

合同開催

第37回 生理学技術研究会
第26回 生物学技術研究会

予稿集

日時: 2015年 2月19日(木)、20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37回 生理学技術研究会
(同時開催：第11回 奨励研究採択課題技術シンポジウム)

第26回 生物学技術研究会

会期：2015年2月19日(木)～20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19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 心循環シグナル研究部門 西田 基宏教授)
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20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・2階 小会議室)
13:00	～	14:20	奨励研究採択課題技術シンポジウム (S9～12)
14:20	～	14:30	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・2階 小会議室)
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) ケミカルバイオロジーを駆使した心循環シグナル評価法
生理学研究所 心循環シグナル研究部門 西田 基宏教授 12

奨励研究採択課題技術シンポジウム（1階 大会議室）

- (S1) 生物学研究者のためのDIY機器で作る実験装置の製作テキストの作製
生理学研究所 技術課 佐治 俊幸 14
- (S2) 3Dプリンターを用いた教育教材の開発と活動
山形大学 工学部 技術部 機器開発技術室 和田 真人 15
- (S3) 空中に文字や物体を描ける3Dクリスタルの教材活用
福島工業高等専門学校 モノづくり教育研究支援センター 和賀 宗仙 16
- (S4) 三次元超音波を用いた腹腔鏡手術支援システムの開発
千葉大学 フロンティア医工学センター 前佛 聡樹 17
- (S5) 研究教育機関の安全水準向上を支援する事故解析ツールの開発
横浜国立大学 安心・安全の科学研究教育センター 鈴木 雄二 18
- (S6) 危険体感教育による局所排気装置の安全使用に向けた教育教材の開発
茨城大学 工学部 技術部 金澤 浩明 19
- (S7) リアルタイムPCR装置を用いた高精度・簡便・低コストな小動物モニタリング法の開発
東海大学 生命科学統合支援センター 佐藤 忠之 20
- (S8) 炭素繊維強化プラスチック（CFRP）を用いた軽量な液体酸素容器の開発について
九州工業大学 工学部技術部 村上 清人 21
- (S9) マウス卵母細胞における染色体分配異常を引き起こす因子の網羅的探索
理化学研究所 多細胞システム形成研究センター 染色体分配研究チーム 海道 雅子 22
- (S10) 軟骨はなぜ硬いのか？支持組織におけるGAG組成の物理的性状への関わり
島根大学 医学部 代謝生化学 長子 晴美 23

- (S11) トノサマガエルとダルマガエルの分子的種判定法と岩手県内の分布
岩手大学 技術部農学系技術部 長井 和哉 24
- (S12) 二光子蛍光寿命イメージング顕微鏡による細胞内シグナル伝達分子活性化イメージング
生理学研究所 技術課 前橋 寛 25

口演発表（1階 中会議室）

- (A1) 接ぎ木によるミヤコグサ変異体の種子産生増加
基礎生物学研究所 技術課 田中 幸子 28
- (A2) 植物細胞のフローサイトメトリーにおける試料調製法の検討
神戸大学 遺伝子実験センター 川本 智, 岩崎 哲史 29
- (A3) 作業環境測定におけるアクリルアミドのGC分析
九州工業大学 情報工学部 楠本 朋一郎 30
- (A4) プロテインシーケンサの「ガスフェーズ」測定における最適なガス圧の検討
基礎生物学研究所 技術課 牧野 由美子 31
- (A5) ホヤ被囊接着部の解析：ホヤはどのようにして接着しているのか
広島大学 技術センター（附属臨海実験所） 山口 信雄 32
- (A6) 大理石骨病マウス(op/op マウス)下顎骨の骨質測定
大阪大学 大学院工学研究科 技術部 藤谷 渉 33
- (A7) スマートフォンを使用した顕微鏡撮影システムの構築について
信州大学繊維学部 技術部 武田 昌昭 34
- (A8) オープンデータリソース活用法の検討
東北大学大学院 農学研究科・農学部 小森 和樹 35
- (A9) 背部に広範な刺青の入った解剖体がコメディカル教育に貢献した例
～刺青と免疫系との関連～
浜松医科大学 解剖学講座 医学科2年生, 同5年生, 佐々木 健, 亀井 淳哉 36
川上 優, 川島 大喜, 河田 紋華, 竹村 綾奈, 加藤 裯智穂, 佐藤 康二
- (A10) 放射性同位元素使用施設の改修
基礎生物学研究所 技術課 松田 淑美 37
- (A11) 技術職員のキャリア事例の紹介
八戸工業大学 工学部 バイオ環境工学科 西村 順子 38
- (A12) 技術職員による技術力向上を目指して ― 分析技術グループ研修「pH測定技術」報告 ―
東京大学大学院 農学生命科学研究科 佐々木 潔州, 白井 深雪, 池田 正則, 曾我 竜一 39
澤田 晴雄, 藤田 真志, 小野山 一郎, 黒岩 真弓, 高橋 友継, 堀 吉満

ポスター発表（1階 大会議室、ホワイエ）

(P1)	3Dプリンターによる実験機器の製作例	生理学研究所 技術課 佐治 俊幸	4 2
(P2)	海外研修報告	生理学研究所 技術課 山田 元	4 2
(P3)	理科第2分野モデル授業プログラムの提案	生理学研究所 技術課 永田 治, 戸川 森雄, 佐治 俊幸	4 3
(P4)	カラー変化を伴う実験データ収集装置の開発	徳島大学 大学院 STS 研究部 総合技術センター 石田 富士雄 大学院 HBS 研究部 総合研究支援センター 庄野 正行	4 3
(P5)	生体信号を用いたロボット制御	東北大学 工学研究科・工学部 電子情報システム・応物系学生実験室 横山 梨香	4 4
(P6)	マウス用光刺激装置の改良	生理学研究所 技術課 佐藤 茂基	4 4
(P7)	超高感度カメラによるゲンジボタルの発光同期パターンの解析	徳島大学大学院 ソシオテクノサイエンス研究部 総合技術センター 辻 明典	4 5
(P8)	バーコードリーダーを使用した鉢管理で、花ハスの開花調査をする。	東京大学大学院 農学生命科学研究科 附属生態調和農学機構 工藤 新司, 石川 祐聖, 山田 徳美	4 5
(P9)	fMRI データ解析用 PC の高速化に関する検討	生理学研究所 技術課 伊藤 嘉邦	4 6
(P10)	PC 用ファイルサーバの構築	基礎生物学研究所 技術課 西出 浩世	4 6
(P11)	暗号強度を高めたパスワード管理ツールの開発	生理学研究所 技術課 村田 安永	4 7
(P12)	最新植物系統進化学 web 版教科書の更新作業効率化	基礎生物学研究所 技術課 壁谷 幸子	4 7
(P13)	創薬における化合物ライブラリーシステムの構築	徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 北池 秀次	4 8
(P14)	分析室ホームページのリニューアル	基礎生物学研究所 技術課 尾納 隆大	4 8
(P15)	肝毒性を評価する際に生じた測定誤差に関する検討	島根大学附属病院 薬剤部 代謝生化学 中村 健志	4 9
(P16)	抗原賦活法の検討 -切り置き切片の陰性化-	富山大学 医薬系技術部 病理診断学 八田 秀樹	4 9
(P17)	マウス皮膚表皮中のランゲルハンス細胞分離法の検討	高知大学 総合研究センター 実験実習機器施設 片岡 佐誉	5 0

(P18)	マウス肝炎ウイルス感染が疑われた事例の顛末 岩手医科大学 医歯薬総合研究所 動物研究センター 安野 航	5 0
(P19)	側頭葉てんかんの原因タンパク質 LGI1 の変異マウスを用いた解析 生理学研究所 技術課 高橋 直樹	5 1
(P20)	CRISPR/Cas9 システムを用いた遺伝子改変マウスの作製 生理学研究所 技術課 三宝 誠	5 1
(P21)	渚に生息するハマトビムシ <i>Talitrus saltator</i> の複眼の構造と視物質発色団 浜松医科大学 医学部 総合人間科学講座 外山 美奈	5 2
(P22)	シアノクロウクスにおける多花栽培条件の検討 名古屋大学 全学技術センター (情文) 吉野 奈津子	5 2
(P23)	秋田大型ウサギの SPF 化 秋田大学 バイオサイエンス教育・研究センター動物実験部門 福田 康義	5 3
(P24)	奇形メダカの微細形態学的観察 -X線マイクロCTおよび全身組織切片を用いて- 北里大学医学部解剖学 西槇 俊之, 勝村 啓史, 太田 博樹 北里大学医学部整形外科学 内田 健太郎, 高相 晶士 東京大学大学院新領域創成科学研究科先端生命科学専攻 尾田 正二	5 3
(P25)	長期培養観察システムの検討 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 総合研究支援センター 庄野 正行	5 4
(P26)	生理学研究所 脳機能計測・支援センター 多光子顕微鏡室、 2光子蛍光寿命イメージング顕微鏡の紹介 生理学研究所 技術課 前橋 寛	5 4
(P27)	ショウジョウバエ神経筋接合部の電子顕微鏡試料作製法 国立遺伝学研究所 技術課 大石 あかね	5 5
(P28)	ゼロロス像による電子線トモグラフィー 北海道大学 農学研究院 伊藤 利章	5 5
(P29)	汎用型 SEM 装置を利用した生体・生物サンプルの観察 名古屋大学 全学技術センター工学系技術支援室 高田 昇治, 高井 章治, 永田 陽子 日影 達夫, 西村 真弓, 山本 悠太, 林 育生, 神野 貴昭, 樋口 公孝, 都築 賢太郎	5 6
(P30)	顕微鏡観察時における蛍光タンパク質の pH による特性変化 東海大学 伊勢原研究推進部 生命科学統合支援センター 岡田 千沙	5 6
(P31)	炭素薄膜位相板作製におけるクリーン化の検討 生理学研究所 技術課 小原 正裕	5 7
(P32)	RAD-Seq の紹介・手法検証および解析系の検討 基礎生物学研究所 技術課 山口 勝司	5 7
(P33)	誘導結合プラズマ質量分析装置 (ICP-MS) による生体試料分析法の開発 滋賀医科大学 実験実習支援センター 小山 由起子	5 8
(P34)	レポーター遺伝子アッセイによる化学物質のホルモン作用評価 基礎生物学研究所 技術課 水谷 健	5 8

(P35)	キシレン代替品利用の取り組みについて 北里大学 医学部 形態系 安井 美江, 中丸 尚美, 橋村 美紀, 沼田 賀子 梅沢 敦子, 新村 朋子, 西槇 俊之, 勝 又修, 鶴田 智子	5 9
(P36)	ハイパースペクトルカメラの活用方法の検討 基礎生物学研究所 技術課 諸岡 直樹	5 9
(P37)	MHV 糞便PCR 自家検査の検討 生理学研究所 技術課 神谷 絵美	6 0
(P38)	新規導入機器の適切な保守管理について 滋賀医科大学 実験実習支援センター 中瀬 拓也	6 0
(P39)	改築・改修に向けての自動給水導入の検討 生理学研究所 技術課 廣江 猛	6 1
(P40)	学生向け元素分析装置マニュアルの作成 東北大学 農学研究科 電子顕微鏡室 伊東 久美子	6 1
(P41)	蛍光タンパク質を題材とした実験と分子構造を比較した学生実験の検討 東京大学 理学系研究科 技術部 佐伯 喜美子	6 2
(P42)	教養ゼミにおけるキャンパスツアー —自然散策道「発見の小径」観察ガイドへの取り組み 広島大学 技術センター 塩路 恒生	6 2
(P43)	技術職員による技術力向上を目指して — 分析技術グループの立ち上げから現在に至るまで— 東京大学大学院 農学生命科学研究科 黒岩 真弓, 佐々木 潔州, 高橋 友継, 堀 吉満 澤田 晴雄, 白井 深雪, 曾我 竜一, 池田 正則, 小野山 一郎, 藤田 真志	6 3
(P44)	基礎教育実験支援と地域貢献について 大阪市立大学 大学運営本部 研究支援課 長谷川 浩史	6 3
(P45)	薬用植物園一般開放 徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 薬学系薬用植物園 今林 潔	6 4
(P46)	学生実験の応用発展と新たなテーマについての調査及び提案 京都工芸繊維大学 高度技術支援センター 尾崎 誠	6 4
	参加者名簿	6 5

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

出張報告書のご提出をお願い致します。また、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/> 又は <http://techdiv.nibb.ac.jp/giken/>）よりダウンロードが可能です。

原稿は、2015年2月16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使用します。

■発表について

1. ポスター発表は、ポスター討論の前に画像ビューワーを用いて説明をしていただきます。説明用の画像は一人1枚で、発表時間は1分間を予定しています（画像は事前に指定の方法でご提出をお願いします）。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、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。

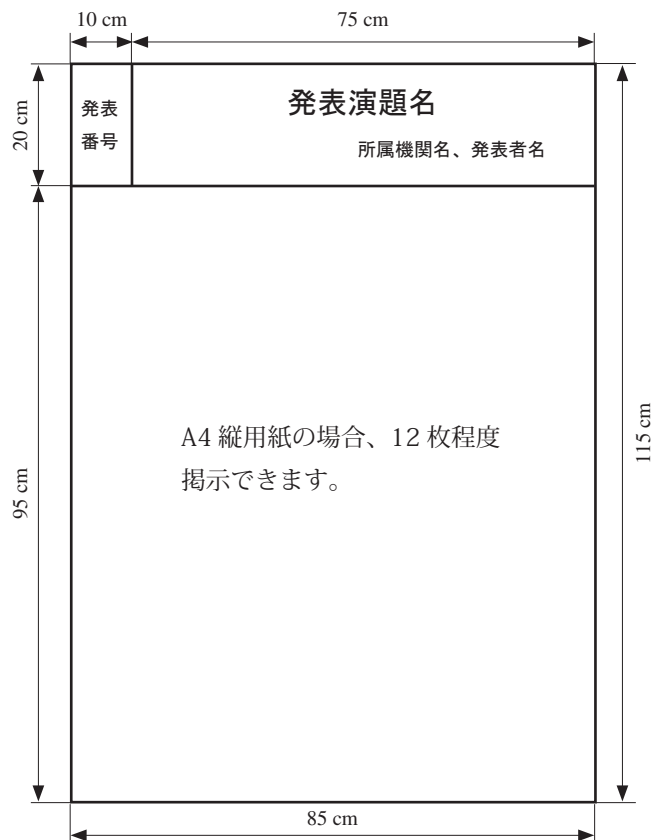
■ポスター作成について

ポスターは1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。

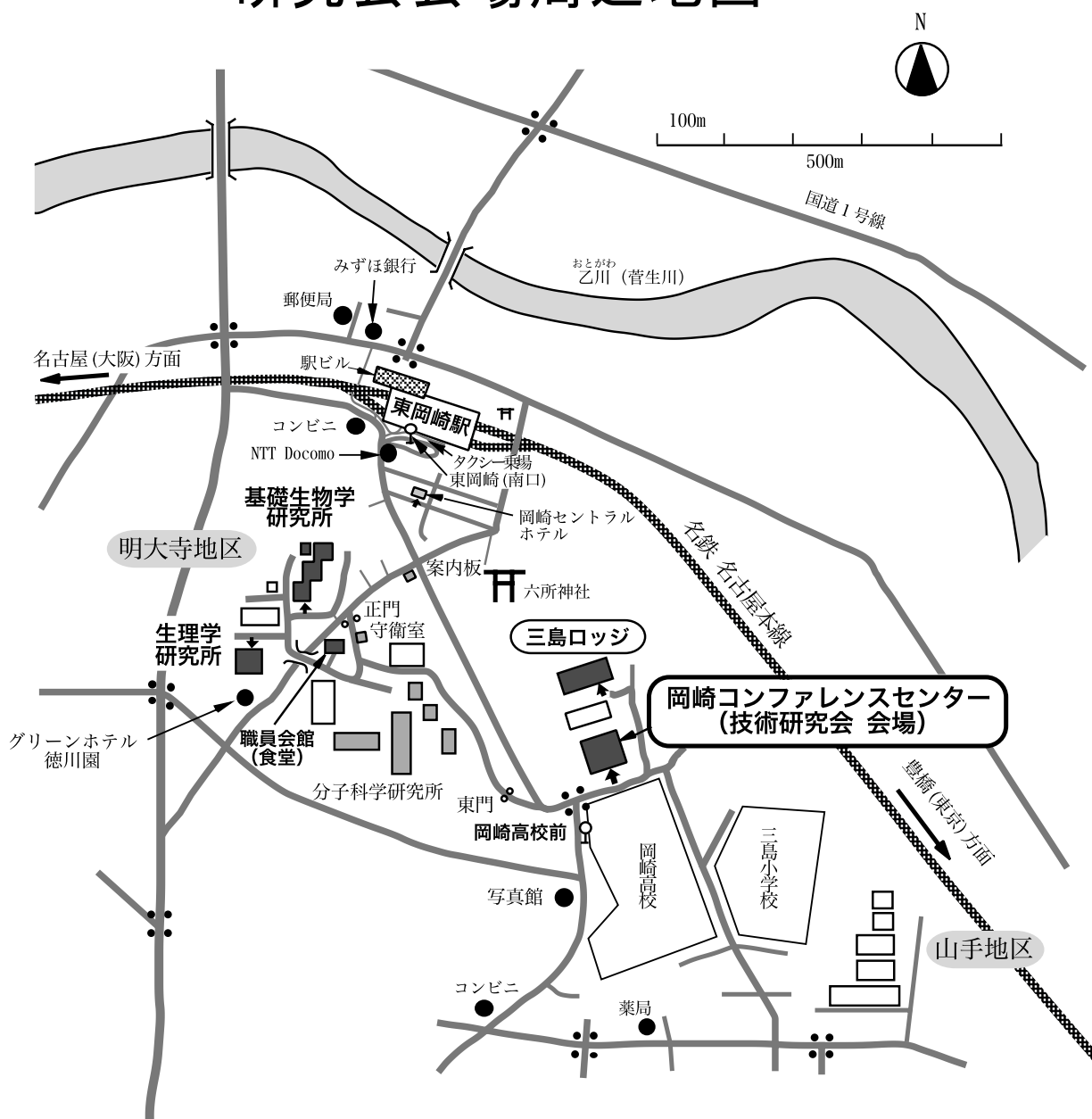
パネルの左上に発表番号が貼ってあります。所定のパネルにご展示ください。

■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
giken37@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」

