

合同開催

第27回 生物学技術研究会

第38回 生理学技術研究会

予稿集

日時：平成28年 2月 18日(木)、19日(金)

会場：岡崎コンファレンスセンター

大学共同利用機関法人 自然科学研究機構

基礎生物学研究所 技術課

生理学研究所 技術課

第27回 生物学技術研究会
第38回 生理学技術研究会
(同時開催：第12回 奨励研究採択課題技術シンポジウム)

会期：平成28年2月18日(木)～19日(金)
会場：自然科学研究機構 岡崎コンファレンスセンター
主催：基礎生物学研究所 技術課

〒444-8585 愛知県岡崎市明大寺町字西郷中38

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

TEL:(0564)55-7655, FAX:(0564)55-7657

生理学研究所 技術課

〒444-8585 愛知県岡崎市明大寺町字西郷中38

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

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

プログラム

2月18日(木) (1階 大会議室)

- 13:30 ～ 13:50 挨拶、事務連絡
- 13:50 ～ 14:50 研修講演 (L1：基礎生物学研究所 初期発生研究部門 藤森 俊彦 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19日(金) (1階 中会議室、1階 大会議室)

(口演会場1 1階 中会議室)

- 8:50 ～ 9:00 挨拶、事務連絡
- 9:00 ～ 10:20 一般口演 (A1～4)
- 10:20 ～ 10:40 休憩
- 10:40 ～ 12:00 一般口演 (A5～8)
- 12:00 ～ 13:00 昼食 (1階 中会議室・2階 小会議室)
- 13:00 ～ 14:00 一般口演 (A9～11)

(口演会場2 1階 大会議室)

- 8:50 ～ 9:00 挨拶、事務連絡
- 9:00 ～ 10:20 奨励研究採択課題技術シンポジウム (S1～4)
- 10:20 ～ 10:40 休憩
- 10:40 ～ 12:00 奨励研究採択課題技術シンポジウム (S5～8)
- 12:00 ～ 13:00 昼食 (1階 中会議室・2階 小会議室)
- 13:00 ～ 14:00 奨励研究採択課題技術シンポジウム (S9～11)

(口演会場2 1階 大会議室)

- 14:05 ～ 14:25 話題提供 (T1)
- 14:25 ～ 14:35 まとめ

- 15:00 ～ 16:00 施設見学 (希望者のみ、各会場)

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) ほ乳類初期発生を考える	基礎生物学研究所 初期発生研究部門 藤森 俊彦 教授	12
------------------	----------------------------	----

話題提供（1階 大会議室）

(T1) 医学教育研究における技術の変遷	浜松医科大学 技術部 柴田 清	14
----------------------	-----------------	----

一般口演（1階 中会議室）

(A1) 放射分光照度計を用いた蛍光スペクトル測定	東京大学 理学系研究科 技術部 佐伯 喜美子	16
(A2) ホヤ被囊接着突起の解析	広島大学 技術センター（附属臨海実験所勤務） 山口 信雄	17
(A3) 走査電子顕微鏡を用いた生物切片の反射電子像観察 - 切片厚と導電処理条件の検討 -	岩手医科大学 医歯薬総合研究所 生命科学研究技術支援センター 野崎 貴介	18
(A4) 解剖実習用献体からの組織学実習観察用プレパラートの作成とその問題点	浜松医科大学 解剖学講座, 医学科学部学生 佐々木 健, 中川 翔太, 大野 航, 森 亘平, 加藤 裟智穂, 竹村 綾奈, 佐藤 康二	19
(A5) マウス脳の透明化の検討	基礎生物学研究所 技術課 大澤 園子	20
(A6) 遺伝子欠損骨疾患マウス下顎骨の骨質測定	大阪大学大学院 工学研究科 藤谷 渉	21
(A7) 単為結果性ミニトマトの冬季無加温栽培における堆肥発酵熱利用の試み	京都大学大学院 農学研究科 附属農場 西川 浩次	22
(A8) 藍の栽培管理が生葉染めに与える影響	鹿児島大学 教育学部 龍野 巳代, 瀬戸 房子, 池田 充	23

(A9) ネットワークを介した攻撃通知への対応とその実例	基礎生物学研究所 技術課 中村 貴宣	24
(A10) メナキノンの化学合成と精製方法の検討	九州工業大学 情報工学部 楠本 朋一郎	25
(A11) 1分子極長鎖DNAシーケンサーPacBio RSIIを用いたゲノムシーケンスと 全長トランスクリプトシーケンス	基礎生物学研究所 技術課 山口 勝司	26

奨励研究採択課題技術シンポジウム（1階 大会議室）

(S1) 組込みマイコンとプログラマブルデバイスによるハイブリット制御学習システムの構築	東北大学 工学部・工学研究科 阿部 茂樹	28
(S2) ネットワーク管理業務効率向上のための拡張現実感による構成情報の可視化	大分大学 工学部 技術部 原慎 稔幸	29
(S3) 赤外線放射温度計では測定不可能な水中で温度変化をする物体の可視光による温度測定	東京大学生産技術研究所 機械・生体系部門 技術専門員 上村 光宏	30
(S4) Arduinoを用いた放射線検出器教材の開発	富山大学 研究推進機構 水素同位体科学研究センター 阿部 信介, 坂口 春菜, 原 正憲	31
(S5) デジタルPCRを用いたDNA損傷分析法の確立	佐賀大学 総合分析実験センター 森 加奈恵	32
(S6) 新しいグリコサミノグリカン二糖解析方法 ―古典的二糖化法と、現代的検出法との融合―	島根大学 医学部 代謝生化学 長子 晴美	33
(S7) 低融点ゼラチンを活用した標本作製法の開発	名古屋大学 全学技術センター 医学系技術支援室 牛田 かおり	34
(S8) イオン液体を用いた無蒸着迅速走査電顕観察法の臨床医学分野への応用	鳥取大学 技術部医学系部門 ¹⁾ , 同 卒業臨床研修センター ²⁾ , 同 医学部皮膚病態学 ³⁾ 森野 慎一 ¹⁾ , 山田 七子 ²⁾ , 堀江 享史 ¹⁾ , 山元 修 ³⁾	35
(S9) プロテオミクス解析による心血管疾患の血清病態バイオマーカーの探索	島根大学研究機構 総合科学研究支援センター 生体情報R・I実験部門 佐藤 和美, 馬庭 朋子, 松本 健一 島根大学医学部 循環器呼吸器外科学講座 織田 禎二	36
(S10) 線虫 <i>C. elegans</i> を用いた加齢とともに生じる個体差の解析	東海大学 伊勢原研究推進部 生命科学統合支援センター 安田 佳代	37
(S11) 安全衛生管理の事例研究と大学の実験室等のリスク検討	横浜国立大学 リスク共生社会創造センター 鈴木 雄二	38

ポスター発表（1階 大会議室、ホワイエ）

- (P1) 新規に導入された 7T-MRI の紹介
生理学研究所 技術課 伊藤 嘉邦 40
- (P2) オーディオ変換機による PC オーディオのノイズ対策
生理学研究所 技術課 伊藤 嘉邦 40
- (P3) オープンフィールド試験装置の製作
徳島大学大学院 医歯薬学研究部 総合研究支援センター 北池 秀次 41
- (P4) 無線通信を利用した灌水制御システムの開発
徳島大学大学院 STS 研究部 総合技術センター 石田 富士雄 41
- (P5) 生理・生物学実験への LED の利用
生理学研究所 技術課 佐治 俊幸 42
- (P6) 所外研究者の実験サポート機器の製作
生理学研究所 技術課 竹島 康行 42
- (P7) 光通信を題材とした子供向け電子工作
神戸大学大学院 工学研究科 松本 香 43
- (P8) 炭素薄膜位相板作製方法の改善と現状について
生理学研究所 技術課 小原 正裕 43
- (P9) イオンミリングを用いた電子顕微鏡観察
名古屋大学 全学技術センター 都築 賢太郎, 神野 貴昭, 高田 昇治 44
- (P10) イオン液体・Tween20 を用いた SEM 観察用試料前処理法の検討
名古屋大学 全学技術センター 工学系技術支援室 鳥居 実恵, 高田 昇治, 永田 陽子,
日影 達夫, 山本 悠太, 林 育生, 樋口 公孝, 神野 貴昭, 都築 賢太郎, 伊藤 広樹 44
- (P11) 山陰に飛来する大気汚染微小物質の三次元微細形態解析のための新走査電顕観察法の構築
鳥取大学 技術部 医学系部門¹⁾, 鳥取大学 医学部 健康政策医学²⁾
堀江 享史¹⁾, 森野 慎一¹⁾, 大西 一成²⁾ 45
- (P12) X線を用いた組織観察の生物学への応用
大阪大学 工学研究科 大瀬 昌明, 藤谷 涉 45
- (P13) 連続切片からの三次元再構築
基礎生物学研究所 技術課 岡 早苗 46
- (P14) 2way ハーフバスケットの紹介
浜松医科大学 腫瘍病理学講座 加茂 隆春 46
- (P15) 学生実習における電子顕微鏡観察
東北大学 農学研究科・農学部 電子顕微鏡室 伊東 久美子 47
- (P16) 高知大学岡豊キャンパス技術職員の現状と組織化の取り組み
高知大学 教育研究部 病理学講座 林 芳弘
総合研究センター実験実習機器施設 片岡 佐誉 47

(P17) 大型スペクトログラフの紹介と実験サポートの現状	基礎生物学研究所 技術課 内川 珠樹	48
(P18) 生命科学研究の Core Facility としての歩み ～教育・研究支援センター10年目を迎えて～ 九州大学医学研究院 ヒト疾患モデル研究センター 教育・研究支援センター 高見 重美		48
(P19) 阿南市新野地区における民間薬調査 徳島大学大学院 医歯薬学研究部 薬学系薬用植物園 今林 潔, 川添 和義		49
(P20) 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-2- 広島大学 技術センター 宇都 武司		49
(P21) 総合技術部情報ネットワーク職群研修の開催 東北大学大学院 医学系研究科・医学部 広報室 一條 肇		50
(P22) Javascript と PHP によるプログラムを隠蔽したホームページの作成 名古屋大学 全学技術センター 情報通信技術系 大川 敏生		50
(P23) 暗号強度を高めたパスワード管理ツールの開発 (2) 生理学研究所 技術課 村田 安永		51
(P24) GPS モジュールを使用した NTP サーバーの検討 生理学研究所 技術課 吉村 伸明		51
(P25) Gene Expression Omnibus 利用方法の検討 東北大学大学院 農学研究科・農学部 小森 和樹		52
(P26) フローサイトメーターを用いたゲノムサイズ測定法の検討 基礎生物学研究所 技術課 尾納 隆大		52
(P27) プロテインシーケンサで高分子量タンパク質のアミノ酸配列決定をより長く行うための ガス圧の検討 基礎生物学研究所 技術課 牧野 由美子		53
(P28) ヨコエビ類の同定とその視物質発色団の分析 浜松医科大学 医学部 総合人間科学講座 外山 美奈		53
(P29) α リポ酸が有するデトックス効果 -カドミウム中毒の軽減効果の検証- 富山大学 医薬系技術部 病理診断学 八田 秀樹		54
(P30) アフリカツメガエル胚からの total RNA 精製法の検討 基礎生物学研究所 技術課 高木 知世		54
(P31) PC12 細胞におけるパラプラセンタの神経突起に与える影響 徳島大学大学院 医歯薬学研究部 総合研究支援センター ¹⁾ 歯科麻酔科学分野 ²⁾ (株) 銀座・トマト ³⁾ 庄野 正行 ¹⁾ , 富岡 重正 ²⁾ , 近藤 千恵子 ³⁾ , 若山 睦 ³⁾		55
(P32) ゲンジボタル雄雌の相互結合に見られる発光同期パタンのダブルプロット法による解析 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		55
(P33) マウス凍結精子による系統導入の事例報告 生理学研究所 技術課 廣江 猛		56

(P34) マーモセットの視線計測	生理学研究所 技術課 戸川 森雄	56
(P35) SPF マウス施設用・高圧蒸気滅菌装置の更新	基礎生物学研究所 技術課 野口 裕司	57
(P36) ラット生殖工学技術の実用化に向けて	旭川医科大学 教育研究推進センター 動物実験技術支援部門 日野 千紘	57
(P37) 動物福祉に配慮した実技講習会の開催について	生理学研究所 技術課 窪田 美津子	58
(P38) 小規模RI 取扱施設の管理する上での問題点と将来	京都工芸繊維大学 高度技術支援センター 尾崎 誠	58
(P39) 放射線測定時の色クエンチングの影響	基礎生物学研究所 技術課 飯沼 秀子	59
(P40) イネとシロイヌナズナの形質転換体の作製	名古屋大学 全学技術センター 生物・生体技術系 井上 慎子	59
参加者名簿		60

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、封筒(名札と資料)をお受け取りください。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いたします。また、航空機利用の場合、領収書と航空チケットの半券(半券がない場合には搭乗券)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分です。

■ご不明な点がございましたら

基礎生物学研究所技術課 (TEL: 0564-55-7655, FAX: 0564-55-7657) または
生理学研究所技術課 (TEL: 0564-55-7702, FAX: 0564-52-7913) までご連絡ください。

発表者へのお願い

■報告誌原稿の提出について

報告誌の原稿は、本研究会で用意した「テンプレートファイル」を使用してください。本研究会ホームページ(<http://techdiv.nibb.ac.jp/giken/sanka.html> 又は <http://www.nips.ac.jp/giken/2016/>)よりダウンロードが可能です。

原稿は、平成 28 年 2 月 15 日 (月) までに、Word File と PDF File を事前に指定されたアドレス「giken@nibb.ac.jp (生物学技術研究会)」又は「giken38@nips.ac.jp (生理学技術研究会)」にメール添付で送付してください。PDF File はレイアウト等の確認のために必要です。

■発表について

1. ポスター発表は、ポスター討論の前に画像ビューワーを用いて説明をしていただきます。説明用画像は一人 1 枚で発表時間は 1 分間です (画像は事前に指定の方法でご提出をお願いします)。発表は 2 グループに分けて行います。グループ I のスライド説明とポスターの閲覧および討論を行った後、グループ II を同様に行います。
2. 一般口演は 20 分 (発表 15 分、質疑応答 5 分)、奨励研究採択課題技術シンポジウムは 20 分 (発表 15 分、質疑応答 5 分) です。十分な質疑応答の時間が取れるよう、発表をまとめてください。
3. ポスター発表者は早めに受付を済ませ、13:30 までにポスターを展示してください。なお、ポスターは研究会終了まで展示をお願いします。
4. 発表内容の補足で用いる配布資料がある場合は、各自で準備をお願いします。

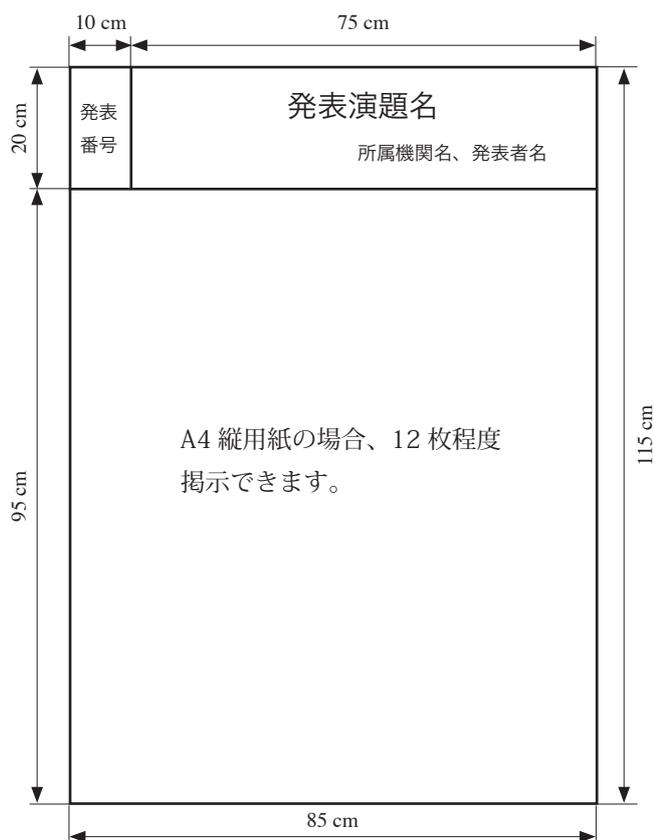
■ポスター作成について

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

パネルの左上に発表番号が貼ってあります。所定のパネルにご展示ください。

■ご不明な点がございましたら、以下へお問い合わせ下さい。

- ・基礎生物学研究所 技術課
giken@nibb.ac.jp
- ・生理学研究所 技術課
giken38@nips.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 120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

