

合同開催

第29回 生物学技術研究会

第40回 生理学技術研究会

予稿集

日時：平成30年 2月 15日(木)、16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29回 生物学技術研究会 第40回 生理学技術研究会

(同時開催：第14回 奨励研究採択課題技術シンポジウム)

会期：平成30年2月15日(木)～16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://www.nibb.ac.jp/biogiken/>

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15日(木) (1階 大隅ホール)

- 13:30 ～ 13:50 挨拶、事務連絡
- 13:50 ～ 14:50 研修講演 (L1:基礎生物学研究所 生殖細胞研究部門 吉田 松生 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16日(金) (1階 中会議室、1階 大隅ホール)

(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)

(口演会場2 1階 大隅ホール)

- 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 ～ 13:40 奨励研究採択課題技術シンポジウム (S9～10)
- 13:40 ～ 14:20 一般口演 (A9～10)
- 14:20 ～ 14:30 まとめ

- 14:40 ～ 15:40 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 大隅ホール）

(L1) マウス精子幹細胞の組織内挙動の解明	
基礎生物学研究所 生殖細胞研究部門 吉田 松生 教授	12

一般口演（1階 中会議室（午前）、大隅ホール（午後））

(A1) 組織透明化技術を応用した肺癌の組織形態の三次元解析	
秋田大学 医学系研究科 器官病態学講座 工藤-浅部 幸紹	14
(A2) X線 CT データを活用したモデル生物の高精細 3DCG アトラス作成の試み	
国立遺伝学研究所 技術課 前野 哲輝	15
(A3) RI センター耐震工事後の In situ hybridization 実験再立ち上げにおける試行錯誤	
愛媛大学 医学部 解剖学・発生学講座 山宮 公子	16
(A4) プロテオミクストレーニングコース開催に向けた SDS-PAGE からゲル染色までの条件検討	
基礎生物学研究所 技術課 牧野 由美子	17
(A5) 大型スペクトログラフのランプ室結露対策	
基礎生物学研究所 技術課 近藤 真紀	18
(A6) 中学生対象社会貢献事業における微生物実験ワークショップテーマの実験内容の検討	
筑波大学 生命環境系技術室 応用生物化学グループ 木澤 祥恵	19
(A7) 3D プリンタによるタンパク質構造模型の作成と教材利用	
東北大学 農学研究科・農学部 岡田 夏美	20
(A8) 実験教育支援のための大学横断型技術研修会（遠隔実習編）	
福井大学 ライフサイエンス支援センター バイオ実験機器部門 高木 均, 柄谷 和宏 旭川医科大学 教育研究推進センター 竹内 文也	21
(A9) 同一動物種の一次抗体を用いた多重染色とその条件検討	
浜松医科大学 器官組織解剖学講座 技術部 医用動物資源支援部 佐々木 健, 山本 麻里奈, 徳山 喜心, 松本 晴子, 山下 遼, 高林 秀次, 佐藤 康二	22
(A10) カブトムシにおける Larval RNAi	
基礎生物学研究所 技術課 水谷 健	23

奨励研究採択課題技術シンポジウム（1階 大隅ホール）

- (S1) 細胞種特異的に発現する蛋白質プローブによる大脳皮質内記憶固定化過程の可視化
理化学研究所 脳科学総合研究センター 行動神経生理学研究チーム 松原 智恵 26
- (S2) 熊本大学生命資源研究・支援センター 動物資源開発 研究施設
本館マウス飼育室内の各種環境因子
熊本大学 生命資源研究・支援センター 実験動物分野 中村 直子 27
- (S3) 飼育作業にストレッチハンドリングを組み込むことによるラットのストレス軽減効果
岡山大学 自然生命科学研究支援センター 赤木 佐千子 28
- (S4) マウスの哺育放棄減少を目的とした環境エンリッチメント選に関する研究
岡山大学 自然生命科学研究支援センター 動物資源部門 石原 すみれ 29
- (S5) 計算機システムの安定稼働を支援するための信頼度の高い分散協調型監視方式の開発
大分大学 理工学部 技術部 原慎 稔幸 30
- (S6) 画像処理技術と移動ロボットを活用したネットワーク機器監視手法の開発
埼玉大学 情報メディア基盤センター 小川 康一 31
- (S7) 電磁気学教材としての簡易電子顕微鏡製作 II
名古屋大学 全学技術センター 神野 貴昭 32
- (S8) IoT 社会を支えるスマートセンサの設計・試作環境の構築
豊橋技術科学大学 技術支援室 飛沢 健 33
- (S9) 電気穿孔法、膜透過ペプチドを用いた細胞へのタンパク質導入条件の検討
鳥取大学 技術部 工学・情報系部門 水田 敏史 34
- (S10) 飢餓ストレス応答機構解明に向けた分子イメージング手法の開発
東海大学 生命科学統合支援センター 岡田(山口) 千沙 35

