄切標本(4μm)の作成を行なった。なお、薄切した標本は恒温機(36℃)で一晩乾燥させた。

実験 1)パラフィン標本薄切後の時間経過による D2-40 抗体の染色性の変化を調べるために、薄切後の標本を 0 週(0W:薄切一晩乾燥の直後)、2 週(2W)、4 週(4W)、8 週(8W)、16 週(16W)の間、常温において保存し、抗 D2-40 抗体(DAKO)による免疫組織化学染色を行なった。発色は Horseradish peroxidase 標識二次抗体(Vector)と DAB 発色キット(Vector)を用いて行った。

実験 2)実験 1 で認められた薄切後の経過期間による D2-40 抗体の染色性の低下に対し、様々な保存方法の効果を検討した。薄切した標本を、①室温保存、②冷蔵保存(4℃)、③冷凍保存(-30℃)、④冷蔵保存+乾燥剤(4℃+シリカゲル)の 4 種類の方法により保存し、2W、4W、8W、16W において、実験 1 と同様に抗 D2-40 抗体により免疫組織化学染色を行なった。

実験 3)実験 1 で見られた染色性の低下は、D2-40 抗体に特異的か、リンパ管マーカー全般に該当するのかを調べるために、他のリンパ管マーカー抗体(NZ-1:AngioBio、Lyve-1:RELIA Tech)を用いて、薄切後の各保存期間(室温:0W、8W、16W)において免疫組織化学染色を行なった。

【結果】実験 1)常温保存では、薄切後の保存期間が 4~8W で抗 D2-40 抗体による免疫染色性が大きく低下し、保存期間が 16W となると、その染色反応が殆ど見られないような部位も認められた。

実験 2)実験 1 で認められた常温保存による抗 D2-40 抗体の免疫染色反応の低下は、冷蔵保存(4℃)や冷凍保存(-30℃)により改善された。また、冷蔵保存と乾燥剤を組み合わせた方法では、特に大きな改善は認められなかった。

実験 3)抗 NZ-1 抗体や抗 Lyve-1 抗体を用いたリンパ管内皮細胞の免疫染色では、抗 D2-40 抗体(実験 1)のような常温保存による免疫染色反応の大きな低下は見られなかった。

【考察】本結果から、D2-40 抗体を用いた研究や鑑別診断においては、薄切後の標本保存期間と保存方法に注意を要することが示唆された。保存方法に関しては、できるだけ低温下で保存し、一定以上の期間が経過した組織については、改めて薄切から行うことが推奨されると思われる。また、他のリンパ管内皮細胞マーカーの抗体では、D2-40 抗体の場合のような大きな染色性の低下が見られなかったことから、この染色性の低下は、D2-40 抗体の認識部位の何らかの変性によるものと予測された。

【参考文献・資料】

Sleeman JP *et al.*, *Microsc Res Tech.* 2001; 55(2): 61-9.
Ogasawara S *et al.*, *Hybridoma.* 2008; 27(4): 259-67.

非密封の放射性同位元素の使用施設の廃止について

基礎生物学研究所 技術課 松田 淑美

【目的】私の勤務する岡崎共通研究施設アイソトープ実験センターは、非密封の放射性同位元素（以下「RI」）の使用施設である。施設の利用者の減少に伴い、事業所内にある RI 施設のうちの 1 箇所（形質統御棟 RI 室）を平成 22 年 8 月末で廃止した。廃止に伴い、法令に基づいて必要な措置を行ったので、廃止完了までの作業について報告する。

【方法】

RI 施設を廃止するときは、放射線障害防止法に基づいて文科省へ申請し、廃止後はその措置についての報告が必要である。廃止は次の日程で計画した。

- 平成 22 年 3 月 31 日 形質統御棟 RI 室における RI 実験の終了
- 7 月 31 日 廃止のための申請書（案）を文科省へ提出
- 8 月 31 日 形質統御棟 RI 室の設備の汚染検査・除染作業完了
- 9 月 30 日 廃止のための申請書を文科省へ提出（本申請）
- 11 月 30 日 廃止のための申請が文科省に承認される
廃止に伴う措置の報告書（案）を文科省へ提出
- 12 月 31 日 廃止に伴う措置の報告書が文科省に受理される
形質統御棟 RI 室の廃止

【結果および考察】

廃止のため文科省へ提出する「承認使用に係る変更承認申請書」には、廃止後に残る RI 施設の「しゃへい」「排気中 RI 濃度」「排水中 RI 濃度」「被ばく線量」を計算し、法令の基準値以下であることを示す必要がある。今回、被ばく線量の計算方法について、文科省の担当官より指摘があり、これに対応するため計算の見直しを行った結果、動物実験における使用核種・使用数量を変更した。これにより、RI を用いた動物実験について見直しができ、利用者のニーズに対応することができた。

また、計画では、管理区域の廃止は、平成 22 年 12 月末を目途にしたが、文科省の担当官との対応が円滑に進んだことから、予定より大幅に早く 8 月末に廃止することができた。廃止までの期間の大幅な短縮の要因は、担当官の対応が迅速であったことと、従来、「廃止に伴う措置の報告書」（案）を提出し、受理までの期間が必要だったが、今回は、案の提出が不要になったことが大きい。

RI 施設の法改正に対する対応

九州工業大学情報工学部 楠本 朋一郎

【目的】放射性同位元素取扱施設（以下 RI 施設）は、放射線障害防止法や電離放射線障害予防規則等の法令で厳重に規制される施設であり、それらの法令は度々大きな改正があり、確実な対応が必須である。本学部の RI 施設も、筆者が赴任（平成 14 年 8 月）してから数回にわたる法改正等を経験しており、その際の対応事例を紹介する。

【方法】対応は文部科学省放射線規制室や日本アイソトープ協会、中央労働災害防止協会や安全衛生情報センターの HP の該当ページを参考にした。

(1) 文部科学省 原子力・放射線安全確保のページ

http://www.mext.go.jp/a_menu/anzenkakuho/index.html

(2) 日本アイソトープ協会 <http://www.jrias.or.jp/index.cfm/1,html>

(3) 安全衛生情報センター <http://www.jaish.gr.jp/>

【結果】筆者が経験した法改正で大きなものは次の通り。(1) 国立大学法人化に伴う労働安全衛生法諸法令への対応（平成 16 年）(2) 国際免除レベルの取り入れによる放射線障害防止法の一部改正（平成 16-17 年）(3) 廃棄物管理を含んだ廃棄処理の厳格化への対応（平成 22 年）。(1) については有資格者の養成や予防規則の改定、労働基準監督署への申請、作業環境測定への対応など実施すべき項目が多かった。(2) についてはそれまでの 4 群換算という考え方が無くなり国際免除レベルが取り入れられ、計算書を大幅に作り替えたり、予防規定の改定、教育訓練への反映などを実施した。(3) については昨年度取り組み、予防規定の改定や帳簿の改定等を行った。その他にも施設の作業室の申請を一部取り下げて、電子顕微鏡を設置したり、有機廃液をアイソトープ協会に引き取って頂けるように予防規定の改定や申請書の改定等を行った。また、今年に入り RI 施設の廃止に向けて準備を進めているところである。

【考察】放射線障害防止法は度々、大掛かりに変化を遂げその度に対応してきた。筆者が第 1 種放射線取扱主任者に合格したのは赴任した直後の平成 14 年であり、主任者となったのは講習が受講できなくて平成 16 年であった。それまで全くの未経験でも対応できたのは、当施設の規模が小さかったのと講習会に定期的に参加させて頂いたところによる部分が大きいように思う。また、事務の方々との信頼関係を築くことが出来たのも大変大きかった。

次世代 DNA シーケンサーを用いたシロイヌナズナ 変異体の迅速な原因遺伝子同定法の確立に向けて

基礎生物学研究所 技術課 山口 勝司

【背景】基生研では共同利用研究制度を通じ、所外のサイエンティストと共に機器の共同利用や解析法に関する技術開発を進めてきた。今年度より新たに開始された「次世代 DNA シーケンサー共同利用実験」は、生物機能解析センターが次世代 DNA シーケンサーを用いて、様々な解析アプリケーションの共同利用・共同研究を推進するものであり、現在 10 件以上の課題を進行させている。現在運用中の Life Technologies 社の次世代 DNA シーケンサー SOLiD は、今現在、市場に数機種存在する次世代 DNA シーケンサーの中でも、最も高いシーケンス精度を発揮するものとされ、リシーケンスによる変異塩基を精度良く検出するのに特に向いている。