三島ロッジ TEL:0564-51-2830(22～8時は不通)

参考: 岡崎セントラルホテル TEL:0564-53-4473

グリーンホテル徳川園 TEL:0564-53-3151

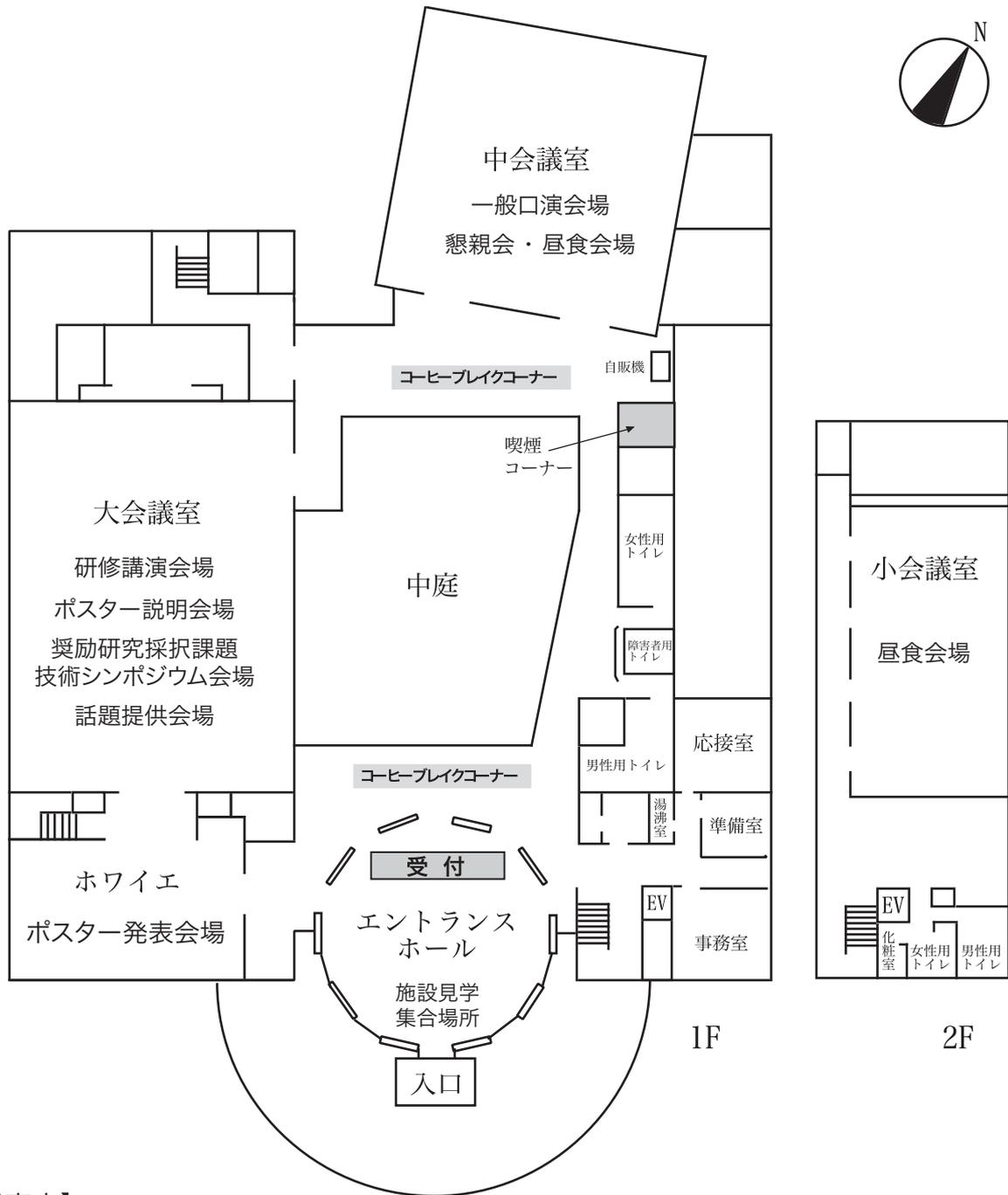
スーパーホテル岡崎 TEL:0564-28-9000

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

生物学技術研究会主催
 一般口演 中会議室
 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
 昼食会場 中会議室・小会議室
 施設見学(集合場所) エントランスホール

研修講演

ほ乳類初期発生を考える

基礎生物学研究所 初期発生研究部門 藤森 俊彦

どのように細胞の種類が決まるか（細胞分化）、体の大まかな座標がどう決まるか（軸形成）、体のそれぞれの部分の形はどう作られるか（形態形成）が私自身にとっての発生生物学における根源的な問いである。発生の初期においてこれらの謎を解明したいと考えている。初期発生研究の歴史の中でも、この30年程度の間分子生物学の発展に伴って多くの現象の理解が急速に進んだ。脊椎動物の初期発生研究においては、スーパーマンの時代から両生類を研究対象とした研究が分子生物学を取り入れた時代においても先端を走ってきている。一方ほ乳類の発生には、主に二つの理由からまだまだ十分理解できていない謎が多く残されている。第一の理由は、その調節能の高さである。どの胚を比べてもほぼ同じパターンで細胞が分裂し、その結果どの細胞が将来何になるかがはっきりしている動物の場合は、細胞運命がどう決まるかを知ることが比較的容易であった。しかし、ほ乳類では胚の細胞を減らしたり、胚に細胞を足したりしても何も無かったかのように本来作られるべき体ができる。では、外からの操作が加わらない正常発生では細胞運命はどう決められているのだろうか？第二の理由として、胚発生が母親の体内で進むことにある。卵や胚を外から簡単に見ることができる動物と違い、詳細に細胞の動きなどを観察することは容易でなく、何が起きているかを理解するのが難しい。

我々の研究室では、様々なアプローチによってマウス初期発生のメカニズムを明らかにしようと取り組んでいる。新たな手法の開発によって、これまでに理解できていない問題解決が可能となると考えており、技術の改善や新規技術の開発なども積極的に取り入れている。マウス胚は受精後4日目に子宮に着床するが、それまでの段階については培養することは比較的容易である。ライブ観察に必要な顕微鏡のシステム、蛍光タンパクを発現する観察用のマウスの開発などを行い、ライブ観察を可能とした。多くの胚発生を連続観察することが可能となり、細胞運命決定様式についても考察できるようになった。ライブ観察を通して着床前までの段階における細胞分化についてどのような理解ができたかを議論したい。また、子宮の中で胚発生が進む点は、ほ乳類胚発生の重要な特徴であるが、胚と子宮がどのように相互作用しているか、それがどのように変化していくかについては理解が十分ではない。そこで、まずは胚が存在する子宮の形態や、それに伴う胚体外組織を含む胚側の形態を3次元的に理解したいと考えている。この解析の為のツール開発を進めてきており、その手法、現状について紹介したい。

話題提供

医学教育研究における技術の変遷

浜松医科大学 技術部 柴田 清

医学教育研究に関わって 37 年が経とうとしている。また、この研究会に参加させて頂き、22 年が経過した。その中で変化したことに焦点を当て振り返り、多少なりとも皆様のお役に立てる事があれば幸いである。定年を間近に控えた老人の戯言である。気にする必要はない。

浜松医科大学・衛生学教室に入局して以来、変化した技術の一つは、病理組織関係の写真技術であった。当時の光学顕微鏡写真は、観察したものと出来上がってくるスライドに大きな差があった。また、撮影した写真（スライド）が出来上がるのに 2～3 日を要した。その中でも、蛍光観察は、大変であった。なんといっても教室には、自前の蛍光顕微鏡がなかったので、他の講座へ出向き遠慮がちに撮影した。1 枚の画像を撮影するのに暗闇で 20～30 分かかり、気づくと朝方になり、引き続き午前中に、写真屋さんに出向き翌日帰ってくるスライドをみる。やり直しができれば、また 1 日を費やして写真を撮った。やり直しの理由は、至極簡単なことで、『この緑は、私が見たい緑ではない。』？ということだ。そんな繰り返しの日々を支えるのは、腎糸球体上のほんのり目に訴える蛍光であった。30 数年経ち、実験実習機器センターにおいて、対象物は違っているもののやはり蛍光観察をしている。撮影時間は、数秒、画像の善し悪しは瞬時に確認が出来るようになり恐ろしいくらいに蛍光顕微鏡観察は、時間短縮した。但し、良いことばかりではないことに、注意を払わなくてはならない。この変化の中で、スライドが無くなり、写真さんが姿を消した。教授（ヒト）との距離も遠くなった。何故か、仕事量は増えた。変化と言えば、タイムラプス顕微鏡の登場もその一つである。細胞膜、核、アクチン、ゴルジ装置そしてミトコンドリアを生きたままで観察できるようになるとは、長生きはしないといけない。フローサイトメータの技術も一段と進歩した。20 年前、搭載していたレーザーは、488nm のみが多かったが、現在は、5 レーザーを搭載し様々な色素に対応している。ソーティング技術も進歩し、細胞の流速が 1 秒間に数千個だったものが数万個流せるようになった。そのお陰で、一日中機械の前で見張っていなくてはならなかった作業も、現在は、1～2 時間になった。それでも、機械の前に数時間いなくてはならないことは、変わらない。

技術は否応なく進歩し間違いなく我々の前にやってくる。技術職員のやるべき事は、増えるばかりである。それに比較し給料の変化は乏しく逆に下降傾向にある。なんとかしなくては、である。上は安定的な変化の中で、下に不安定な変化を強要する。技術職員が、特に若手技術職員がこの技術の進歩にどう対応し、どう変化して行くのか大変楽しみである。変化に乏しくなった老人技術職員の眩きである。まったく、気にすることはない。ただ、老人は、違う環境と時間を生き、考え続けている。何か困った時は、老人に声をかけるのも一つの策ではある。

口演発表
(一般口演)

放射分光照度計を用いた蛍光スペクトル測定

東京大学 理学系研究科 技術部 佐伯 喜美子

【目的】東京大学理学部物理学科の学生実験のテーマのひとつである生物物理学実験では、緑色蛍光タンパク質（GFP）を使った実験を行っている。実験では、GFP とその黄色変異体（YFP）を用い、DNA の制限酵素地図の作製、大腸菌での GFP の発現、GFP の吸収スペクトル測定などを行ってきた。蛍光タンパク質の発現は、試料に紫外線を照射し、GFP と YFP の蛍光色の違いから目的のタンパク質の発現を確認してきた。今回は、タンパク質の発現を蛍光色の観察だけでなく、蛍光スペクトル測定により波長を数値化することを検討した。さらに、励起光に蛍光物質の励起波長にあった光源を使用することを検討した。

【方法】蛍光タンパク質のスペクトル測定には、携帯型放射分光照度計を用いた。暗箱の中で蛍光タンパク質を発現している大腸菌のコロニーや蛍光タンパク質溶液に紫外線を照射し、発した蛍光のスペクトルを放射分光照度計で測定した。

次に、光源の検討を行った。GFP の発現は、一般的には、紫外線やブラックライトを照射して確認することが行われているが、GFP の励起波長は可視領域である。GFP の励起波長に近い波長の LED を光源として用いた。

【結果】蛍光タンパク質溶液を使って、放射分光照度計でスペクトル測定を行い、蛍光光度計で測定したスペクトルと比較した。放射分光照度計の測定では、GFP 溶液と YFP 溶液は、それぞれ 510 nm 付近と 525 nm 付近に最大ピークを持つスペクトルが得られ、蛍光光度計で測定したスペクトルと、ほぼ一致することが確認できた。

紫外線を照射して GFP を発現している大腸菌のコロニーおよび GFP 溶液のスペクトルを放射分光照度計で測定した。どちらも 509 nm 付近にピークを持つスペクトルが得られた。YFP 溶液のスペクトル測定では、525 nm 付近にピークを持つスペクトルが得られた。これによって、GFP と YFP の色の違いをスペクトルとして数値化することができた。

次に、蛍光タンパク質の励起波長にあった LED を光源として、蛍光タンパク質のスペクトル測定を行った。405 nm の紫色 LED を GFP に照射することにより、GFP の蛍光スペクトルと LED のスペクトルを同時に測定することができた。

【考察】蛍光タンパク質を発現している大腸菌のコロニーや蛍光タンパク質溶液の蛍光スペクトルを放射分光照度計で測定することにより、色の違いを数値化することができた。今後は、光源として使用する LED や励起スペクトルと蛍光スペクトルを分離するためのフィルターを選定し、YFP などの他の蛍光タンパク質のスペクトル測定条件を検討していきたい。

ホヤ被囊接着突起の解析

広島大学 技術センター（附属臨海実験所勤務） 山口 信雄

【目的】

海産無脊椎動物であるホヤ類は基質（岩石・コンクリート等）に被囊の一部を介して接着し、固着生活をしている。被囊は動物性セルロースを含んだ皮状あるいはゲル状の構造であり、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特殊な組織である。被囊に含まれる被囊細胞や自己非自己の認識機構についての研究は過去に精力的に行われているが、その接着機構については未解明の部分が多い。本研究ではスジキレボヤ (*Ascidia sydneiensis samea*) の被囊から伸び、接着に関わる接着突起と命名した構造に着目し、ホヤの接着機構の解析を試みた。

【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スジキレボヤを使用した。本種は寿命が長く、接着突起が他種のものに比べ大型で扱いやすい。

2. 接着突起の誘導

岡山県倉敷市児島湾より採集してきた体長 5～7 cm のホヤを約 5 日間流水中で飼育して消化管内容物を全て放出させたのち、接着部である腹部の被囊を 1.5～3 cm 角の大きさに切除する。腹部を露出させたホヤをストレプトマイシン 50 mg/1 入りの濾過海水で満たした 3 リットル程度の飼育容器に入れ、20～25℃の室内でバブリングした。

3. 接着突起の解析

2. の手法で誘導した接着突起の断面を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) で観察し、内部構造と元素分布を解析した。また、ポリエチレン袋に接着突起を密着させ、付着直後の状態のものを 4% グルタルアルデヒドで固定し、TEM で観察して接着時に特異な構造があるかを解析した。また、接着突起より抽出したタンパク質を SDS-PAGE で分離し、接着突起特異的なタンパク質の検出を試みた。

【結果】接着突起を効率的かつ安定的にホヤ腹部より誘導することが可能となった。接着突起は複数の層構造からなり、他の被囊部位とは異なる特徴がみられた。

【考察】今後はホヤが接着面を広げる際に増減する構造・分子を特定し、どのように接着に関与していくかを調べたい。

走査電子顕微鏡を用いた生物切片の反射電子像観察 - 切片厚と導電処理条件の検討 -

岩手医科大学 医歯薬総合研究所 生命科学研究技術支援センター 野崎 貴介

【目的】

電界放出形走査電子顕微鏡 (FE-SEM) を用いた反射電子 (BSE) による生物切片 (樹脂包埋) 観察法は近年、新しい解析技術として注目されている。一般的に、切削面が大きいブロックを薄く切るのは難しいが、切片厚を厚く設定することによって比較的容易に切削できる。反面、切片が厚くなると観察の際チャージアップの発生も多くなる。その対策として切片上に導電処理を施している。今回、超微形態を観察するうえで、適切な切片厚、導電処理条件、画像解像度について検討した。

【方法】

樹脂包埋したラット腎皮質のブロックを薄切して得られた切片を、ループを用いて、導電コーティングを施したスライドガラスに回収する。その後電子染色 (酢酸ウラン-硝酸鉛) を行い、必要に応じ切片にコーティング処理をしてから電顕観察を行った。コーティング素材は白金 (Pt) とオスミウム (OsO_4) の二種類を用いた。

検討項目は、観察条件を一定にして、

- (1) コーティングを施さなくても観察できる切片厚。
- (2) 試料表面の導電性を良くするためのコーティング最小膜厚の検討。
- (3) 切片厚の違い (0.1, 0.5, 1 μ m) による画像解像度。

の3つである。

【結果】

- (1) コーティング (Pt, OsO_4) を施さなくても観察できる切片厚は 0.2 μ m までであった。
- (2) Pt, OsO_4 のそれぞれのコーティング条件は、Pt: 放電電流 5mA 放電時間 10sec 真空度 7Pa 放電間距離 20 mm、 OsO_4 : 膜厚設定 1nm 放電間距離 約 40mm でチャージアップすることなく観察できた。
- (3) 切片厚の違いによって画像解像度に大きな差が出ることはなかった。