東岡崎 → 岡崎高校前：始発 6:45、最終22:55、岡崎高校前 → 東岡崎：始発 6:27、最終23:12

運賃 130円、7,8時台は1時間に6本、9～15時台は1時間に2本、16～22時台は1時間に4本です。

行き先	発	着	発	着	発	着	発	着
竜美丘	8:25	→ 8:27	8:45	→ 8:47	11:25	→ 11:27	12:23	→ 12:25
	8:35	→ 8:37	8:55	→ 8:57	11:55	→ 11:57	12:53	→ 12:55

◆ 宿泊連絡先(参考)

三島ロッジ TEL : 0564-53-4473 (22～8時は不通)

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

岡崎ニューグランドホテル TEL : 0564-21-5111

岡崎シングルホテル TEL : 0564-21-1088

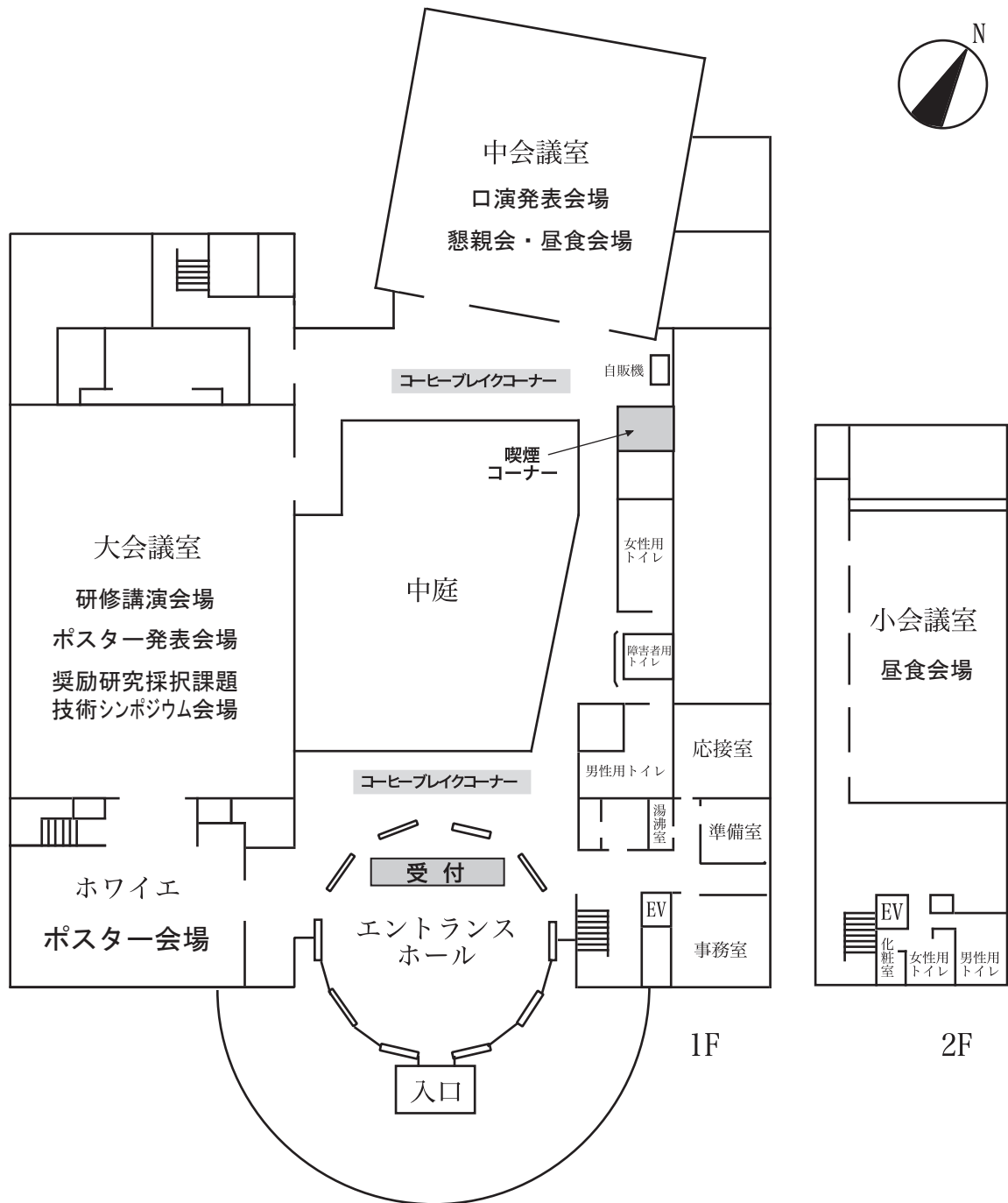
スーパースターホテル岡崎 TEL : 0564-28-9000

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

生物学技術研究会主催

口演発表 中会議室

昼食会場 中会議室・小会議室

研修講演

ケミカルバイオロジーを駆使した心循環シグナル評価法

生理学研究所 心循環シグナル研究部門 西田 基宏

心臓は、五臓六腑と表現されるとおり、我々の生体機能を担う一臓器にすぎない。しかし、心臓（Heart）という用語がしばしば人として重要な「胸の内・愛情」という意味で使われるように、我々は心臓に対して特別な思い入れを持っている。研究の世界においても心臓はまさに我々の生命を創り出す臓器であり、その機構は神秘的に包まれている。1628年、イギリスの解剖学者 William Harvey が生理的帰納法に基づいて「血液循環説」を提唱してから400年もの間、心循環機能の評価および解析技術はすさまじい発展を遂げてきた。さらに、近年の遺伝子操作技術や分子生物学研究技術の発展により、心臓・血管の形態構造や機能に関する多くのことが理解されてきた。それでも今なお、心臓は多くの謎に包まれた神秘的な臓器であるといえる。

我々哺乳類の心臓は、個体発生の過程で系統発生を繰り返す（ヘッケルの反復説）、成熟の過程で自身の形や大きさを決定づける。特に心臓成熟の過程においては、身体の成長に伴った酸素（血液）要求量の増加に順応すべく、心臓は自身に流れ込む血液量（血行力学的負荷）を全身に送り出すための筋力を増加させる（生理的肥大）。しかし、成熟後の心臓に高血圧や大動脈狭窄などの圧負荷が加わると、心臓は硬さを伴う肥大（病的肥大）を引き起こし、やがて心不全の病態へと形態を変化させる。これを心臓リモデリングとよぶ。当部門では、歴代の研究者たちが確立させてきた様々な心循環機能評価技術を駆使して心臓のストレス適応・不適応の制御機構を明らかにしようとする「温故知新的研究」を展開している。本講演では、当部門で行っている非侵襲的な心血管機能評価技術（心エコー法、ドップラー血流測定法、tail-cuff法）や侵襲的な心機能評価技術（ランゲンドルフ灌流標本、Millarカテーテル検査法）、ならびに初代培養細胞を用いたシグナル伝達解析技術を紹介する。また、近年の薬学研究の発展により、様々な内因性・外因性の生体活性物質が明らかにされ、化学の原理で生命現象を読み解く「ケミカルバイオロジー」という学問が広まってきている。心臓リモデリングの原因として考えられている酸素由来の親電子性の高い生体物質（親電子物質）を特異的に検出できる化学蛍光プローブや抗体も、複数開発されている。我々は、こうした化学的ツールを駆使することで、心臓が血行力学ストレスに対して適応から不適応へと表現型を変化させる機構をケミカルバイオロジーの視点から明らかにしている。本講演では、こうした温故知新的技術を駆使して得られた我々の研究成果についても紹介したい。

口 演 発 表

(奨励研究採択課題技術シンポジウム)

生物学研究者のための DIY 機器で作る実験装置の製作テキストの作製

生理学研究所 技術課 佐治 俊幸

【目的】

初心者でも判りやすい動画を含めた機械工作のテキスト*¹を作ってきたが「大型工作機器を使用した加工のみではなく、研究室でも購入できる安価な小型工作機で行える、実験装置の製作テキストが欲しい。」との要望が多くあり、全国にあるホームセンターで入手可能なDIY機器と材料を使用し、生物学実験で使用する実験装置を容易に製作することを目的としたテキストを作成する。

【方法】

以前に製作依頼のあった数種類の実験装置を選び、大型工作機器とDIY機器で加工を行う。両装置での加工精度差を確認し、DIY機器での加工精度の向上を考察する。その後、DIY機器で加工する際に必要な加工テクニックをテキスト化する。

【結果と考察】

DIY機器でも大型工作機器に慣れた作業であれば、実験に必要な精度の加工は行えることが判った。しかし、初心者には、バックラッシュを考慮したハンドル操作は難しく、ハンドルに付けられたダイヤルの読みだけで希望のサイズの切削を行うのは困難であった。

このため、デジタルスケールを各軸に設置する事で、バックラッシュを考慮せずに加工が行えるようにDIY機器を改造した。この改造は、簡単なアダプターをDIY機器へ取り付けの事で実現し、DIY機器本体への穴あけ等の加工は最小限にとどめた。この改造により、初心者でも精度の高い加工が行えるようになった。そして、デジタルスケールを取り付けたDIY機器の使用方法をテキスト化している。

【使用機器】

- ・精密卓上旋盤 Compact9 (株)東洋アソシエイツ
- ・ミニフライス盤 LittleMilling1 (株)東洋アソシエイツ
- ・ABS デジマチック測長ユニット (株)ミットヨ

*¹ 平成 24 年科学研究費補助金奨励研究 課題番号 24921007
生物学研究者のための機械工作逆引き動画テキストの作製

3D プリンターを用いた教育教材の開発と活動

山形大学 工学部 技術部 機器開発技術室 和田 真人

【目的】

近年、従来の概念を覆す高強度ゲルが相次いで日本で開発され、世界中が注目している。それらの高機能・高強度ゲルは環境や生体に優しい新材料として、医療や福祉分野に、また、低摩擦性をもつことより工業材料への応用に関する研究が一大ブームになりつつある。また、Chris Anderson 著「MAKERS 21 世紀の産業革命が始まる」の出版が引き金となり 3D プリンター技術が注目を集めている。さらに、高等教育現場では学生実験や実習において、新しい分析方法や新技術を用いた工作機械を用いて先端技術を取入れた講義・実習を行う動きもある。ゆえに、3D プリンター技術とソフト&ウェットマターの新技术と新機能材料の活用を目指した高等教育現場向けの教材製作を目的とする。

【方法】

SolidWorks を用いて摩擦測定子・治具となるトライボロジー教材のモデリングを行い 3D プリンターにて印刷を行う。バスタブ型固定治具内にゲル基板を設置し、トライボロジー教材として製作した摩擦測定治具を用いて測定を行う。測定条件としては摺動速度を 0.1 ~100.0mm/sec まで 7 段階に変化させ、垂直荷重を 500gf、摺動速度を 30mm 一定とした。使用した摩擦測定装置は、トリニティーラボ社製、速度変動摩擦測定機 μ V1000 である。天秤方式を採用したボールオンディスク方式の直動式摩擦試験機である。

【結果】

トライボロジー教材として、ゲル固定時に境界条件可変式のゲル圧縮固定治具を設計、印刷し作製した。ゲル側面を格子状のパターニングをしたプレートをボルトで締め上げることにより圧縮荷重を加えることができる。測定結果として、圧縮荷重をかけることにより境界条件が変化し、高圧縮荷重時は動摩擦係数が下がるデータが得られた。

【考察】

本研究では、摩擦測定に使用する摩擦測定子や治具を学生主体で製作し、ソフト&ウェットマターという新機能性材料を扱うことで工学教育において有効な体験となった。ゲルの境界条件を変えることによる摩擦挙動の変化も確認でき、医療・工業材料として応用していく上で重要な結果を得ることができた。今後は、ソフト&ウェットマターの特性を考慮したトライボロジー教材から研究ベースに繋がるよう進めていきたい。

空中に文字や物体を描ける3Dクリスタルの教材活用

福島工業高等専門学校 モノづくり教育研究支援センター 和賀 宗仙

【目的】3Dプリンタでは空中に浮かぶ物体は作れないが、3Dクリスタルではクリスタルガラスに空中でも文字や物体を描くことができ、3次元板書がわりの道具としての可能性を持っている。そこで、本研究ではクリスタルガラスに描画できる3Dクリスタルの教材としての活用方法について研究し、有用性を明らかにすることを研究目的とする。

【方法】SketchUpで、7月中に関数曲面など数学の授業で利用できる3次元図形の描画を行う。描画データは3Dクリスタルメーカーで利用可能な形式に変換保存し、メールでメーカーに送信し、メールと電話で情報交換しながら微修正をし、3Dクリスタルを製造してもらい、納品してもらおう。このクリスタルは後期の数学の授業で利用してもらおう。その後、物理実験の原理説明となる3次元図形の描画を進めていく。描画設計にはSketchupまたはSolidWorksを用いる。12月～1月にかけて後期の物理実験が行われるので、実験前の説明時に納品されたクリスタルを利用する。クリスタル内部に描かれた物体や矢印、文字はレーザーポインタで指示しながら説明する。比電荷、レーザー光の実験は暗室で行うので、LEDで光らせながら利用する。

【結果】数学の微分積分の演習問題でクリスタルをクラスに回し見てもらいながら授業で説明してもらったところ、教科書の図でおおよその形はわかっていたが、クリスタルを見て完全にわかった、または、教科書ではわからなかったがクリスタルで理解できた、とする回答がほとんどであった。ただ、サイズの制約上グラフが小さいのと、重いとの意見もあった。クリスタルへの描画自体は非常に細かく品質良くできていると感じた。その後、12月4日時点で物理実験で使う比電荷のクリスタルができたが、このテーマは急遽来年度の4年次前期にうつることになり、今年度は使わない。1月末までに他2～3テーマのクリスタルを製作することになっている。

【考察】SolidWorksは部品の設計には非常に優秀であるが、説明に用いる矢印や線を描くことを前提としていないため、本テーマにはSketchupのほうが適していると感じた。このソフトのプラグインはSketchupのバージョンによって動作の可否が左右されるため、複数のバージョンをインストールしておかねばならず、混乱しやすいことが問題である。

【参考文献・資料】

佐藤 正彦, “動画でわかる SketchUp 最強バイブル (エクснаレッジムック)”, エクснаレッジ, 2013/5/13

DASSAULT SYSTEMS, “SolidWorks Essentials”, TRAINING SOLIDWORKS 2014

三次元超音波を用いた腹腔鏡手術支援システムの開発

千葉大学 フロンティア医工学センター 前佛 聡樹

【目的】体表のあけた小さな切開創から挿入する光学カメラの映像をたよりに手技を行う腹腔鏡下手術は開腹手術と比較し低侵襲な手技として広く行われている。しかしながら、術中の視野が狭いなどの問題があり、極めて難易度の高い手技である。また、肝癌治療においては、疾患部の位置や肝内部を複雑に走行する血管の位置把握が重要であるが、腹腔鏡映像のみからこれらを判断することは困難である。そこで我々は術中にリアルタイムに情報取得が可能な超音波診断装置により臓器内部の情報を取得し、腹腔鏡映像に臓器内部情報を重畳表示するシステムを開発した。

【方法】本システムでは腹腔鏡像および超音波像を重畳するため正確な座標統合を行う必要がある。本システムではステレオ内視鏡および三次元超音波を用い、各々の情報から構築する臓器表面の形状情報を基に各々の座標軸を揃えることで位置あわせを行う。これにより外部位置検出装置を必要としないシステムを構築する。通常、腹腔鏡手術では腹腔内をガスで満たす気腹という処置が行われるため、超音波像を取得するには腹腔内に挿入可能な小型プローブを使用する必要がある。そのため、取得される臓器内部情報は非常に狭いものである。本研究では腹腔内を液体で満たす Water filled Laparo-endoscopic surgery という手術手法を用いることで体表から広範囲の超音波像を取得する。超音波プローブにはリアルタイムに三次元超音波像が取得可能な 4D プローブを使用し、得られた三次元超音波像から複数の画像処理により対象臓器の表面形状を抽出する。他方、先端に二つの光学カメラを搭載するステレオ内視鏡より得られるステレオ画像からステレオマッチング処理により対象臓器の三次元表面形状を構築する。

これにより得られた各々の臓器表面形状情報を ICP アルゴリズムにより揃えることで座標統合を行い、超音波による臓器内部情報と腹腔鏡による臓器表面情報を重畳し術者へと提示する。

【結果】ファントム実験における動作検証においては、画像提示における誤差は 10mm 未満であり、外部位置検出デバイスや大規模なシステム開発を必要としない、ソフトウェアベースの簡易な治療支援システムとして高精度な結果が得られた。また、処理速度においては PC (Intel Core i7 CPU 3.40 GHz, NVIDIA GeForce GTX 660) において 3.68 秒であった。

【考察】位置合わせ誤差が 10mm であったが、早期癌をターゲットとした場合、腫瘍径は 20mm 以下であり、更なる高精度化が必要である。また、処理速度においては GPU を活用した高速化を行っているもののリアルタイムで提示するには十分な速度には至っていない。今後は高精度化・高速化とともに対象の音響特性を可視化可能な超音波の特性を活かした機能を付加する。