【目的】モデル植物であるシロイヌナズナを用いて、様々な植物生理に関わる遺伝子の機能を明らかにするためには、突然変異体をスクリーニングし、その原因変異を遺伝学的手法により明らかにするのが一般的である。しかし、従来の多型マーカーを利用したマッピングベースによる原因遺伝子の特定は、膨大な時間と手間のかかる作業である。そこで SOLiD の特性を活かし、EMS 変異体の変異原因遺伝子の特定を簡便、低コスト、かつ高精度に達成できる手法の確立を目指している。

【方法】EMS 処理した変異株ライブラリーから、注目する特定の表現型変異株を選別する。そこからゲノム DNA を常法に従い単離抽出し、シーケンスライブラリーの作成、プレ処理を行った後、SOLiD によるシーケンスを行った。シーケンスライブラリーの作成は、最大 16 サンプルを後に振り分け可能にできる配列タグを付け、まとめて 1 サンプルとしてシーケンスできるようにした。データ解析は Life technologies 社から提供されている BioScope および自作のスクリプトにより行った。

【結果・考察】16 サンプルを同時に解析することが可能であった。解析の結果、いくつかのサンプルではラフマッピングと次世代 DNA シーケンサーによるゲノムリシーケンスを組み合わせることによって、効率良く原因の変異を同定することが可能であった。一方、変異の同定が難しいものも見られた。これらを踏まえ、スクリーニング戦略からインフォマティクスに至るまで、次世代 DNA シーケンサーを用いた変異検出において、どう実験デザインをすべきか考察する。

実験装置におけるコンピュータウイルス対策の検討

東北大学 加齢医学研究所 小森 和樹

【目的】

加齢医学研究所では、共通機器室を設置し、複数の実験装置を共同利用する体制を構築している。しかし、これらの実験装置（以下、共通機器）と接続されているパソコンがコンピュータウイルス（以下、ウイルス）に感染してしまい、利用できなくなってしまうという問題が、近年増えていた。この問題に対応するべく、共通機器へのウイルス感染を防ぐ方法を検討することにした。

【方法】

- (1) 共通機器専用のネットワークを構築した。なお、共通機器専用ネットワークは特定の場所にしか接続できないネットワークとして構築した。
- (2) 共通機器へのデータの持ち込み、および持ち出しは、従来の USB メモリによる方法を止め、リアルタイムウイルススキャン機能を組み込んだファイルサーバを経由することとした。
- (3) 共通機器を制御するパソコンにもウイルス対策ソフトをインストールし、定期的なウイルススキャンを実施することとした。

【結果】

- (1) 共通機器専用のネットワークを構築したことにより、同一ネットワークに接続されたパソコンからのウイルス感染のリスクを低下させることができた。また、特定の場所にしか接続できないネットワークとして構築したことで、Web ページの閲覧やプログラムのダウンロードによるウイルス感染を防ぐことができるようになった。
- (2) 従来の USB メモリからのウイルス感染を防ぐことができた。またウイルス感染のリスクがある持ち込みデータが共通機器に保存される前に必ずウイルススキャンされるため、ウイルス感染のリスクを低下させることができた。
- (3) 個別にウイルス対策ソフトをインストールし、定期的なウイルススキャンを実施することで、もし共通機器がウイルスに感染しても迅速に対応できるようになった。

【考察】

実験装置にデータを移動させる際に、USB メモリではなく、リアルタイムウイルススキャン機能付きファイルサーバを利用することはセキュリティの観点から非常に有意義である。

ポスター発表

P1

髄鞘に存在する糖タンパク質の解析

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、実験を行った。

【方法】 今までは精製した髄鞘を用いて 16-BAC/SDS-PAGE により糖蛋白質の分離を行った。得られたスポットから、糖蛋白質とそこに付加する糖鎖の解析が可能であった。今回、髄鞘の精製過程で不純物をより除去するために実験手法を改良し精製度の向上を行った。そして、糖蛋白質を網羅的に検出するため、Pro-Q エメラルド染色を行った。

【結果及び考察】 髄鞘の精製ではホモジナイズと遠心分離の回数を増やすことで細胞膜の破碎と不純物の除去を行うことができた。Pro-Q エメラルド染色は髄鞘に特殊な反応を示し、糖蛋白質の検出には至らなかった。染色による糖蛋白質の網羅的な検出が困難なため、今後は髄鞘の特定糖鎖に着目し、それを有する糖蛋白質を調べる予定である。

【参考文献】 Menon et al., J Neurochem., 87, 995-1009, 2003.

P2

相互作用解析のための核タンパク質溶出条件の検討

基礎生物学研究所 技術課 壁谷 幸子

【目的】 個々のタンパク質の機能を理解する上で、そのタンパク質が相互作用する因子を知ることが必要である。その解析方法は確立されているが、試料調製は標的タンパク質の性質に応じて検討する必要がある。今回、植物における分化・再生機構に必須な核タンパク質 HIRA 複合体を溶出する条件を検討したので、報告する。

【方法】 HIRA-HA タンパク質を発現するヒメツリガネゴケ原系体を液体窒素中で粉碎し、溶出バッファーを加えタンパク質を抽出した。核タンパク質の溶出条件は、核を単離しない場合 (S1) とする場合 (S2) について検討した。

【結果】 S1 ; 抗体カラムからの溶出には SDS-サンプルバッファーが最もよかった。 S2 ; 核酸分解酵素および塩処理により核タンパク質が溶出できた。

【考察】 以上の結果、HIRA タンパク質複合体を溶出する条件を確立することができた。S1, S2 両画面から得られた共通のタンパク質が、HIRA の相互作用因子の候補となると考えられる。今後は、質量分析に向けてスケールアップを図るための条件を検討していきたい。

P3

MALDI-TOF MS を利用した *Lactobacillus gasseri* の同定

東北大学大学院 農学研究科 動物資源化学分野¹⁾, 基礎生物学研究所²⁾
西村 順子¹⁾, 牧野 由美子²⁾, 川井 泰¹⁾, 北澤 春樹¹⁾, 重信 秀治²⁾, 齋藤 忠夫¹⁾

【目的】細菌の分類・同定における新たな手法として、リボソームタンパク質を指標とした MALDI-TOF MS を用いた同定に着目し、より迅速で確実な同定法の確立を目指した。

【方法・結果】供試菌株にはプロバイオティック乳酸菌の *Lactobacillus gasseri* を用いた。MRS Agar で培養後、菌体を破碎し、アセトニトリルで抽出したタンパク質を MALDI-TOF MS に供した。その結果、3 菌株間において m/z 2,000~16,000 の範囲内で、15 本のシグナルに共通性が見られた。なかでも m/z 6,497~6,498 付近のシグナルは、データベース解析からリボソームタンパク質 50S/L30(6,497) であると考えられ、バイオマーカーとしての可能性が示唆された。

【考察】本実験で得られた共通シグナルのうち帰属できたものは 1 本のみと、非常に少なかった。今後は、詳細な条件検討をはじめ、培養条件の変更による影響や、16S rRNA 解析で識別が困難な菌種への実施等を予定している。

P4

脊椎動物の心臓発生・疾患理解のための 3次元イメージング解析

東京大学 分子細胞生物学研究所 心循環器再生研究分野 横田 直子

【目的】脊椎動物の多様な心臓形態を 3次元画像化し、心臓発生・心疾患研究に役立てる。

【方法】3次元画像の再構築は、鮮明で、位置のずれや歪みの少ない 2次元連続画像を使用することが、正確な立体像の再現につながる。脊椎動物の心臓は、形だけでなく、大きさや組織の硬さなども多様である。最適な手法を見つけるため、複数の手法を試みた。数種類の脊椎動物の心臓を供試材料に、パラフィン連続切片、MRI、CT で取得した 2次元連続データから画像解析ソフトウェア Amira を使用し、3次元画像を作製し比較した。