【考察】

チャージアップ対策として加速電圧を下げて観察する方法もあるが、チャージアップを完全に防げるわけではなく、高倍率観察ではとくに困難であった。そのため、切片への導電処理がチャージアップ対策はもとより試料ダメージを軽減させるために有効である。また、切片厚の違いが画像解像度に大きな影響を与えないことから、薄く切削することが難しい、切削面の大きなブロックや重合不良のブロックの観察にも期待できる。

今後はコーティング膜の耐久性について継時的に観察を行って調査したい。また、導電処理素材としてカーボン蒸着膜も試したいと考えている。

解剖実習用献体からの組織学実習観察用 プレパラートの作成とその問題点

浜松医科大学 解剖学講座，医学科学部学生
佐々木 健，中川 翔太，大野 航，森 亘平，加藤 娑智穂，竹村 綾奈，佐藤 康二

【目的】解剖学教育には組織学という分野があり、人体(動物)組織標本を観察し、スケッチする組織学実習という科目がある。この観察には、正常組織標本が必要であり、その必要枚数は、可能であれば実習学生数と同等程度が望まれる。さらに、観察する組織は多岐にわたり、本学においても60種類以上の組織標本が実習に用いられている。その一方で、これらのプレパラート標本は、破損や紛失、退色等により、年々その保有枚数が減少している。このようなことから、解剖学教育に関わる技術職員は、組織学実習の観察用プレパラートの作成・調達という業務を有している。しかしながら、昨今では人権や生命倫理、個人情報保護の観点から、このような人体組織標本の作成・調達に対するハードルが高くなってきているのも事実である。このような背景をもとに、今回は組織学実習の観察用プレパラートの作成・調達に関することやそれに付随する問題点等を紹介する。

【方法・結果】浜松医科大学解剖学講座では、最近5年程の間に組織実習用プレパラート約1200枚の購入と約1300枚の作成を行なった。プレパラートの購入は株式会社京都科学より行なったが、これらは作成国不詳の輸入品かつ高額であり、一部には組織融解(自己消化)や強い組織収縮が認められ、実習には適さないものがあつた。同時に、世界的にも人体組織プレパラートの売買が、倫理上困難になりつつあるとの情報も得た。このため、次にプレパラートを自作することとし、まずは動物組織(ラット、マウス)のプレパラート作成を試みた(眼球、小腸、脾臓、骨髄等)。しかしながら、マウス・ラットはヒトの組織構造とは異なる部分が多いため、人体組織プレパラートの作成の必要性を感じるに至った。人体組織からのプレパラート作成については、当初は附属病院病理部が保有する正常組織からの作成を企図したが、当院では個人情報保護の観点から病理部保有の組織を医師でない部外者が扱うことは困難なため(保管組織の検索が難しい)、病理部保有の組織を用いることは断念した。一方、解剖学講座では年間40体前後の献体を学生実習で解剖し、また献体登録者やその親族から「ご遺体の一部を教育や研究に用いることの承諾書」が得られている。よって、解剖実習が終了した献体からの組織採取・プレパラート作成を試みた。しかしながら、葬儀等により死後長時間経過した(2～3日)ご遺体も多く、また実習中の乾燥等により自己融解や組織収縮等が多々認められたが、組織によっては比較的満足のいくプレパラートも幾つか作成できた。

【考察】解剖実習に用いたご遺体(献体)からの組織学実習観察用プレパラートの自作は可能であり、昨今の社会的な情勢を考慮すると、このような手段も十分検討すべきであると思われる。これと同時に、今後は、このようなプレパラート作成を念頭に置いた上での、献体からご遺体の固定・保存、解剖実習までを行なう必要があると思われる。

マウス脳の透明化の検討

基礎生物学研究所 技術課 大澤 園子

【目的】

脳神経の研究においては、蛍光タンパク質や蛍光トレーサー、蛍光染色などで神経細胞を蛍光ラベルして細胞種の同定や神経回路の解析を行うことが多い。この蛍光シグナルを観察するために、共焦点顕微鏡や2光子励起顕微鏡を用いるが、脳は不透明なので深部に向かうほど精細に観察できなくなる。脳の内部構造を見るためには、一般的に脳を切片にしてそれぞれを撮像するという手法がとられてきた。しかし、三次元的な位置関係を知るには、それらの画像をつなぎ合わせて再構築する必要があり、手間がかかる上に、つなぎ合わせの正確さに問題があった。

ここ数年、脳を透明化して丸ごと（切片を作製せずに）蛍光観察する手法が相次いで開発されている。透明化手法としては、Scale、CLARITY、SeeDB、CUBICなどがある。

私が所属する研究室では、主にマウスを用いて実験をしているので、マウス脳を透明化し、顕微鏡で観察することを目的に検討を行った。

【方法】

2014年のCUBICの論文⁽¹⁾に従った。アミノアルコールを含むCUBIC-1試薬、CUBIC-2試薬を作製し、固定したマウス脳を順に約1週間ずつ浸け透明化した。

【結果】

CUBIC試薬は非常に粘性が高く、さらに溶けにくいため、試薬の作製には苦勞したが、CUBIC-1、-2試薬に浸けることで、マウス脳を透明化することができた。

透明化脳の観察に適した顕微鏡を探索するため、研究所にある様々な顕微鏡で観察を試みた。蛍光実体顕微鏡、マクロ共焦点顕微鏡、共焦点顕微鏡、2光子励起顕微鏡等で観察した。2光子顕微鏡に比べると深部観察には不向きとされる共焦点顕微鏡でも、かなり深部まで撮影することが可能となり、その画像を基に三次元構築することができた。

【考察】

今回は、脳を透明化することが目的であったが、今後は、「見たいものが見えるように」透明化技術と顕微鏡の選択等を結び付けて、研究に活かしていきたい。

【参考文献】 (1) Susaki, E. A. et al. Cell 157, 726-739 (2014)

遺伝子欠損骨疾患マウス下顎骨の骨質測定

大阪大学大学院 工学研究科 藤谷 渉

【目的】生体アタイト (BAp) 結晶は、生体内の部位に応じて配向し骨の力学機能を発揮している。従って、BAp 配向性を適切に制御することは極めて重要である。前回までに下顎骨において咀嚼の有無により歯根直下の局所領域で、BAp 配向性が複雑な *in vivo* 応力分布を反映していること^{1,2)}、また大理石骨病を呈する *op/op* マウスでは破骨細胞欠損に起因する骨代謝回転が BAp 配向に強く影響を与えること^{3,4)}などを明らかにし報告した。

本研究では咀嚼障害モデルとして主に破骨細胞機能不全を呈する *c-src* 遺伝子をノックアウト (KO) した「遺伝子欠損」による骨疾患マウスに注目し下顎骨における BAp 配向と骨力学機能制御因子について検討した。

【方法】破骨細胞機能不全 (*c-src* 遺伝子ノックアウト (KO) マウス) を準備した。摘出した下顎骨に対し、主に近遠心方向に垂直な断面内の皮質骨領域の各部位において解析を行った。骨密度の測定は pQCT 法で行った。近遠心方向に沿った BAp 配向性は反射型微小領域 X 線回折法で解析した。また、力学機能の指標としてナノインデンテーション法によるヤング率の解析を行った。形状観察はソフト X 線および μ CT により行った。組織観察は HE 染色、ALP 染色そして TRAP 染色などを施し行った。

【結果】近遠心方向の BAp 配向性の変化は遺伝子欠損および咀嚼荷重排除モデルにおいて影響が顕著に現れた。特に遺伝子欠損モデルの *c-src* KO マウスでは、対照群に比べて骨密度、BAp 配向性そしてヤング率いずれも低くなった。近遠心方向に垂直な骨断面内の皮質骨領域の各部位における BAp 配向分布は、げっ歯目特有の特徴的な変化を示した。一方、ヤング率は骨密度に比べて BAp 配向性との間でよい相関が認められた。染色後の光学顕微鏡観察は *c-src* KO マウスでは骨組織の乱れや骨芽細胞の ALP 活性の陽性反応の低下などが確認された。

【考察】遺伝子欠損モデルにおいてヤング率変化が骨密度変化に比べて BAp 配向変化との間で強い相関が認められたことより、遺伝子欠損骨疾患マウス下顎骨においても正常の場合と同様、骨力学機能に対しては骨密度よりも配向性の寄与が大きく、下顎骨における骨力学機能には、BAp 配向性が極めて重要であることが明らかとなった。

【参考文献】

- 1) 藤谷 渉 “新規骨質評価法による下顎骨の骨質解析”
生理学・生物学技術研究会報告 (2008) pp22
- 2) W. Fujitani and T. Nakano “Change in biological apatite orientation in beagle mandible” *Materials Science Forum*, Vols. 654-656 (2010) pp2216-2219
- 3) 藤谷 渉 “大理石骨病マウス (*op/op* マウス) 下顎骨の骨質測定”
生理学・生物学技術研究会報告 (2015) pp62
- 4) 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

単為結果性ミニトマトの冬季無加温栽培における 堆肥発酵熱利用の試み

京都大学大学院 農学研究科 附属農場 西川 浩次, 岸田 史生, 若原 浩義

【目的】単為結果性ミニトマト‘京てまり’は受粉・受精の有無に関わらず果実の着果・肥大を誘導するため、花粉稔性が低下する低温条件下でも安定した生産を可能とする。我々はこれまでこの品種を用いて冬季に化石燃料による暖房を全く行わない栽培（冬季無加温栽培）の実証試験を行い、無加温栽培は可能であるものの、低温が原因と思われる果実の小型化により収量が減少することを明らかにした。本研究では、低温対策として堆肥の発酵熱に着目し、冬季無加温栽培における堆肥発酵熱の効果について検討した。

【方法】無加温硬質フィルムハウスで実験を行った。畝幅は160 cmとし、その中央に幅40 cm、深さ20 cmの根域制限床を作成した。2014年10月18日に株間40 cm、2条千鳥植えで苗を定植した。定植床に被覆資材で高さ3m、幅2m、長さ7mのトンネルを4つ設置し、半熟馬糞堆肥、切りワラおよび発酵促進剤を混合したものを畝間に施用した堆肥区と何も施用しない対照区を各2区ずつ設けた。2014年12月1日から2015年3月29日まで、畝面から1m付近の気温、地温および炭酸ガス濃度を計測した。2014年12月8日から2015年3月24日まで週2回果実を収穫し、総重量、果実数および糖度を記録した。

【結果】日最低気温と日平均地温は12月から1月に向けて低下し、2月中旬から上昇した。また、試験区間で日最低気温および日平均地温に大きな差は認められなかった。炭酸ガス濃度は12月上旬から2月中旬まで対照区より堆肥区で高く推移した。試験期間を通じて月平均収量と月平均果実重は大きな差は認められなかった。月平均糖度は堆肥区で対照区よりも高く推移した。

【考察】堆肥発酵熱を利用することで低温条件を緩和し、果実の小型化を抑制しようとしたが、それには至らなかった。試験区間で日最低気温と日平均地温に差が認められなかったことから、堆肥発酵熱の効果は小さかったと考えられる。またその結果、試験区間で月平均収量と月平均果実重に大きな差は認められなかった。一方で、炭酸ガス濃度は12月上旬から2月中旬まで対照区よりも堆肥区で高く推移し、堆肥由来の炭酸ガスが発生したと考えられる。炭酸ガス施用による果実糖度の上昇は広く知られており、今回の試験で観察された堆肥区における糖度の上昇は堆肥由来の炭酸ガスの影響であると考えられる。今回の実験で、堆肥発酵熱を利用することができなかった要因として、堆肥の量が少なかったことや発酵過程に不備があったことが考えられ、今後、施用量ならびに切り返しや灌水など発酵を促進する管理について検討する必要がある。

藍の栽培管理が生葉染めに与える影響

鹿児島大学 教育学部 龍野 巳代, 瀬戸 房子, 池田 充

【目的】藍は、古くから青色の染料として用いられ、栽培が容易な植物である。藍染めの中でも特に生葉染めは染色工程も簡便であり、学校教育への教材化が可能である。しかし、生葉染めは新鮮な葉を用いる必要があり、特に葉が茂る7月から花芽が付く9月ごろまでの期間に行うとききれいな青色に染まる。昨年、藍の葉を遮光することにより9月以降においても青色色素の残存傾向が認められた。そこで本研究では9月から2ヶ月半に渡り、藍の生葉染めを行い、遮光による藍葉の色素残存量への影響について検討した。また、剪定（切り戻し）後の1番刈りより青色色素が少ないとされる2番刈葉についての比較も行った。

【方法】

- ① 藍葉の栽培管理：藍は藍科のタデアイ（学名：*Polygonum rinctorium* Lour.）を用いた。種は市販のものを購入し、栽培は鹿児島大学教育学部実習地圃場内の露地にて行った。肥料として化成肥料（8：8：8）、牛糞堆肥、油粕、石灰を使用し、2穴の穴あきマルチで覆った。タデアイを5月中旬に播種し、草丈約50cmになった頃（8月5日）、面積の半分はそのままにし（1番刈り）、残り半分の株を地面1～2cmのところから剪定（切り戻し）を行い、側枝が成長し花芽をつける前（9月11日）、1番刈りと2番刈りの各々半分に遮光率が約60%の寒冷紗を被せ遮光処理を行った。そして栽培管理を（1）1番刈遮光無区（2）1番刈遮光有区（3）2番刈遮光無区（4）2番刈遮光有区の4つの処理区に分け、1週間に1回、各区の葉を収穫し、9月11日～11月27日で計11回、生葉で染色した。
- ② 生葉による絹布の染色：収穫したばかりの葉10g、蒸留水100mlをミキサーで30秒攪拌し、絹布0.2gをムラ染めにならないように手でもみながら10分間染色を行った。そして、染色布を軽く絞り、5分間風乾したあと水で溜め濯ぎをし、乾かした。染色布の色彩測定は色彩色差計（CR-200、ミノルタ）で行い、JIS L8729に準じてL*a*b*表色系で数値化した。

【結果】1番刈区において遮光の有無で比較すると、染色実験開始2ヶ月後から遮光無区において青色色素の減少が見られ最終的には緑色に染まったが、遮光有区では2ヶ月半たっても極端な減少傾向は見られず、青色のままであった。また2番刈区では遮光有区において青色色素の減少が抑制されていた。遮光無区の1番刈区と2番刈区を比較すると、1番刈区の方が青色色素の減少がみられ、遮光有区においては2番刈り区の方がわずかではあるが青色色素の減少傾向がみられた。明度についても、遮光無区においては2ヶ月以降、明度が高くなる傾向がみられた。

ネットワークを介した攻撃通知への対応とその実例

基礎生物学研究所 技術課 中村 貴宣

【目的】 所属する情報管理解析室では、共有メモリ型サーバと分散処理用計算機クラスタを主軸とし、大容量ストレージを有した「生物機能情報解析システム」を運用し、生物情報の解析やデータベースの構築などの支援を行なっている。これに加え、岡崎3機関内の情報ネットワークシステムの構築・整備・運用や、所内ユーザーから依頼される情報サービスの構築相談なども対応している。

近年、ネットワークに関する外部からの攻撃手法は年々巧妙化しており、岡崎3機関も例に漏れず攻撃にさらされている。そのような外部からのネットワーク脅威に対して、岡崎3機関では、外部と内部の通信を担うファイアウォールに、監視装置である”FireEye”を導入した。これは攻撃と疑わしき通信があった場合に、警告を出して管理者に伝えるものである。今回はこのFireEyeの通知が来た際に行っている対応と、その実例を示す。

【概要】 FireEyeは、ファイアウォールを介した内部（＝岡崎3機関内）と外部の通信を監視、取得する。そしてその通信に攻撃と疑わしき内容があった場合、管理者に通知を出し、必要があればその通信自体を切断する。FireEyeの出す通知には様々な種類があるが、脅威度により3段階に分類される。通信内容や通信先の情報から、端末に不正な操作が行われているという確率がより高い場合、脅威度は高く評価される。

【結果】 FireEyeからの通知が来た場合、下記の順に従った対応を行っている。

- 1) 脅威度の確認： 通知文を読み、脅威と脅威度の確認を行う。
- 2) 端末の特定： 通知文にある情報から、問題になっている端末を物理的に特定する。
- 3) 通信状態の確認： 問題となった通信が今なお行われているかどうかの確認を行う。
FireEyeによってなされた処理が通知文に記載されていることもある。
- 4) 担当者へ連絡： 端末を所持している部門の情報管理解析室担当者に連絡を入れる。
その際、いくつかの質問をし、回答をしてもらうよう促す。
- 5) 回答対応： 担当者からの回答に対して、さらなる対応が必要かどうかを吟味する。
- 6) 接続復帰： 問題がなければ、該当端末をネットワークに復帰させる。