ポスター発表（1階 大隅ホール、ホワイエ）

- (P1) Inverse-PCR 法と次世代シーケンス技術を用いた外来遺伝子挿入位置同定法開発
東海大学 伊勢原研究推進部 生命科学統合支援センター 鈴木 英樹 38
- (P2) ジンバイソウ生息土壌における eDNA 真菌叢解析
岩手大学 農学系技術部 長井 和哉 38
- (P3) 10x Genomics 社 Chromium™ システムによる非モデル生物のゲノムアセンブル
基礎生物学研究所 技術課 山口 勝司 39
- (P4) 一分子リアルタイムシーケンス技術を用いた DNA 塩基修飾検出法について
基礎生物学研究所 技術課 尾納 隆大 39
- (P5) TCGA データセット活用方法の検討
東北大学 大学院農学研究科・農学部 技術部 小森 和樹 40
- (P6) フローサイトメトリーによる自家蛍光物質の有用性
浜松医科大学 先進機器共用推進部 柴田 清 40
- (P7) 多次元フローサイトメトリー解析法の確立
神戸大学 バイオシグナル総合研究センター 川本 智, 岩崎 哲史, 鎌田 真司 41
- (P8) フローサイトメトリーを用いた講習会の取り組みと課題
滋賀医科大学 実験実習支援センター 森 康博 41
- (P9) Lowry 法のお邪魔虫” 界面活性剤” の影響を調べる
九州工業大学 情報工学部 楠本 朋一郎 42
- (P10) キシレン代替品の比較検討
北里大学大医学部 形態系 安井 美江、中丸 尚美、橋村 美紀、沼田 賀子、
梅沢 敦子、小栗 康子、新村 朋子、勝又 修、阪本 桃子、西槇 俊之 42
- (P11) ハーフ(バスケット&ステンバット)と、ミニバスケット
浜松医科大学 腫瘍病理学講座 加茂 隆春 43
- (P12) 顕微鏡下における培養液自動交換システムの検討
徳島大学 技術支援部¹⁾、徳島大学大学院 医歯薬学研究部 法医学分野²⁾
北池 秀次¹⁾、庄野 正行²⁾ 43
- (P13) 医学科 1 年の生物系学生実習における電子顕微鏡指導法の紹介
浜松医科大学 医学部 総合人間科学講座 外山 美奈 44
- (P14) 岩石薄片技術の紹介とその応用
北海道大学大学院 理学研究院 技術部 中村 晃輔 44
- (P15) 奨励研究の申請許可と採択を受けて
-メダカ全身組織バーチャルスライドの作製とそのデータベース化-
¹北里大・医・解剖、²岡山大・理、³山口大・医・病理、⁴東京大・院・新領域
西槇 俊之¹⁾、勝村 啓史²⁾、小賀 厚徳³⁾、尾田 正二⁴⁾、太田 博樹¹⁾、小川 元之¹⁾ 45
- (P16) MRI データ処理環境の高速化 -PC クラスタと 10Gb ネットワークの導入-
生理学研究所 技術課 伊藤 嘉邦 45