研究教育機関の安全水準向上を支援する 事故解析ツールの開発

横浜国立大学 安心・安全の科学研究教育センター 鈴木 雄二

【目的】

国立大学等の法人化を契機に各研究教育機関では安全衛生管理の充実を進めていますが依然として実験室等の事故は繰り返し発生しています。事故の未然防止措置において事故解析結果を安全対策に反映させること及び実験等の従事者が事故解析を経験することは原因から事故事象への進展を理解するために有益です。2012年度の奨励研究による当開発は大学等の安全水準向上を支援するための事故解析ツール開発を目的としました。

【方法】

- (1) 事故情報の取扱いに関する他大学等へのヒアリング
- (2) 事故データベースの運用および事故進展分析に関する情報収集
- (3) 実験室の事故原因を分析するシステム作成と試行

【結果】

事故情報の扱いに関し、事故情報の収集自体が難しく情報収集の仕組みを整備等の工夫が必要であること、未然に予測不能な事故があり得るため多数の事例収集とデータベース化が求められていること、事故解析の教材化の例などの知見が得られました。本研究では事故に至る経緯に視点を当て、根本原因分析の手法により大学研究室で事故分析の実施を支援する情報システムを構築し、実験系研究室に試験的にシステムを公開しました。当システムでは、事故の要因を人、物、管理に区別し、各事象が起こった原因を一つずつ逆行して追求し、さらに予防策をユーザーが検討する項目やリスクマトリクスを表示する機能等を実装し、事故情報の入力と分析結果閲覧ではウェブブラウザで親しみやすいイラストを加えたウェブデザインを制作しました。事故情報を解り易く振り返るためのアルゴリズムを用いて LAMP 構成でウェブアプリケーションとして構築しました。

【考察】

大学等は構成員が流動的であり過去の事故情報活用の促進が事故防止のために重要です。今後は当システムのブラッシュアップの検討、事故情報の取扱いに関する各機関のさらなる連携、実験等の従事者の安全意識向上に関する仕組みの整備が課題であると考えています。

【参考文献・資料】

科学研究費助成事業データベース <https://kaken.nii.ac.jp/d/p/24922009.ja.html>

危険体感教育による局所排気装置の安全使用に向けた 教育教材の開発

茨城大学 工学部 技術部 金澤 浩明

【目的】平成 16 年度の国立大学の法人化に伴い、大学等における安全衛生に注目が集まっている。昨今では一步進めての本質的な安全確保の推進が議論されるに至っている。近年では「印刷業界の胆管がん問題」が注目を集めたが、大学等においても理工系を中心として有害な化学薬品は多数用いられており、法人化の際に、有害物質による健康被害を防ぐための局所排気装置（ドラフトチャンバー）が多数設置されたが、有害物質のばく露防止という本来の性能を発揮するには、法で定める定期的な検査（定期自主検査）と教育訓練が必要不可欠である。しかしながら、非定常作業が多い大学の場合、主として使用する学生への教育訓練方法は確立されておらず、現場の各教員の裁量に任せざるを得ないのが現状である。そこで本研究では、局所排気装置に関する豊富な知識と経験をもとに、教職員・学生に対して実際の危険性を体験させて理解させるという危険体感教育の手法を盛り込んだ教育教材の開発を目指す。

【方法】危険体感教育の一つとしてスモーク発生装置によって局所排気装置内の気流の流れを可視化させる手法を用いて正しいフード内の使用方法が理解できる教材の開発を行い、規模の異なる他大学も含めて、薬品使用が顕著な学部学科を対象に、局所排気装置に関する講習会を教職員・学生に対し実施し、適切な使用方法や検査・メンテナンス方法等に関する講習会を実施し、最後に講習会受講者のその後の局所排気装置使用状況について、追跡調査を行うことで現場への反映状況や教育効果について把握を行う。

【結果】一様流が可視化できるようにスモーク発生装置に塩ビ配管を加工して装置に取り付け、それを用いて他大学において9月中旬に局所排気装置に関する講習会を実施し、参加者である教職員・学生に、フード内の適切な使用方法や対策方法、フード前面における外気流の影響を体感することによって、目的とした目に見える形での危険性の体感を実施することが出来た。

【考察】危険体感が出来る可視化装置の開発、講習会の実施を進めてきた。しかし安全教育を実施できる人材（インストラクター）が少数であることが現在の課題である。今後は講習会指導者が教職員・学生に対して行う講習会実施後の教育効果の判定を行い、その結果を利用し安全使用に向けた教育手法のPDCAサイクルの開発を検討する。

リアルタイム PCR 装置を用いた高精度・簡便・低コストな小動物モニタリング法の開発

東海大学 生命科学統合支援センター 佐藤 忠之

【目的】実験動物の微生物感染は、実験結果の精度を左右するばかりでなく貴重な遺伝子改変マウス等の繁殖・維持が絶たれたり、飼育施設の閉鎖を余儀なくされることにも繋がる危険性をはらんでいる。そのため当施設では、3ヶ月ごとにモニター動物（主にマウス）の血液を採取し、ELISA法による抗体検査で Mouse hepatitis virus、Mycoplasma pulmonis、Sendai virus、Tyzzler菌の4項目について検査を行っている。その検査に必要な ELISA キットや外部検査費用は、年間約100万円掛かり ELISA法では偽陽性や偽陰性の判定も出ることから、より高精度で簡便にしかも低コストな検査方法の開発を目的とする。

【方法】（1）ELISA 法による抗体検査で頻繁に偽陽性が出る Mouse hepatitis virus (MHV) とコンベンショナルな飼育環境における汚染率が高い Mycoplasma pulmonis (Mp) を優先にした検出系を確立するために公共の遺伝子データベースを参考に特異性の高いプライマーをデザインする。（2）リアルタイム PCR 法は、コスト面と反応の特異性が正確に判定できる SYBR Green 系の試薬を検討し、検出感度と精度を評価する。（3）小動物への負担が軽減できるように採血だけでなく、糞便などから核酸を抽出して検査できるかを検討する。

【結果】インシリコでデザインしたプライマーの反応性を検証しているが、MHV ならびに Mp の陽性サンプルがまだ得られていないため、代替のヒト肝炎ウイルスとヒトマイコプラズマの検出系で検査システムの検討を進めている。その結果、SYBR Green 系のリアルタイム PCR で最小 5 コピーの検出感度で特異的な反応を確認した。また、通常の実時間 PCR では増幅サイズが 300bp 以下になるようにプライマーをデザインするという制約があるが、2000bp まで定量的に増幅できる反応試薬を検証し、様々なプライマーに対応できるように本検出系への導入を選定した。検査対象のサンプルは、ELISA 検査で残った血清や糞便などからどの程度の核酸が抽出できて検査ができるかどうかの検討を進めている。

【考察】MHV には多数の株が存在しており、全株に共通する配列でプライマーをデザインすることが難しいことがわかってきているため、1 種類のプライマーだけでなく複数のプライマーセットを混合して 1 本のチューブで反応させて検出・同定ができる系も検討する必要があるかもしれない。また、基本としている ELISA 検査の結果との整合性を図る必要があるため、Spike In テストなどで検出感度の検討を十分に行うことと偽陽性検体を多数検査して検出精度を高める必要がある。さらには、本検査システムのコストパフォーマンスを向上させることによって、モニタリング検査の頻度を 3ヶ月ごとよりも増やして実施することで、予防的な対策が早期にとれて被害の拡大を防ぐことができると考えている。

炭素繊維強化プラスチック（CFRP）を用いた 軽量の液体酸素容器の開発について

九州工業大学 工学部技術部 村上 清人

【目的】

省エネルギー社会を推進するためのキーワードの一つとして、「軽量化」が挙げられる。金属材料に変わる軽量素材として炭素繊維強化プラスチック（以下、CFRP）が注目されており、その適用範囲は航空宇宙分野や自動車分野など各種産業用途へ拡大している。本研究開発は当初、宇宙ロケット用推進剤の一つである液体酸素のタンクを金属材料から CFRP へ転換することを目的としてスタートした。液体酸素はロケット用推進剤以外に製鉄や医療用酸素源などにも用いられており、液体酸素容器の CFRP 化が実現できれば、軽量化による様々なメリットが期待できる。とりわけ、医療用液体酸素容器の CFRP 化に伴う軽量化は、患者の身体的負担の軽減に大きく寄与できると予想している。本発表では、液体酸素容器に適用できる CFRP 材料の選定試験、ならびに CFRP 製タンクの試作結果を紹介する。

【方法】

有機物が液体酸素に曝された状態で摩擦や衝撃が付与されると、着火や爆発を起こす危険性がある。よって、液体酸素容器の構造材料は、摩擦や衝撃によって着火しないことが第一条件である。液体酸素環境下での着火性を評価するために、ASTM の規格に則った ABMA 型衝撃試験装置を開発した。これは、アルミカップ内に設置した試料の上にストライカーピンを立て、アルミカップ内を液体酸素で満たした後、約 9kg の錘を 1.1m の高さから落下させ、その衝撃力で着火するかどうか検証するものである。この試験装置を用いて、様々な材料の液体酸素着火性を調査した。さらに、着火性のない材料の液体酸素温度（ -183°C ）における機械的強度や耐クラック性を調べ、液体酸素容器に適用できる材料を選定した。

【結果と考察】

汎用型 CFRP のみならず、その構成材料である PAN 系炭素繊維、エポキシ樹脂それぞれ単体でも着火することが明らかになった。炭素繊維に関しては、ピッチ系の超高弾性率のものであれば着火を抑止できることが判明した。樹脂材料において着火しないものは、PTFE や PFA などのフッ素系樹脂、ポリイミド、PEEK、ポリカーボネート、変性ビニルエステルであった。この中で、極低温下における機械的強度・耐クラック性やコストの面から、フッ素系樹脂を選定し、それをライナー（内殻）とした CFRP タンクを試作した。

試作タンクの耐水圧試験を実施した結果、2.5MPa まで耐えたが、液体窒素（ -196°C ）充填・加圧試験では、約 1MPa で CFRP の隙間からの液体窒素が漏洩した。漏洩の原因は、極低温に曝されたことによってライナー/CFRP 間で層間剥離が起これ、その状態でライナーのみに圧力が加わることでライナーが破損したためと考えられる。ライナー/CFRP やライナー/口金などの異種材料間の接着強度をさらに強くする工夫が必要である。

マウス卵母細胞における染色体分配異常を引き起こす因子の網羅的探索

理化学研究所 多細胞システム形成研究センター 染色体分配研究チーム 海道 雅子

【目的】卵母細胞は減数分裂を行うことにより卵子を形成する。卵母細胞の減数第一分裂は染色体分配の誤りが他の細胞分裂に比べて起こりやすい。その原因は、卵母細胞の第一減数分裂に特徴的な染色体分配様式と関係があることが考えられる。そこで、卵母細胞の減数第一分裂期において特異的に発現し、染色体分配のための細胞内装置に局在する未知のタンパク質を網羅的に探索し、卵母細胞の染色体分配のメカニズムを理解する手掛かりとしたい。

【方法】1. マウスの卵核胞(Germinal Vesicle: GV) 期の卵母細胞のcDNAライブラリーを作製

マウスの卵巣から卵母細胞を取り出し、実体顕微鏡下でグラスピペットを用いて顆粒細胞を完全にはずし GV 期の卵母細胞のみを回収後、mRNA を抽出する。この mRNA を鋳型にして二本鎖 cDNA を合成しスクリーニング用プラスミドベクターに組み込み、100%減数分裂に必要な mRNA セットを持つ細胞集団から作製される cDNA ライブラリーを作製する。

2. 酵母Two-hybridスクリーニング(Matchmaker™ Gold Yeast Two-Hybrid System clontech)

作製した cDNA ライブラリーを Prey (獲物)ライブラリーとし、Bait (おとり)ベクターには染色体分配に重要な役割を果たす動原体タンパク質 CENP-C を組み込む。宿主となる出芽酵母に Bait-CENP-C プラスミドと Prey ライブラリーの両方のプラスミドで形質転換を行い、CENP-C とタンパク質間相互作用するタンパク質を発現するプラスミドを持った酵母を選択培地でクローニングし、CENP-C と相互作用するタンパク質の遺伝子を選別する。さらに NCBI データベース*を用いて得られた候補遺伝子の中から2細胞期胚に比べて卵母細胞の時期において mRNA の発現量の多い遺伝子のみを選別する。

3. ライブイメージング

選別したクローンの cDNA に egfp 遺伝子を融合し mRNA を in vitro 合成する。合成した mRNA をマイクロインジェクション法により GV 期の卵母細胞に導入後、共焦点顕微鏡 LSM710(ZEISS)を用いて高感度イメージングを行い、EGFP の局在を継時的に観察することによって減数分裂時における動原体に特異的に局在するタンパク質を同定する。

【結果・考察】酵母 Two-hybrid スクリーニングにより 30 以上の候補遺伝子を得た。これらの中から、公開されている卵母細胞の RNA-seq データにおいて発現が高かった 10 遺伝子を選択した。これらの遺伝子を GV 期の卵母細胞に導入し観察したところ、動原体で特異的に局在するタンパク質を同定することが出来た。

今回作製した Prey cDNA ライブラリーを用いた酵母 Two-hybrid スクリーニングは有効な方法であることがわかった。今後、Bait ベクターに染色体分配に必要な他の因子を組み込みスクリーニングを行うことによって、新たな因子を探索することが可能であると考えられる。

【参考文献・資料】* Macfarlan et al., Embryonic stem cell potency fluctuates with endogenous retrovirus activity. *Nature* 487 57–63 (2012)

軟骨はなぜ硬いのか？ 支持組織における GAG 組成の物理的性状への関わり

島根大学 医学部 代謝生化学 長子 晴美

【目的】

膝や腰の痛みは、病気・事故を原因とするだけでなく加齢によっても高頻度で起こることが知られており、その進行を抑止したり遅らせたりすることは質の高い高齢化社会のための必要条件と思われる。この発生機序・進行機序を解明するためには、関節軟骨・靭帯などの支持組織を構成する成分を詳しく解析する必要がある。支持組織に高い割合で含まれるグリコサミノグリカン（GAG）やコラーゲンなどのうち、まず GAG に着目し、それを詳細に解析する方法を考案した。この方法により、GAG 組成の違いと組織の機能との関係、さらには加齢や病態による GAG 組成の変化を知ることが目的とする。

【方法】

GAG は 2 種類の単糖が交互に繰り返す基本骨格に、硫酸化、エピマー化などの修飾を有するヘテロ性の高い糖鎖である。基本骨格の二糖の組み合わせとその結合様式によって、コンドロイチン/デルマトン硫酸、ヒアルロン酸、ヘパラン硫酸およびケラタン硫酸の 4 クラスに分類される。

- (1) 実験動物の各種支持組織の可溶化、GAG の抽出と二糖化の条件を検討する。
- (2) 液体クロマトグラフィー(LC) と質量分析 (MS) を組み合わせることにより、すべてのクラスの GAG に由来する多種類の二糖を一斉に測定する方法を確立する。
- (3) (1)によって作成したサンプルを(2)の方法で解析する。

【結果】

- (1) 4 クラスの GAG に由来する 23 種の二糖を、構造に基づく分子量及び LC からの溶出時間の違いによって一斉に分離、定量する系を確立した。
- (2) コンドロイチン硫酸標品の二糖化産物を解析し、その組成比が過去の報告と同様であることを確認した。
- (3) 各種組織の GAG の二糖化産物を解析した。

【考察】

様々な組織における GAG 組成の違いを知ることができたので、コラーゲンなど他の成分の違いについても検討したい。この解析法は GAG の量的質的变化を伴うムコ多糖症など他の疾患を研究するためにも非常に有用であり、今後は様々な病態組織の組成変化について解析を行う予定である。

トノサマガエルとダルマガエルの分子的種判定法と 岩手県内の分布

岩手大学 技術部農学系技術部 長井 和哉

【目的】絶滅が危惧されているトノサマガエル (*Pelophylax nigromaculata*), ナゴヤダルマガエル (*Pelophylax porosa brevipoda*), トウキョウダルマガエル (*Pelophylax porosa porosa*) の3種は種特異的な形態的特徴はあるとされているが, 形態的に非常に類似しており, 学術図鑑等においても形態的な識別点が明瞭に記されていない. また, 特に近年遺伝子汚染で問題となっているトノサマガエルとダルマガエルの F1 雑種においては形態での判断は極めて難しいとされている. 本研究では, 当該3種において, 個体を傷つけること無く DNA の抽出を試み, PCR による種判別が可能な DNA マーカーの探索を行う. これにより, 非侵襲的で簡易的な種判別法の開発を行う. フィールドで個体を捕獲後に DNA を抽出し, 正確な種判別を行うことで生息状況の調査に役立ち, 種の保護政策に大いに貢献すると期待される.

【方法】

(1) 材料には岩手県内に生息しているトノサマガエル, トウキョウダルマガエル及び静岡県で捕獲したナゴヤダルマガエルを用いた.

(2) 個体を傷つけること無く DNA を抽出できる方法を検討するため, 様々な大きさの個体で口腔内, 総排泄口等からの DNA 抽出を試みることにより, 非侵襲的な DNA 抽出法を考案した.

(3) 開発した DNA マーカーが対象3種の数十個体で有用であるかを試した.

(4) GS Junior 454 sequencer (Roche) を用いて3種間でどの程度の差異があるかを検討した.

【結果】本研究で開発したプライマーセットを用いた PCR により RAG1 遺伝子の一部の領域 1.2kb を試した当該3種全個体において増幅可能であった. PCR 産物に対して行った RFLP により当該3種及び F1 雑種個体において種判別が可能であった. さらに, GS Junior 454 sequencer を用いた RNA-sequence により, 機能未知遺伝子 A において当該3種で保持されている塩基配列があること, トノサマガエルとダルマガエル間で差異があることが分かった. これらを用いて種特異的プライマーを作成・利用した種判別法を考案し, 試行したところ, 試した個体全てにおいて種判別が可能であり, RAG1 を用いた種判別法と結果は一致していた.