【考察】 脅威度が低い場合、即座に端末に影響があるわけではないので、個別の対応を行わずにすむケースが多い。また、警告の出る頻度が多い通知に対し、所内全体に向けた注意喚起と、主だったソフトウェアの更新を行っておくことが重要であると思われる。

メナキノンの化学合成と精製方法の検討

九州工業大学 情報工学部 楠本 朋一郎

【目的】

呼吸鎖酵素複合体は細胞呼吸の要であり、生物が活動するのに必要な大量の ATP を産生する。ミトコンドリアや大腸菌では電子伝達体としてユビキノンが使われるが、メナキノンはグラム陽性菌を始め広く電子伝達系で使われる。呼吸鎖酵素の酵素学的研究にはキノンが必須であるにもかかわらずユビキノンは現在市販されているが、メナキノンは市販されていない。所属研究室で以前外部より供与して頂いたメナキノン-1、-2 を使用していたが、2年前に使い切った状況である。4年生に2年間作らせてみたがうまく行かなかったため、自らメナキノンの合成を試みた。

【方法】

メナキノンは自然界ではゲラニル基が7~8個メナジオンについた MK-7、8 として存在するが、*in vitro* での酵素学的実験の際には水溶性が極めて低く使用し難いので MK-1、2 を主に使用する。出発物質として市販されており価格もさほど高くない、メナジオン、臭化ゲラニルを使用することとした。

(1) 第1段階反応：メナジオンの臭素化

ナス型フラスコに、メナジオン、酢酸、酢酸ナトリウム、臭素を入れ、遮光しつつ室温で3日間攪拌。蒸留水で希釈後、ろ過。ろ過物を酢酸エチルで溶解、エバポレーターで溶媒除去。残渣をメタノールに溶解して、室温で2~3日静置して再結晶。ろ過、乾燥。

(2) 第2段階反応：臭化物の還元

ナス型フラスコに、塩化スズ、塩酸を入れて30分間攪拌後、第1段階終了後の臭化物、エタノールを加えて3時間室温で攪拌。水を加えた後80℃で白濁物を透明化、冷蔵庫内で1日再結晶。ろ過、乾燥。

【結果】

(1) 第1段階反応

臭素、メナジオン等を入れて攪拌すると、1日目までは赤褐色の臭素の透明な液体であったが、2日目になると溶液はオレンジ色へと変化し微細な黄色い結晶が生じた。3日攪拌後、水を加えると黄色い結晶が大きくなった。これをろ過後、残渣を水で良くすすいで酢酸ナトリウムを除去した。これをメタノールに溶解しようとしたが中々全体を溶解させることができなかつたので、80℃のウォーターバスで加温して溶解させた。再結晶は室温1日では不十分であったので、2日室温に静置後、冷蔵庫内で1日静置して再結晶させた。合成後の臭化物は薄黄色の微細な針状結晶で、MALDI-TOF-MS の分析で臭化物の分子量である251が確認できた。第1段階反応は計7バッチ合成し、見かけの収率80-90%と安定して回収することができるようになった。

(2) 第2段階反応

攪拌直後は茶褐色となったが、攪拌1時間後にはごく薄黄色の透明化溶液となった。これに水を加えると白濁し、加熱すると再び透明化した。従来加えていた水の量では収率が低かつたので、水の量を1.5倍に増量することで85%程度の見かけの収量となった。TOF-MS の測定結果から水素還元された分子量である253を確認できた。

【考察】

臭素化、更に水素還元化は概ねうまく行ったように考える。ただし、還元臭化物の TOF-MS のスペクトルを見ると目的物以外の副反応生成物も生じているようにも見えるので、これらが今後の反応に与える影響を注意する必要があるように思う。ここまでは、過去の4年生もうまく行っているため、次は酸素保護のためのメチル基の付与、グリニア試薬の作製、ゲラニル基の導入、脱保護と進めていく予定である。

1 分子極長鎖 DNA シーケンサー PacBio RSII を用いた ゲノムシーケンスと全長トランスクリプトシーケンス

基礎生物学研究所 技術課 山口 勝司

【目的】第3世代 DNA シーケンサーと呼ばれる PacBio は 1 分子の 1 本鎖 DNA を鋳型として、1 分子の DNA polymerase による相補鎖合成過程をリアルタイムで検出することで、塩基配列を決定する。用意された 1 本鎖 DNA の長さか、DNA polymerase 活性持続の限りまで極長鎖配列を決定することが可能であり、現行平均リード長は 15k base 以上に至っている。今年度よりこの機器の運用を行うこととなり、実験手順や解析手順の把握に努めた。この機器の特徴を紹介すると共に、長い配列を安定的に得るために工夫している DNA 調製技術を報告する。また全長トランスクリプト配列を決定する手法についての実施例も述べたい。

【方法】DNA およびトランスクリプトのシーケンス手順について以下の流れである。

・極長鎖 DNA シーケンス

極長鎖 DNA シーケンスには高い質と十分な量のゲノム DNA を用意する。これらを専用のキットを用いて損傷修復・ニック修復・平滑末端化を行い、両端に専用のアダプターを付加させる。専用のアダプターは両端が相補的配列のダンベル構造となっている。よってアダプター付加後、DNA の 2 本差を熱乖離させてやることで、1 本鎖のサークル状のシーケンスライブラリーを得ることになる。これに 1 分子の DNA polymerase とシーケンスプライマーを付加し、シーケンスセルの基部に固着させシーケンスへと進める。

・全長トランスクリプトシーケンス

単離した mRNA から SMART 法により 2 本鎖 cDNA を合成する。SMART 法は 5' 末端まで逆転写伸長したもののみ 2 本鎖 cDNA 化されるため、mRNA 分解に注意すれば、基本的に全長 cDNA を得ることができる。この cDNA を先の方法と同様ライブラリー化し、シーケンスへ進める。

【結果】極長鎖シーケンスを何度か行ったところ、用いる DNA によって、ライブラリー化効率やシーケンスクオリティーが大きく異なる結果となった。用意する DNA クオリティーの向上や評価体制が重要と考えられた。長鎖 DNA の単離法は確立できたものの、さらなる精製として磁性ビーズ精製、電気泳動精製、カラム精製などの検討では、まだ明確にこの方法で完全という結論には至っていない。全長トランスクリプトシーケンスは mRNA の長さにより、シーケンスセル基部への導入効率が異なることが知られている。サイズを 4 段階に分けて進めるというマニュアルに従うことで、短いものだけに偏らずに配列結果を得ることが確認できた。

【考察】DNA の精製法は生物種や部位によっても異なると考えられ、ケースバイケースの事例が想定された。シーケンスクオリティーを既定するポイントの把握を目指したい。全長トランスクリプトームは良好な結果であったが、サイズを 4 段階に分けることでライブラリー作製コストは 4 倍になってしまう点が課題である。

口演発表

(奨励研究採択課題技術シンポジウム)

組みマイコンとプログラマブルデバイスによるハイブリッド制御学習システムの構築

東北大学 工学部・工学研究科 阿部 茂樹

【目的】マイコンやプログラマブルデバイス (FPGA: Field-Programmable Gate Array) は、組み込みシステムに搭載される中心となるデバイスであり、技術者のニーズが高いにもかかわらず技術的な知識を獲得する機会が少ないのが現状である。本研究では、論理回路学習はもとより組み込みシステムに使われているマイコン各種やプログラマブルデバイスを用いた実習を通してシステムの構成方法について学習し、さらにはこれらを複数用いたハイブリッドシステムを構成することを目的としている。そのためには、種々のマイコンの特長やプログラマブルデバイスの利点を知ることが重要となるため、それぞれのデバイスを用いたシステムを構築しており、今回はその中の事例を紹介する。

【方法】デバイスの特長を知るための例として、今回は以下の3例について紹介する。

- (1) 教育向けロボットを用いた機能拡張については、Arduino と Raspberry-Pi を併用することにより、様々な状況に対応した動作をさせることができる。
- (2) 電子掲示板作製によるハードウェア構築については、ドットマトリクス LED を用いて横 40 ビット縦 8 ビット表示できるものを PIC、FPGA それぞれを用いて作製し、その外観からハードウェア量の違いを知ることができる。
- (3) 演算アルゴリズムを用いた性能評価については、入力する 2 進数を 10 進数に変換 (BCD 変換) して 7segLED に表示させるプログラムを、減算法とシフト演算法の 2 種類作成しその評価を行った

【結果】(1)については、Arduino のみを使用した場合と比較し、Raspberry-Pi を併用することで無線制御を可能にするなど機能を拡張することができる。(2)に関しては、実際に PIC と FPGA のそれぞれを使った電子掲示板を作製することにより、ハードウェア量の違い、機能の違いを示すことができる。(3)については、2 つの BCD 変換アルゴリズムを FPGA 上で構築し、演算速度の違いや使用面積の違いなどについて評価を行い、シフト演算法が減算法に比較し高速であることを示している。

【考察】本研究では、ハイブリッドシステムを構築するための前段階として、まず個々のマイコンやプログラマブルデバイスの特長を知ることが重要であると考え、その例として上記のデモンストレーションシステムの作製を行い、その動作検証を行うことができた。今後は、この知識を活かしてハイブリッドシステムの構築に向けた応用を考え、この分野の人材育成のための効率的かつ理解しやすいシステムの構築を目指す。

ネットワーク管理業務効率向上のための 拡張現実感による構成情報の可視化

大分大学 工学部 技術部 原 慎 稔 幸

1. 研究背景

私の職場である学科では、独自に教育用電子計算機システムと学科内ネットワーク (Local Area Network, LAN) を導入しており、私はそれらの運用管理を担当している。LAN の構成情報には、ネットワーク機器を LAN ケーブルなどで繋いでいる物理的情報と、ネットワーク機器に設定された IP アドレスや VLAN などの論理的情報があり、管理作業時にはこれらを正確に把握する必要がある。しかし担当者が現場で作業をおこなう際には、物理的な構成情報の一部は目視で確認できるものの、論理的情報は、ノート PC などの入出力端末を使いネットワーク機器に接続して確認する必要がある。

2. 研究目的

そこで本研究では、ネットワーク管理作業の際に構成情報を迅速に把握することを目的として、拡張現実感 (Augmented Reality, AR) によるネットワーク構成情報の可視化システムを構築する。このシステムでは、ネットワーク管理作業時に頭部装着ディスプレイ (Head Mounted Display, HMD) を装着することで、作業者が現実に見ている視界に、ネットワーク機器の構成情報を AR コンテンツとして重ねて表示する。本システムを実現することで、学科内 LAN の運用管理業務における作業効率の向上を目指す。

3. 研究計画・方法

本システムの HMD は無線 LAN とカメラ機能を有しており、作業者は HMD を装着して構成情報を表示したいネットワーク機器を見る。無線 LAN ステーションから取得した電波の状況で作業者の位置を推定し、カメラで撮影した映像から機器を特定し、情報を表示する。なお本研究は、以下の手順により遂行する。

- 1) HMD の画面上にネットワーク機器の構成情報を AR 表示するアプリケーション開発
- 2) 無線 LAN 電波から作業者の居場所を推定するための無線 LAN 情報管理サーバの構築
- 3) ネットワーク情報を格納し、AR により情報提供する機器情報管理サーバの構築

なお、これらを遂行するうえで利用する HMD 型情報端末は、透過型 HMD 「Moverio BT-200」を想定している。この情報端末の OS は「Android」であるため、この端末上で稼働するアプリケーションを開発するための環境として「Eclipse Android Developer Tools」を用いる。また、撮影した映像からネットワーク機器を検出し、AR による情報提示をおこなう処理は、AR 開発ライブラリ「Vuforia SDK」を用いて実装する計画である。

なお、本研究には法令等に基づく手続きが必要となる調査・研究・実験等は含まれない。

赤外線放射温度計では測定不可能な水中で温度変化をする物体の可視光による温度測定

東京大学生産技術研究所 機械・生体系部門 技術専門員 上村 光宏

【目的】赤外線放射温度計は物体から放射される赤外線を計測することで温度を計測するもので工業など様々な分野で広く使用されているが、物体と放射温度計の間に水が存在すると物体からの赤外線が水に吸収され減衰するので正確な計測は不可能である。ところで工業的に重要な金属の焼入れによる組織改質など水を使った冷却が広く利用されているが、水中の温度変化を測定する方法は、熱電対などのセンサーの出力電圧を計測する方法が用いられている。一方で今後より一層の省エネルギー技術の向上や、熱交換器の技術革新に必要な熱伝達促進の為の一つの方法である電場の印加による伝熱促進では、電場が印加されている中での電氣的な温度測定では温度センサーの出力にも電場の影響があり電圧測定が可能な実験系には制限があり精密な温度測定は行われていない。また、温度センサーを物体に設置することは物体周りの物理的環境を乱す恐れもあり、数値計算の精度向上の為の検証実験における精密な測定には実験系によっては適しておらず、物体に非接触での温度測定が切望されている。そこで本研究では水中の物体の非接触での温度測定や、水中で電場が印加されている環境での物体の温度変化を測定する手法を確立することを目的とする。

【方法】先ず可視光の反射率が物質の表面温度によって変化し十分な精度で測定可能であることを確認する。反射率の変化が測定できる程度に大きければ次の手順で温度計測を行う。①沸騰実験で温度測定と同時にビデオ撮影 ②ビデオ映像の1コマ毎にRGBを計測 ③温度とRGBとの回帰曲線を求める。④電場を印可した沸騰実験のビデオからRGBを計測 ⑤回帰曲線にRGBを入力し温度を求める。

【結果】被測定物の自発光量と外部から照射する可視光の反射量をビデオ画像の映像解析からRGB明度として求めることで水中の伝熱面の温度を非接触で計測した。また電場による沸騰伝熱促進効果を冷却曲線により示すことができた。

【考察】可視光による温度測定法として2色法があるが、被測定物の自発光を測定するので高温に限られ温度範囲に制限があるが本測定法は照明の反射光を測定するので照明方法等で温度範囲に制限が無いと考えられる。可視光による温度測定は吸収率の温度変化から水温を測る報告があるが水中の物体の温度変化を測定した報告例はない。今後は測定条件を整理し高精度化を目指したい。

Arduino を用いた放射線検出器教材の開発

富山大学 研究推進機構 水素同位体科学研究センター
阿部 信介, 坂口 春菜, 原 正憲

【目的】 放射性同位元素を用いた研究, 実験を行う際には放射線検出器が必要不可欠である。放射線検出器を用いる場合は, 原理を深く理解した上で使用することで正確な測定結果を得られ, またその測定結果が持つ意味も理解できる。しかし, 放射線検出器を用いる上で必要な種々の回路は既成品が用いられているため, 利用者が自ら信号を測定に適した形に操作する必要がない。そのため, 実際の信号の操作の過程を利用者に対して学習させることが難しい。発表者は, 放射線検出器から出る信号を専用の電子回路ではなく, 安価なマイコンボード Arduino によって置き換えて自分で信号の加工を学べる教材の開発を検討した。

【方法】 本研究では, 光電子増倍管アセンブリは, 浜松ホトニクス製の H3187-51, 光電子増倍管アセンブリに高電圧を印加する電源として浜松ホトニクス製の C9727, 液体シンチレータは, パーキンエルマー製の Ultima gold AB, γ 線源は日本アイソトープ協会の ^{22}Na 密封小線源 $9 \times 10^5 \text{Bq}$ (2014/9/29 時点) を用いた。アルミケースに穴を開けて光電子増倍管を取り付け, 光が入らないように遮光した。光電子増倍管の窓の前に液体シンチレータを設置し, 密封小線源からの γ 線を受けて発光した光を検知する。 γ 線源となる密封小線源は, アルミケースを開けること無く液体シンチレータとの距離を変えられるような仕組みにした。本研究で用いた光電子増倍管は陽極接地型で出力が電流として得られるため, 電流値と密封小線源-液体シンチレータ間の距離の関係をプロットし, 逆二乗則に当てはまるかを調べた。