(P17) 差し込みメール配信アプリケーションの開発(2)	生理学研究所 技術課 村田 安永	46
(P18) 基生研技術課 Web サイトのリニューアル 基礎生物学研究所 技術課 諸岡 直樹、斎田 美佐子、尾納 隆大、西出 浩世、水谷 健		46
(P19) FlashAir を用いた温湿度監視警報装置の作製	生理学研究所 技術課 吉村 伸明	47
(P20) 簡易電力モニタリングシステムの構築 東北大学 工学部・工学研究科 技術部 安斎 あいり、横山 梨香、大村 安幸、藤澤 政則		47
(P21) 東北大学総合技術部情報ネットワーク職群研修の開催 3 東北大学大学院 医学系研究科・医学部 広報室 一條 肇		48
(P22) 子ども向けプログラミング体験教材の検討 神戸大学 工学研究科 電気電子工学専攻 松本 香		48
(P23) 液体シンチレータ着色の原因探査	基礎生物学研究所 技術課 澤田 薫	49
(P24) マイクロインジェクションで FLP/FRT システムの組み換えを起こす試み 基礎生物学研究所 技術課 竹内 靖		49
(P25) センシング技術を用いた小型実験動物の行動解析 宮崎大学 工学部 教育研究支援技術センター 長友 敏		50
(P26) 新たな過剰排卵誘起剤を用いたマウス体外受精について 基礎生物学研究所 技術課 野口 裕司		50
(P27) マウスの基本的実験手技の向上をめざして 生理学研究所 技術課 窪田 美津子		51
(P28) 齧歯類微生物自家検査の取り組み 生理学研究所 技術課 神谷 絵美		51
(P29) 電解次亜水(MORI ZIA)を用いた飼育器具等の消毒効果について 岩手医科大学 医歯薬総合研究所 動物研究センター ¹⁾ 、株式会社グロービック ²⁾ 岩手医科大学 医歯薬総合研究所 実験動物医学研究部門 ³⁾ 安野 航 ¹⁾ 、小林 秀範 ²⁾ 、塩谷 明子 ²⁾ 、高橋 智輝 ¹⁾ 、若井 淳 ^{1),3)}		52
(P30) 動物施設の新築と改修について 北海道大学大学院 獣医学研究院 技術室 板 宗克		52
(P31) サル用タスク装置の製作とモンキーチェアの改良 生理学研究所 技術課 戸川 森雄		53
(P32) 中・大型動物の実験支援における技術者の役割 岡山大学 自然生命科学研究支援センター 矢田 範夫		53
(P33) 簡便な組織特異的ゲノム編集のためのトランスジェニックゼブラフィッシュの作製 国立遺伝学研究所 技術課 坂 季美子		54

(P34) ゲンジボタル雌雄における相互同期過程の発光パタン解析	徳島大学 技術支援部 辻 明典	54
(P35) 概日リズムを持つ植物の収集	¹ 名古屋大学 全学技術センター(共通), ² 名古屋大学情報学研究科 ¹ 吉野 奈津子, ² 青木 撰之	55
(P36) ゼニゴケ形質転換体の作製	基礎生物学研究所 技術課 林 晃司	55
(P37) 樹木粉碎機の多様な活用の紹介	徳島大学 技術支援部 蔵本技術部門 (薬学部薬用植物園) 今林 潔	56
(P38) 小型レーザー加工機の安全・安定運用	生理学研究所 技術課 佐治 俊幸	56
(P39) 東北大学大学院歯学研究科における研究設備の共用化への取り組み	東北大学 大学院歯学研究科 技術部 知識 麻友子	57
(P40) 部局における技術部の創設と今後の展望	東北大学 大学院歯学研究科 技術部 河内 英智	57
(P41) 東京大学大学院農学生命科学研究科技術部 分析技術グループ活動報告(研修企画運営)	東京大学 大学院農学生命科学研究科 黒岩 真弓、白井 深雪、曾我 竜一、池田 正則、澤田 晴雄、高橋 功一、藤田 真志、佐々木 潔州、堀 吉満	58
(P42) 浜松医科大学における解剖学教育による社会貢献の紹介	浜松医科大学 器官組織解剖学講座 技術部 佐々木 健、佐藤 康二	58
(P43) 新規利用者を対象にした遺伝子組換え実験に関する安全講習での取り組み	滋賀医科大学 実験実習支援センター 中瀬 拓也	59
(P44) 病理業務における試薬の管理について	富山大学 医薬系技術部(病理診断学) 八田 秀樹	59
(P45) 試薬管理システム CRIS の導入に関して	生理学研究所 技術課 山田 元	60