【考察】本研究で2種類の種判別法を考案した. 2つの種判別法は共にコントロールとして用いた個体と結果が同じであったため, 有用であると考えられる. RAG1 遺伝子は個体間で塩基置換が多く存在するため全ての個体で正しく種判別できるかどうか不明であったが今回種判別にもちいた領域は個体間で保持されていたため広く有用であったと考えられる. 機能未知遺伝子 A については, より長い塩基配列を決定・比較していくことでさらに簡便な種判別法が開発可能であると同時に当該3種間の形態的差異等についても何らかの知見を得ることが出来ると考えられる.

【参考文献・資料】長井和哉. トノサマガエルとダルマガエルにおける種判別 DNA マーカーの開発. 平成 25 年度実験・実習技術研究会概要集 P155

二光子蛍光寿命イメージング顕微鏡による細胞内シグナル伝達分子活性化イメージング

生理学研究所 技術課 前橋 寛

【目的】神経細胞は複雑なネットワークを形成し、入力に応じてその機能を可塑的に変える。このような可塑性は学習や記憶に関わる現象といわれている。ほとんどの神経細胞は細胞体から複数の樹状突起と1本の軸索が伸びた非対称な構造になっており、軸索からシナプスを介して別の神経細胞へと電気信号を伝える。このとき、シナプス結合の増強や収縮はシナプス後部の増大や収縮することが知られている。もし、個々のシナプスを時空間的に自在に活性化（長期増強）し、その応答を観察することができれば、神経細胞ネットワークや細胞活性化の仕組みの解明に大きく前進するであろう。そこで本研究では、光（レーザー光）によってミリ秒レベルとマイクロメートルレベルの高時空間分解能でシナプス長期増強を誘発することが可能な CaMKII シグナル分子（photo-activatable CaMKII, paCaMKII）を遺伝子工学的に開発し、さらに、この分子を用いて、様々な時空間的パターンでシナプスを活性化したときの細胞応答を電気生理学的に計測する。このようにして、神経細胞が応答する際に必要なシナプスからの入力パターンを明らかにする。

【方法】昨年度から村越准教授の指導下において、様々なリンカー挿入や変異体を作製することにより、光応答型 CaMKII の開発を行ってきた。それには様々な DNA コンストラクトを作製し HeLa 細胞に発現させ、青色光照射により分子構造が変化するかどうかを確認することにより、最適な分子をスクリーニングした。その評価には、細胞内の情報伝達タンパク質の濃度変化や化学変化の画像化する方法として、細胞内分子活性化の FRET センサーを用いた 2 光子蛍光寿命イメージング顕微鏡法（2pFLIM; 2-photon fluorescence lifetime imaging microscopy）があるのでそれを用いた。

今回、CaMKII シグナル分子の性能評価を効率よく行う目的で村越准教授のプログラミングおよび指導により Matlab を用いた FLIM 用画像解析ソフトウェアの改良をしたので、その内容とともに紹介する。

【結果】FILM 用画像解析ソフトウェアでは蛍光寿命イメージングのカーブフィットを効率的に行うことができるようにするため、以下の改善を行った。

- 1) 蛍光寿命カーブの範囲や半値幅を予め設定し、自動化を行った。これにより、既知の値を手動入力する必要がなくなった。
 - 2) タイムラプス画像毎のフィッティングを自動的にできるようにした。
 - 3) プルダウンメニューで各測定領域の番号をボタンで指定できるようにした。
- これらの改善により、解析にかかる時間が 10 倍短縮することができた。

口演発表 (一般口演)

接ぎ木によるミヤコグサ変異体の種子産生増加

基礎生物学研究所 技術課 田中 幸子

【目的】 マメ科植物は根粒菌と共生することにより、根粒を形成し、根粒菌の窒素固定により、窒素源の供給を受ける。この根粒共生のモデル植物としてミヤコグサ (*Lotus japonicas*) を用いており、根粒共生を研究するにあたり、根粒共生変異体を多く研究に用いる。そのため、根粒共生変異体の種子を多数供給する必要がある。しかし、根粒共生変異体の多くは種子の産生が低く、十分に種子を得ることが困難である。本報告は根粒共生変異体の種子産生を増加させるため、ミヤコグサの近縁種を台木に用いて根粒共生変異体に接ぎ木を行うことにより、種子産生を増加させることを目的とする。

【背景と方法】

ミヤコグサ野生系統は、栽培室や恒温温室では1年以上成長し続け、種子も産生し続ける。しかし、根粒共生変異体の多くは数回開花した後は側枝がほとんど出現しなくなり、葉が落ち、種子が得られなくなる。そのため、実験に十分な種子を産生するには、個体数を増やし、種子産生が落ちる数ヶ月ごとに新たに播種する必要がある。種子産生を増加させるため、ミヤコグサの近縁種を台木に用いて根粒共生変異体の接ぎ木を行った。台木に近縁種を用いた理由は、植物体の葉、花、サヤの形や色がミヤコグサと異なるため、たとえ台木より茎葉が出現したとしても穂木の茎葉と区別が容易につくため、誤って台木の種子を混入する可能性を無くすためである。

【結果と考察】

接ぎ木の結果、根粒共生変異体でも野生系統と同様に成長が止まること無く、種子を長期にわたって産生し続けるようになり、接ぎ木しないものと比較して種子産生が増加した。そのため、実験で必要とする種子が一回の栽培で得ることが可能になった。また、種子1粒あたりの重量が増加し、野生系統の種子重量に近くなるため、種子の発芽、初期成長に安定した結果が得られることが期待できる。接木の欠点としては初期成長が遅いことが多いため、初期の種子採取には時間がかかることがあげられる。そのため、少量の種子を早く得たい時には不適である。また、接ぎ木の善し悪しがおそらく初期成長の早さに影響していると考えられ、接ぎ木作業に時間と技術を必要とする。

植物細胞のフローサイトメトリーにおける 試料調製法の検討

神戸大学 遺伝子実験センター 川本 智, 岩崎 哲史

【目的】

細胞一つ一つの情報を電気信号として捕らえて瞬時に解析し、目的の細胞を生きたまま分取するフローサイトメトリーは、フローサイトメーターのデジタル化、高機能化などが進んだことにより、生命科学分野においてなくてはならない実験手法となっている。特に最近では特異抗体や蛍光色素が充実し、多様な細胞生理学上の現象をリアルタイムで解析ができるようになっており、またその解析対象が真核細胞だけでなく、核や酵母、大腸菌、プランクトンなどまでも可能であることから、細胞生物学の強力なツールになりつつある。

これまでは動物細胞での解析が主流であったが、近年は植物細胞での利用も進んでいる。しかしながら、植物細胞には細胞壁があり、動物細胞に比べて試料の調製が難しい。そのため、植物細胞のフローサイトメトリーでは組織から直接核を遊離させてDNA量を測定し、倍数性を調べる事が主な目的となっている。そこで、植物細胞の形を維持した状態でフローサイトメーターに供するための試料調製法について検討した。

【方法】

マメ科植物（アルファルファ，リョクトウ）の実生を材料として以下の試料調製法を検討した。

- 1) 現在主に行われている Chopping 法（バッファー中で組織を断片化し、核を遊離させる）
- 2) プロトプラストを作成して（動物細胞と同様に）解析を行う
- 3) プロトプラストを作成後、PFA, エタノールで固定化して解析を行う
- 4) 細胞壁を維持した状態（プロトプラストの前段階）で解析を行う

【結果・考察】

プロトプラストを作成する方法は酵素処理、固定化などの手順が必要なため、組織から直接試料を作成する Chopping 法よりも手間がかかる。しかしながら細胞の形を維持したまま解析することができるので DNA 量の解析のみに留まらない多様な分析を行うことが可能である。

今回用いた材料において、プロトプラスト化のみを行った試料でも DNA 量の測定が可能であることがわかった。現在 3)、4) の調製法についてより詳細な解析を進めており、本口演では解析条件の選定や植物細胞試料調整時の要点についても議論したい。

作業環境測定におけるアクリルアミドの GC 分析

九州工業大学 情報工学部 楠本 朋一郎

【目的】アクリルアミドは特定化学物質障害予防規則の特定化学物質第二類物質として規定されている化学物質である。特定化学物質とは人体に対し健康障害を発生させる可能性が高い物質として定義されたものであり、作業場での飲食喫煙の禁止（特化則三八条 2）、定期的な空気中濃度の測定（特化則三六条）、健康診断（特化則三九条）などが義務付けられている。九州工業大学においても自前で作業環境測定を実施し、サンプリング、分析、評価を行っている。今回はアクリルアミドのガスクロマトグラフィー（GC）法による分析の中で、装置のセッティング、カラムの充填、条件の最適化を行ったので報告する。

【方法】

空気中のアクリルアミドをローボリュウムサンプラーにてグラスファイバー濾紙に 20L/分の流量で、10 分間捕集後、90%メタノール水溶液で抽出、濃縮後試料とした。メタノールは GC/MS 分析用（関東化学）を使用した。

【結果】

アクリルアミドの分析を行うにあたり、学科の中で使用可能な GC 装置(GC-14A SHIMADU)を選定した。カラムは充填された既製品で検査証付だと 10 万円を超え高額であったので、空のガラスカラムと担体を購入した。価格面も考慮して Gaskuropack 54 60/80 を採用することにした。ガイドブックには、試料導入温度 200℃、カラム槽温度 180℃、検出部温度 200℃と記載されていたので、その条件でアクリルアミドをメタノールに溶解した標準試料を検出しようとした。しかし、アクリルアミドに由来するとみられるピークを検出することができなかった。アクリルアミドの MSDS を確認すると、沸点は 192.6℃であり試料導入口 200℃だと気化に時間がかかったり、またカラム槽は 180℃なので、気体の状態から液体状態になってカラムの充填剤に付着したのではないかと考えた。そこで、温度を上げ試料導入口、カラム槽、検出部ともに 245℃とした結果、良好に検出できるようになった。

【考察】アクリルアミドの分析は現状の下限值でも分析するのが中々困難であるが、更なる規制強化が行われた場合には本法では難しくなる。また、このセットした GC カラムは隣の研究室が取り組んでいる研究課題解決にも大きく寄与しており、学生実験にも利用されるようになった。古い装置ではあるが耐久性が高く便利が良い、昔の企業人の心意気が詰まった名装置である。

A4

プロテインシーケンサの「ガスフェーズ」測定における 最適なガス圧の検討

基礎生物学研究所 技術課 牧野 由美子

【目的】私は生物機能情報分析室で依頼分析としてタンパク質・ペプチドの解析を行っている。プロテインシーケンサは、N 末端アミノ酸配列の決定を行う装置であり、通常感度とその 5 倍程高感度である 2 台が設置されている。試料量や依頼内容などに応じて、適切な装置を用いた分析を行っている。

分子量が大きい（およそ 80kDa 以上）、又は酸に弱いタンパク質の測定では、強酸である液体の反応試薬が原因で非特異的にペプチド結合が切断される。それにより新たに生じた N 末端のアミノ酸が反応し、反応サイクルを繰り返すほど、本来の N 末端でないアミノ酸が全体的に増加する。このため、分離・検出されたクロマトグラフでは各アミノ酸のバックグラウンドの上昇が起これ、長いアミノ酸配列の決定は困難となる。これを抑えるため、強酸の試薬をガスで送る「ガスフェーズ」という方法がある。「ガスフェーズ」では、ガスを送る圧力が反応効率や非特異的なペプチド結合の切断の増減に影響する。このため、反応効率が高く、バックグラウンドのアミノ酸の上昇が抑えられるようなガス圧を検討した。

【方法】反応効率の性能を判断する繰り返し収率は、決定したアミノ酸配列中に 2 つ以上ある同じアミノ酸より求められ、その値が高いほどより長く配列を決定できる。この繰り返し収率が高い値になるガス圧の検討を、2 台の装置について行った。また、2 種類の試料形態である液体と PVDF 膜についてそれぞれ測定した。

検討には、標準タンパク質である β -ラクトグロブリン（約 18kDa）を用いた。16 残基目まで測定し、2 回ずつ出てくる 3 種類のアミノ酸より繰り返し収率を求めた。ガス圧の値は 0.1psi 刻みで設定した。

【結果】高感度の装置を用いて液体試料を測定した結果、0.3psi 及び 0.4psi で高い繰り返し収率が得られた。PVDF 膜試料では、0.8psi で高い繰り返し収率が得られ、試料形態で最適なガス圧値が異なることが分かった。通常感度の装置の PVDF 膜試料では、0.7psi で高い値が得られた。

【考察】今後、 β -ラクトグロブリンを用いた測定の回数を増やし、最適なガス圧値を確立する。その後、実際に 80kDa 以上の分子量の大きなタンパク質を用いて、同様に適切なガス圧値を求め、比較検討したい。

得られた最適なガス圧値は、依頼測定の「ガスフェーズ」の測定に反映させていきたい。

ホヤ被囊接着部の解析： ホヤはどのようにして接着しているのか

広島大学 技術センター（附属臨海実験所） 山口 信雄

【目的】

海産無脊椎動物であるホヤ類は被囊によって基質（岩石・コンクリート等）に接着して固着生活をしている。接着部位は体の表面を覆う被囊と呼ばれる部分の一部であり、ホヤ類をはじめとした尾索動物各群が共有する他の動物には全く類例のない組織である。さらに被囊は接着だけでなく他の生物を付着させないという特性も併せ持つことがある。例えばマボヤやナツメボヤの海水に面している非接着部分には、付着生物をほとんど視認できない。この接着と非接着（他生物からの防御）の相反する機能のそれぞれの仕組みを探ることが本研究の目的である。

【方法】

1. 材料の選択

実験所近海で簡単に通年採集でき、飼育経験および研究実績の豊富なナツメボヤ、スジキレボヤ、カタユウレイボヤを使用した。

2. 手法の選択

(1) 薄切可能な基質の選択とホヤの接着

自然の海から採集してきたホヤは基質に強固に接着しており、剥がすと接着面が破壊される。また薄切しようとする時、基質のみならず混入している砂や石灰質等によってもステンレスの替刃やガラスナイフの刃が痛み、薄切面も無数のナイフマークで乱れてしまう。そこで薄切可能な柔らかい基質（ナイロンメンブレン、ポリエチレン）にホヤを付着させて人工的に飼育し、その基質ごと薄切する手法を試みた。

(2) 接着部の解析

ホヤ被囊接着面及び非接着面を光学顕微鏡（HE染色）、TEM、SEM、EDSにて観察・解析し、接着面あるいは非接着面に特異な構造や元素の偏りを調べた。元素分布を調べる際に可溶性の元素の流出を防ぐため、サンプルは一切の固定・薄切を行わず凍結切断法にて断面を作成し、広島大学自然科学研究支援開発センターのクライオショットキー電界放出形走査電子顕微鏡（JSM-7800F, JEOL）を用いて解析した。

【結果】ホヤ類を柔らかい基質ごと薄切あるいは凍結切断することにより、接着面がどのような構造をしているかが理解できた。接着面の元素分析では、高濃度の元素蓄積は頻繁には検出されなかった。

【考察】今後はホヤが接着面を広げる際に作る突起に着目し、どのように接着していくかを観察すると共に、その部位に特異的な分子を探索する。

大理石骨病マウス(op/op マウス)下顎骨の骨質測定

大阪大学 大学院工学研究科 技術部 藤谷 渉

【目的】下顎骨における生体アパタイト(BAp)結晶の配向性は、*in vivo* 応力分布の変化や骨系細胞挙動に対して極めて敏感に変化する骨質指標である。下顎骨において咀嚼荷重は歯根直下の極小領域での配向性を制御する重要な因子であることが示されている。一方、M-CSF 蛋白の欠如に起因して破骨細胞数減少による骨吸収不全を呈する op/op マウスは、歯牙形成・萌出不全による咀嚼障害を示すことから、骨配向化に対する *in vivo* 応力分布、細胞挙動の影響を評価し得るモデルとして重要である。

本発表では、op/op マウスと対照群の正常マウス下顎骨に対し、骨量、配向性の変化を歯根の有無やそれに起因する咀嚼効果に着目し微小領域 X 線回折法で結晶学的な解析を行った。

【方法】各週齢の op/op マウス (n=3) より下顎骨を摘出した。咀嚼の有無を考慮して、顎を支える近遠心方向に垂直な歯根を含む断面内において、歯牙の部分を除いた皮質骨の断面積および体積骨密度を pQCT 法で測定した。近遠心方向に沿った BAp の c 軸配向性は反射法で、二次元骨断面内の配向分布は透過法の微小領域 X 線回折法によって解析した。

【結果】破骨細胞欠損した op/op マウス下顎骨の体積骨密度は正常な対照群に比べて有意に低い値を示した。近遠心方向の配向性は、歯根の有無に関わらず正常な対照群では基本的には近遠心に沿った一軸配向性を示し、咀嚼荷重の影響を受ける歯根直下でのみ咀嚼方向へ配向化し、結果として、近遠心への配向性は低下した。一方、op/op マウスでは、近遠心への配向度が対照群に比べて本質的に低く、歯根直下においても咀嚼の影響は受けるものの、配向度の低下は小さく、咀嚼荷重やそれに対するレスポンスの差異が示された。

【考察】破骨細胞欠損による骨吸収不全を呈する op/op マウス下顎骨は生体アパタイト配向化に対する *in vivo* 応力分布、細胞挙動を評価し得るモデルであった。M-CSF 蛋白の欠如により op/op 群では皮質骨面積・骨密度が減少した。op/op 群の c 軸配向性は他の咀嚼障害モデルと類似の結果を示したが、M-CSF 蛋白の欠如により c 軸配向性の減少が認められた。これらは破骨細胞数の減少により骨代謝回転に直接的に影響したためと推察された。さらに骨密度減少による応力伝達能の低下に起因して c 軸配向性低下が示唆された。

【参考文献・資料】W. Fujitani, J.-W. Lee and T. Nakano “Evaluation of Bone Quality in Mandible of young M-CSF Deficient-Induced Osteopetrotic Mouse” Materials Science Forum, Vols. 706-709 (2012) pp484-487.