【結果と考察】 最初に遮光したアルミケースに光の漏れの有無を調べた。光電子増倍管を取り付けたアルミケースを簡易暗室の中に入れてバックグラウンド電流を測定する。その後, 簡易暗室の暗幕を開放し, 電流値を測定した。結果, 電流値が変化しなかったため, アルミケースの光の漏れは無いと判断した。これ以降の実験は, アルミケースに急な光の漏れが発生しても光電子増倍管の破損が無いように簡易暗室の中で行った。

光電子増倍管からの電流値と密封小線源-液体シンチレータ間の距離の関係をプロットした結果, 密封小線源の距離が離れるに従って急激に電流値が減少するような傾向が見られた。次に電流値の平方根の逆数と密封小線源-液体シンチレータ間の距離の関係をプロットした結果, 傾きが一定の直線となったため, 逆二乗則に当てはまり, 放射線検出が可能であると思われる。今後は, 放射線を検出する検出部が完成したため, 電流の変化を電圧の変化に変換する回路を作製し, Arduino に読み込ませる予定である。

デジタル PCR を用いた DNA 損傷分析法の確立

佐賀大学 総合分析実験センター 森 加奈恵

【目的】

本研究は、デジタル PCR システム (Bio-Rad) を用いて、電離放射線 (以下、放射線) によって生じる特異的な DNA 損傷を分析する手法を確立することを目的とする。放射線は、極めて致死性の高い傷害因子であり、その傷害メカニズムは遺伝物質 DNA への特異的な損傷発生によると考えられる。放射線照射された DNA や細胞に対して PCR 反応をかけると、損傷部位で PCR 反応が途絶し、DNA 損傷数に依存してポジティブのカウント値が低下していくと考えられる。

【方法】

(1) 放射線照射：プラスミド DNA pUC19 を、濃度 $5\text{ng}/\mu\text{L}$ となるように 1 M ジメチルスルホキシドを含んだ 10 mM トリス塩酸緩衝液で溶解し、吸収線量 0 ～ 500Gy でガンマ線及び重粒子線照射を行った。

(2) デジタル PCR 分析：照射 DNA サンプルに、デジタル PCR 用試薬とプライマーを混ぜ、反応溶液を作製した。専用カートリッジに反応溶液とオイルをアプライし、QX200 Droplet Generator によりドロップレットを作製した。ドロップレットを専用 PCR プレートに移してシールし、サーマルサイクラー T100 を用いて PCR 反応を行った。その後、QX200 Droplet Reader により、蛍光検出を行った。

(3) リアルタイム PCR 分析：デジタル PCR の結果を評価するため、コントロール実験として、StepOnePlus (Thermo) によるリアルタイム PCR 分析を行った。 C_T 値 (蛍光レベルが増幅プロットの閾値と一致する PCR サイクル数) を比較し、増幅効率を検討した。

【結果・考察】

デジタル PCR 及びリアルタイム PCR の結果は、放射線照射 DNA テンプレートの線量依存的な増幅効率の低下を示した。すなわち、線量が大きくなるにつれ、PCR 増幅に影響を与える大きな損傷が入っていることを示唆している。

ドロップレットには細胞を封入することができるため、今後は細胞を用いた DNA 損傷分析を行い、放射線損傷分析におけるデジタル PCR の有効性について検討を行う予定である。

当センターに新規導入されたデジタル PCR システムの利用者からは、操作の煩雑さやサンプル調製時における最適濃度決定の難しさに対する相談が多い。自分で実験操作することにより、利用者の実情がよく理解できた。デジタル PCR での最適濃度は、リアルタイム PCR の C_T 値 = 30 が基準とされているが、実際はサンプルに応じて調整が必要であることもわかった。今後はこれらの経験を活かしてアドバイスしていきたい。

新しいグリコサミノグリカン二糖解析方法 —古典的二糖化法と、現代的検出法との融合—

島根大学 医学部 代謝生化学 長子 晴美

【目的】 疾病や老化に伴う運動器の疼痛や機能障害の予防・治療を目的として、その発生・進行機序を解明するため、関節軟骨に高い割合で含まれるグリコサミノグリカン (GAG) を詳細に解析する方法を確立して昨年度のこの会で発表した。その方法を用いて解析するにあたり、見えてきた欠点についての改良法について検討する。

【方法】 この方法はGAGを二糖化酵素で処理した後、液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法 (LC/MS/MS) で測定する。今回、以下の点を改良したいと考えた。

- (1) 1回の測定に25分必要だったので、カラムと測定条件を変更することにより、スループットを上げる。
- (2) 4クラスに特異的な二糖化酵素 (コンドロイチナーゼ、ヒアルロニダーゼ、ヘパリチナーゼ、ケラタナーゼ) を必要とするので、化学的に二糖化することにより、酵素に依存せず、すべてのクラスを網羅的に解析する系を作る。

【結果】

- (1) 移動相の温度と流速を上げ、カラム長を短くすることで、25分の系を5分に短縮できた。
- (2) 古典的な二糖化法である亜硝酸を用いる方法で、長鎖 GAG から二糖を作成し、LS/MS/MS で感度良く定量できるよう、チャンネルを設定した。

【考察】 酵素による二糖化産物の解析はハイスループットで行えることになった。この解析を進めながら、化学的二糖化法との比較をしたい。

【参考文献・資料】

Osago H *et. al*, Quantitative analysis of glycosaminoglycans, chondroitin/dermatan sulfate, hyaluronic acid, heparan sulfate, and keratan sulfate by LC-ESI-MS/MS. *Anal. Biochem.*, 467: 62-74 (2014)

低融点ゼラチンを活用した標本作製法の開発

名古屋大学 全学技術センター 医学系技術支援室 牛田 かおり

【背景】

組織切片を作製する方法には、パラフィン標本・凍結標本・マイクロスライサー標本等があり、目的に応じて選択される。いずれの方法においてもマウス組織や胎児、浮遊細胞など不安定な形態のサンプルを損傷することなく正確な方向・位置関係を保ちつつ標本作製することは難しい。平成25年度の奨励研究では、室温で溶解し4℃で固化、ホルマリン固定により室温での固形状態を保つ魚由来低融点ゼラチンを利用して、パラフィン標本作製時の低融点ゼラチンの有用性を確認し、本研究会で報告した。今回、引き続きパラフィン標本以外の凍結標本・マイクロスライサー標本について、従来の手法と低融点ゼラチンを用いた手法とを比較検討したので報告する。

【方法】

- 1) **マイクロスライサー標本**：2～5%低融点ゼラチンで予備包埋した組織を、4℃10%中性緩衝ホルマリン液固定後Leica社製振動刃ミクロトームVT1200Sを用いて50～100 μ mの厚さに薄切した。
- 2) **凍結標本**：2～5%低融点ゼラチンで予備包埋した固定・未固定組織及び浮遊細胞それぞれを凍結用コンパウンド包埋、凍結させLeica社製クライオスタットCM3050Sにて凍結切片を作製した。

【結果・考察】

魚由来低融点ゼラチンは、室温で可溶であるため操作性に優れ、組織との馴染みも良いことから、アガロースやアルギン酸ナトリウム使用時のように組織がはずれてバラバラになることなくマイクロスライサー切片を作製することができた。凍結切片作製においては、熱侵襲を受けることがなく、失敗してもやり直すことができるので正確な方向・位置関係で予備包埋を行うことができた。また、未固定組織への利用も可能であり、切片強度を保つことから、しわの少ない滑らかな凍結切片を作製することができ、病院病理検査において、迅速病理診断への応用が考えられた。更に、アガロース、アルギン酸ナトリウムを用いた場合には難しい浮遊細胞の凍結切片も低融点ゼラチンを用いることで良好な結果が得られた。今後、染色性などの問題点を検討しながら、様々な組織への実用的な使用を可能とするために標本作製時の各種条件(凍結法、凍結温度等)を設定することを目的としたい。

【参考文献・資料】

- ・平成25年度奨励研究採択課題 “室温下では固化しない特色を活用した超低融点ゼラチンの組織標本作製への応用”

イオン液体を用いた 無蒸着迅速走査電顕観察法の臨床医学分野への応用

鳥取大学 技術部医学系部門¹⁾, 同 卒後臨床研修センター²⁾, 同 医学部皮膚病態学³⁾
森野 慎一¹⁾, 山田 七子²⁾, 堀江 享史¹⁾, 山元 修³⁾

【目的】近年、医学・生物学分野において超微細形態を研究テーマとする研究者の減少やそのニーズの低下により、電子顕微鏡を利用されるケースは年々減少傾向にある。とくに走査型電子顕微鏡（以下、走査電顕）の利用率低下は著しく、利用者増加に向けての対策は必須である。我々は走査電顕の利用率向上の足掛かりとして、観察までに至る試料作製処理の簡便化を図るべく、近年注目されているイオン液体に着目した。イオン液体は「ほとんど蒸発しない、伝導性が高い」といった性質を持っており、同液体に置換するだけで観察可能で、試料作製の負担軽減につながる画期的な液体だと考えられている。本研究では、ヒト皮膚を研究材料としてイオン液体を用いた走査電顕観察法（以下、イオン液体法）を試み、従来、走査電顕を用いられることが少ない臨床医学分野の研究や病理診断への応用を検討し、イオン液体法の確立と走査電顕の新たな需要創出を目指すものである。

【方法】本学付属病院にて外科治療の際に生じたヒト余剰皮膚を研究材料として用いた。

- (1) 皮膚組織の固定：1/2 カルノフスキー固定液を用いて組織を2～3h 浸漬固定。
- (2) 常法による試料作製：洗浄、OsO₄ 固定、洗浄、タンニン酸に浸漬、洗浄、OsO₄ 固定、洗浄、上昇アルコール脱水、t-ブチルアルコール凍結乾燥、金属蒸着の順に行った。
- (3) イオン液体試料作製法：生体に影響を及ぼす可能性が指摘されているフッ素を含有したイオン液体と非含有のものを準備し、同液体にそれぞれ3～4h 浸漬。
- (4) 光学実体顕微鏡による検討：(2), (3), (4)で処理した試料のマクロ形態を走査電顕による観察の前後に光学実体顕微鏡にて観察記録を行い比較検討した。
- (5) 走査電顕による検討：(2), (3), (4)で処理した試料の皮膚角質層表面の微細構造を走査型電子顕微鏡日立 S-4500にて観察記録を行い比較検討した。

【結果】イオン液体法による試料は真空内でも蒸発による収縮もなく導電性も確保されており、常法による試料と同様に観察出来ることを確認した。しかし、拡大観察すると同液体が残留して試料表面の一部を覆っていることが判明した。これはイオン液体の持つ蒸発しないという性質によるものであるが、微細形態観察の大きな妨げとなった。

【考察】現時点ではイオン液体の残留問題を解決することは容易でなく、臨床医学分野への応用は時期尚早と判断した。しかし、イオン液体法は簡便に観察が出来るという大きな利点が認められたので、イオン液体法の確立に向けて研究を継続する所存である。

プロテオミクス解析による 心血管疾患の血清病態バイオマーカーの探索

島根大学研究機構 総合科学研究支援センター 生体情報 R・I 実験部門
佐藤 和美, 馬庭 朋子, 松本 健一
島根大学医学部 循環器呼吸器外科学講座 織田 禎二

【目的】

胸・腹部大動脈瘤、大動脈弁狭窄症等の心血管系疾患は、生活習慣の欧米化や高齢化に伴い急速に増加しつつあり、大動脈瘤が破裂した場合の高い致死率、外科的手術に伴う患者への多大な負担の減少のために、早期診断法の確立が待たれている。身体的負担が少なく、また、早期の発見に繋がる診断方法の一つとして、血清バイオマーカーを用いる方法の有効性は大きいと考えられる。今回、プロテオミクスの手法を用いての血清蛋白質の網羅的な探索を行い、血清バイオマーカー候補とて、また、疾患の発生や進展の機序の解明に有用な蛋白質として、心血管系疾患において発現差異を示す血清蛋白質を同定することを目的として研究を行った。

【方法】

心血管疾患血清病態バイオマーカー探索のために、胸・腹部大動脈瘤患者から採取された病態血清と健常人血清、あるいは大動脈弁狭窄症の同一患者から採取された手術前血清と手術後血清を用いて、発現差異を示す蛋白質の包括的解析を以下の手順で行う。

- (1) アルブミン/IgG 除去血清を変性・トリプシン処理後、isobaric Tag for Relative and Absolute Quantitation (iTRAQ) 試薬により標識を行う。
- (2) ナノ液体クロマトグラフ (Nano-LC) 装置による分離とマトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型タンデム質量分析装置 (MALDI-TOF/TOF MS/MS) による解析、Protein Pilot を用いての蛋白の同定を行う。
- (3) 得られた蛋白の統計的処理により、患者-健常人血清間あるいは同一患者の手術前-手術後血清間において発現差異を示す蛋白質を選出し、ウエスタンブロット法で確認を行う。

【結果と考察】

大動脈瘤患者血清と健常人血清を用いた実験では、発現差異を示す蛋白質としていくつかの蛋白質を同定しつつある。演者らは、大動脈瘤患者あるいは大動脈弁狭窄症患者について、同一患者の手術前-手術後血清における発現差異プロテオミクスによる血清病態バイオマーカーについて既に報告を行っており (Sato *et al.*, *Proteome Sci.* **11**, article 27, 2013、Sato *et al.*, *Dis. Markers* 2015, article 694120, 2015)、その結果と今回の結果との比較を行い、両解析方法の持つ特徴等についての検討を試みたい。

線虫 *C.elegans* を用いた加齢とともに生じる個体差の解析

東海大学 伊勢原研究推進部 生命科学統合支援センター 安田 佳代

【目的】 老化には遺伝子と環境が複雑に関与しているため、その原因を特定することは難しい。そこで雌雄同体であることから遺伝的に均一であり、また実験室内で環境を一定にして飼育できる、線虫の一種である *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*)を用いて解析をおこなった。遺伝子も環境も均一であるにもかかわらず大きな個体差が現れることから、個体差を加味した寿命の解析が必須であると考えた。

最近、筋肉量と脂肪量が老化や健康に深く関与していることが示唆されるようになった。そこで、線虫の筋肉構造に関わる遺伝子に蛍光遺伝子(GFP)を結合させ、その遺伝子を導入した虫の筋肉量を線虫ソーターで測定し、その後の寿命を調べることで、寿命と筋肉量の関係を明らかにするシステムを構築し、個体差が現れる原因を特定することを目的とした。

【方法】 線虫の個体差をみるために、大きさおよび蛍光強度を選別できる線虫ソーター(COPAS)を用いることとし、その条件検討をおこなった。線虫のデータベースから筋肉と寿命に関与するような遺伝子を選択し、*C. elegans genetic center* (CGC)からそのトランスジェニック線虫を入手した。これらの線虫の成虫後 COPAS で蛍光強度別に選別し、寒天培地にて寿命を測定しシステムの評価をおこなった。

【結果および考察】 COPAS による蛍光分布および選別の条件検討において、最適な条件でも全体の 10%以下の線虫しか選別できないことが分かり、およそ 4000 匹の線虫を用いることで、2 群の寿命比較実験が可能となった。次に、ソーターによる虫の寿命への影響を調べたが、COPAS を通すことにより寿命が短くなることが判明した。雑菌の混入による可能性が示唆されたため、抗生物質を添加して測定を行ったが、雑菌の混入は少ないにも関わらず寿命が短くなることから、ソーターのレーザー等が関与しているのではないかと思われた。しかしながら、同一条件(ソート)内であれば比較可能と判断し、まずは蛍光強度の強い抗酸化遺伝子を導入した虫を用いて強度別に選別し、寿命を測定した。結果としては両者に有意差が見られないが($P < 0.5$)、同一条件内の測定が可能であることが示唆された。さらに蛍光強度が弱い筋肉特異的な遺伝子 (*myo-3*) の TG 線虫を用いても選別が可能であった。

今後、このシステムを用い、若齢時のみならず高齢時の蛍光強度の測定、脂肪の蓄積に関わる遺伝子を導入することで、寿命と筋肉量や脂肪量の関係が明らかになるものと期待される。

安全衛生管理の事例研究と大学の実験室等のリスク検討

横浜国立大学 リスク共生社会創造センター 鈴木 雄二

【はじめに】

大学等の研究教育機関では依然として火災事故や人身事故などが発生しており各機関のリスクマネジメントはさらなる充実が望まれる。大学等の安全衛生管理の向上のためには、職場の安全衛生の現状と災害発生原因を把握し、災害を未然に防ぐためにリスクアセスメント（RA）によるリスク低減対策が必要である。各機関特有の課題だけでなく共通の課題もあるため、他機関で情報を共有すれば安全衛生活動の参考資料として有益であり業務の効率化の一環と言える。一方、企業における安全衛生管理は長年の実績がありリスク関連情報や安全衛生管理内容は大学人にとって有益な情報も含まれる。筆者は大学でリスク対応すべき優先課題の検討により大学の安全衛生管理の向上を目的として、大学および企業の安全衛生管理の現状を調査検討したことを報告する。