参加者名簿	61
-------------	----

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

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。大隅ホール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、参加記念帳を大隅ホール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

鍵は研究会の受付にてお渡しします。13時から18時までに間に合わないときは、OCC事務室までご連絡下さい。ロッジ利用時間は午後3時からです。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。

■ご不明な点がありましたら

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。
研究会当日はOCC事務室 (TEL: 0564-57-1870) 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://www.nibb.ac.jp/biogiken/> 又は <http://www.nips.ac.jp/giken/2018/>)よりダウンロードが可能です。

原稿は、平成30年2月13日(火)までに、Wordファイル及びPDFファイルを事前に指定された方法で提出をお願いいたします。PDFファイル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。

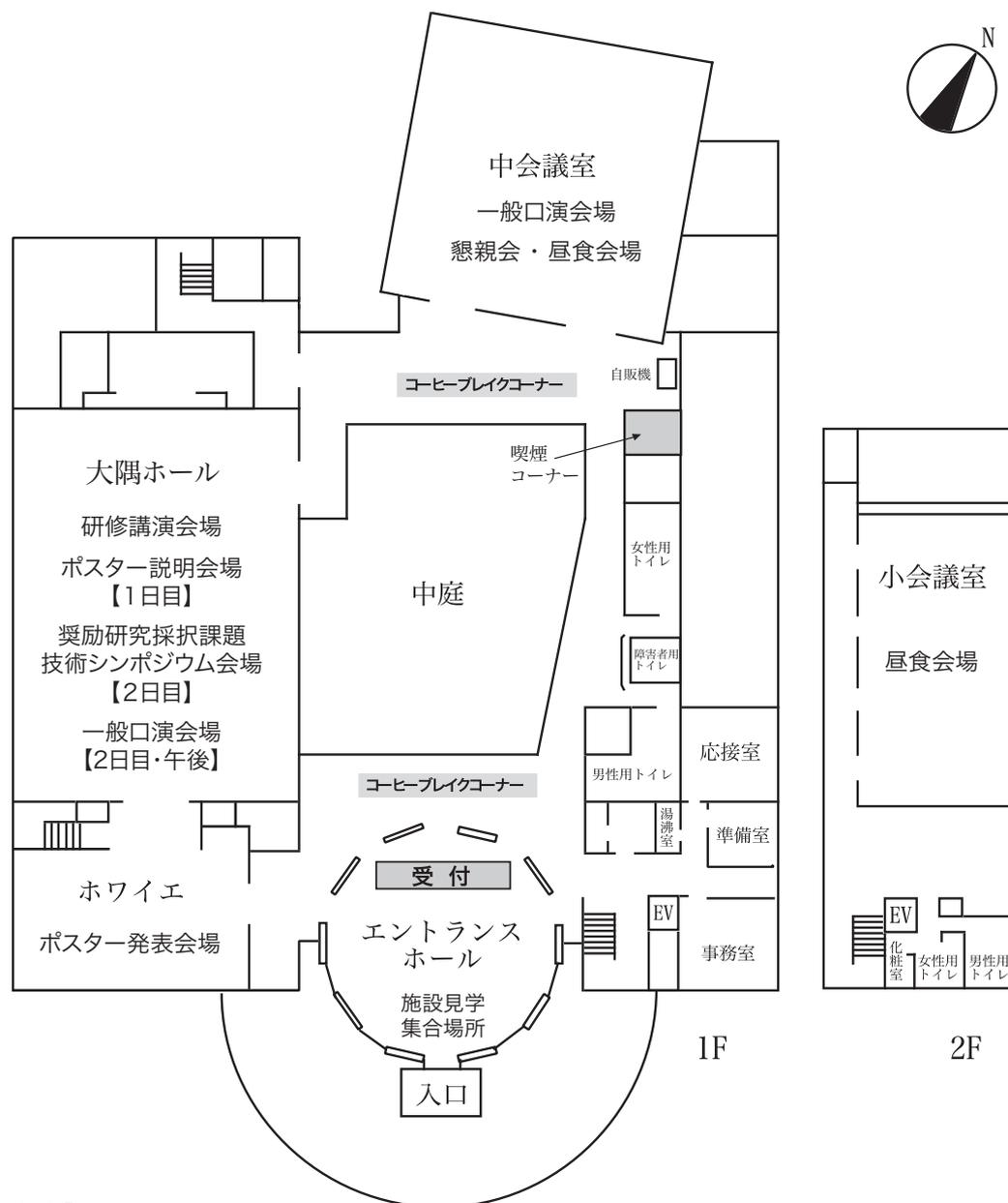
パネルの左上に発表番号が貼ってあります。所定のパネルにご展示ください。

■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
giken40@nips.ac.jp



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	大隅ホール
ポスター説明	大隅ホール
ポスター発表	大隅ホール前ホワイエ
懇親会	中会議室

2日目

(午前)	一般口演	中会議室
	奨励研究採択課題技術シンポジウム	大隅ホール