A7

スマートフォンを使用した顕微鏡撮影システムの構築について

信州大学繊維学部 技術部 武田 昌昭

【目的】スマートフォン（多機能携帯電話、以後スマホ）がこの世に登場してから7年が経過し、現在3人に1人が所持するようになった。とりわけ学生のスマホ所持率は高く携帯電話を持っている学生が希少価値になってきた。このような状況における実験実習では、実験中でもスマホを所持し、レポートに必要な実験過程や結果などを写真撮影する学生が増えた。しかし生物学実習で使用する顕微鏡で、接眼レンズからの撮影はスマホの固定が難しく、良い映像が撮れない。そこで今回演者が機種変更で使わなくなったスマートフォンを活用して、市販されているフィールドスコープ用アダプターを活用して顕微鏡の接眼レンズからの撮影方法を試みてみた。またその画像を学生へ配布（共有）や実習説明にライブビューをスクリーン映写する方法を構築するなど ICT（情報通信技術）を用いた教育支援について報告する。

【方法】

- (1) 使用した機材：iPhone5S、appleTV、kowa スマホ用フォトアダプター、Wifi ルーター
- (2) スマホと生物顕微鏡の接眼レンズの接続（固定）で、視野を広く撮影するために、市販で良いアダプターを探すのに苦労した。

【結果】従来の映像方法は、カメラ用鏡筒に一眼レフカメラやコンパクトカメラをアダプター接続で撮影で装置全体も大きくなる。また実習用顕微鏡ではそのような鏡筒がなく接眼レンズを外して取り付けていたので。観察用とは別に撮影用の顕微鏡を用意しなくてはならなかった。今回の方法では接眼レンズを外さなくても高解像度の映像（静止画、動画）が撮れ、またワイヤレスでプロジェクターによるライブビュー上映も可能にした。

【考察】今回は特定のスマホ・OS（apple・iOS7.0以降）の製品・機能で構築した。今後は他メーカーのスマホ・OS（Android）やPCとの組み合わせなどでも同様の撮影方法（機材・アプリ）が出来ないか検討したい。また接眼レンズアダプターについては、試作・情報グループ（材料加工技術）に依頼して部品を制作していただくか、100円均一店などの安価な材料で試作する予定である。

【参考文献・資料】

iPhone5S 仕様：<http://store.apple.com/jp/buy-iphone/iphone5s>

appleTV 仕様：<http://store.apple.com/jp/buy-appletv/appletv>

AirPlay でワイヤレスストリーミング：<http://support.apple.com/ja-jp/HT4437>

オープンデータリソース活用法の検討

東北大学大学院 農学研究科・農学部 小森 和樹

【目的】 DNA マイクロアレイを用いてサンプルの遺伝情報を網羅的に取得し、統計学的手法を用いて遺伝子の相互作用を解析するにあたり、精度の高い情報を取得するためには大量のサンプルを使って解析する必要がある。しかしながら、サンプルの収集に時間がかかること、また大きなコストが発生するという問題がある。

近年 NCBI Gene Expression Omnibus などの他者が取得したマイクロアレイのデータを Web 上で公開するデータベースや、prognoscan や TogoProt(蛋白質関連データベース総合検索)などの、公開されているデータを共有し、情報を取得するための Web ツールが増えている。こうしたオープンデータリソースを活用することで、短時間に低コストで目的とする情報を取得することができないか検討することとした。

【方法】 血管新生を制御する Vasohibin-1 と、そのホモログである Vasohibin-2 の分子メカニズムを明らかにするため、NCBI Gene Expression Omnibus から複数のデータセットをダウンロードし、解析を行うこととした。また様々な Web ツールを利用し、情報収集を行うこととした。

【結果】 データ解析のため、GeneSpring(Agilent Technologies)を購入したが、オープンデータリソースを活用することで、自身でマイクロアレイデータサンプルを収集することなく、Vasohibin-1 と Vasohibin-2 について調査することができた。

【考察】 DNA マイクロアレイを用いてサンプルの遺伝情報を網羅的に取得し、統計学的手法を用いて遺伝子の相互作用を解析する方法は、従来の実験による解析と比較し、大量のデータを短時間で確認、調査できるため非常に有用な手段となりうる。オープンデータリソースを活用することで、短時間に低コストで様々な情報を得ることができ、研究のスピードを加速することが可能であると考えられる。

【参考文献・資料】

NCBI Gene Expression Omnibus

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>

トミーデジタルバイオロジー(GeneSpring販売)

<http://www.digital-biology.co.jp/allianced/products/genespringgx/>

prognoscan

<http://www.abren.net/PrognoScan/>

背部に広範な刺青の入った解剖体がコメディカル教育に 貢献した例 ～刺青と免疫系との関連～

浜松医科大学 解剖学講座 医学科 2 年生, 同 5 年生
佐々木 健, 亀井 淳哉, 川上 優, 川島 大喜
河田 紋華, 竹村 綾奈, 加藤 紜智穂, 佐藤 康二

【目的】医学部歯学部の解剖学教育においては、篤志献体による実際の人体(御遺体)を用いた肉眼解剖実習が必修である。加えて最近では、コメディカルと言われる医療従事者を目指す学生に対する解剖実習見学が盛んに行なわれており、本学においても近隣の医療系大学・専門学校に対する解剖実習見学が、医学生の実習と並行して行なわれている。一方、解剖学講座配置の技術職員は、これらコメディカル学生の解剖実習見学にも積極的に貢献することが求められている。

解剖実習で使用する御遺体には性別・年齢に加えて様々な個体差が存在するが、それぞれの病歴や死因、治療による個体変化も貴重な実習教材となり得る。今回筆者らは、本学における平成 26 年度の解剖実習において、その背部に広範な刺青の入った御遺体に遭遇し、その御遺体のリンパ系において極めて特徴的な変化を見出し、その変化がリンパ系の機能を理解する上で、医学生のみならずコメディカル学生に対しても貴重な教材となる経験を得たので、ここに報告する。

【方法・結果】浜松医科大学における平成 26 年度の肉眼解剖実習において、背部の肩から臀部、大腿部にかけて広範な刺青がある御遺体(男性、死亡時:平成 23 年 9 月 18 日、年齢:83 歳、身長:162cm、体重:42kg、死因:肝細胞がん、病傷歴等:虫垂炎、左胸刺傷、左手第五指第一関節より欠損)が用いられた。この御遺体は本学 2 年生の 4 名が解剖実習を担当し、その中で両側の鼠径部皮下に多数の腫大化・黒色化したリンパ節が認められた。また腋下と頸部下方のリンパ節も黒色化していたが、頸部上方のリンパ節は黒色化していなかった。その後、この御遺体は刺青と生体の免疫機能との関係性を説明する教材として、コメディカル学生の解剖実習見学も含めて活用した。さらに、この御遺体から鼠径リンパ節と刺青のある皮膚の一部(腰部中央付近)を採取し、組織標本を作製し観察した。

【考察】リンパ節は免疫系における二次リンパ器官の一つであり、そこには周辺組織に常在し細菌、ウイルス、異物等を貪食したマクロファージが集簇する。今回、鼠径リンパ節が腫大化・黒色化していたのは、大腿部や臀部の刺青色素を異物として貪食したマクロファージが、その所属リンパ節に集まった結果であると考えられた。実際にそういった現象は知られており(1)、また皮膚科学の教科書にも記載がある。なお、これらのリンパ節と皮膚組織については、現在組織学的手法により解析中である。

医歯学生やコメディカル学生においては、解剖実習(見学)は 1~2 年時に行われるのが一般的であり、この時期は免疫学や皮膚科学の講義は受けていないことが多い。このため、今回の症例は特に免疫学のマクロファージやリンパ節の機能を学習する上で、その導入的な役割を果たし、非常に有効な症例であったと思われる。

【参考文献】(1)General Pathology 1962, 128-166, (2)J Jpn Coll Angiol 2008, 48:113-123, (3)あたらしい皮膚科学 第 2 版、2011 年

放射性同位元素使用施設の改修

基礎生物学研究所 技術課 松田 淑美

【目的】 アイソトープ実験センター明大寺地区実験施設は、1983年4月に竣工した非密封の放射性同位元素（以下「RI」）の使用施設である。2013年度、老朽化対策および設備高度化のため全面的な改修を行い、2014年7月から施設利用を再開した。改修に伴う RI 使用施設特有の問題点と対応策について報告する。

【問題点と対応策】

(1) 物品及び設備の汚染検査及び除染作業

検査箇所は 4151 点で、測定の結果、放射線障害防止法で定められた RI 管理区域外への持ち出し基準(4Bq/cm²)を超えた箇所は無かった。また、検出限界を超えた箇所は 89 点あった。検出限界を超えた検出があった機器は、工事中は、保管廃棄室で保管または他の RI 管理区域で使用した。排水管・排気ダクトで検出限界を超えた箇所は、RI 廃棄物として処分した。

(2) 処分委託不能な RI 廃棄物の保管場所の確保

RI 廃棄物のうち有機化合物（液体シンチレータを除く）の廃液は処分委託できる廃棄業者がないため、永久保管する必要がある。改修工事では保管廃棄室も改修を行うため、別の建物に「第 2 保管廃棄室」を設置した。

(3) 施設利用者への対応

RI を用いた動物実験・組換え DNA 実験を工事中も行うため、当センターのもう一つの事業所である山手地区実験施設の管理区域外使用場所を明大寺地区に設置した。

(4) 改修工事業者の RI 管理区域での安全措置

放射線障害防止法では、施設の一時使用停止は認められないため「RI 管理区域」のまま工事をを行った。このため、工事業者は一時立入者として記録を残し、法令で定められた環境測定を実施した。

(5) 換気設備の更新に伴う環境測定

労働安全衛生法及び関係法令に定めるところでは、RI を使用する室では空気中 RI 濃度の測定が必要である。改修工事による排気設備・部屋の区画の変更により空気の流れが変わったため、基礎データとなる各室の空気中 RI 濃度の詳細な測定を行った。

【まとめ】 改修工事にあたって、RI 施設として必要な RI 検査・除染作業や工事中の措置については、利用者・工事業者の協力を得て大過なく実施することができた。設備の更新により、安全性が向上し、省エネルギー化された運用ができるようになった。

技術職員のキャリア事例の紹介

八戸工業大学 工学部 バイオ環境工学科 西村 順子

大学や研究機関に所属する技術職員は、一般にどの部局にも所属せず、独自の制度で運営されているが、キャリア形成や組織運営、職場の環境整備などにおいて様々な問題を抱えていることが多く、将来的な人口推移から考えても、これからの教育・研究組織の運営の在り方と技術職員の立場の見直しは必至である。発表者は、国立大学の教務職員として採用され、技術職員を経て教員になった。

大学法人化以前には旧帝大を中心として技官（教務職員）という職種があった。俸給上は教育職であり、建前上は「助手待ちポスト」であったが、実際は技官でも教員でもない不安定な立場であった。国立大学法人化の行政改革と法改正に伴い、教務職員制度はなくなり、助手もしくは技術職員の振り替えとなり、問題は解決したかに思われた。

しかし現在、振り替えから約10年経過しているが、その間に見直されることは一度もなく、現在もなお「助手」として在職している教員が組織上問題となっている。また教務職員から振り替わった技術職員が退職した場合、そもそも「教育職」であったことから、その後のポストに関しては任期なしの教員枠に使用される一方、技術職員としての補充はなく実質上の人員削減となるため、個人業務の増加や組織運営への大きな負担となっている。

さらに教務職員は「教育職」という立場であったため、研究者番号の申請登録が出来た。振り替えによって技術職員になっても研究者番号はそのまま所有となった。ところが科研費申請（代表者）をする場合には、研究者番号を所有している関係上、教員同等の扱いとなり、申請対象が基盤研究、萌芽研究等となるため、奨励研究には申請できない状態で、研究費の獲得において不利な立場となっている。

現在は技術職員の昇任・昇格について、以前より具体的に明文化されるようになってきた。技術職員における学位取得は今後のキャリア形成を考える上でも選択肢を広げるきっかけとなるので、機会があったら取得をお勧めしたい。発表者はこれまで研究室配属であった経緯から学位を取得し、平成26年4月から大学教員となった。技術職員と教員の大きな相違点は、教育研究に対して主導権があるかどうかだが、教務職員として研究室での教育研究に密接に携わっていたため、教員になってもそれほど抵抗なく、何とか業務をこなしている。

技術職員のモットーとして、よく「よい研究教育は、よい技術職員から生まれる」といわれているが、とくにこの1年はこの言葉の重みを実感し、改めて「教員との密な連携と日々の技術研鑽」を切望している。近年では技術職員の在り方も変化し、「技術職員は教員の部下ではない」と認識されるようになってきた。技術職員としての立場からも主張すべきことはきちんと主張し、パートナーとしてお互いに協力して共働できる体制づくりや教員への啓蒙活動が必要だろう。本発表を通して、今後の技術職員の待遇改善や活性化、さらには個人的なモチベーションの向上に繋げられるのを期待している。

技術職員による技術力向上を目指して — 分析技術グループ研修「pH測定技術」報告 —

東京大学大学院 農学生命科学研究科 佐々木 潔州, 白井 深雪, 池田 正則
曾我 竜一, 澤田 晴雄, 藤田 真志, 小野山 一郎, 黒岩 真弓, 高橋 友継, 堀 吉満

【目的】東京大学大学院農学生命科学研究科技術部では技術職員の技能向上を目的とした2つ目の技術グループとして分析技術グループが2013年度に発足し、活動の1つとして2014年2月28日に研修「pH測定技術」を主催した。pHは様々な分野で利用される指標であり、分野が多岐にわたる横断的組織の当グループの目的に適う分析技術として選択した。ここでは演者が担当した土壌分析の様子を中心に報告する。

【方法】研修は3種のサンプルごとに担当を決め、講義で各サンプルにおけるpHの意義を説明した。参加者はガラス電極pHメーターのキャリブレーションを体験し、事前の測定サンプル希望にしたがい実習を行ってもらった。(1)試料サンプルは各施設から土壌・水・動物の3種を提供していただいた。土壌サンプルとして畑地・水田・林地・不耕地・牧草地の土壌を用いた。土壌の水分相当量を見積もるために事前に前処理として乾燥を行った。(2)測定機器は堀場製作所ガラス電極pHメーターを使用した。また、簡便な試験紙を併用し簡単に現場で利用できる方法についても紹介した。さらに今後の活動に役立てるためアンケート調査をした。

【結果】土壌分析では5種10地点のサンプルについてpH測定をした。ガラス電極法と簡易法で測定値に大きな差がなく簡易法でも十分役に立つことが理解された。ガラス電極法はキャリブレーションに手間取り、実技時間が減ってしまった。また、データ記録の際に不手際があり、全数値を記録することに不備ができ、3点のサンプルについてデータの一部が失われた。

【考察】土壌分析ではサンプル数が多すぎて実技研修での統制がとれなくなりデータを失うという結果を招いた。これは、一つの共有記録票に記してもらえば防げたと思われる。種類を絞るなどしてサンプルの数を減らしておくべきと思われた。

当日参加者数16名。pH測定の未経験者は内2名でほぼ経験者で占められていた。アンケート結果から「使い方を思い出せてよかった」など参加者からの感想はおおむね好評であった。別途参加できなかった方からの要望もあったことと、内容を拡充するためにも次年度に同じテーマで研修を行うことになった。

ポスター発表

P1

3D プリンターによる実験機器の製作例

生理学研究所 技術課 佐治 俊幸

生理学研究所 機器研究試作室では、樹脂を加工して多くの実験機器を作成してきた。この加工の多くは、切削加工であり、産業界で主流の射出成形による加工は行うことは無かった。これは、射出成形に必要な装置や金型に費用がかかり、多品種少量生産が主である実験装置の分野ではメリットが無かったためである。しかし、3D プリンターの登場により、樹脂加工を切削以外の方法で行える道が開けた。

機器研究試作室には、2種類の3Dプリンターが導入されており、試作した実験装置を紹介すると共に、2種類の3Dプリンターの比較と生物学・医学生理学実験への利用方法を考察する。

【使用機器】

- ・粉末固着積層方式 ZPrinter450 3D Systems(USA)
- ・熱溶解積層方式 SC00V0 C170 (株)オープンキューブ

P2

海外研修報告

生理学研究所 技術課 山田 元

【目的】昨年2月末の2週間アメリカフロリダ州ジュピターにあるMax Planck研究所の電子顕微鏡室に研修に行かせて頂いた。研修の目的は研究室の運営方法を学ぶ事と、凍結切断装置を用いた電子顕微鏡室サンプルの作成方法を学ぶ事である。

【結果・考察】2週間にわたり目的の運営方法に関する説明や技術指導を行って頂いた。またそれだけでなく、非常に多くの企業の担当者による技術プレゼンの場や他研究室への電子顕微鏡技術の説明のためのセミナーにも参加させて頂いた。

本研究所の電子顕微鏡室においては電子顕微鏡室内にある機器の維持管理、使用法の説明といった業務がメインであるが、訪問したMax Planck研究所においてはそれだけに留まらず電子顕微鏡試料の作成から電子顕微鏡での観察とそのデータの解析までを行い、依頼した研究者にフィードバックする体制が出来上がっていた。このような体制は今後本研究所の電子顕微鏡室においても必要なことだと感じた。