【方法】

安全衛生活動事例の情報収集として、各大学および製造業等の先進的事例を収集するため、研究集会等への参加、企業の先進事例訪問調査、他大学への訪問調査を行った。次に実験室等のリスク検討として、複数大学の安全衛生スタッフの協力により、予見可能な事故のシナリオを検討した。リスクアセスメントの考え方として安全衛生管理で最も優先すべき課題は、死亡あるいは複数の死傷者が発生するなど影響が大きいと考えられる予見可能な事故にたいする事前のリスク低減措置の実施である。

【結果と考察】

企業の調査では、安全衛生活動を徹底するための事例情報が得られた。また、安全管理におけるトップダウンの体制と社内の事故防止の意識が重要であること、大学人は責任を理解していないケースがみられること、大学での安全衛生教育は企業から見て非常に重要であるという助言が得られた。各大学の安全衛生スタッフからは、教職員の責任感欠如、構成員の入れ替わりと論文提出時期の不安全行動への憂慮などの意見が得られた。実験室のリスク検討では、機械類の取扱い、廃液の取扱い、危険または有害物質等の取り扱い、交通事故などが被害の大きい事故の要因であった。これら予見可能な重大な事故のシナリオを踏まえて、実験室等の安全の現状を再確認し、死亡その他の大事故を防止するための対策の検討と実施が今後の課題といえる。なお、この報告は平成23年度奨励研究として行った活動の成果をベースにしている（研究課題番号：23922009）。

ポスター発表

新規に導入された 7 T-MRI の紹介

生理学研究所 技術課 伊藤 嘉邦

【目的】

生理学研究所の磁気共鳴室に新規に 7 T-MRI が導入されたので報告する。

7 T-MRI は 30 t を超える大型の実験装置であり、その搬入にあたっては技術的にクリアする必要のある問題がいくつもあった。今回は、搬入時の状況と 7 T-MRI の現状等について報告する。

【方法】

ポスターでは、実際に機器を設置した時の様子などを、タイムラプスビデオやスライドショーにて紹介する。設置後、7 T-MRI で撮影した画像や設営風景等も紹介する。

なお本装置は、平成 28 年度より共同利用機器として使用されることになっていて、現在実験設備の整備を進めている。

オーディオ変換機による PC オーディオのノイズ対策

生理学研究所 技術課 伊藤 嘉邦

【目的】 研究室で行われている心理生理学実験や fMRI 実験には、PC のオーディオ出力を人に聞かせるものがある。今回、ノート PC のオーディオ出力をミキサーを経由してヘッドホンで聞かせる実験システムを構築したところ、ノイズが大きくて実験ができない状況が発生した。この実験は、人に音を聞かせて音の高低を聞き分けてもらうものであったが、ノイズ音が大きくてこのままでは実験を行うことができなかった。実験システムは、簡単な物だったので、ノイズの原因は電源経路で信号が回り込んでいるためだと思われた。

【方法】 電源経路で信号が回り込むのを防ぐため、市販のオーディオ変換機を用いてオーディオの信号配線を光ファイバーに置き換えた。

【結果】 実験に使用できないほど大きなノイズ音だったが、ノイズの無い非常にクリアな音で実験を行えるようになった。

オープンフィールド試験装置の製作

徳島大学大学院医歯薬学研究部 総合研究支援センター 北池 秀次

【目的】近年、遺伝子を操作したマウスや、遺伝的に異なった系統間での行動の違いからその要因となる遺伝子の機能を解析する研究が進められている。そのため、特定のマウス系統が示す行動を正確に把握し、比較することでその要因を明らかにすることが増々重要となってきている。筆者はこれまでも行動テストバッテリーに関する試験装置を製作しており、引き続き研究における活動性の測定において目的に応じた行動解析に対応させるため装置の製作を行ったので報告する。

【方法】オープンフィールドに用いるボックスは角型や円形の形状が一般的であり、実験動物にとって広く開口した新奇な環境が求められる。ボックスはアクリル樹脂板で製作し、トラッキングシステムは以前に報告した高架式十字迷路と同様の設計で、キャリブレーション機能を新たに追加した改良版を投入した。

【結果・考察】マウスをアリーナ内に置き試用実験を行った結果、目的に応じた計測項目について、良好な結果を得ることができた。本装置を用いることで、不安様行動と新奇環境での探索行動の増減を容易に知ることが可能となった。

無線通信を利用した灌水制御システムの開発

徳島大学 大学院 STS 研究部 総合技術センター 石田 富士雄

【目的】無線データ通信は、遠隔にあるセンサ情報収集やアクチュエータの制御において有用な技術である。その通信方式のひとつ ZigBee 規格の特定小電力無線装置を使用して、無線ネットワークを活用した土壌湿度データの収集と灌水制御を行うシステムを開発した。

【方法】ハードウェア構成は、パソコンに有線接続した無線親機と、遠隔にある無線子機及び周辺装置とする。親機は無線で子機とデータの送受信を行うとともに、パソコンとも有線によりデータ通信を行う。子機は複数の湿度センサと灌水用電磁弁駆動回路を備える。パソコンと無線親機は API によるフレームデータ通信とし、無線子機は透過モードとした。

【結果】無線子機は単独動作で複数点の土壌湿度を収集し、データは無線経路でパソコンまで到達した。パソコンでは、湿度の視覚化及び制御信号を生成し、その信号を子機へ送信した。データ収集と制御信号を無線通信で行い、ネットワークの経路変更の確認もした。

【考察】プログラミングでは API ライブラリを使用することにより効率的に作業ができた。無線通信に関しては、通信速度と動作の安定性が良好と認められ、拡張性の期待が持てる。

【参考文献・資料】<https://www.faludi.com/examples/xbee-api-library-for-processing/>

生理・生物学実験への LED の利用

生理学研究所 技術課 佐治 俊幸

【目的】発光ダイオード(LED)は、照明器具としての利用が広まっているが、従来の蛍光灯や白熱電球を置き換えるタイプの照明用 LED では実験に適さない場合がある。その様な場合には、高輝度 LED の素子を使用すると良いが、その使用方法には、いくつかの注意を要する点がある。今回は、1W, 3W, 100W の LED 素子を使用する場合の注意点を紹介する。

【方法】LED の種類によるスペクトルの測定を行い、実験使用に適しているかの確認を行う。点灯方法を確認すると共に発熱を測定する。

【結果・考察】LED は、従来の蛍光灯や白熱電球とは異なるスペクトルを有するため、実験に使用する際には、そのスペクトルが実験に適しているかを確認する必要がある。点灯に電流制限抵抗を使用すると、エネルギーロスが多く、複数の LED を点灯させるのには適していない。専用 IC を使用した定電流回路で駆動すると省エネになるが、ノイズの発生に注意する必要がある。LED は、発熱が少ないと言われるが、高輝度 LED では、かなりの発熱があるため、適切な放熱器を使用する必要がある。

所外研究者の実験サポート機器の製作

生理学研究所 技術課 竹島 康行

研究室では、人に何らかの刺激を与えたときの脳から発生する磁場（脳磁場計測装置）や電位（脳波計測装置）を計測しており、これらを計測する装置は共同研究者などの所外の方にも広く利用されている。このときの実験では外部から刺激装置などの実験機器が持ち込まれることも多い。持ち込まれた実験機器で注意することは、刺激のタイミングを示すトリガ信号の出力仕様には様々な方式があり、初めて使用する実験機器から出力されるトリガ信号は、実験に先立ち目的の役割を果たせるか確認をおこない、計測装置の入力仕様に合わなければ、その信号を変換するなどの対応策を考えなくてはならない。

トリガ信号とは、視覚刺激なら図形を提示したタイミング、聴覚刺激なら音を再生したタイミングを示す ON/OFF 信号のことで、脳磁計や脳波計などの計測装置に入力して脳反応と共に記録されるもので、研究室では主に TTL 仕様のパラレル信号を用いている。今回は、マイクロコンピュータの PIC デバイスを用いて製作した、シリアルからパラレルへの変換とパラレルからシリアルへの変換をおこなうプロトコル変換器、また、トリガ信号を利用した反応時間計測装置について報告する。

光通信を題材とした子供向け電子工作

神戸大学大学院 工学研究科 松本 香

【目的】2015年8月に「小中学生向けの夏休み研究体験（主催：電子情報通信学会 基礎・境界ソサイエティ）」というイベントが淡路夢舞台国際会議場で行われ、そのうちのワークショップ『LEDを用いた光通信を体験！』に演示講師として参加した。このイベントを通じて、小学生等で電子工作をしたことがない人でも体験できるように、「はんだをつかわない電子工作」について検討を行った。

【方法】はんだをつかわずに電子工作を行うために、基板の代わりには厚紙を、はんだの代わりにはアルミテープとホッチキスを利用し、簡易な光通信の実験装置を製作した。試作段階では接触不良が多く失敗が多かったため、工夫・改良を重ねた。

【結果および考察】端子とアルミテープとの接触面を増やすことで接触不良は改善され、小・中学生の参加者全員がイベント中に完成させることができた。自らの手で装置を製作し動作させる経験を通して工作のおもしろさを知ってもらい、今後も積極的に理科に興味を持ってもらえれば幸いである。

炭素薄膜位相板作製方法の改善と現状について

生理学研究所 技術課 小原 正裕

【目的】私は約7年間、炭素薄膜位相板の作製を行ってきたが、その間、無帯電で長寿命の位相板を作製するにはどうしたら良いか、頻繁に議論を重ねてきた。そして、作業環境を整備し作製工程の一部見直しを行った結果、ほぼ毎回安定した性能の炭素薄膜位相板が作製できるようになった。今回は、現在に至るまでの経緯や改善点について報告する。

【方法】炭素薄膜位相板の作製方法は、前任者から引き継いだ方法と基本的に変えていないが、工程の細部について変更した。それらの変更点は、真空蒸着装置の専用化、モリブデン製グリッドの洗浄方法、両面グリッドコーティングの方法と材料、水面剥離用シャーレの材質、コア膜転写後の乾燥時間等である。

【結果】最初から帯電して使用できない位相板が非常に少なくなり、CTF特性が良好な炭素薄膜位相板が作製できるようになった。

【考察】今回の改善点の総合的な要因が、帯電し難い位相板作製に寄与していると思われるが、それ以外に帯電の一因となり得るのは、炭素薄膜の厚さによる影響が考えられる。今後はその点についてもさらに検証していきたいと思う。

イオンミリングを用いた電子顕微鏡観察

名古屋大学 全学技術センター 都築 賢太郎, 神野 貴昭, 高田 昇治

【目的】生体試料の走査型電子顕微鏡(SEM)観察が盛んにおこなわれている中、当センターにおいても毛髪断面観察など生体試料の前処理、観察の需要が高まりつつある。通常、煩雑な前処理が必要となる生体試料だが、今回はイオンミリング装置による加工のみでどの程度の前処理が可能か、また試料への熱ダメージの確認と対策を行うことを目的とした。

【方法】イオンミリング装置 IM4000(日立)を用いた。最初に加工中の試料温度の測定を行った。イオンビームを照射した銅板の温度を自作したK熱電対で測定した。試料には生体試料同様熱に弱く、生体試料よりも扱いが簡単な低温はんだ、アクリル樹脂を用いた。また、生体試料として毛髪を用いた。加工条件の変更、間欠ミリング、試料冷却等のイオンビームによる発熱への対策を講じ加工を行った。

【結果】毛髪では試料を冷却しながら加工を行ったが平滑な加工面は得られなかった。

【考察】毛髪の加工面でみられるダメージは熱によるものではないようである。加工後の毛髪断面の輪郭に歪みがみられることから、化学固定することにより歪みの軽減、加工面のダメージの改善ができるのではないかと考える。

イオン液体・Tween20を用いたSEM観察用 試料前処理方法の検討

名古屋大学 全学技術センター 工学系技術支援室 鳥居 実恵, 高田 昇治, 永田 陽子,
日影 達夫, 山本 悠太, 林 育生, 樋口 公孝, 神野 貴昭, 都築 賢太郎, 伊藤 広樹

【目的】SEM観察業務における基礎的で重要な知見を深める目的で、今後取り扱うと予想される生体・生物試料の前処理方法について広く学習し研修を実施した。

【方法】観察試料にはショウジョウバエを主として使用した。近年注目を浴びているイオン液体法やナノスーツ法を前処理方法として検討した。ナノスーツ法に用いられているプラズマ照射装置は低真空のものが多かった為、大気圧プラズマ照射装置を作成し適用を試みた。上記前処理方法を実施し、ノウハウの習得を試みた。

【結果及び考察】プラズマ照射による前処理では、ショウジョウバエの幼虫の生存を確認できた。しかし処理・未処理の有意な差は見られなかった。詳細は講演で報告する。

【参考資料】 1) S. Kuwabata et.al 「Chemistry Letters」 Vol.35, No.6, (2006)

2) Y. Takaku et.al 「Proc. Natl. Acad. Sci.」 Vol.110, No.19 (2013)

山陰に飛来する大気汚染微小物質の 三次元微細形態解析のための新走査電顕観察法の構築

鳥取大学 技術部 医学系部門¹⁾, 鳥取大学 医学部 健康政策医学²⁾
堀江 享史¹⁾, 森野 慎一¹⁾, 大西 一成²⁾

本学は山陰地方に立地しており、大陸から飛来する大気汚染微小物質をサンプリングして生体への影響を調査している。それらの試料の解析手段の一つとして、走査電顕を用いた微細構造観察と構成成分を調べる事が重要であるが、導電性付与のための金属蒸着による微細構造の埋没や他の分析に使用できなくなるなど問題が多い。本発表では、無蒸着で観察が可能な低真空二次電子観察法と金属蒸着を行う従来の観察法（以下、常法）を用いて大気汚染微小物質の走査電顕観察を実施し、両観察法に適した観察条件の検討を行った後、微細形態解析及び成分分析による比較を行った。常法による観察法では金属蒸着粒子が試料に付着し、微細構造観察への影響やチャージアップ等により観察が困難であったが、低真空二次電子観察法ではそれらの影響は認められず、五千倍程度の微細構造観察と成分分析が可能であった。低真空二次電子観察法は試料の再利用が可能など多くの有用性が確認されたので、今後は大気汚染微小物質の観察を数万倍レベルまで高めていく必要がある。

X線を用いた組織観察の生物学への応用

大阪大学 工学研究科 大瀬 昌明, 藤谷 渉

【目的】X線の透過度は物質の種類により異なるので、非破壊で物質の内部構造を知ることができる。今回、生物学への応用例として生体骨におけるオステオサイト(OCY)の形態変化に注目した。本研究では *in vivo* 応力によって OCY 形態がどのように変化するかなノ X線 CT を用いて直接観察を試みた。

【方法】生体骨を摘出し 0.5mm×0.5mm×1.5mm の試料を作製した。高分解能を得るために試料と検出器の間隔や恒温保持を行った。

【結果】OCY の形状は応力方向へ伸長していた。伸長度合いは *in vivo* 応力と深く関わっていた。温度を一定に保ち、試料と検出器を近づけると像の分解能が高くなった。

【考察】OCY 形状変化は *in vivo* 応力を反映していたことからメカノセンサーとしてその形状変化を測定することの有効性が明らかとなった。恒温保持により温度変化による金属の膨張などによる光学系の微動が小さくなること、試料と検出器の間隔を狭くすると非点のずれが小さくなることなどにより画質改善への顕著な影響が認められた。

連続切片からの三次元再構築

基礎生物学研究所 技術課 岡 早苗

【目的】着床前後の胚と子宮の状態を形態的に理解するため、マウス子宮と胚の連続切片から三次元再構築し観察を行っている。数百枚におよぶ連続切片から、観察したい領域を手動で切り出し、位置合わせをするには膨大な時間が必要であったため、画像からの目的領域の検出と位置合わせを自動化するためのプログラムが共同研究者によって開発された。今回は、このプログラムを利用した三次元再構築について報告する。

【方法】固定した組織から5 μ m のパラフィン連続切片を作製し、HE染色した。作製した標本について、スライドスキャナー (Leica SCN400) を用いて組織全体の画像を取得した。新規開発プログラムを用いて、目的領域の切出しと位置合わせを行った。三次元再構築には既存のプログラムを用いた。