【結果】試したどの手法の 2次元連続データにも長所・短所がある。検討した結果、今回は、マウスの心臓の CT データを選び、内部構造を示す 3次元画像と動画を作製した。

【考察】Amira の利点は、自動又は手動で、2次元データの位置情報の調整（アライメント）と心臓部分のバックグラウンドからの抽出（セグメンテーション）が可能なことである。今後は、3次元画像構築用に特化した 2次元像の撮影システムの導入を検討している。

P5

肝細胞癌転移における fascin-1 の機能とバイオマーカーとしての評価検討

高知大学 医療学系連携医学部門病理学 林 芳弘

【目的】肝癌細胞における actin-bundling protein ; fascin-1 の機能の追及とヒト肝癌症例の fascin-1 の免疫組織化学的検出が、転移能やその予後判定のバイオマーカーになるかどうか検証することを研究目的とした。

【方法】上記目的を遂行するために、新たな技術の習得が必要となり、培養細胞を用いたタンパク質解析（免疫細胞化学、ウェスタンブロット、Gelatin-zymography 法）、遺伝子工学的解析（遺伝子導入による発現亢進およびノックダウン、RT-PCR 法）、細胞遊走・浸潤アッセイ法、動物実験（癌細胞のヌードマウス移植、ELISA 法）などを行った。

【まとめ】初心者にとって、安定した結果を得る実験系の構築は、非常に難しく、データのバラつきや問題点が多数浮かび上がった。技術の向上および経験により解決する問題点もあるが、今回、その道のプロに教えを請いたいと思っている。

P6

タンデムリピートコンストラクトの高効率作成法

生理学研究所 技術課 山本 友美

【目的】複数の同一サブユニットで構成される受容体の構造機能関連研究において、例えば3量体中の1つのサブユニットのみに点変異を導入したい場合がある。野生型と変異体を共発現させる方法では正確な制御は不可能で、2個の野生型と1個の変異体をタンデムに連結したコンストラクトの作成が最も有効である。しかし、制限酵素部位導入による多ピースのライゲーションによる作成法は効率が極めて低い。最近、Uracil を含むオリゴヌクレオチドと Uracil を欠失させる USER(Uracil Specific Excision Reagent)酵素を用いて長い特異配列を持つ overhang を作成する方法が報告された(Gen-Flores et al, 2007)。この方法を応用して3タンデムリピートコンストラクトの作成を試みた。

【方法】Uracil を含むオリゴヌクレオチドプライマーを用いた PCR により、両端に特異配列を持つ P2X₂ 受容体の野生型および変異体を増幅した。その産物を USER 酵素により37度で処理しUracil 残基とその遠位側の塩基を欠失させ、9塩基程度の特異配列の overhang を得た。そのまま、室温放置することにより3断片とベクターの合計4断片をライゲートさせ、大腸菌にトランスフォームした。

【結果および考察】4種類の3タンデムリピートコンストラクトの高効率の作成に成功した。今後 overhang 部の長さや配列を最適化するため、さらに検討を行う。

P7

アフリカツメガエル胚を使った *in situ* hybridization における漂白条件の検討

基礎生物学研究所 技術課 高木 知世

【目的】メラニン色素をもつ野生型のアフリカツメガエル胚は、Whole mount *in situ* hybridization (WISH) に使用する際、漂白する必要がある。漂白ステップを染色後に行っていたため失敗することがたびたびあった。漂白ステップを染色後から胚を固定した後に変更できるかどうか検討したので報告する。

【方法】WISH は ABiMED 社の *In situ* Pro を利用し、プログラムは Xen_NS (ProK 処理無) を使用した。使用した DIG antisense probe は Xbra (stage. 11) または Xsox5 (stage. 25)。胚の漂白のタイミングを染色後から胚を固定した後に変更すると同時に、1) 3 種類の漂白液、2) 漂白後の胚の固定の必要性を検討した。

【結果・考察】漂白のタイミングを変更した後の WISH 胚の発現パターンには問題がなかった。漂白液は 1% 過酸化水素水 + 5% ホルムアミド + 0.5 × PBS が最も適しているようだった。また、漂白後の固定は必要なさそうだった。

P8

微生物の分離・観察を行う学生実験で使用する 培地組成と培養方法の検討

筑波大学 生命環境科学等技術室 木澤 祥恵

【目的】初めて微生物の分離・観察を行う学生実験では身近な試料を学生に選択させるケースが多いが、培地の栄養価や培養条件で観察できる微生物の種類に偏りが出てしまう。このため、限られた時間でより多様な微生物が観察できるよう検討を行った。

【方法】多様な微生物が観察できると考えられる土壌や、単一・もしくは数種類の微生物が観察できると考えられる食品など、全部で 9 種類の試料を選び、栄養価の異なる一般的な培地 6 種類、乳酸菌の分離に用いられる培地 2 種類に植菌して生育状況を観察した。乳酸菌用の培地については、そのまま好氣的に培養するものとアネロパックケンキを使用して嫌氣的に培養するものの 2 種類について観察を行った。

【結果】同じ試料から生育した微生物は、培地の栄養源によってバクテリア、カビなどの生育状態が異なり、培地を選択することで、限られた時間でより多様な微生物を観察することが可能であることが示唆された。

P9

LC-MS 活用のためのコツとメンテナンス

基礎生物学研究所 技術課 森 友子

【目的】所属する生物機能情報分析室ではプロテオーム研究推進の為に、3台の質量分析装置を擁している。これらの装置の特徴を最大限に活かすには、常に装置の感度・精度を最良の状態に保つ事が大前提である。今回は LC-MS (Waters 社製 Q-TOF Premier) の維持管理を担当してきた4年の間に経験し、心がけたメンテナンスと測定のためのコツについて報告する。

【方法】標準サンプル (Glu¹-fibrinopeptideB 100fmol/μl) を用いて、メンテナンス前後の感度を比較する。なお、メンテナンスとしては以下の項目を実施した。

(1) イオン源入り口 (サンプルコーン) の洗浄、スプレーヤーの調整 (日常のメンテナンス) (2) イオン源の洗浄 (半年に1回) (3) スクロールポンプのメンテナンス (年に1回) (4) 液体クロマトグラフのニードル、シリンジの洗浄。

【結果】定期的に標準サンプルを用いて感度を確認することで、装置を常に良好な状態に保つことができた。

P10

Ion Trap Mass spectrometry を用いた ESI/Infusion 法による海洋性抗腫瘍成分構造解析

高知大学 総合研究センター 生命・機能・物質部門 小西 裕子

【目的】本学のイオントラップ質量分析計はタンパクのリン酸化部位や薬剤の結合部位を決定するため導入されたが、イオン化の条件をかえ、ペプチド結合の開裂部位を変化させることによって、ペプチド (海洋性抗腫瘍成分) の構造解析に応用した。

【方法】沖縄産海洋性海綿からの精製抗腫瘍活性画分の供与を受け、イオントラップ質量分析計 (Xcalibur Finnigan LTQ XL) の infusion 法を用い、collision エネルギーを変えながら MS/MS を行った。Denovo 解析は MALDI-TOF-MS (AB SCIEX TOF/TOF™ 5800) を用いた。

【結果】Cyclic Peptide 2種の構造を解析した。

【考察】collision エネルギーの微調整が難しく、MALDI-TOF-MS の Denovo 解析機能を併用しながら構造解析した。

【参考文献・資料】M. Tsuda, et al., *J Tetrahedron* Vol. 49, No. 31, pp6785, 1993

MR マイクロイメージングによる ラット顎関節撮像法の検討

獨協医大 医 生理学¹⁾, 日本大 松戸歯 顎顔面外科²⁾, 生理研 ナノ形態生理³⁾
横井実佳¹⁾, 今泉好偉¹⁾, 佐藤かおり^{1,2)}, 佐藤慶太郎¹⁾, 村上政隆³⁾, 瀬尾芳輝¹⁾