また、違う文化、言語の中で生活し、研究を行うという事がどれほど困難なことかを実感できた。この研修で学ばせて頂いた多くのことを今後の業務に活かしてゆきたい。

理科第2分野モデル授業プログラムの提案

生理学研究所 技術課 永田 治, 戸川 森雄, 佐治 俊幸

アウトリーチ活動は研究系広報業務においても重要なツールである。

その中で、技術課の役割であるアウトリーチによる科学知識啓発としては、出前授業や職場体験が主なものであるが、その前提として、研究所の先端的な研究成果の情報発信、すなわち研究活動成果の一般への周知活動を織り込んで行うことが重要である。また、同時に教員サイドの要望に沿った、具体的な実験を含めた体験授業のプログラム構築も不可欠である。

本報告では、医学生理学分野における実験を核としたモデル授業プログラムの構築例として、2014 年度に開催した「刈谷高校 S S H 事業 中高連携理科実験講習会」を紹介し、開発提供した理科教材を含めて、その概要を報告する。結果として、実際の教科書による授業内容に沿ったプログラムにおいて、研究所における研究活動の情報が発信できたと考えている。

カラー変化を伴う実験データ収集装置の開発

徳島大学 大学院 STS 研究部 総合技術センター 石田 富士雄
大学院 HBS 研究部 総合研究支援センター 庄野 正行

【目的】顕微鏡実験などカラー変化を伴う実験では、通常はビデオやスチルカメラで動画または静止画像にして視覚化する。しかし、時間とともに変化するカラーデータが必要な場合もある。カラーデータを使うと変化の度合いをグラフに表わすことができる。これも一つの視覚化である。そのカラーデータをモニタ画面から容易に収集する装置を開発した。

【方法】装置は、センサとマイコンおよび無線通信装置からなる。センサは赤色／緑色／青色／赤外線を感知するカラーセンサを使用する。カラーデータの読み取り方法は、マイコンとカラーセンサを I2C で接続し、マイコンよりアドレスを指定してデータを読み出す。読み出したデータは、マイコンのシリアル通信機能と ZBee 無線を使い、パソコンへデータを送出する。パソコンでは、カラーの再構成表示と、時間を付加したデータ保存を行う。

【結果】マイコンによるデータ収集と、無線によりパソコンへデータ送信することを実現した。また、約 30f/秒のカラー表示とそのデータをファイルに保存することができた。

【考察】今後の課題は、感度調整およびフィルタ導入などの機能向上を図ることである。

P5

生体信号を用いたロボット制御

東北大学 工学研究科・工学部 電子情報システム・応物系学生実験室 横山 梨香

【目的】本学科は、文部科学省「理数学生育成支援事業」の一環でロボティクスコースという講座を開講している。この講座では、National Instruments 社の LabVIEW というグラフィカル言語を用いて Robotics Kit というロボットの制御を行っている。今回は、Robotics Kit の紹介及び Robotics Kit 身体障害者支援システムの応用例を報告する。

【方法】まず、学生がロボット制御に取り掛かりやすいように Robotics Kit を用いた障害物回避プログラムを作成する。使用したセンサは超音波センサである。このセンサを用いて障害物の回避が成功した学生は、次に生体信号を用いたロボット制御プログラムの作成を行う。対象とする生体信号は筋電を用いるため 1000 倍の増幅器製作を行い、パターン認識させるために 4 チャンネルの増幅器を使用した。

【結果と考察】超音波センサを用いたプログラム作成に関しては学生にとっても取り掛かりやすい課題となっており、プログラムも簡単に作成することができた。しかし、生体信号による制御法では、筋の動かし方によるパターン認識が困難であった。今後の課題として、チャンネル数を増やしてパターン分けが簡易にできるような制御方法を考えたい。

P6

マウス用光刺激装置の改良

生理学研究所 技術課 佐藤 茂基

【目的】大脳皮質からの神経情報が、どのように伝達されるのかを調べるため、大脳皮質の任意の部位を刺激し、大脳基底核で神経活動を記録している。そのため、光刺激で興奮するようなチャンネルロドプシンを大脳皮質に発現した遺伝子改変マウスを用い、大脳皮質表面を光刺激することにした。任意の形状で多点も含む任意の場所を刺激する必要があり、多点独立光刺激装置（アスカカンパニー、MILSS ミルス）を導入し、実験に合うよう改良したので報告する。

【課題】装置を使用してみると次の課題が見つかった。①刺激光は鉛直方向の照射で、脳表面に垂直に当たるとは限らない。②PC画面をプロジェクターで投射するため、時間遅れ・ばらつきが生じる③プロジェクターが DLP 方式であるため、照射中の光が明滅し、光強度もやや不足であった。

【結果】各課題に対し次の対応を行った。① α β 軸傾斜ステージ台を製作した。②光路に電磁シャッターを取り付けた。③プロジェクターを更新した。その結果、実験を行う上での問題は解決し実験を行っている。

P7

超高感度カメラによるゲンジボタルの 発光同期パターンの解析

徳島大学大学院 ソシオテクノサイエンス研究部 総合技術センター 辻 明典

【目的】 ホタルの集団同時明滅、心筋細胞の拍動や神経細胞の周期発火を始め、生物の持つリズムには同期現象が見られる。本研究は、ゲンジボタルの発光同期パターンの解析によって得られた知見からホタルの電子回路モデル・数理モデルの構築を目的とする。

【方法】 ゲンジボタルの発光は 0.1 lux 以下と非常に微弱である上、温度や湿度等の環境変化に対して敏感である。本研究では、自然な状態でホタルの発光リズムを記録するため、屋外の生息域周辺において工業用超高感度カメラを用いて補助光なしの条件下で撮影を行った。さらに、撮影した映像をフレームに分解しホタルの発光器周辺の画像解析を行うことによって、ホタルの発光強度を時系列データとして自動抽出するソフトウェアを開発した。

【結果】 休止中のホタル 1 個体（雄、雌）の自然周期、ホタル 2 個体（雄-雄、雄-雌）の相互同期、飛翔中のホタル複数個体の集団同期の撮影を行い発光同期パターンの解析を行った。その結果、ホタルの自律的な発光の状態から外部の光刺激によって同期現象が発現する過程をより詳細に捉えることを可能とした。

P8

バーコードリーダーを使用した鉢管理で、 花ハスの開花調査をする。

東京大学大学院 農学生命科学研究科 附属生態調和農学機構
工藤 新司，石川 祐聖，山田 徳美

【目的】 本機構の花ハス見本園では、300 品種の花ハス遺伝資源を保存している。品種ごとの開花日の調査対象は 1,000 鉢あり、従来野帳に記入する手作業の開花調査では著しく時間を要する。開花は早朝で午前中に花は閉じるため、調査には速度が要求される。調査時間の短縮および、データ収集後のパソコンへの取込みを効率化する必要があった。

【方法】 すでにデータベース化されているハスの品種情報（導入元・産出地・花色等）および個体番号をバーコード化し、各鉢に貼り付け、一鉢ごと管理できるようにした。開花調査はバーコードリーダーで鉢を特定し、開花状況を入力した。花ハスの開花時期は 6 月上旬～10 月中旬である。開花時期は休日を除き毎朝調査した。花は 4 日間咲いて散るため、開花何日目かは花卉の角度や褪色具合で判断した。

【結果】 開花データを迅速に収集できるようになり、調査時間が手作業に比べ 2 分の 1 から 3 分の 1 の時間ですむようになった。パソコンへのデータの取込みも省力化された。

fMRI データ解析用 PC の高速化に関する検討

生理学研究所 技術課 伊藤 嘉邦

【目的】最新の fMRI 計測ではマルチバンド撮像法が考案され、高空間・高時間分解能化、撮像時間の短縮、統計的検出力の向上等、性能が飛躍的に向上した。これに伴い、一つの実験で得られるデータ量も飛躍的に増大したため、fMRI データ解析に使用する PC の高速化は従来以上に急務となっている。

この fMRI データ解析処理の高速化には、CPU と記憶装置全般の高速化が重要である。しかし、2008 年に Intel 社から Core i7 が発売されてからは、CPU の高速化はゆっくりとしか進んでいない。また、記憶装置に関しては SSD の登場でシステムの高速化は進んだが、fMRI のような大容量データを扱うには未だに HDD が主流であり高速化はゆっくりとしか進んでいない。

【結果】現在使えるデータ処理の高速化技術に関して調査・検討を行ったところ、大容量・高速化が進む PC のメインメモリを使用するキャッシュディスクの利用が有望であるという結論に達したので報告する。

PC 用ファイルサーバの構築

基礎生物学研究所 技術課 西出 浩世

【目的】基礎生物学研究所では、パーソナルコンピュータ(PC)用ファイルサーバを長年運用していたが、ハードディスクの大容量化に伴い 2009 年に一旦役目を終えていた。近年、シーケンスデータや画像データは急速に増大しており、データストアとしての利用に加えて、PC 間でのデータ移動手段の一つとして需要が高まったため、新規に PC 用ファイルサーバを構築し運用を再開した。

【方法】ファイルサーバのソフトウェアはフリーの Samba を利用した。前のファイルサーバでは Windows 用と Mac 用とで別のソフトを用意する必要があったが、現在の Mac OS は Windows ネットワークのプロトコルである SMB を使うことができるため、Samba のみで事足りる。ディスクには個人専用のフォルダ全員分と部門内で共通に利用できるフォルダを用意した。ユーザ管理では、メールアカウント等を管理している LDAP から Samba が既存アカウント情報を利用できないかを検討した。

【結果】2014 年 4 月より運用を開始している。ディスクの設定やユーザ管理の方法、構築および運用上の問題点などをポスターで紹介する。

P11

暗号強度を高めたパスワード管理ツールの開発

生理学研究所 技術課 村田 安永

【目的】岡崎3機関のサイバーセキュリティ対策で長いパスワードやパスフレーズの入力が求められるようになり業務効率が低下した。この回避策としてパスワード管理ツールの利用を検討してみたが、暗号強度の面で安心して利用できるものが見つからなかった。そこで、暗号強度を高めたパスワード管理ツールを開発することにした。

【方法・結果】オープンソースのパスワード管理ツールとしては、KeePass が有名であるが、このツールが採用している暗号アルゴリズムなどは古くなってきている。現在開発中のツールでは、AES-256 と Camellia-256 の2つの暗号アルゴリズムをランダムに決定してCTRモードで暗号化するようにした。また、鍵導出関数はPBKDF2 準拠とし、その擬似乱数生成関数には HMAC-SHA3-512 を採用した。さらに、複数の鍵を内部生成することで、暗号化を何重にも行えるようにし、暗号強度を大幅に高めた。なお、開発言語は C/C++、ユーザーインターフェース部分は Qt ツールキットを採用した。

【考察】開発中のツールは KeePass のように高機能化せず、シンプルでわかりやすいものとし、Windows 版と Mac 版を今年度中に公開する予定である。

P12

最新植物系統進化学 web 版教科書の更新作業効率化

基礎生物学研究所 技術課 壁谷 幸子

【目的】私は系統進化学の研究室に所属し、分子系統学の研究を支援している。近年、植物の分子系統学の研究が飛躍的に進展し植物の分類が大きく変わった。私は、それを解説する日本語の web 版教科書 (http://www.nibb.ac.jp/evodevo/tree_00index) を2年前より構築している。しかし、手作業の更新作業は時間を要し、内容の更新に遅延が生じている。そこで、更新作業の効率化を検討したので報告する。

【方法】(1) web 版教科書内容の基盤となっている所属教授の講義資料 (PowerPoint 形式) を Excel 形式にまとめ、整理した。(2) 整理した内容を比較的広く使用されているリレーショナルデータベース管理システムの一つである MySQL に格納し、ブラウザ越しに MySQL ヘデータを入力することができるツールである phpMyAdmin を介して入力する環境を整えた。(3) 最後に、Excel の内容を phpMyAdmin 上で動作する入力フォームに記入し、html ファイルを自動作成する半自動更新システムを構築した。

【結果および考察】上記の方法を採用することで、web 版教科書の更新作業時間を大幅に短縮することができた。今後はこの方法を利用し web 版教科書内容の拡充に努めたい。

P13

創薬における化合物ライブラリーシステムの構築

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 北池 秀次

【目的】近年の高齢化社会に伴い、国民の健康を守る新規医薬品の創製が益々重要となってきた。大学・大学院教育研究機関においては、最先端基礎研究により得られた革新的な創薬や、その技術を医薬品に結び付ける創薬プロセスの実現が期待されている。そこで、異領域分野の融合による化合物を通じた共同連携を行うため、研究体制に特化した化合物ライブラリーシステムを構築した。

【方法】化合物ライブラリーシステムは、ChemBioFinder と専用サーバーで構成する。検索画面は、ソース言語 CAL (ChemFinder Automation Language) を用いて作成した。

【結果】検索条件に構造式の描画や分子式を入力し、実行した結果、関連する化合物を容易に見つけることができた。今回、検索機能の一部の使用で留まっているが、必要であれば様々な機能を利用できることが分かった。

【考察】本システムは、有機合成、生物、免疫学などの異領域分野の研究者が情報を共有しながら、プロジェクトを共同で行う利用に適している。研究室が保有する化合物が、ライブラリー化によって医薬品につながる重要な巡り合わせを導く可能性に期待したい。

P14

分析室ホームページのリニューアル

基礎生物学研究所 技術課 尾納 隆大

【目的】基礎生物学研究所の生物機能情報分析室は遺伝子・タンパク質解析の共同研究拠点として、分析機器の管理運用を行なっている。現在のホームページは更新に手間がかかる等の問題点があった。そこで更新を簡単にすること、分析機器のオンライン予約システムを確立すること等を目的にホームページをリニューアルすることとなった。

【方法】ホームページのリニューアルにはオープンソースの CMS である WordPress を使用した。無償であること、利用者・関連書籍が多いこと、複数人での管理が簡単なこと、専門的知識がなくてもある程度扱えることといった点に注目し、このツールを選んだ。

【結果】およそ3ヶ月の作成期間で公開するのに十分なものが完成した。

【考察】サーバーの環境により使用できるバージョン等は限られてくるが、目的に沿ったホームページを作成することができた。今後は管理者として HTML、CSS、PHP 等を勉強する。また全国で行われている WordPress 及びその他の CMS の勉強会に参加する。分析室利用者の研究成果を発表する場としても活用していく。

【参考文献・資料】高橋のり (2014) 『基礎からの WordPress』SB クリエイティブ。

P15

肝毒性を評価する際に生じた測定誤差に関する検討

島根大学附属病院 薬剤部 代謝生化学 中村 健志

【目的】薬物の投与量は腎機能に応じ調節されるが、肝機能は代替性が大きく、臨床上考慮されることは多くない。しかし、化学療法による B 型肝炎ウイルスの再活性化や劇症化など肝機能の悪化に伴うものは重篤になることが多い。よって、肝毒性や肝保護に関する研究は臨床上切り離せない。吸光スペクトルを用いて細胞毒性や生存率を評価する方法では、実験を行う過程で大きな測定誤差が確認できた。

【方法】ヒト肝癌由来細胞株 (HepG2) を用いてアセトアミノフェン (APAP) による肝毒性を評価するために、Water Soluble Tetrazolium Salts (WST-1) を用いた。APAP の溶解には加温した生理食塩水が多く用いられているが、必要濃度を確保する事が出来なかった為、ジメチルスルホキシド (DMSO) を用いた。

【結果・考察】測定誤差は回数を重ねる毎に減少する傾向にあった。古い測定機器を使用していたので新しいものに変更すると誤差はほぼなくなった。この誤差は測定機器によるものだけであるのか検討するため、種々の要因 (96 マイクロプレートへの添加量、FCS 濃度など) で検討したので報告する。

P16

抗原賦活法の検討 -切り置き切片の陰性化-

富山大学 医薬系技術部 病理診断学 八田 秀樹

免疫染色の偽陰性化は、未染標本を長時間放置した際に生じる抗原の修飾や変性が原因の一つとして知られている。しかしながら、未染標本の経年変化に対する効果的な手法は未だに確立されていない。そこで我々は、免疫染色結果の偽陰性化に対する普遍的かつ効果的な抗原性賦活法について検討した。

未染標本は切り置き放置によって、空気酸化や湿度の影響を受けて核内抗原や膜タンパクの抗原性が失われると考えられている。こう云った抗原性の減弱にはホウ酸を用いた緩衝剤が有効との報告もあるが、一方で背景も増強されやすく非特異反応が起こりやすいと云う欠点も指摘されている。最近では、DNA および RNA の電気泳動で用いる泳動緩衝液として、トリス塩ベースのホウ砂添加 EDTA 緩衝液の高い分離能力が注目されている。そこで、ホルマリン固定に対する抗原性賦活剤として頻用されているクエン酸緩衝液、Tris-EDTA 緩衝液、イムノセイバー、に対して、通常ホウ酸緩衝液の他、種々のホウ酸添加の特殊な緩衝液を作製して実施に加熱処理を施した。抗原性回復具合を比較検討した結果、切り置き放置により偽陰性化した未染標本に対する有効性が確認されたので、染色像と合わせて報告する。

P17

マウス皮膚表皮中のランゲルハンス細胞分離法の検討

高知大学 総合研究センター 実験実習機器施設 片岡 佐誉

【目的】当施設で行っている研究支援業務のひとつとして、網羅的な遺伝子発現解析を行うことを目的としたマウス皮膚、表皮細胞中のランゲルハンス細胞分離法の検討を行った。

【方法】マウスの耳よりディスペーゼを用いて表皮と真皮を分け、表皮をトリプシン-EDTA 中で振とうして単細胞化した。この表皮細胞からセルソーティング、磁気ビーズ法、あるいはパーコール不連続密度勾配遠心法と組み合わせて目的細胞を分離した。

【結果】セルソーティング単独では高純度に目的細胞を回収できたが、回収に長時間を要した。磁気ビーズ法単独では純度が低かった。パーコール不連続密度勾配遠心法による予備濃縮後、セルソーティングにより、比較的短時間で高純度の目的細胞の単離ができた。