【結果】成功したものについては、約 300 枚の連続切片に対して 25 枚おきに手動で目的領域を設定することで、残りの全ての切片から自動で同じ領域の切出しが可能となった。位置合わせの精度はこれまで利用してきた様々なアライメントソフトと同等であった。

【考察】組織の形状や大きさによっては自動検出の誤りや位置合わせなどが未だ困難な場合もあるが、条件によっては自動化が可能となった。

2 way ハーフバスケットの紹介

浜松医科大学 腫瘍病理学講座 加茂 隆春

HE 染色、特殊染色、免疫組織化学酵素抗体法 (免疫染色)、蛍光 *in situ* hybridization (FISH 法) などの手法で行うパラフィン切片のプレパラート作製は、脱パラ～脱水、封入まで 20 枚入り染色カゴ (市販品) とそれに対応したビン、時には 2～9 枚に対応した溝付き 5 枚立染色ビンを使用することが多い。今回紹介するハーフバスケットにより、小規模施設あるいは FISH 法など少数のオーダーでも同じ 20 枚用カゴを用いざるを得ず、使用液量も減らせないという実情が解決できる。一方、2～9 枚のために溝付き 5 枚立染色ビンを用いても、直にスライドを 1 枚ずつ把握して浸漬するためタイムラグが生じる。また、急ぐと溝に引っ掛かる、2 枚重なってしまうこともある。該当するのは、免疫染色での賦活処理液 (95 $^{\circ}$ C /20 分、40 分) への浸漬、FISH 法の前処理液 (95 $^{\circ}$ C～)、プロテアーゼ処理液 (37 $^{\circ}$ C) やプローブ洗浄 (72 $^{\circ}$ C) をするときである。その使用状況を報告する。

今回紹介するカゴは、協同組合 HAMING (橋本螺子(株)、橋本エンジニアリング(株)、(株)榛葉鉄工所、(有)岩倉溶接工業所) の協力を得て製品化を進めている (特許出願中 : 2014-157406)。また、専用耐熱染色バット (金属製、ガラス製) も展示する。

学生実習における電子顕微鏡観察

東北大学 農学研究科・農学部 電子顕微鏡室 伊東 久美子

当学部には6つのコースがあるが、そのうち5つのコース（生物系：植物生命科学・応用動物科学・海洋生物科学、化学系：生物化学、生命化学）では、3年次に学生実習を行っている。これまで、学生実習における電子顕微鏡観察は3つのコースだけの利用だったが、研究室配属になってからの電子顕微鏡利用者増加につなげたい、設備更新要求の際の根拠として利用実績増やしたい、といった点から、学生実習担当教員に対して積極的に学生実習での利用の声掛けを行ったところ、今では毎年5つのコース全ての学生実習で利用されるようになった。

学生実習は一般的な研究とは異なり実習日程が厳密に決められているため、試料作製が多少うまくいかなくてもやり直すことができない。また、予算や所有している器具類や薬品にも限りがあるため、試料の前処理には大きな制約がある。これまでは実習担当の教員自身も電子顕微鏡観察の経験のある場合が多かったが、近年は経験のない方が増えてきているため、試料作製過程の中で省略しても観察像に影響が少ないところを伝え、安価な小道具製作を引き受けるなどにより、教員の負担軽減に努めている。

高知大学岡豊キャンパス技術職員の現状と組織化の取り組み

高知大学 教育研究部 病理学講座 林 芳弘
総合研究センター実験実習機器施設 片岡 佐誉

全国国立大学法人等技術職員の組織化・再編成が急速に推し進められ、より効率的な技術支援体制の構築が実現していますが、高知大学岡豊キャンパス（医学部等）技術職員の組織化はほとんど進展していません。しかし、医学部技術職員の「高知大学の全学部技術職員研修会を開催したい」という事務局への問いかけをきっかけに、岡豊キャンパス技術職員と事務局職員との対話が進むとともに、平成27年度学長裁量経費「高知大学岡豊キャンパス（医学部等）技術職員技術支援体制の構築」というプログラムが採択されました。それに加え、平成28年度中四国国立大学等技術職員研修会・マネジメント研究会・代表者会議が高知大学と高知高専主催で開催されることもあり、技術職員と事務局との交流が活発化し、技術職員の存在感と重要度が増しつつあり、組織化に向けて進展するものと期待しています。

今回、高知大学岡豊キャンパス（医学部講座および総合研究センター）技術職員の現在までの、そして今後の組織化への取り組みについて報告します。

大型スペクトログラフの紹介と 実験サポートの現状

基礎生物学研究所 技術課 内川 珠樹

大型スペクトログラフは様々な生物種の光応答反応を解析するための大型分光照射設備である。赤道直下に降り注ぐ太陽光以上の光強度を持ち、かつ純度の高い任意の単色光（紫外～可視～赤外）として別々の生物試料に同時照射できることが特長である。これらの特長により、他の光照射装置と比較して非常に高い精度のアクションスペクトル解析が可能となる。

1940年代～1970年代にかけて世界中で建設される中、国立共同利用機関（現大学共同利用機関法人）である基礎生物学研究所（愛知県岡崎市）において、1980年に設立された。現在の光照射実験ではLED光源が汎用されているものの、大型スペクトログラフでのみ可能な実験も多々ある。そのため、建設されてから現在に至るまで、共同利用設備として全国の研究者にご利用いただいている。本発表では、本設備の性能に関する紹介と技術的サポート例を紹介する。

生命科学研究所の Core Facility としての歩み ～教育・研究支援センター10年目を迎えて～

九州大学 医学研究院附属ヒト疾患モデル研究センター教育・研究支援センター
高見 重美

九州大学医学研究院附属ヒト疾患モデル研究センター教育・研究支援センター（以下支援センター）は、平成18年10月の開設から10年目を迎えた。支援センターは、本学の生命科学研究所における「先端的研究の推進」と「若手研究者の育成・ボトムアップ」を目的として医学研究院が管理運営を行っているが、設立当初から「Core Facility」として学部を問わず本学のすべての研究者・学生に対して支援を行っている本学では画期的な施設である。主な業務は①DNAシーケンスとDNAマイクロアレイの受託、②設置機器（約50台）の管理・運営、③分子生物学の基礎実験指導、④基礎セミナーの開催である。昨年度までにのべ8万5千名が利用し、支援センターを利用して得られた研究成果が記載された英文原著論文は210報に達した（平成28年1月現在）。本発表では、支援センターの10年の歩みを紹介すると共に、今後の課題等についても報告する。

【参考資料】教育・研究支援センター10周年記念誌

阿南市新野地区における民間薬調査

徳島大学大学院 医歯薬学研究部 薬学系薬用植物園 今林 潔, 川添 和義

【目的】徳島県における民間医療に関する情報継承の状況を把握し、それをできる限り文書化して継承すると同時に、当該地域における医薬品利用の資料することを目的として調査を行っている。

【方法】調査は2013年8月10日から3日間、徳島大学職員と徳島大学学生の26人で行った。平成25年度時点で、新野地区の人口は3,914人、1431世帯で、限られた調査員と調査日数のため、全世帯ではなくランダムに抽出した家を訪ね調査を行った。

【結果】得られた情報は全部で982件であり、植物由来891件、動物由来48件、菌類5件、加工品・その他6件、不明32件であった。また、民間薬の利用目的として、最も多いのが健胃整腸、下痢止めなどを目標とした「消化器系疾患」(142件、23品目)で、利用される民間薬としてはセンブリ(41件)、ドクダミ、ゲンノウショウコ(ともに24件)、アロエ(17件)、イワタバコ(5件)、エビスグサ(4件)であった。そして、新野地区「イシャイラズ」調査では、ドクダミとゲンノウショウコが同数(33件)で最も多かった。

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-2-

広島大学 技術センター 宇都 武司

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。ゼミを担当す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。私は「発見の小径」周辺の両生類の観察をするためよく利用していたので誘われ、動物を中心としたガイドを行うようになりました。

自然散策道「発見の小径」には昔ながらの里山的な自然環境が残されており、滅危惧種を含む多様な動植物絶が生息しておりそれを解説しながら歩きます雨天時は、足場が悪くなる場所もあるので歩ける場所だけを歩いて、余った時間は、総合博物館の理学研究科サテライトの附属両生類研究施設展示スペースで広島県に生息している13種類のカエルのうち8種類がキャンパス内にいるので、生態展示を交え説明します。

今回は、2015年度の教養ゼミ、自然散策道「発見の小径」観察ガイドの実施状況と、自然散策道「発見の小径」で観察できる生き物の紹介を行います。

総合技術部情報ネットワーク職群研修の開催

東北大学大学院 医学系研究科・医学部 広報室 一條 肇

【目的】近年、情報ネットワーク担当の技術職員等が、広報業務の一部（特に web サイト運営やリニューアル、写真や動画の撮影）を兼務する事例が数多く見られる。しかし、web の運営やリニューアルに関する知識や、指導を受ける機会が無い。そこで総合技術部情報ネットワーク職群としては、基本的な知識・技術習得の機会を提供することが、今後の主体的な業務遂行へつなぐと考えた。

【結果・考察】実務経験者や web サイト担当者が参加したが、知らない内容も多いという意見が見られた。参加者内には、会場掲示ポスターを見て参加を申し出た事務職員や学生もいた。席に余裕があったので参加を認めたが、技術職以外の職員・学生等にも必要とされる内容であったこともうかがえる。

参加者からの評価もおおむね高く、同ジャンルでの中級編講座やもっと長時間での講習開催などの要望もあったことから、今後の企画への期待も高い。

今後も、各担当者の業務内容の確認や活動実態等を詳しく調査し、ニーズに合った研修を企画・開催することで、大学全体の広報活動の更なる質の向上への一助となるだろう。

Javascript と PHP による プログラムを隠蔽したホームページの作成

名古屋大学 全学技術センター 情報通信技術系 大川 敏生

【目的】名古屋大学の小田裕昭准教授の依頼で、個人の状態に対応した栄養指導を支援するツール開発の一環として、来年度運用予定の「N 式パーソナル食事摂取基準 2015 年版(ベータ版)」を作成した。このホームページは、判定等の仕組みを隠蔽させ、値の変更により直ちに結果を表示できる仕様である。 【方法】入力した値から結果を表示させる場合、PHP 言語でサーバ処理を行う方法が一般的であるが、[submit] ボタンによる値の入力および結果の表示である。一方 web ブラウザの信頼性の向上で Javascript 言語によるクライアント処理も一般的になっているが、判定プログラムが隠蔽できない。仕様を満たすために Javascript と PHP を協調したプログラミングを行った。 【結果】当初ツールはエクセルのマクロを用いたシート上で利用されていたが、作成したホームページ上でも同等に操作することが出来た。 【考察】 Javascript から PHP を利用可能なことが立証された。これは Database との協調も示唆され、Javascript から Database を操作するホームページも構築して行きたい。 【参考文献・資料】・JavaScript(jQuery)から PHP の API を利用する(<http://qiita.com/mpyw/items/62e6e415f86eb30a5ff4>)

暗号強度を高めたパスワード管理ツールの開発 (2)

生理学研究所 技術課 村田 安永

【目的】 前回はパスワードを安全に“保存”するための実装を行ったが、パスワードを安全に“入力”する方法についての検討が不十分であったので、リリースを延期することにした。今回は、この検討を行い、キーロガーとクリックボード・モニターによる情報の盗み取りから防御できる入力機能を開発したので報告する。

【方法】 前回と同様に開発言語は 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。また、Windows、Mac、Linux の全てで安全な自動入力を可能にするため、各 OS のライブラリが用意している関数を直接呼び出すようにした。

【結果】 パスワード入力欄のあるウィンドウを自動的に前面に持ち上げてから自動入力を行う方式と、手動でウィンドウを切り替えたタイミングで自動入力を行う方式の 2 つを実装した。さらに、キーボード入力のイベント発生とクリップボードを使ったペーストを組み合わせたハイブリッド入力機能を実装した。これは KeePass の TCATO という機能に相当するものであるが、PuTTY や TeraTerm でも使えるような工夫を行った。

【考察】 実装予定の機能がまだ残っている。早急に全てを完成させてリリースしたい。

GPS モジュールを使用した NTP サーバーの検討

生理学研究所 技術課 吉村 伸明

【目的・方法】 昨今 Global Positioning System (GPS) モジュールの入手が容易になり、これを利用することで精度 10 n 秒オーダーのタイムパルス (カタログ値) を取得することが可能になってきている。そこでシングルボードコンピュータである Raspberry Pi と GPS モジュールを組み合わせることで Network Time Protocol (NTP) サーバーを構築、これを検証し、どの程度の利用や応用が可能なのか検討を行った。

【結果】 作製した NTP サーバー単体では目標である $\pm 1 \mu$ 秒の精度に達している。GPS アンテナは全天の 1/4 が見えていればおおむね問題無い。2 機種 of GPS ユニットの検証したが、タイムパルスの立ち上がりを比較すると ± 200 n 秒程度の揺らぎがあった。

【考察】 組織の標準時とする場合には安定面に不安があるため、複数の NTP サーバーで協調システムを構成したい。閉じたネットワークでの時刻提供が安価に実現できる。離れた 2 地点間で同時に実験や観測を行う場合に応用が可能である。今回 Precision Time Protocol (PTP) は使用していないが、これも視野に入れて応用していきたい。

Gene Expression Omnibus 利用方法の検討

東北大学大学院 農学研究科・農学部 小森 和樹

【目的】NCBI が提供する Gene Expression Omnibus には、世界中の研究者が実施したマイクロアレイ実験の情報がデータベース化され、登録されている。これを利用する事で、自身が興味のある遺伝子発現情報の解析を簡便に行うことができないか検討した。

【方法】(1) Gene Expression Omnibus からマイクロアレイの結果をダウンロードする (テキストデータ)。(2) 使用されたマイクロアレイの probe 情報と解析データの紐付けを行う。(3) 興味がある遺伝子(今回は vasohibin)の発現が高いか低いかで群分けし、解析を行う。(今回は主に kaplan-meier 法による予後への影響を見た)

【結果】自身でマイクロアレイ実験を行うことなく、興味のある遺伝子が予後へどのような影響を与えているか見ることができた。

【考察】サンプルが異なるためか、結果が安定しない傾向にある。事前調査としては優秀だが、断定するにはやはりウェットな実験による追従試験が必要であると考え。

フローサイトメーターを用いた ゲノムサイズ測定法の検討

基礎生物学研究所 技術課 尾納 隆大

【目的】共同利用研究のひとつとしてフローサイトメーターを用いてゲノムサイズの測定を行っている。今回の報告ではゲノムサイズ測定の一連の流れを紹介し、動物・植物・菌類と様々なサンプルの測定を行ってきた中で実際に試行錯誤している点を報告する。

【方法】ゲノムサイズ測定対象となるターゲットサンプルとゲノムサイズが既知のレファレンスサンプルを準備する。それぞれのサンプルから細胞を解離し、界面活性剤で細胞膜を破壊した後、蛍光色素で核を染色し、フローサイトメーターで解析する。その後、レファレンスサンプルの既知ゲノムサイズと各サンプルの測定値を用いて、ターゲットサンプルのゲノムサイズを推定する。

【結果】昆虫など動物では上記の方法で信頼性のあるデータが得られる一方、植物や菌類では信頼性のあるデータが得られなかった。

【考察】植物や菌類では細胞壁や二次代謝産物の影響でうまく核を染色できていない可能性が高い。今後は細胞を固定する方法を試すなどサンプル調製方法を見直す。

プロテインシーケンサで高分子量タンパク質の アミノ酸配列決定をより長く行うためのガス圧の検討

基礎生物学研究所 技術課 牧野 由美子

【目的】タンパク質のN末端アミノ酸配列解析を、感度の異なる2台のプロテインシーケンサで行っている。分子量が大きい（およそ80k以上）タンパク質では、反応を進めるほど、全体的にアミノ酸ピークが上昇し、本来のN末端のアミノ酸ピークが判別不能となり、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方法がある。ガスで送る際のガス圧の値によりアミノ酸配列決定数が変わるため、ガス圧の検討を行った。

【方法】初めに、標準タンパク質のβ-ラクトグロブリン（約18k）を用いて、ガス圧の値を0.1psiずつ変えて測定し、繰り返し収率が高い値となるガス圧を検討した。試料形態は、液体とPVDF膜の2種類で、2台の装置を用いて行った。次に、分子量の大きいタンパク質としてβ-ガラクトシダーゼ（約117k）を用いて検討した。