顎関節は構造や運動が複雑であり、ラットやマウスなど実験動物の MRI においては未だ定式的な撮像方法が提唱されていない。本研究では、高磁場 MR イメージング装置を用い、ラット顎関節の形態、特に軟組織の構造の描出を目的とし、MRI 画像の撮像法を検討した。麻酔薬で安楽死させた 6-8 週齢の雄性ラットの顎関節周辺部および頭部を用いた。局所分解能向上のために、高分解能 MR マイクロイメージング装置(7T AVANCE III 300wb, PraVision5.0PL2, micro2.5, Bruker)と 18mm Surface coil を使用した。2 次元 T₁ 強調グラディエントエコー法および、3 次元 T₁ 強調グラディエントエコー法にて顎関節を撮像した。空間分解能 75 ミクロンで、顎関節を構成する低信号の側頭骨と下顎骨の間に、高信号の関節軟骨および滑液に囲まれた中信号の関節円板が描出できた。また組織標本とほぼ一致した形態であると確認できた。以上より、MR マイクロイメージングは、顎関節の複雑な構造を解析できる有用な手段と考えられる。

Dual fMRI 実験装置の紹介

生理学研究所 技術課 伊藤 嘉邦

平成 21 年度に生理学研究所に新たに導入された Dual fMRI 実験装置の紹介を行う。この装置は、シーメンス社の 3T(テスラ)の MRI 装置を 2 台用いることにより、2 人の被験者の脳活動を同時に計測することを実現している。また、ビデオカメラとプロジェクターを用いて、MRI 装置内の二人の被験者がお互いの顔を見ることができるようになっている。これらの機能を活用することにより、2 人の被験者間における人間の社会的な心理作用に関する様々な実験を行うことができる。

この装置は、人間の社会的な心理作用を含めた様々な心理生理学的な実験を行い記録するために、次の装置から構成されている。

- (1) fMRI 実験装置 : 被験者の脳活動を計測する。
- (2) 画像合成装置 : 視覚刺激用画像の生成 (PC と被験者のビデオ画面を合成する)
- (3) 視線計測装置 : MRI 装置内の被験者が視覚刺激画像のどこを見ているか計測する
- (4) ビデオ録画装置 : 16chHDD 録画装置で、実験中のビデオ信号と音声を記録する。
- (5) 同期信号発生装置 : 各装置の同期を取るための信号発生装置

P13

CT 画像データの連結と 3D 化の検討

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 小笠原 勝利

【目的】CT 画像を用いたデータ解析は、目的とする部位に着目して画像の取得を行う。教育分野において、各部位ごとのデータ解析はもとより、全体像の把握も必要不可欠とされていた。そこで、本発表では、撮影対象の部位ごとの CT 画像データを用いて、全体像の 3D 化を目的とし、検討した。

【方法】入力データはミニブタの頭部、胸部、上腹部、下腹部の CT 画像データで、ZioTerm2009 のソフトを使用して処理を行った。はじめに、頭部から下腹部までのデータの重複した CT 画像を除去した後に、頭部から下腹部までのデータを連結させた。次に、連結したデータの CT 画像の大きさ・位置の調整をし、3D 化を行った。

【結果と考察】重複した CT 画像を除去し、CT 画像の大きさ・位置の調整を行った結果、頭部から下腹部までの CT 画像データの大きさの違いと位置のずれを改善し、ミニブタの全体像を 3D 化することができた。

P14

X 線 CT 装置を用いたマウス眼球毛細血管の 3 次元画像化

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 2005 年に X 線 CT 装置と 3 次元画像解析装置を導入し、主にマウスの骨形態の観察と計測を行ってきたが、昨年、他大学の方から『マウス眼球の血管を X 線 CT 装置を用いて（簡便に）3 次元画像で観察したい。また可能なら毛細血管の本数や太さ等の計測を行いたい』という依頼を受けた。そこで昨年、いくつかの方法を試し検討を行った。その試行錯誤の結果を報告する。

【方法】X 線 CT 装置は ScanXmate-E090S in vivo ((株) コムスキャン) を、3 次元画像解析ソフトは TRI-3DBON((株) ラトックシステムエンジニアリング)を使用した。撮影材料には、マウスの摘出眼球を使用し、本目的に最適な造影剤および撮影方法（電流、電圧、撮影時間他）を検討した。

【結果と考察】試行錯誤の結果、比較的良好な眼球毛細血管の 3 次元画像を得ることができた。しかしながら、現状ではその直径や本数を計測するところまでは至っていない。今後、検討していきたいと考えている。

P15

DPIにより誘導されるヒト培養 HepG2 細胞死の DNA 構造の解明

徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 先端医研 庄野 正行

【目的】DPI (Diphenyleneiodonium) により誘導されるアポトーシス型細胞死においては、細胞死の制御に関与していることが示されている。培養ヒト肝臓癌細胞 (HepG2) を用いて DNA 染色、DAPI と PI の 2 重蛍光染色によって DNA 構造を明らかにすることを目的とした。

【方法】ヒト肝臓癌培養細胞である Hep G2 細胞に DPI の濃度 10^{-6} M 添加後 3 日目にパラホルムアルデヒド (PFA) 4% で固定し、DNA の 2 重染色 (DAPI と PI) を行ない、ニコン倒立蛍光顕微鏡を用いてそれぞれの蛍光画像を撮影し、Image J で画像解析を行ない DPI の誘導による DNA 損傷に対する影響を検討した。

【結果】DPI による誘導では、DNA のインターカレートと A-T ペアの両方が破壊されていた。

P16

IR-LEGO 顕微鏡の紹介

基礎生物学研究所 技術課 斎田 美佐子

IR-LEGO (InfraRed Laser-Evoked Gene Operator) は、生体細胞に赤外レーザーを局所的に照射し、熱ショック応答による遺伝子発現を誘導することができる顕微鏡である。細胞レベルでの遺伝子発現 ON/OFF 操作が可能であり、細胞間相互作用の研究や組織特異的機能解析等に有効である。2009 年に亀井らによって開発され、現在のところ線虫、メダカ、ゼブラフィッシュ、シロイヌナズナで実験例が報告されているが、今後より多くの生物種で利用されることが予想される。私は配属先の光学解析室において IR-LEGO 顕微鏡開発者である亀井准教授のもとで顕微鏡の管理・運営を行っている。本研究会では IR-LEGO の詳細および使用する際の注意点等について紹介する。なお、光学解析室は共同研究を支援するために今年度より発足された施設であり、所外の研究者も利用可能である。詳細はホームページ (<http://www.nibb.ac.jp/l spectro/>) をご参照いただきたい。

【参考文献】Kamei, Y. et al. (2009) Nat. Methods 6, 79-81 ; Deguchi T. et al. (2009) Develop. Growth Differ. 51, 769-775

P17

アミロイドのコンゴレッド染色における封入剤の効果

愛知県心身障害者コロニー発達障害研究所 病理学部門 河村 則子

【目的】皮膚組織のコンゴレッド染色においてコラーゲン線維等の白色偏光を抑えアミロイド線維の緑色偏光を際立たせる封入剤を見つけることを目的とした。

【方法】70週齢 SAMP1 マウスの背部皮膚をパラフィン包埋し10ミクロン厚の連続切片を作製した。また12カ月齢の SAMP10 マウスの全身臓器も同様にパラフィン包埋し5ミクロン厚の切片を作製した。その切片を用いてアルカリコンゴレッド法で染色し、キシレン溶性封入剤・エンテランニューと水溶性封入剤・レブローズシロップにて封入し比較検討した。

【結果と考察】水溶性封入剤であるレブローズシロップで封入した標本、特に皮膚標本では偏光顕微鏡下において皮膚コラーゲン線維の白色偏光が抑えられ表皮直下の微細なアミロイド線維の緑色偏光の観察が非常に容易となった。レブローズシロップの固化が遅いためカバーガラスの安定性が多少悪いが微細なアミロイド線維の確認のためには有用である。

【参考文献・資料】組織学研究法 佐野豊著

P18

しじみ貝の殻を含む全体組織染色

-非脱灰硬組織凍結標本作製技術（川本法）を応用して

島根大学 医学部法医学講座 榎 とも子, 木村 かおり, 藤原 純子, 高橋 節典
高山 公子, 阿草 哲郎, 大塚 洋輔, 竹下 治男

【目的】極硬組織である殻と軟組織を併せ持つ貝類を非脱灰で丸ごと全体を凍結切片にすることを、“川本法”は粘着フィルムを切片支持材として用いることで可能にした。今回、しじみ貝の染色例を示すとともに、病理標本で使用される種々の染色液の川本法への適合を試したので報告をする。