【考察】分離する目的細胞が表皮細胞中の2～4パーセントと少ないため、パーコール不連続密度勾配遠心法により予備濃縮が重要であることが分かった。ランゲルハンス細胞は皮膚に存在する樹状細胞であり、付着性が強い。そのため、使用するチューブ類はすべて10% BSA でコーティングする必要がある。今後、単離した細胞からトータル RNA を抽出してバイオアナライザーにより RNA の純度を確認する予定である。

P18

マウス肝炎ウイルス感染が疑われた事例の顛末

岩手医科大学 医歯薬総合研究所 動物研究センター 安野 航

【目的】市販の ELISA キットによるマウスの血清検査を実施した結果、複数の検体でマウス肝炎ウイルス (MHV) 陽性となった。しかし、同居マウスの剖検や免疫不全マウスの外見からは異常を認めなかった。そこで独自に確認検査を行った。

【方法】ELISA にはモニライザ IVA (わかもと製薬) を使用した。確認検査は間接蛍光抗体法 (IFA) と糞便抽出 RNA を被検体とする独自開発の RT-LAMP 法により行った。

【結果】IFA では MHV 擬陽性血清は MHV-S 感染 DBT 細胞核が非特異的に染色されるのみであった。また、RT-LAMP 法による検査結果はすべて陰性であった。そのため、ELISA の結果は偽陽性と判定した。

【考察】感染履歴を確認できる血清学的検査 (ELISA と IFA) とウイルスの存在を直接証明する RT-LAMP 法による自家検査は、従来の ELISA のみの自家検査に比べて MHV のモニタリング精度を飛躍的に向上すると考える。

P19

側頭葉てんかんの原因タンパク質 LGI1 の 変異マウスを用いた解析

生理学研究所 技術課 高橋 直樹

【目的】 てんかんは神経細胞及び神経回路の異常興奮により誘起されると考えられているが、その病態は不明な点も多い。これまでに LGI1/ADAM22 からなるリガンド・受容体結合が破壊されると、てんかんが誘起されることを見出した。今回は LGI1 の生理機能及びてんかん発症のメカニズムを解明するため、遺伝子改変マウスの性状解析を行った。

【方法】1) タンパク質構造の形成等に関わる低分子化合物であるケミカルシャペロン(4PBA)の有用性を確認するために、E383A 変異体マウスに毎日腹腔投与した。その後、生後 21 日以降のマウスに対して約 12 時間ビデオ撮影し、生理食塩水を投与した場合と比較した。2) LGI1 欠損マウスでのてんかん発症に関わる責任神経回路を明らかにするため、海馬神経細胞種特異的に LGI1 を発現する Tg マウス 4 系統 (ホモ・ヘテロ) を網羅的に掛け合わせた。

【結果・考察】 4PBA によって LGI1 変異体マウスでのてんかん感受性が改善した。抑制性神経細胞 (VGAT) の遺伝子型がホモの場合に、マウスの寿命が飛躍的に延びたことから、抑制性神経細胞による各回路の抑制に LGI1 が機能することが示された。

P20

CRISPR/Cas9 システムを用いた遺伝子改変マウスの作製

生理学研究所 技術課 三寶 誠

【目的】 CRISPR(Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)とは、原核生物に見られる数十塩基対の短い繰り返しを含む配列であり、外部から侵入したウイルスの DNA やプラスミド DNA などの核酸に対する一種の獲得免疫機構として機能する。この機能を利用した CRISPR/Cas9 システムを用いて、受精卵への RNA 注入による変異マウスの作製が可能になった。今回、CRISPR/Cas9 システムを用いた遺伝子改変マウスの作製を試みた。

【方法】 前核期受精卵の前核にマイクロインジェクション法を用いて Cas9mRNA と gRNA を注入し、得られた産仔を解析して変異、欠失などの有無を確認する。

【結果】 RNA を注入した 1689 個の 2 細胞期胚を移植して 200 匹の産仔が得られた。生き残った 76 匹を解析し、33 匹で変異、あるいは欠失が確認できた。残りの 43 匹中、WT が 36 匹、不明が 7 匹であった。

【考察】 今回の結果を元に、凍結精子による IVF から得られた遺伝子組換えマウスの受精卵を用いて標的遺伝子への更なる変異の導入を試みている。

P21

渚に生息するハマトビムシ *Talitrus saltator* の複眼の構造と 視物質発色団

浜松医科大学 医学部 総合人間科学講座 外山 美奈

【目的】地中海の渚に生息するハマトビムシ *Talitrus saltator* は、甲殻類端脚目（ヨコエビ類）に属し、太陽光を使ったオリエンテーションをすることが知られているが、その研究の多くは行動学的解析が中心で、視覚に関する研究はあまり進んでいない。そこで本研究では、複眼の形態学的解析と視物質発色団の生化学的解析により、複眼の構造と機能を明らかにする。

【方法】地中海性ハマトビムシ *T. saltator* はフィレンツェ大学との共同研究により提供された材料を浜松医大で継代培養して用いた。複眼の構造は、走査顕微鏡および透過電子顕微鏡で観察した。視物質発色団は高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により解析した。

【結果】複眼の構造は連立像眼であり、個眼は5個の感桿により構成されていた。また視物質発色団として retinal(A1)と 3-hydroxyretinal(A3)の2種類をもつことが示された。

【考察】本研究により、*T. saltator* は A3 をもつことが甲殻類において初めて示された。

P22

シアノクロokusにおける多花栽培条件の検討

名古屋大学 全学技術センター（情文） 吉野 奈津子

【目的】シアノクロokus *Tecophilaea cyanocrocus* Leyb. は花卉の色素の研究のため栽培を行っているが、球根の形が通常よりも長細くなる（長形球）と花が着きにくくなる。花を得るには正常な球根の形を保つことが必要で、そのための栽培条件を検討した。

【方法】正常球と長形球をそれぞれ①球根の植え付け深さ（深・浅）、灌水量（多・少）を組み合わせた栽培区、②深植えにし、施肥量（少・中・多）の栽培区で栽培を行い、花数、球根掘り上げ時の球根形を比較した。

【結果】深植区では灌水量に関らず長形球が正常球に戻る傾向にあるが、浅植区では長形球のものは長形のままで、正常球でも長形球に変化する傾向があった。また施肥量少区では他区に比べ長形球が多くなった。また処理に関らず長形球では花数が少なかった。

【考察】深植えすることで球根の形をある程度コントロールすることが可能である。また施肥量も球根の生育に影響を及ぼすことが分かった。

秋田大型ウサギの SPF 化

秋田大学 バイオサイエンス教育・研究センター動物実験部門 福田 康義

【目的】秋田県では日本唯一の大型ウサギが飼育されている。我々は、貴重な遺伝資源であるこの大型ウサギを、イヌ等の代替となる実験動物にする事を試みている。しかし、この大型ウサギの多くは呼吸器感染症の病原体を保有しているため、実験動物としての使用が困難である。そのため、微生物学的統御を目的に SPF 化した。

【方法】大型ウサギの雌雄を交配後、受精卵を採取し、雌日本白色種 (KBL) の卵管に移植した。また、大型ウサギの精子を採取後、SPF 大型ウサギ (JW-AKT) の雌に人工授精した。

【結果】JW-AKT の体重は、8 週齢以降に雌雄ともに KBL を上回り、36 週齢で JW-AKT の雄は $5,230 \pm 186\text{g}$ 、雌は $6,609 \pm 408\text{g}$ と KBL の雄 $3,418 \pm 302\text{g}$ 、雌 $4,124 \pm 339\text{g}$ に比べ有意に大きかった。

【考察】今後、JW-AKT が整形外科領域や血管外科領域の実験等に有用なことを確認する為に外部研究機関との協力を考えている。また、この大型ウサギは年々減少しており、今では近交退化の傾向も見えているため、国外からの新たな大型種の導入による維持・改良も考慮している。

奇形メダカの微細形態学的観察

- X線マイクロCTおよび全身組織切片を用いて -

¹北里大学医学部解剖学, ²北里大学医学部整形外科学,
³東京大学大学院新領域創成科学研究科先端生命科学専攻
 西槇 俊之¹⁾, 勝村 啓史¹⁾, 内田 健太郎²⁾, 尾田 正二³⁾, 高相 晶士²⁾, 太田 博樹¹⁾

【目的】X線マイクロCT (*microfocus X-ray computed tomography*) は、硬組織微細形態を非破壊的に2次元・3次元像として観察できる有用なデバイスである。今回われわれは、極端な尾曲がりの奇形メダカについて、X線マイクロCTと縦断面によるパラフィン全身組織切片から、全身骨格および組織の微細形態を観察した。

【方法】健全および奇形メダカは、系統維持している和歌山県(田辺)産の4カ月令雄の各1匹ずつ使用した。ホルマリン固定後、X線マイクロCTを用いて撮影し、その後は脱灰処理を施した Davidson 液で再固定し、常法によるパラフィン全身組織切片を作製した。作製した切片は HE 染色やアルシアン青・PAS 染色を施し、光学顕微鏡下で観察した。

【結果および考察】X線マイクロCTの撮影により耳石、脊椎骨など石灰化が顕著に起こっている部分はコントラストが高く、その詳細な立体構造の画像化に成功した。奇形メダカでは脊椎骨が不規則な形状を成しており、特に第7脊椎骨付近には、極度な変形が認められた。この変形はパラフィン全身組織切片からも容易に確認できた。

P25

長期培養観察システムの検討

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 総合研究支援センター 庄野 正行

【目的】庄野式培養チャンバーを用いて組織および培養細胞を顕微鏡下で長期に培養をしながら観察ができるためのシステムを検討した。

【方法】培養細胞はPC12培養、組織はラット大腸をメスで約2.0mmにスライスして使用した。庄野式培養チャンバーには、絹布（妖精の羽）を装着させたものや、テフロンワッシャを入れ蒸気滅菌処理を行い使用した。培養液（DMEM）は、制御タイマーで6時間に1回の設定でペリスタルポンプを可動させ、培養液を交換させた。観察は毎日ニコン倒立蛍光顕微鏡で観察し撮影を行なった。

【結果】培養細胞 PC12細胞と組織はラット大腸スライス（約2.0mm）を用いた結果、PC12細胞は約4ヶ月間培養に成功した。またラット大腸は絹布（妖精の羽）で上から適当な力で押さえていたため、緩衝液（PBS）を灌流させても動くことなく観察と撮影に成功した。

P26

生理学研究所 脳機能計測・支援センター 多光子顕微鏡室、 2光子蛍光寿命イメージング顕微鏡の紹介

生理学研究所 技術課 前橋 寛

多光子顕微鏡室には、2011年7月から新しく村越 秀治准教授が赴任し2光子蛍光寿命顕微鏡（2pFILM、two photon Fluorescent Life time Imaging Macroscopy）が新たに構築された。これによって、生きた細胞内で起こるシグナル伝達や分子間相互作用をイメージングでき、新規蛍光タンパク質や光制御可能なタンパク質分子等の開発も行っている。

最初、顕微鏡は1台だけであったが、現在では2台の顕微鏡で波長が同じであれば、2台同時に実験ができる。この自作2pFILMは2台のチタンサファイアパルスレーザー（フェムト秒、80MHz）を配置しイメージングと光刺激を同時に行うことができ、蛍光寿命の測定は時間相関単一光子計数法（TCSPC）によるPCボードで計測する。パルスレーザーの入力光をフォトダイオードで検出し、光電子増倍管で蛍光の光子をフォトンカウンティングモードでフォトンを検出しその差をヒストグラムにして蛍光寿命を測定し画像化する。HeLa細胞を用いてこの顕微鏡にて評価することにより光応答性 CaMKII 分子を効率よく開発することができた。

P27

ショウジョウバエ神経筋接合部の電子顕微鏡試料作製法

国立遺伝学研究所 技術課 大石 あかね

【目的】ショウジョウバエ幼虫体壁筋の神経筋接合部位は、ニューロンの配線パターンやシナプスの形態を容易に観察できる。この部位を Synaptic marker で抗体染色を行い、共焦点顕微鏡で観察したときに表現型がみられた系統を、さらに詳しく調べるため、透過型電子顕微鏡での観察を行うことにした。

【方法】3 齢幼虫を解剖し、幼虫の開きを作製した。開きは固定、脱水後、樹脂に包埋した。その際、サンプルが非常に薄くて小さいため、平板包埋法で行うことにし、スペーサーとして、口の字型に切ったろ紙を用いた。包埋した試料は、ウルトラミクロトームで薄切りして面出しを行い、目的の筋肉の部位にシナプスブートンが見えたところで超薄切片を作製した。切片を電子染色し、透過型電子顕微鏡で観察した。

【結果】平板包埋法にしたことで、サンプルが丸まったり、斜めに浮いたりせずに包埋できた。また、平板の写真を撮っておいたので、面出しの途中で、どこまで切り進んだかを確認できたのが良い点であった。電子顕微鏡での観察では、シナプス終末において、シナプス小胞やTバーなどの微細構造が観察された。

P28

ゼロロス像による電子線トモグラフィー

北海道大学 農学研究院 伊藤 利章

【目的】細胞内微細構造を三次元的に理解する手法として、電子線トモグラフィーがある。最近当施設にトモグラフィー機能を備えた 300kV TEM が設置された。また、エネルギーフィルター機能を有し、色収差の無い鮮明な画像（ゼロロス像）が取得できる。この装置を用い、通常像とゼロロス像によるトモグラフィー画像評価を試みたので報告する。

【方法】高圧凍結したシロイヌナズナの根端部を常法によって試料作製した。厚さ 250nm 切片の同一視野を、通常像とゼロロス像によるトモグラフィー解析を試みた。次に色収差の影響をうけやすい、厚さ 700nm 切片を用いて同様の解析を行った。

【結果】250nm 切片では像質の違いはほとんどなかったが、700nm 切片では明らかにゼロロス像によるトモグラフィー解析画像が鮮明であった。

【考察】ゼロロス像によるトモグラフィーは厚い切片に有効であることが確認された。が、厚さ 1 μ m の切片では、高傾斜時ほとんどシグナルが得られないとの報告がある (Aoyama et al. 2008)。よって、概ね 250-700nm の切片に適用するのが妥当と考えられる。

P29

汎用型 SEM 装置を利用した生体・生物サンプルの観察

名古屋大学 全学技術センター工学系技術支援室 高田 昇治, 高井 章治, 永田 陽子
日影 達夫, 西村 真弓, 山本 悠太, 林 育生, 神野 貴昭, 樋口 公孝, 都築 賢太郎

【背景・目的】汎用の走査型電子顕微鏡装置 (SEM) を用いた生体・生物サンプルの観察を目的として、窒化シリコン膜を用いた簡易型カプセルの作製を行っている。今回、O リングを用いた簡便な真空封じ方法を採用し、その有効性を検証したので報告する。更に、サンプルに重合膜を塗布して直接観察する方法も試みたので報告する。近年、生体・生物関連の研究が多分野で報告されており、本取り組みは、今後どのようなサンプルがどのようにして SEM で観察できるのかを見極めるためには、重要な基礎データになると考えている。

【方法】フッ素ゴムの O リングを用いて簡易型試料カプセルを製作し、膜厚 100 nm の窒化シリコン膜 (膜の有効サイズ: 0.5×0.5 mm) を透して、3~5 μm のサイズを有する金微粒子や生物等を観察して、その有効性を SEM 像および反射電子像より評価した。また、Tween20 を塗布した後、大気圧プラズマで処理した試料を直接的に観察することも実施した。

【結果・考察】試料カプセルは、SEM 観察用として機能を満たしていることを確認したが、今後どのような試料の観察に有効なのかを検証する必要があることがわかった。

P30

顕微鏡観察時における蛍光タンパク質の pH による特性変化

東海大学 伊勢原研究推進部 生命科学統合支援センター 岡田 千沙

【目的】近年、遺伝子および顕微鏡観察技術の発展により、種々の生物から様々な蛍光タンパク質が同定されており、それらは免疫細胞・組織化学的解析にも多く用いられている。これらの蛍光タンパク質の多くは、pH によりその特性が変化する為、実験操作時は目的に合わせて条件を選択する必要がある。そこで今回は、各蛍光タンパク質において、pH による蛍光特性の変化を顕微鏡観察下で比較することにした。【方法】各蛍光タンパク質を発現する HeLa 細胞をホルマリン、PFA (pH 4.0~9.0) を用いて固定した後、あるいは PFA (pH 7.4) で固定し各 pH 緩衝液に置換した後、蛍光顕微鏡、共焦点レーザー顕微鏡およびハイコンテントアナリシスを用いて観察した。尚、本研究で用いた蛍光タンパク質は EGFP, mOrange, tdTomato, citrine, mCFP, mCherry および pH 感受性 mKeimaRed とした。【結果・考察】各 pH により蛍光特性の変化が観察された。さらに PFA 固定後においても、各 pH 緩衝液による差が認められた。蛍光タンパク質間での違いも検出されたことから、今後の技術支援のための資料となる様、解析を進めている。

P31

炭素薄膜位相板作製におけるクリーン化の検討

生理学研究所 技術課 小原 正裕

【目的】炭素薄膜位相板を使用した位相差電子顕微鏡観察において、位相板が帯電すると像がぼけて十分な解像度が得られないだけでなく、正常な標本の形状が観察できないなどの問題が生じる。この原因のひとつとして炭素薄膜(以下コア膜)に付着したゴミの影響によることがわかっており、このゴミの付着は製造工程中のコア膜転写時に発生すると考えられる。今回は、転写時におけるゴミの付着が出来るだけ少なくなるような転写方法を試みたので、その方法について報告する。

【方法】これまでの転写方法は、水面剥離したコア膜をループで掬い取り、濾紙上に置いたグリッドにそっと載せるといった方法で行っていたが、濾紙から剥がれ出たゴミの付着を避けるために、濾紙の上にステンレス網を重ね、そこに置いたグリッドに転写するという方法で行った。