【結果】液体、PVDF膜で異なるガス圧値が得られ、2台の装置では同様な値が得られた。

【考察】各装置に得られた値を設定して、今後の依頼測定等に用いる予定である。

ヨコエビ類の同定とその視物質発色団の分析

浜松医科大学 医学部 総合人間科学講座 外山 美奈

【目的】これまでの研究で、昆虫に特有と考えられていた3-hydroxyretinal(A3)を視物質としてもつことを甲殻類の地中海性のハマトビムシ *Taritrus saltator* で発見した。A3をもつことが他のヨコエビ類でも一般的なのかを検討するために、今回、浜松市近郊で採集したヨコエビ類の種同定とその視物質発色団の解析をおこなった。

【方法】材料のヨコエビ類は浜松市近郊の海水域、陸上で採集した。同定は「日本産土壤動物、青木淳一編著」を参考にし、実体顕微鏡および走査電子顕微鏡を用いておこなった。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】採集したヨコエビは、それぞれニホンオカトビムシ *Platorchestia japonica*、ニホンヒメハマトビムシ *Platorchestia pachypus*、ニホンスナハマトビムシ *Sinorchestia nipponensis* であり、いずれもA3をもつことがわかった。

【考察】ヨコエビ類はA3を視物質発色団にもつことが明らかになった。多様な光環境に生息するヨコエビ類についても網羅的に調べ、生物の視覚環境適応を解析する必要がある。

【参考文献・資料】日本産土壤動物 分類のための図解検索[第二版]青木淳一編著

αリポ酸が有するデトックス効果 -カドミウム中毒の軽減効果の検証-

富山大学 医薬系技術部 病理診断学 八田 秀樹

イタイイタイ病は慢性カドミウム中毒の極型とされ、富山県神通川流域で発生した公害病である。カドミウムは当初は腎臓の近位尿細管に蓄積し、尿細管障害を発生させると考えられており、カドミウム腎症が進行すると、腎性骨軟化症が発生してイタイイタイ病に特有の骨病変を形成する。

一方 αリポ酸は、S-S 結合を有して生体内で可逆的に酸化・還元されることで、SH 基と移行し解毒作用を発揮することが知られている。

今回我々は、重金属を体外に排出し、重金属による組織障害の軽減効果を有する、αリポ酸を素材とした新規サプリメントの開発を目的とし、動物モデルを用いて病理組織学的に有効性のエビデンスを集積したので報告する。

本研究は、平成 26 年度産学官連携推進事業【新商品・新事業創出枠】（富山県新世紀産業機構／第 12 グループ：バイオ分野）の助成金により実施した。

アフリカツメガエル胚からの total RNA 精製法の検討

基礎生物学研究所 技術課 高木 知世

【目的】動物の胚や組織から RNA を抽出する方法には、①RNA 抽出キット(スピнкаラム)を用いる方法と②Acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction (AGPC) 法がある。アフリカツメガエル胚からトランスクリプトーム解析用、RT-qPCR 用に精製度の高い total RNA を単離するため、①RNA 抽出キット (QIAGEN)を使用した方法と②AGPC 法をもとに改良された試薬 RNazol (Molecular Research Center, Inc.) を使用した精製方法について検討した。

【方法】①Methods 66(3): 398-409 (2014)を参考に、精製に使用するキットの種類 RNeasy MinElute Cleanup Kit(QIAGEN)、RNeasy Mini Kit(QIAGEN)と使用回数を検討した。②RNazol を用いて total RNA を単離し、その total RNA にゲノム DNA の混入がないことを RT-PCR を行い確かめた。

【結果】①RNeasy MinElute Cleanup Kit、RNeasy Mini Kit のカラムを 2 回使用した場合、途中で RNA が分解されたが、RNeasy Mini Kit を 3 回使用することで精製度の高い total RNA が単離できた。②RNazol でゲノム DNA の混入のない total RNA が簡便に単離できた。

PC12 細胞におけるバラプラセンタの 神経突起に与える影響

徳島大学大学院医歯薬学研究部 総合研究支援センター¹⁾ 歯科麻酔科学分野²⁾
(株)銀座・トマト³⁾ 庄野 正行¹⁾, 富岡 重正²⁾, 近藤 千恵子³⁾, 若山 睦³⁾

【目的】ラット副腎髄質褐色腫細胞 (PC12) は、神経細胞成長因子 (NGF) によって増殖を停止し神経細胞に分化する。今回我々は NGF で PC12 細胞を分化誘導させた時にバラプラセンタが神経突起に与える影響を検討したので報告する。

【方法】PC12 細胞は、 1×10^5 になるように希釈調製し 35mm プラスチックシャーレ (タイプ I コラーゲンコーティング) に 1 日培養液 (DMEM) で培養し、2 日目には NGF 及び NGF+バラプラセンタを添加して培養した。添加後、1 日毎に 3 日まで撮影し、解析ソフト ImageJ で特によく伸びた神経突起を選び算出した。

【結果】PC12 細胞にバラプラセンタのみを添加した場合は、ほとんど神経突起の伸張は見られなかった。NGF を添加した時は、神経突起は伸張したが、しかし NGF+バラプラセンタを添加した時は、さらに神経突起の伸張は長いものが多く示唆された。

ゲンジボタル雄雌の相互結合に見られる発光同期パタンの ダブルプロット法による解析

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】ホタルの集団明滅は心筋細胞の拍動や神経細胞の周期発火を始めとした生物リズムに見られる同期現象の一つであるが、その詳細なメカニズムは明らかになっていない。そこで本研究では、ゲンジボタル雄雌 2 個体の組 (雄-雄, 雄-雌, 雌-雌) を用いて、互いの発光リズムが同調したときにどのような発光パターンが現れるかを調べた。

【方法】静止状態の雄雌の組を高感度カメラで撮影し、映像から時間-相対発光強度の波形を生成した。この波形に概日リズムの観測に用いられるダブルプロット法を適用し、ホタルの明滅の 1 回を 1 周期として相互結合時に見られる発光パターンを解析した。

【結果】ホタル雄雌の相互結合時の発光同期パターンを大別すると、互いの発光の①立ち上がりエッジで同期、②立ち下がりエッジで同期、③両エッジで同期する反応が見られ、さらに互いの発光が④最も弱くなる状態において位相が固定されることが分かった。以上の結果は、相互結合時には相手からの光刺激に対して自らの発光量を適応的に制御して同期することを示している。

マウス凍結精子による系統導入の事例報告

生理学研究所 技術課 廣江 猛

【目的】動物実験センターに搬入されるマウスは、個体で導入すること以外に、凍結受精卵で系統導入をしている。しかし近年、凍結精子による系統導入の相談が増えてきており、技術習得を行った。今回、FERTIUP 凍結保存液(F 保存液)を使用した凍結精子と、使用していない凍結精子(海外導入凍結精子)(非 F 保存液)による体外受精の事例の報告を行う。

【方法】F 保存液で凍結された精子は、FERTIUP 前培養液(F 前培養液)と CARD MEDIUM(CM)を用いた、CARD 定法による体外受精(方法 1)を行った。非 F 保存液凍結精子は、方法 1 と CARD 推奨である、保存液に HTF 培地を加え希釈した後に、遠心して保存液をリンスしてから F 前培養液と CM を用いる体外受精(方法 2)を行った。

【結果およびまとめ】F 保存液の凍結精子を用い方法 1 で体外受精をしたところ、高い受精率が得られた。非 F 保存液の凍結精子を用いた場合、系統差を考慮する必要があるが、方法 2 の受精率は低い傾向が認められた。今回いずれの系統も産仔を得ることができ、無事に系統を導入することができた。引き続き今後もデータを蓄積し、非 F 保存液を用いた凍結精子の受精率改善を目指していきたい。

マーモセットの視線計測

生理学研究所 技術課 戸川 森雄

【目的】我々の研究室では、サリエンシーマップによる精神疾患のトランスレータブル脳指標を探索することを可能とする技術の開発を目指している。そこでマーモセットに静止画像、動画を提示している間の自発的眼球運動の計測を試みるためのセットアップを行ったので紹介する。またマーモセットの実験上必要とされた製作物を併せて報告する。

【方法】マーモセットの視線計測には、EyeLink Primate (急速眼球運動解析装置)を使用している。これはアイカメラを動物の上方に設置しハーフミラーを介して動物の眼球映像を取り込む構成になっている。今回、カメラの固定には顕微鏡のステージを利用して微妙な調整ができるようにし、ハーフミラーの位置調整も可能とした。その他、付属の LED モジュールがハーフミラー越しでは光量が弱かったため眼球への直接照射に切り替えた。

【結果】マーモセットに対して静止画像を一定時間繰り返し提示し視線計測を行った。その結果、アイカメラの微妙な調整により眼球運動を無事捉えることができた。しかし頭部の保定がまだあまり微妙に動いてしまうことがあるので、今後 3D プリンタによるヘルメット作製、頭部固定用のヘッドポストを取り付けるなどの対応策を検討する。

SPF マウス施設用・高圧蒸気滅菌装置の更新

基礎生物学研究所 技術課 野口 裕司

【背景・目的】 SPF マウス施設用の高圧蒸気滅菌装置は、耐圧性を備えた第一種圧力容器であり、蒸気を用いて微生物などの病原菌を死滅させることのできる装置である。マウスの飼育器材（ケージや給水瓶など）や床敷等を対象に滅菌処理を施すことに利用し、SPF マウス施設内を高い清浄度に保持する上で必須の機器である。2013年12月、老朽化に伴う劣化により廃止することに至ったため、その調達を行った。

【方法・結果】 本体内缶胴板・棒ステー溶接部の腐食によるクラック（割れ）が確認されたことで、使用不能となった既設の本装置に代わり、機能や仕様等において同タイプの機種を新たに導入した。その設置工事は2014年6月末に約1週間に亘って行われ、約半年のブランクを経て無事復旧した。

【考察】 労基署での書類手続きをはじめ、設置工事、室内の消毒作業といった一連の流れを経験できたことは、自身の大きな糧となった。ただ、トラブル直後の慌ただしい状況からでの対応ではなく、時間に余裕を持って計画を進めることが望ましい。そのため、どのタイミングで機種を入れ替えるか、時期の決定が重要なポイントと言える。

ラット生殖工学技術の実用化に向けて

旭川医科大学 教育研究推進センター 動物実験技術支援部門 日野 千紘

【目的】 近年マウスの生殖工学技術が広く普及している一方で、ラットの生殖工学技術は未だ実用的な技術として定着していない。今回、その原因の1つとされるラット体外受精率の不安定性の改善をめざし、種々の条件を検討した。

【方法】 はじめに体外受精に用いる培地（HTF・mR1ECM・TYH等）の検討を行った。次いで精子前培養、採卵等各作業時間が受精率に及ぼす影響を解析した。さらに各系統（Wistar、SD、F344/N、NER、NAR、SD-Tg（CAG-EGFP））で体外受精を行い、得られた胚を用いて凍結保存、融解、卵管内移植による個体復元を行った。

【結果・考察】 ラット体外受精に用いる培地は、検討した中ではHTFが最も適していた。加えて、安楽死から卵管摘出までの作業時間と作業中の温度管理の徹底により受精率90%前後の安定した結果が得られることが明らかとなった。各系統の凍結胚の卵管内移植においては、全ての系統で産子が得られた。今後は産子を効率的に得られるさらに安定した方法を確立するため凍結保存、融解、卵管内移植の条件検討を行う必要があると考えている。

動物福祉に配慮した実技講習会の開催について

生理学研究所 技術課 窪田 美津子

【目的】動物実験センター利用者を対象に、マウスの取り扱いに不慣れな方、動物実験初心者の方が、動物の福祉に配慮したマウスの正しい取り扱い方と、基本的な手技を習得し、3Rの原則に基づく実技講習会をめざす。

【方法】1回2-4名の募集で年間2回開催。講師は実験動物医学専門医の助教1名と実験動物1級技術者の技術職員1名で、講習時間は実技のみ4時間。講習内容として性別判定、個体識別、ジェノタイピング用の採材、保定法、腹腔内投与、経口投与、吸入麻酔法、下顎静脈採血、心臓採血、解剖法を行った。

【結果】初心者2名を含む合計7名が受講した。講習会終了後の達成度等を確認するアンケート結果において、受講者の平均達成度はおよそ7割であった。少人数で丁寧に教えたため、参加者全員から総合的にみて満足との回答が得られた。

【考察】難しい手技については、ぬいぐるみを用いたイメージトレーニングや動物手技訓練用モデルを活用し、動物への苦痛の軽減と参加者のスムーズな実技への移行が実現できた。

小規模 RI 取扱施設の管理する上での問題点と将来

京都工芸繊維大学 高度技術支援センター 尾崎 誠

【目的】小規模であっても非密封放射性同位元素を取り扱う施設においては中規模（大規模）と同じような法令上の管理義務が生じる。時代とともに予算が乏しくなってくる中で、現場における適法かつ合理的な管理とは何か、管理要員としての技術職員の関わりについてまとめてみたので発表する。

【方法】放射性同位元素等による放射線障害防止に関する法律及び関係法令を熟読し、予算をかけずに“できることできないこと”考え実行し、物品に関しては学内リユース制度を活用し新規購入物品費用の抑制を行った。

【結果】法定帳簿類の様式については、定番と言われるひな形的な様式を利用したほうが効率の良い手法であることがわかった。教育訓練においては内部人材の活用し、受講生への配付資料の数を減らすことにより費用を抑えた。施設の小規模な修繕（ひび割れ補修）は自分で行い人件費を抑えることができた。

【考察】モニターや測定機器の更新について、早期の大型設備費取得を行う必要がある。

【参考文献・資料】2014年版 アイソトープ法令集（I）

放射線測定時の色クエンチングの影響

基礎生物学研究所 技術課 飯沼 秀子

【目的】放射性同位元素(RI)を測定する機器の一つに液体シンチレーションカウンタ(LSC)がある。LSCの測定効率を変化させる原因の一つとして、サンプルの着色による色クエンチングがある。生物学実験によく使用される ^3H は低エネルギーの β 線核種であるため色クエンチングの影響が大きい。そこで、 ^3H サンプルに色素を添加したサンプルを測定し、着色が測定効率に及ぼす影響を検証した。

【方法】今回は以下の条件で作製した試料をLSCで測定し比較検証した。

①放射能： ^3H 370Bq、37Bq、3.7Bq ②液体シンチレータ：Ecosinti XR (National Diagnostics) ③色素(食用色素)と1サンプルあたりの量：青、黄、赤、緑、黒 1mg、0.1mg、0.01mg (共立食品)青、黄、赤、緑 10 μl 、1 μl 、0.1 μl (GABAN) ④含水率 33.3%：サンプル(RI水溶液)1mlと液体シンチレータ 2ml ⑤測定機と測定時間：Packard 2500TR、10分測定

【結果】着色が濃いとどの色でも測定効率は下がる。特に、黄、緑は着色による影響が大きく、測定値が低くなる。

イネとシロイヌナズナの形質転換体の作製

名古屋大学 全学技術センター 生物・生体技術系 井上 慎子

モデル植物として一般的に用いられるイネとシロイヌナズナへの遺伝子導入は、植物研究において広範囲に利用される極めて重要な実験手法である。今回、アグロバクテリアを用いた遺伝子導入の技術を習得する機会を得たので、その概要を紹介し、実験結果に関する状況を報告する。アグロバクテリアを用いた形質転換植物の作出は、この植物病原菌が感染する際に、自分の持つプラスミドの一部を植物ゲノムに組み込み、発現させる仕組みを利用している。特に今回用いたバイナリーベクター法は遺伝子操作を簡便にするためにデザインされており、現在最もよく利用されている。イネへの遺伝子導入は、種子の胚盤に由来するカルスにアグロバクテリアを感染させる方法(カルス法)によって行った。すでに目的の遺伝子が導入された複数のイネ形質転換体を得ることに成功している。シロイヌナズナへの遺伝子導入は、花序をアグロバクテリアの懸濁液に浸す方法(花浸し法)により感染を行った。今後、感染させた植物の種子から形質転換体を選抜し、遺伝子導入による形質の変化などを調べる予定である。

☆☆☆☆☆☆☆☆ 編集 ☆☆☆☆☆☆☆☆

●基礎生物学研究所 技術課 技術研究会実行委員会

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

●生理学研究所 技術課 技術研究会委員会

竹島 康行，吉村 伸明，吉友 美樹，山田 元，石原 博美，
高橋 直樹，窪田 美津子，山口 登