【方法】しじみ貝 3 μ 厚非脱灰凍結切片の HE,PAS,Azan,免疫染色等を行った。また、染色液約 30 種を粘着フィルム[Cryofilm Type IIC(10)]へ滴下し室温でインキュベート後、水及びアルコールで洗浄し、フィルムへの色素の吸着を観た。【結果】HE,PAS,Azan,免疫染色は良好であった。染色液吸着試験は、脂肪染色液 5 種と弾性繊維染色液 2 種を含む約 10 種の色素が洗浄後もフィルムに残存した。【考察】脂肪及び弾性繊維染色は不適であるが、汎用される HE 及び免疫染色結果は良好なことから、川本法は硬組織研究に有効な手段であると思われる。また、その非脱灰凍結という手技は RNA 保存に適することから、*in situ* Hybridization への応用が今後期待される。

P19

瞬間的高圧処理による米粉の処理条件による比較

熊本大学 衝撃・極限環境研究センター 嶽本 あゆみ

【目的】 衝撃波つまり瞬間的高圧は、伝播媒体の密度差におけるスポーリング破壊作用によって対象物を高速で破壊する。伝播速度は音速を超えるため、熱をほとんど生じない。この現象を利用して米粉を製造することで、熱によるデンプンの損傷やアルファ化などを防ぐことができる。一方で衝撃波による粉体化には繰り返し処理が必要である。瞬時放電により発生する衝撃波を利用して、繰り返し処理の回数と、それに伴う粒径分布やデンプン粒子の状態等を比較し、米粉製造に最適な処理条件を検討するための基礎データとする。

【方法】 瞬時放電による衝撃波を用いて繰り返し処理を行った米粉を、繰り返し処理回数ごと、ならびに米粉製造の従来技術である気流粉碎により製造した米粉を用いて、粒径分布や走査型電子顕微鏡によるデンプン粒子の形状比較を行う。

【結果】 30, 40, 50 回の衝撃波処理では、繰り返し回数が増えるのに応じて細粒化した。

【考察】 今後は二次加工特性を比較するために、製造した米粉を用いた製パン加工などの実験が必要である。

P20

ESEM（環境制御型走査電子顕微鏡）による花粉観察

基礎生物学研究所 技術課 牧野 由美子

【目的】 ESEM（環境制御型走査電子顕微鏡）は、試料室内を飽和水蒸気圧程度の低真空に保つことにより、生物試料の水分を蒸発させることなく、自然の状態で観察することのできる電子顕微鏡である。この装置の性能確認などに、しばしば花粉を用いてきた。測定を行う時期などにより違う花の花粉を用いたため、これまでに多くの花の花粉の観察像が得られた。

花粉の形態には類似した型が多く見られ、系統樹の分類による花粉の形態をまとめた。

【方法】 導電性カーボンシールを貼付した試料台に、フレッシュな花粉をのせて試料室を飽和水蒸気圧程度に保ち観察を行った。

【結果】 花粉型で原始的な単粒溝は、単子葉植物の多くで見られ、派生的な三粒溝は基本的に真生双子葉植物のみに見られるが、得られた観察像はその分類に合うことを確認できた。また、真生双子葉植物の特徴である、花粉四分子形成による四面体型も確認できた。

【参考文献・資料】 花粉学事典 新装版 日本花粉学会編集 朝倉書店

P21

電子顕微鏡講習会の開催に関して

生理学研究所 技術課 山田 元

目的：平成 22 年度に生理学研究所電子顕微鏡室にて開催した電子顕微鏡講習会について紹介を行う。電子顕微鏡は優れた機器ではあるが試料作製手順や電子顕微鏡操作の煩雑さから利用したいと考えていても実際に利用できない方が多くみられる。そこで、電子顕微鏡用試料作成方法と電子顕微鏡の操作方法に関する講習会を開催し、より多くの方に電子顕微鏡を利用して頂く事を目的とした。

方法：最も基本的な電子顕微鏡用生物試料作製方法並びに電子顕微鏡操作手順の説明をメインとして講習会を行った。

時間の関係上、試料の採取から樹脂包埋までの工程に関しては DVD にて紹介をおこない、試料作製の肝であるガラスナイフの作成、ダイヤモンドナイフの使用法、ウルトラマイクロトームを用いた切片の作成方法、電子染色の方法、電子顕微鏡操作に関してはできるだけ全ての参加者に体験していただけるようにした。

詳細は会場にて説明する

P22

Web オートメーション技術による業務効率化

生理学研究所 技術課 村田 安永

【目的】平成 22 年度より、自然科学研究機構 岡崎 3 機関にて“ファイル送受信システム (NetWell File Transmission System)”と“新アンチスパム装置 (SPAM WATCHER)”の運用が開始された。これらの装置を運用するにあたって発生した登録業務の負担を軽減する。

【方法】登録業務はウェブブラウザを用いて行うことになっている。この登録業務に必要な一連の作業をコマンドライン一発で行えるツールを開発し、ウェブブラウザを用いず短時間で業務を遂行できるようにする。

【結果】ツールは最終的に Perl スクリプトで作成した。以下の条件を満たすのが理由である。1. LWP モジュールを用いることで HTTPS 接続が容易に可能。2. HTTP クッキーをファイルに保存せずセキュアな実装が可能。3. サーバー用 OS (Red Hat) に標準装備されている。なお、HTTPS 接続上のデータは、Firefox のアドオンを用いて解析を行った。

【考察】完成したツールにより、登録業務の負担を大幅に軽減できた。今回用いた“Web オートメーション技術”を他の機器にも適用して、さらなる業務効率化を図っていきたい。

P23

ネームプレートシステムの作成と改修

基礎生物学研究所 技術課 三輪 朋樹

【目的】基礎生物学研究所は、玄関に職員名を掲示する方法としてタッチディスプレイを用いたネームプレートシステムで実現している。今回はこのネームプレートシステムの紹介と若干行った改修について報告する。このシステムは、受付・事務室で管理する職員録DBと連携し動作しており、当初ネームプレートで使用するデータは情報管理解析室側で定期的に手作業で作成していた。この作業が煩雑なため、職員録DB上で簡易に作成できるよう改修を行うとともに、別システムである職員アドレス検索とも連携させるようにした。

【方法】職員録DBはFileMakerを使用しており、FileMakerのスク립ト機能に加えて、AppleScript、UNIXのシェルスクリプトを組み合わせて行っている。手順としては以下の通りとなる。1. データベースから必要情報をCSVファイルとして書き出し。2. CSVファイルの修正と漢字コードの変換。3. 特定のサーバにファイルをsshでコピー。

【結果】煩雑な作業を必要とせず、職員録DB上からメニューひとつで更新可能となった。

【考察】JavaScript+XMLによる非同期通信についても考察中である。

P24

全方位カメラを用いたウォークレコーダーの試作

九州工業大学 情報工学部 技術部 荒川 等

【目的】これまで、報告者は車載カメラを用いたウォークレコーダーを試作して、交通事故分析において有用であることを確認した。本研究では、実用化に向けて様々な体格の被験者で実験を行うためにも、機材の簡素化・軽量化を図り、全方位カメラを用いたウォークレコーダーを試作することを目的とする。

【方法】全方位カメラ（ヴイストン VS-C14U-80-ST）、GPS、運動センサを組み付けた計測ユニットをヘルメットの頭上に取り付けたウォークレコーダーを試作した。データのサンプリングを増やすために、画像データ処理とその他の信号の2系統に分けて2台の小型ノートPCでそれぞれのデータを記録した。

【結果】歩行者（女兒：身長120cm）の周辺180°方向の映像を約3fpsの連続静止画像として取得することができた。歪みを補正することで前・後・右・左の方向の直視した画像へ変換処理を行った結果、人や自転車の動きを十分に認識にすることができた。