【結果】今回の転写方法で作製した位相板は、これまでの作製方法の位相板と比べ性能面での遜色はなく、寧ろゴミがより少なくなった影響により帯電までの撮影枚数が伸びたという結果が得られた。今後はこの方法で作製した位相板の再現性を確認していきたい。

P32

RAD-Seq の紹介・手法検証および解析系の検討

基礎生物学研究所 技術課 山口 勝司

【目的】次世代 DNA シーケンサーの普及により従来のモデル生物を用いた解析に留まらず、興味深い独自の生命現象を持つ非モデルの生物種でも、分子レベルでの研究対象に用いることが可能となった。特に発現遺伝子情報が得られる RNA-Seq と共に、ゲノム上の多型マーカーを多量に得られる RAD-Seq (Restriction-site Associated DNA Sequencing) はゲノム情報基盤を高コストパフォーマンスかつ簡便に得られる優れた手法となっている。今回の報告では RAD-Seq の紹介と一連の手法を紹介し、その検証・解析系の検討を報告する。

【方法】ddRAD-Seq として報告されている手法を基本にして進めた。得られたシーケンス配列はフリーの解析ツールである Stacks を用いて解析した。

【結果】一連の手順により、多数の多型マーカーを得ることが可能であった。両親および F1 世代における多数の多型マーカーのメンデル遺伝が確認できた。

【考察】今後の課題として、より多検体のサンプルに対応するシステムティックな実験系の構築、および多型情報の信頼性の評価、多型情報に基づく連鎖解析や関連解析等への対応が挙げられる。

P33

誘導結合プラズマ質量分析装置（ICP-MS）による 生体試料分析法の開発

滋賀医科大学 実験実習支援センター 小山 由起子

【目的】昨年、ICP-MS が当センターに導入された。この装置は環境分析分野で広く使われており、当該分野においては前処理法や分析手法の蓄積がなされているが、医学・ライフサイエンス分野においては皆無である。環境分析分野で得られたノウハウを、医学・ライフサイエンス分野へそのまま適用するのは難しく、独自に分析法を開発することにした。

【方法】文献などで紹介されている方法のほとんどが試料の前処理にマイクロウェーブ分解装置を使用することになっているが、高額であるため、日常的に多検体を処理する研究室でなければコスト面から購入は難しい。そこで、一般的な実験室で入手可能な試薬や装置のみでも試料の前処理を行えるように工夫した。

【結果および考察】硝酸や樹脂製遠心チューブ、ヒートブロックなどを使用して血清の酸分解処理を行い、前処理条件を検討した結果、ICP-MS で分析可能なサンプルに調製することができた。今後、様々な生体試料について、前処理法の検討を行う予定である。

【参考文献・資料】中村洋 監修 分析試料前処理ハンドブック 丸善

P34

レポータージーンアッセイによる 化学物質のホルモン作用評価

基礎生物学研究所 技術課 水谷 健

【目的】所属する分子環境生物学研究部門では、OECD（経済協力開発機構）に向けた国際貢献および環境省 EXTEND2010 のリスク評価への貢献などに関連して、化学物質のホルモン作用を評価するための試験法開発を行ってきた。レポータージーンアッセイは、受容体のリガンドとの結合→特定 DNA 配列との結合→下流の遺伝子の転写活性化という段階の総合的な評価に有効である。その際における注意点とアッセイの効率化について報告する。

【方法】様々な魚種のエストロゲンレセプターに対し、 17β エストラジオールおよび関連化学物質の作用評価を行った。培養細胞は HEK293 細胞を用い、ER、レポーター、および内部標準用コンストラクトを導入し、その 4 時間後にリガンドの添加を行なった。2 日後 Dual-Luciferase Assay System (Promega) を用いルミノメーターで発光を測定した。

【結果と考察】当初は培養を 24well プレートで行い、発光の測定も 1 サンプル毎に行っていた。96well プレートで細胞培養や発光測定を行うよう改良し、多くの魚種や化学物質の測定を効率よく行うことが可能になった。

キシレン代替品利用の取り組みについて

北里大学 医学部 形態系 安井 美江, 中丸 尚美, 橋村 美紀, 沼田 賀子
梅沢 敦子, 新村 朋子, 西楨 俊之, 勝 又修, 鶴田 智子

【目的】 平成 24 年厚生労働省による母性保護として「女性労働基準規則」の対象物質にキシレンが追加された。これに伴い北里大学医学部では学生・職員ともに女性の利用が多いことからキシレン代替品利用に積極的に着手した。

【方法】 Clear Plus (ファルマ社) を、パラフィンブロック作製時の密閉式自動固定包埋装置～染色時の脱パラフィン～透徹封入と、組織標本作製の全工程においてキシレンの代替品として使用した。またキシレンに戻さない直接封入のために封入剤も推奨のものに変更した。

【結果】 キシレン使用時と同等の結果を得た。

【考察】 注意点は水分の影響を非常に受けやすく、完全な脱水対策が必要となる。また問題点は価格が高いことで、そのため再生利用は必須でモレキュラーシーブの活用や今後再生機の導入を検討している。

ハイパースペクトルカメラの活用方法の検討

基礎生物学研究所 技術課 諸岡 直樹

【目的】 ハイパースペクトルカメラとはデジタルカメラの一種であるが、通常のデジタルカメラのとは異なり、画素ごとの分光スペクトル像を撮影することができる特殊なカメラである。リモートセンシングなどで使われつつあるが、植物研究においては未知な部分が多く、あまり普及していない。当該カメラが新たに導入されたので、手始めとして色々な植物（アサガオやシロイヌナズナ）の撮影および野外での撮影を行ったので報告する。

【方法】 数種の色異なるアサガオの花をハイパースペクトルカメラで撮影する。撮影方法やデータ処理方法の習得を目指す。脂質含量の異なるシロイヌナズナの撮影を試みるが小さいため、接写やレンズの選択などを工夫する必要がある。バッテリーを用いることで屋外でも撮影が可能であるため、持ち出して森林や市街地などを撮影する。

【結果】 花の画像では人の目では青色に見えていても、赤の成分が多いなど特徴のある画像があった。葉面積が少ないナズナでは成分判別可能な撮影ができなかった。

【考察】 データが 3 次元的に集積されるので、見せ方に工夫が必要である。実機を展示する予定なので、実際に触れてみて欲しい。また、使い方の提案をいただくとありがたい。

P37

MHV 糞便 PCR 自家検査の検討

生理学研究所 技術課 神谷 絵美

【目的】 正確な動物実験には微生物コントロールが不可欠である。多くの動物実験施設は SPF とよばれるバリアシステムを導入し、定期的に微生物モニタリングを行っている。その検査項目のうちの一つ、マウス肝炎ウイルス (MHV) は、当センターではマウス導入時の必須項目とされているが、さらに導入元のモニタリング結果が陰性でも、検査室で糞便を採取・検査し、陰性のみ導入可としている。その検査は外注で、時間と費用がかかる。そこで、MHV の糞便による PCR 自家検査を検討したので報告する。なおこの方法は、公益財団法人 実験動物中央研究所 (実中研) の ICLAS モニタリングセンターの手法による。

【方法】 採取した新鮮糞便から RNA を抽出し、MHV 及び internal control (β -Actin) を検出する primer で RT-PCR を行う。

【結果】 実中研からもらいうけた MHV の RNA による RT-PCR では MHV 及び β -Actin のバンドが確認できた。当センターで飼育されている SPF マウスの糞便から抽出した RNA による RT-PCR では β -Actin のバンドは確認できたが、MHV のバンドは確認されず陰性であった。

P38

新規導入機器の適切な保守管理について

滋賀医科大学 実験実習支援センター 中瀬 拓也

【目的】 平成 25 年度に実験実習支援センター RI 部門に、Ge 半導体検出器 (CANBERRA GX2518 型) と NaI シンチレーション検出器 [γ スペクトロメーター (BERTHOLD TECHNOLOGIES LB2045 型)] が導入された。

両機器の適切な保守管理を行い、また利用者に正しい利用を促すよう、特性を把握し、管理の上で注意する点や測定時の工夫を検討した。

【方法】 日常の機器保守管理について必要な事項をまとめた。また、実際に機器を用いて測定を行い、両機器の測定前の準備やデータ解析に用いるソフトウェアの操作性について調査した。

【結果・考察】 機器の保守管理や適切な利用の推奨は、マニュアルの精読だけではなく、機器の特性や測定の一連の流れを把握した上で行うことが重要だと分かった。今後は、他の機器でも同様に、機器の適切な理解を図っていきたい。

改築・改修に向けての自動給水導入の検討

生理学研究所 技術課 廣江 猛

【目的】明大寺動物実験センターは現在改築・改修を検討している。これまではCV施設として運用してきたが、齧歯類はSPF施設としての運用を計画している。一方、現在センター齧歯類の給水方法は給水瓶で行っているが、作業労力を軽減するため、自動給水の導入を考えている。今後、改築・改修に向けて、自動給水の導入を検討したので報告する。

【方法】給水方法(給水瓶、自動給水)の違いおよび床敷き材(木製、紙製)の違いによる漏水事故の有無・成長曲線を、Slc:ICRの4週齢を用い4~10週齢の間、比較検討した。またSlc:ICRの産仔を用いて生後~4週齢の間、漏水事故の有無、成長曲線を比較検討した。

【結果】給水方法の比較は雄の7-8週齢で給水瓶グループは有意に体重が重かった。床敷き材の比較は雄の7-10週齢で木製グループは有意に体重が重かった。哺乳マウスの成長曲線には大きな差はなかった。また全体を通して給水瓶も自動給水も漏水事故はなかった。

【考察】給水方法および床敷きの形状が異なっても漏水は起こらなかったため、自動給水は導入可能と判断できた。しかし、成長曲線においては一時的に有意差が認められている。個体差によるばらつきも大きいため、今後も検討していきたい。

学生向け元素分析装置マニュアルの作成

東北大学 農学研究科 電子顕微鏡室 伊東 久美子

当電子顕微鏡室の利用者は4年生を含め圧倒的に初心者が多く、ヘビーユーザーはほとんどいない。研究テーマによっては研究室内で電子顕微鏡観察技術の継承も行われにくいいため、操作方法もなかなか覚えてもらえず、困ることが多かった。

また、元素分析の世界では材料系の試料を分析することの方が圧倒的に多く、生物試料分析に関する情報は少ないようである。しかし、当室のFE-SEM日立SU8000が導入されて約5年になり、その装置に元素分析装置(EDAX社Genesis Apexシリーズ)が付属している情報が学部内外に浸透してきたためか、元素分析を希望する利用者が増えてきたため、学生対象のわかりやすいマニュアル作成を目指した。TEM・SEMについては簡易マニュアルは既に作成済みのため、今回、利用者が限られ自分自身も技術を習得しきれていない走査電子顕微鏡付属の元素分析装置について「かゆいところに手が届くマニュアル」を作成し、利用者が不安なく操作できるように対策を講じた。

P41

蛍光タンパク質を題材とした実験と分子構造を比較した 学生実験の検討

東京大学 理学系研究科 技術部 佐伯 喜美子

物理学科の学部学生に生物試料を使った生命現象を理解するための実験を教育することは重要である。学部3年生の物理学実験のテーマの一つに生物物理学があり、生体の重要な構成成分である核酸とタンパク質の性質を調べる基本的な実験を行ってきた。

生物物理学生実験の内容を検討し、物理学科の学生になじみがあり、かつ生物の最先端で研究されている蛍光タンパク質や蛍光標識したタンパク質を用いて可視化を中心にした実験内容に改良を行った。

蛍光タンパク質の実験では、緑色蛍光タンパク質(GFP)とその黄色変異体(YFP)を用い、GFPの遺伝子を使った実験、GFPとYFP遺伝子の発現、発現したGFPとYFPのタンパク質を使った実験を行っている。今年度は、タンパク質立体構造データベース(PDB)からタンパク質の構造情報を取得し、立体構造を表示させ、蛍光タンパク質の実験と発色団の立体構造を比較するテーマを導入した。

今回は、蛍光タンパク質の実験を中心に報告する予定である。

P42

教養ゼミにおけるキャンパスツアー —自然散策道「発見の小径」観察ガイドへの取り組み

広島大学 技術センター 塩路 恒生

広島大学では、一年生を対象にした教養教育科目に教養ゼミがあります。ゼミを担当されている教員より総合博物館にキャンパスの自然についてガイド依頼があり、技術センター所属の職員数名がガイドを対応しています。東広島キャンパスには、日本有数の敷地面積の中に昔ながらの里山的な自然環境が今でも残されており、絶滅危惧種を含む多様な動植物が生息しています。90分間の授業では、キャンパス内に設けられた自然散策道「発見の小径」を四季折々の動植物について解説しながら歩きます。地域の自然環境問題や外来種についても問いかけをします。受講した学生は、普段あまり接することのない道を新鮮な目で観察しながら、さまざまな体験をします。それによって、広島大学の良さを感じ、豊かな心・幅広い知識などが身に着き、これからの学生生活にゆとりを持つことができます。我々は日常、この自然環境の保全管理を担当し、生息する動植物の調査・観察等を行っています。今後は、散策路の改善、ガイド用マニュアル及び受講者向けテキストの作成などを行うことにより、このキャンパスツアーをさらに充実したものにしていきたい。

技術職員による技術力向上を目指して — 分析技術グループの立ち上げから現在に至るまで—

東京大学大学院 農学生命科学研究科 黒岩 真弓, 佐々木 潔州, 高橋 友継
堀 吉満, 澤田 晴雄, 白井 深雪, 曾我 竜一, 池田 正則, 小野山 一郎, 藤田 真志

昨年度設置された東京大学農学生命科学研究科技術部において技術職員の資質向上のために第二の技術グループとして分析技術グループを設置した。5 つにわたる附属施設から数名を選出し総計 10 名からなるワーキンググループが中心となり活動を開始した。対象とする技術は分析サンプルを得るための前処理技術（実験計画・サンプリング等）から分析測定技術（分析機器の選択・使用法等）、データ処理・解析技術等、さらにプレゼンテーションも考慮したものとする。技術研修による支援のみならず、分析に関する情報発信・情報共有キーステーションとなることを目指している。そのために、昨年度と今年度にわたり「pH 測定技術」の研修の企画運営、各施設における分析技術の現状調査、それらを含む活動報告書発刊などを行っている。

今回は、その技術グループの立ち上げから、現在に至るまでの活動報告ならびに物理的に離れた附属施設にわたる WG としての活動の工夫などを報告させていただく。

基礎教育実験支援と地域貢献について

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、26 年度より基礎教育実験の支援を担当しているが、本学の基礎教育実験棟の技術職員は、実験支援だけでなく長年この支援技術を活用した地域貢献等にも取り組んできている。これは、大学技術職員の貢献の一つとして非常に重要な取組であると思われる。本報告では、筆者なりに、この貢献のために活用する支援技術の特徴、これまでの取組の成果や今後の貢献等について検討した結果について述べる。

【方法】 化学、物理学、生物学、地球学の基礎教育実験において求められる支援技術の特徴を明らかにし、これまでの取組の成果（サイエンスフェスタ出展、親子実験教室開催）等を述べるとともに整理する。

【結果】 基礎教育実験は、実験テーマが非常に豊富で、設備や機器類等も一人一台のごとくに充実している。そのために、支援技術には、多くのテーマへの深い専門知識と豊富な機器類を用いる熟練した実験技術が必要になるのが特徴である。これまでの取組は、この特徴をよく活用していると考えられる。

【考察】 専門教育実験の支援技術との連携も必要になってくると考えられる。

P45

薬用植物園一般開放

徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 薬学系薬用植物園 今林 潔

【目的】大学施設と公立幼稚園の連携による社会貢献。

【方法】およそ1万平方メートルある薬用植物園を平成25年10月6日(月)～10日(金)9時～17時まで5日間開放しました。今回の開放では身近なスパイスや珍しいスパイス、スパイスになる植物を展示し、それぞれ味見体験をできるようにしました。また、今回は近隣の公立幼稚園の園児たちによる、薬草染めした和紙のちぎり絵、たたき染め作品、藍染めハンカチを研修室にたくさん展示してもらいました。

【結果】一般開放の様子がNHKや地元テレビ局、地元新聞社等に取り上げられ、台風直後の開催でしたが、およそ600名の来園者がありました。

【考察】来園者に薬用植物や絶滅危惧植物の情報をもっと学んでいただくため、屋内展示の内容や展示方法をさらに充実させる必要を感じました。

P46

学生実験の応用発展と新たなテーマについての調査及び提案

京都工芸繊維大学 高度技術支援センター 尾崎 誠

【目的】学生実験の化学基礎実験において、有機溶媒の官能検査を体験してもらうこと、及び新しいテーマ(改善点)をみつけ提案することを目的として本年度学内公募における海外研修を行ったことを報告する。

【方法】1.官能検査:メタノール、エタノール、2-プロパノール、アセトン、ヘキサンの純品(市販試薬)とブラインドした試料(同市販試薬)AからE及び2種類をMIXした試料2本の7種類を用いて既知純品とのマッチングを行い、MIXについては混合のかぎ分ける実験を行った。2.海外研修報告:化学基礎実験の新規テーマ及び改善点の発掘のためベトナムハノイ工科大学へ出張し研修及び調査を行った。

【結果】官能検査においては学生の有機溶媒への初歩の理解を得られた。海外研修においては自らの知識のブラッシュアップ及び違った方面からの実験の内容を見直す機会を得た。

【考察】官能検査に併せて毒性などという違った面からのアプローチも必要ではないかとおもわれる。

☆☆☆☆☆☆☆☆ 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, 高橋 直樹, 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

水谷 健, 松田 淑美, 三輪 朋樹, 田中 幸子, 牧野 由美子,
諸岡 直樹, 内海 秀子, 西出 浩世