P25

NIH Image J のプラグインの開発

生理学研究所 技術課 前橋 寛

【目的】 2光子顕微鏡や共焦点顕微鏡の分解能を測定する為、蛍光ビーズ像のフォーカス位置のラインプロファイルデータの作製、およびその FWHM(半値全幅 full width at half maximum)の計測およびその自動化することを目的としてパブリックドメイン の Java による画像処理ソフトウェア NIH Image J を用いた。

【方法】 今までは、Image J の内蔵のコンパイラを使用していたが、プラグインのユーザーインターフェースを良くすることと開発の効率を上げる為、Eclipse および NetBeans の使用の検討を行った。

【結果】 Eclipse(Ver.3.5)を用いて Image J プラグインファイルを開発することができたが、GUIプログラミングに手間がかかった。そこで、NetBeans によって GUI を作成して、コピーアンドペーストでもってくるか、そのまま、NetBeans で作成し、Eclipse を用いてデバッグ等を行うことを検討中である。

【今後】 Image J のプラグイン用ガウス関数近似ソフトウェアを作成したのは、蛍光ビーズの断層プロファイルの取得を Image J のマクロおよびプラグインで自動的に取得できるのを期待した為で、現在、そのマクロを試作中である。

P26

ゲノムワイドなデータベース検索プログラムの作成

生理学研究所 技術課 高橋 直樹

【目的】 現在は主要な生物のゲノムデータベースや、そのデータを元にパルミトイル化修飾部位を予測するソフトウェアなどが無償で公開されている。しかし、手動で数万個以上の遺伝子配列データをソフトウェアやデータベースに入力して結果を保存するのは現実的ではないため、これらの操作を自動で行うスクリプトなどを作成した。

【方法】 UniProt で公開されているマウスの遺伝子配列データを元に解析ソフトウェアやデータベースから結果を得るように Perl や UWSC を用いて自動化を行った。データの解析結果は Perl で XLSX 形式のハイパーリンクを使った表にまとめ、グラフの描画には MATLAB と JavaScript を使った。

【結果・考察】 得られた結果が *in vitro* とほぼ一致することを確認した。また、複数のデータベースや解析ソフトウェアを使って遺伝子配列データの順位付けなど今後の研究に生かすことのできるデータを多数得ることができた。現在は解析した遺伝子の中から優先順位が高く、新規性、発展性のありそうな遺伝子について実験を始めている。

P27

太陽光発電システムのための最適充電方式

徳島大学 ソシオテクノサイエンス研究部 情報システム技術分野 石田 富士雄

【目的】太陽光発電システムでは、発電した電力を充電電池に蓄電して使用する。充電を可能にするためには、電圧設計と最大電力を引き出す制御が必要になる。今回は、充電電圧に満たない太陽光発電モジュールで、充電を可能にするシステムを開発する。

【方法】DCDC コンバータを用いて、12V タイプの鉛蓄電池が充電できる昇圧装置を製作する。また過負荷になるのを防ぐために、充電電流が一定になるような定電流回路を付け足す。定電流回路はFETとマイコンで構成する。マイコンでは、電流-電圧変換により電流変化を検出し、それをもとにFETのGATEをPWMにより制御する。

【結果】太陽光発電モジュールの発電実験と調査をして、天候や太陽位置などの条件により照度が不足したり、温度との因果関係により電圧が降下したりするのを確認した。また、低電圧でも充電可能な、昇圧回路と定電流制御回路を組み合わせた充電装置の設計をした。

【考察】DCDC コンバータに損失があり全体の効率は下がるのでよいシステムとは言い難い。しかし、発電量と使用電力のバランスがとれる場合には有効であると考えられる。

P28

ミヤコグサ種子の硬実休眠打破に用いる種子擦り器の作製

基礎生物学研究所 技術課 田中 幸子

【目的】ミヤコグサは豆科モデル植物として研究に用いられているが、種子は硬実休眠（機械的休眠）を有するため、発芽させるためには休眠打破の処理が必要である。一般的には乳鉢とサンドペーパーを用いて種子を擦ることにより、種子に傷を入れて休眠打破を行う。しかし、この作業は熟練が必要であり、慣れないうちは発芽率が悪く、手の力も必要とする。今回、もっと楽に種子を擦りたいと思い、簡便な種子擦り器を作製したので報告する。

【方法】既に導入している機械の種子擦り機を参考に、サンドペーパー、プラスチックシャーレとチューブを用いて作製。

【結果、考察】あまり手の力も必要とせず、楽に種子を擦ることができるようになり、発芽率も良好な結果が得られた。今後、他の研究者にも使用してもらい、改良をしていきたい。

【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 2005, P40-41.

P29

サル用手指運動課題訓練装置の製作

生理学研究所 技術課 戸川 森雄

【目的】 認知行動発達機構研究部門では、手指運動中のサル大脳皮質運動野における神経活動、および筋電位と動作の同時記録による脳の情報表現形式の解明を試みている。この研究に必要なことに、サルに手指の器用な動き（精密把持運動）やリーチング動作などを安定して行わせることがある。今回、手指運動としてレバー把持運動を行わせるためにモンキーチェアの改良と課題訓練装置を製作したので報告する。

【方法】 モンキーチェアの改良は、片腕を拘束するための保定具と課題成功時の報酬として与える水の給水ノズルの取り付け、そして腰板に課題で使用する押しボタン式スイッチの取り付けを行った。課題訓練装置では、課題を制御するコントローラとしてPICマイコンを用いて課題の経過をブザーおよびLEDの点灯により確認できるようにしている。

【結果】 製作した装置をサルに対して使用した結果、早々にレバー装置を壊されるなどトラブルが相次いだ。サル用の実験装置は、使用状況に応じた対策が必要であり早急な対応も求められる。現在は、改良を施し無事実験に使用できている。

P30

マーモセット用チェアの製作

生理学研究所 技術課 佐藤 茂基

【目的】 マーモセットは実験モデル動物としての利用が期待されており、特に神経科学研究において重要性が高まると考えられている。その理由として、ヒトに近縁の霊長類動物であり飼育における経済コストが低い等があげられる。当研究室では新たな実験動物であるため、チェアや頭部固定具を新たに揃える必要があった。今回マーモセット用チェアと頭部固定具を製作したので報告する。

【方法】 マーモセット専用実験ルームを新たに構築するのではなく、サル用実験ルームを流用して実験を行うため、マーモセット用チェアのサイズはサル用チェアに合わせる必要がある。マーモセットはマカクサルと比べ小さいため、チェアの固定部などはサイズに合わせて小さくしたが、チェアの高さはサル用に合わせるようにした。

【結果及び考察】 実際にマーモセットを座らせて実験に使用した結果、マーモセットの固定や個体差によるサイズの変化も固定部を可変することで対応出来た。当初首の固定部は水平のままであったため、マーモセットの給餌時にあごが当たり口を大きく開かずに食べにくい状態であった。首の固定部を斜めに出来るように改良し対処した結果、現在は問題なく使用し実験を行っている。

P31

多チャンネル神経細胞ネットワーク素子の開発

分子科学研究所 技術課（装置開発室） 高田 紀子

【目的】分子研 宇理須グループからの依頼で、神経細胞のシグナル伝達の研究やスクリーニングに応用可能な多チャンネル培養型プレーナーパッチクランプバイオセンサーの製作。

【方法】上面にマイクロ流路構造を、下面に電極構造を有するプラスチック基板の開発を、各種の精密加工技術を組み合わせて行っている。ここでは、プラスチック基板に対して両側から金型で熱成形を行う両面エンボスを主要な技術とする。金型は、外部の協力も得ながら、超精密多軸加工機での切削加工と電鋳加工を進めている。また、センサー構造として必要な微細貫通孔の形成には、Deep X-ray Lithography (DXL)による製作を予定している。

【結果】切削加工で製作を行った金型を用いた片面からのエンボスにより、目標とする 10 μm 以下の薄膜部分を製作した。また、もう片側の金型は現在製作中で、電鋳用マスターをフォトリソグラフィとウェットエッチングで製作した段階である。

【考察】今後は、2つの金型を用いての両面エンボスと DXL を進める予定であるが、その際の位置合わせが重要な技術課題として挙げられる。

P32

窒化チタン(TiN)薄膜作成と二次電子放出率(SEY)測定

高エネルギー加速器研究機構 加速器研究施設 久松 広美

【目的】陽電子ビーム運転時の電子雲によるビーム不安定性を避けるために、チェンバ内壁からの二次電子は少なくする必要がある。この二次電子放出率低減を目的に約 4 m のチェンバ内壁に TiN 薄膜を作成するための装置作成と比較のために各種材料の二次電子放出率測定を行った結果を報告する。

【方法】TiN 薄膜はDCマグネトロンスパッタリング方法でチェンバを 130°C で加熱しながら製作した。二次電子放出率測定は導電性の良い資料は直流方法で、絶縁物のように帯電するものはパルスで測定できるようにした。

【結果】TiN 薄膜の SEY は表面を電子でクリーニングすれば 1 以下となり、目的は達成された。また貴金属を除く通常真空機器材料として使用される金属は 1.1 程度の SEY であることが分かった。

【考察】TiN 薄膜の SEY が 1 以下となったのは、薄膜の結晶構造を電子顕微鏡で見たとこころ結晶が [1, 1, 1] の方向に向かって成長していた。これが SEY 低減の理由であることが分かった。

P33

Presentation に対応した文字コード送信装置の開発

生理学研究所 技術課 竹島 康行

【目的】 刺激提示ソフトウェアの Presentation (Neurobehavioral Systems 社) では実験中に実験参加者 (被験者) が押したキー入力や反応ボタンなどの情報を記録することが可能であるが、これを利用するには Presentation に対応した反応ボタンを用意しなくてはならない。これまで使用してきた反応ボタンを Presentation で使用できるように、シリアル通信を利用して Presentation に対応した文字コードを送信する装置を作製したので報告する。

【方法】 反応ボタンの ON と OFF の状態はデジタル (TTL レベル) 信号で検出することができる。デジタル信号からシリアル通信への変換にはマイクロコントローラの PIC を使用して、反応ボタンが押されたら (デジタル信号が変化) それに対応する番号 (文字コード) を送信するようにプログラムをおこなった。シリアル信号のレベル変換にはラインドライバ-レシーバ IC を使用したが、これをシリアル-USB 変換 IC に組み換えて USB 接続でも使用できるように検討している。

P34

「マッスルセンサー」 デモ用ロボットハンド

生理学研究所 技術課 佐治 俊幸

生理研技術課で開発と販売を行っている理科教材「マッスルセンサー*1」は、筋肉の電気信号を簡単に調べ、その活動を「音」や「光」で知らせてくれる教材である。このマッスルセンサーのデモンストレーション用にロボットハンドを製作した。このロボットハンドは、筋肉の動きに連動して動き、教材としての興味と理解を進めてくれるものである。

ロボットハンドは、模型ロボット用サーボモーター (JR PROPO DSR581) を駆動するための制御回路とハンド部で構成され、マッスルセンサーの出力端子に接続すると筋電位の変化で手のひらが閉じる。マッスルセンサーの出力信号は、直流 3 V の 1 b i t の信号であるために、手のひらの開閉しか行えないが、自分の筋肉の動きでロボットハンドが動く姿を見ることができ、広報展開推進室の出前授業や中高校生向け講座、生理研紹介の展示等で使用されている。

*1 <http://www.nips.ac.jp/nipsquare/academy/musclesensor/>

最近の感染症への対応経験について —長崎大学動物実験施設の場合—

長崎大学 先端生命科学研究支援センター 山本 直土, 久保 憲昭, 大沢 一貴

長崎大学の動物実験施設において、ここ数年に実施した感染症拡大防止措置を紹介する。対処事例は、飼育動物から検出された肺パスツレラ 1 件('04)とネズミ盲腸蟻虫 2 件('08, '09)、外部の感染症発生施設からの汚染動物搬入が気管支敗血症菌 1 件('08)とティザー菌 1 件('10)であった。飼育動物から検出された感染症は検査項目追加以前(~'04)に侵入していたと考えられる。これら感染症を把握した後の措置として、通常一般飼育系には行っていない使用済み飼育器材等の洗浄前滅菌を追加した。感染症毎の措置として、隔離室への移動、動線制限、病原体排除、安楽死処分、生殖工学技術による微生物クリーニング、飼育環境の消毒等の中から感染症や病原体の特性に応じて選択・実施した。対処後の微生物検査で陰性を確認したのち、これら追加措置を解除した。今後、書類検疫で導入する動物から感染症が侵入した際の影響をより小さく抑えるための措置を検討し、新たに対処法に加える予定である。この経験が皆様の衛生管理の参考になれば幸いである。

長期保存胚の現状報告

福井大学 ライフサイエンス支援センター 生物資源部門 糸崎 悦子, 前田 秀之

【はじめに】福井大学ライフサイエンス支援センター生物資源部門では、平成 8 年度から生殖工学法を習得し始め、平成 10 年度よりマウスの系統保存に簡易ガラス化法による胚の凍結を業務の一環として行い、研究者から胚の凍結保存の依頼を受けてきた。

今回、約 10 年間凍結保存した遺伝子組換えマウスの胚を融解し、マウスに戻す機会があったのでその経過について報告する。

【方法】実験群には 10 年前に IVF により得られた遺伝子組換えマウスの凍結胚を、コントロール群には融解日 1 週間前に IVF を行い簡易ガラス化法による凍結保存した B6C3F1 の 2 細胞期胚を使用した。また、実験群およびコントロール群で得られた 2 細胞期胚を、偽妊娠 0.5 日目のレシピエントマウスの卵管采と卵管壁に、偽妊娠 2.5 日目のレシピエントマウスの子宮にそれぞれ移植した。

【結果】実験群、コントロール群とも 3 つの移植方法全てで産仔を得ることが出来た。

マウス系統の導入依頼に対する取り組み

基礎生物学研究所 技術課 林 晃司

【目的】SPF マウス飼育施設において、研究などのために、外部機関などから新たな系統の導入が必要となった場合、いかに効率よく、そしてクリーンな状態で導入するか、という点が重要となる。

【方法】系統導入の方法としては、マウス個体を直接搬入する方法、体外受精を行って導入する方法、凍結受精卵で搬入する方法などがあり、対象となるマウスの飼育環境や維持形態、導入後の実験計画などを考慮した上で、適切な方法を選択する必要がある。

【結果】今年度においても、当飼育施設において多くの導入依頼があったが、対応可能なスタッフが限られているため、作業規模に上限を設定することや、依頼者に作業の一部を負担してもらうことなどの制限事項を設けざるを得なかった。

【考察】今後は、依頼から作業実施まで、より効率よく行うために、依頼書式の作成や作業手順の明文化などを行っていきたい。

液体シンチレータの再利用について

基礎生物学研究所 技術課 澤田 薫

【目的】β線核種の測定に使用する液体シンチレータは高価であり、廃棄する際にも高額のコストがかかるため使用量・廃棄量をなるべく抑えたい。AITOP 実験センター山手地区実験施設ではシンチレータ廃液の大半が表面汚染検査に使用したものである。このため表面汚染検査に使用した液体シンチレータのうち測定値がバックグラウンドレベルだったものを再利用している。今回、液体シンチレータを変更したのを機に、再利用可能な回数の検討を行ったので報告する。

【方法】表面汚染検査(月1回)に使用した液体シンチレータのうち測定値がバックグラウンドレベルだったものを使用回数ごとにサブリングし、既知量の³Hを加え液体シンチレーションカウンタで測定した。

【結果・考察】測定値は使用回数が増すごとに徐々に低下し、新品の平均値を1とした場合、12回(1年間)使用したものの平均値は0.9であった。現在、汚染検査に使用した液体シンチレータは埃などの混入物や液量減少のため、数ヶ月から1年程度で交換している。汚染が検出された場合に測定効率が低下していることを考慮する必要があるが、再利用は可能と考える。

RI 排水設備の更新について

福井大学 ライフサイエンス支援センター放射線同位元素実験部門¹⁾, 医学部生命情報科学講座
薬理学領域²⁾ 和田 真由美¹⁾, 赤壁 悦子¹⁾, 西宗 敦史^{1,2)}

【目的】本施設は、非密封放射性同位元素(RI)使用施設であり、RI 排水を生じるため、設計および運用上、法による厳格な規制がある。本施設の旧 RI 排水設備の老朽化が進行したため、法規制を遵守しつつ、安全性、利便性、環境保全性等を更に高めるよう改良すべく設計変更を行った。同様な排水設備の更新を計画中の各位の参考とされたい。

【改良点】六面点検ができ、漏水の発見も容易となるため、地下埋設型から地上タンク式に変更した。貯留槽と分配槽の容量を従来の 40%に減らす一方、満水になることの多かった受水層は 50%増にし、運用にゆとりを持たせ、全体では容量を従来の約 43%に縮小した。多量の排水を生じていたコールドルームの冷却機を交換し、水道使用量と排水量を減少させた。従来はポンプ室のみであった建屋を全設備を覆うものに変更し、安全性と利便性を向上させた。管理室の遠隔操作盤による貯水量モニターに加え、施設内でも経済的に貯水量を測定するために各タンク底部にマノメータを取付け、簡易貯水量計とした。

【更新されるまでの手順】予算の申請と獲得→専門業者との会議→文科省との会議→文科省での法的手続き→工事開始→承認→工事中の汚染管理→RI 廃棄物の分別→竣工

【結果】地上タンク式の新設備は、よりコンパクトかつ点検が容易となり、更新により、従来以上に安全性と環境保全性が確保された放射線施設に改善できた。

放射線施設の変遷

国立遺伝学研究所 技術課 谷田 勝教

【目的】国立遺伝学研究所は放射線・アイソトープセンターの前身は 1956 年アイソトープ実験室（管理室、オートグラフ室、フード室、貯蔵室、測定室など）、地下室 ⁶⁰Co γ 線照射 (1.85TBq)である。昭和 35 年 6 月 25 日 (1960 年) に許可(承認)を受けた。以来核種・使用量及び施設の増減を繰り返し今日に到る。今年度 RI 実験棟の非密封放射線施設を半分に縮小した。それに到った経緯等を発表したい。

【参考文献・資料】アイソトープ便覧 (昭和 37 年発行 丸善 (株))

国立遺伝学研究所年報 (昭和 27 年～)

P41

オープンキャンパスにおける X 線透過装置展示ブース 設置と来場者への放射線啓蒙

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において、X線透視装置を利用し、来場者に対し「放射線」についての啓蒙活動を行い、また簡単な意識調査をすることで次年度以降の展示内容の見直しについての検討材料を集めることを目的とした。

【方法】これまでに4回実施されたオープンキャンパスでは「放射線をみる」という天然放射性物質を用いて「霧箱」の展示を行ってきたが、今回は他学科研究室とのコラボ企画により、X線透視装置を用い来場者の持参品を透視・画像化することで放射線（X線）の放射線啓蒙活動を行った。また、同時に放射線についての意識調査をアンケート方式で行い、一般公衆の放射線に対する考えを求めこれからの活動方針の参考にした。

【結果】オープンキャンパス来場者への啓蒙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、放射線意識調査では期待される回答を得るまでには到らなかった。

【考察】次年度は実施テーマを弱冠変更し、より効果的な啓蒙活動を行う予定にしている。

P42

施設利用者のための教育訓練教材の作成

基礎生物学研究所 技術課 飯沼 秀子

【目的】非密封のアイソトープの使用施設である自然科学研究機構岡崎共通研究施設アイソトープ実験センター明大寺地区実験施設は、共同利用施設のため、不定期に新規の施設利用者があり、利用者の経歴も多様である。特に非密封のアイソトープの使用経験の無い者や、国毎にアイソトープの取扱規制が異なる外国人にも当施設の利用方法を理解してもらう必要がある。そこで当施設の入室から退室までを説明したビデオ教材を作成し教育訓練で活用することで、施設の使用方法について理解を深めてもらい、安全性を高めたい。

【方法】(1)シナリオの作成（入室の仕方、貯蔵室からの RI 出庫、RI 廃棄物の廃棄の仕方、退室の仕方）、(2)撮影機材の準備、(3)デジタルビデオカメラによる撮影、(4)パソコンソフトによる編集、(5)ナレーションおよび字幕（日本語・英語）付けを行った。

【結果】作成したビデオ教材は教育訓練の際に使用し、また当施設の HP に掲載して、利用者がいつでも利用できるようにした。

名古屋大学博物館野外観察園の紹介

名古屋大学 全学技術センター 吉野 奈津子

名古屋大学博物館野外観察園（以下観察園）は、1963年ごろに大学教養部生物学教室が教育や研究に利用する実験圃場として造られた。改組の末、平成16年度からは博物館が管理、運営を行っている。面積は4,320 m²、植物種は約600で、一般の人が自由に散策できる一般ゾーンと、研究用の材料を育成する圃場の研究ゾーンに分けられている。一般ゾーンは、雑木林を呈した植物の見本園になっており、観察会や植物を用いたイベントを行い、一般の方が植物にじかに触れながら学ぶ場を提供している。研究ゾーンでは植物材料の育成や栽培指導、貴重種の保存を行っている。配置職員は1名であるため、単純な観察園管理作業の補助として、今年度は博物館友の会からボランティアスタッフの募集を試みた。

本発表では、観察園と業務の紹介を行うと共に、今後の課題等について紹介する。

技術職員間の業務連携について ーオープンキャンパスにおける参画を例にー

東北大学大学院 農学研究科 技術部（雨宮地区¹⁾，川渡地区²⁾）
大友 由紀子¹⁾，千葉 孝²⁾，佐々木 三智¹⁾，清野 佳子¹⁾，岡田 夏美¹⁾，
高橋 依里¹⁾，伊東 久美子¹⁾，西村 順子¹⁾

【目的】本技術部は雨宮地区および川渡地区の2地区から構成され、技術業務の連携が強く望まれている。両地区の技術職員はオープンキャンパスに参加することにより技術業務の連携を模索することを目的とする。

【方法】雨宮地区が企画・運営を担当し、川渡地区は動物の運搬と展示を行うことにした。しかし、今年は口蹄疫が発生しその影響を考慮したため動物の展示は行わず、代案として雨宮地区から学生実験・実習を通して入学から卒業するまでの4年間の学生生活の紹介、川渡地区は「大学は美味しい」展に出品し好評を得た「健康牛」の特徴を紹介した。

【結果】「農学部の研究が理解できたか」、「オープンキャンパスが役に立ったか」とのアンケートにはいずれも90%以上のポジティブな反応があり、オープンキャンパス開催の成果が得られたと考えられる。今後この経験を活かしてより有意義な企画運営を行いたい。

【参考文献・資料】東北大学大学院農学研究科・農学部技術部報告第1号 2010年10月 p.2-3

社会貢献事業との関わりーこの5年間

浜松医科大学 医学部 総合人間科学 外山 美奈

私は、浜松医科大学生物学教室においてこの5年間に実施されたいくつかの社会貢献事業に、主たる協力者の一人として関わってきた。2006年と2007年には、静岡県教育委員会と共催で県内の高校生12名を対象に、科学技術者養成セミナーを開催した。2008年～2010年は、科学技術振興機構のサイエンスパートナープロジェクト事業の一つである先進的科学技術体験合宿プログラムで、全国の高校生12名を対象に3日間にわたるサマーサイエンスキャンプを実施した。また2008年と2009年には同じく科学技術振興機構のサイエンスパートナープロジェクト事業で、地元の中学校へ出向き、中学2年生に対して出前の講義と実習を行った。これらの事業は、出席した生徒だけでなく、学内外からの高い評価を得ている。

これらの社会貢献事業に関して、私は開催までの事務手続きや準備を担当し、実習方法や実習内容の検討をし、また、当日の実習の指導を行っている。

この5年間の社会貢献事業の紹介と、技術職員としての社会貢献事業との関わりについて報告する。

☆☆☆☆☆☆☆☆ 編 集 ☆☆☆☆☆☆☆☆

●生理学研究所 技術課 技術研究会委員会

山口 登，竹島 康行，吉友 美樹，村田 安永，山田 元，
石原 博美，小原 正裕

●基礎生物学研究所 技術課 技術研究会実行委員会

大澤 園子，水谷 健，小林 弘子，松田 淑美，内海 秀子，
諸岡 直樹，西出 浩世