(午後)	一般口演	大隅ホール
	奨励研究採択課題技術シンポジウム	大隅ホール
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

マウス精子幹細胞の組織内挙動の解明

基礎生物学研究所 生殖細胞研究部門 吉田 松生

【目的】平均的なヒト男性は、60年以上1日1億個もの精子を作りつづける。私の目標は、マウス「精子幹細胞」の精巣中の挙動（分裂、分化、死、移動など）を解明し、精子形成を長期間維持するメカニズムを理解することである。組織形態学を基盤に、今世紀初頭にかけての分子遺伝学（ノックアウトマウスなど）により生物学は大きく進展した。1994年には精子幹細胞の移植が、2003年には培養が実現した。これらを通して、幹細胞は「ニッチ」と呼ばれる決まった領域において、幹細胞と分化細胞を必ず一個ずつ生じる「非対称分裂」を行うという、シンプルで理にかなった説が提唱された。

しかし、精巣中の幹細胞の挙動を直接調べることは実現していなかった。組織構築を保ったまま観察するためには固定染色が避けられず、生きたままの幹細胞を調べるためには組織をバラバラにしなければならなかった。これは、時間を生きている生物、特に多細胞生物を研究する上での大きなジレンマである。そこで、精巣の中の幹細胞一つ一つを時間をこえて追跡することが不可欠だと考えるに至った。

【方法】私は、幹細胞の精巣内の振る舞いを時間を超えて追跡できる、2つの実験系を開発・導入した。1つは「生体ライブイメージング」である。緑色蛍光タンパク質（GFP）を発現する遺伝子改変マウスによって、精巣の幹細胞を生きたまま可視化した。さらに、麻酔下のマウス精巣の中で光る精子幹細胞を、連続観察（動画撮影）するシステムを世界にさきがけて開発した。もう1つは「パルス標識」である。薬剤（タモキシフェン）依存的にDNAの相同組み替えを誘導できるCreER-loxPシステムを用いて、任意の時点で精子幹細胞を標識し、幹細胞一つ一つの子孫の運命を任意の時点で解析した。

【結果】これらの実験によって明らかとなった精子幹細胞の挙動は、定説とは大きく異なっていた。幹細胞は一カ所に留まることなく、精巣中を活発に動き回っていた。分裂パターンもランダムで、非対称分裂を繰り返すのではなく、2つの幹細胞を生じる場合も2つの分化細胞を生じる場合もあった。幹細胞一つ一つの運命は一定のパターンを示さず、バラバラであった。しかし、幹細胞を集団としてみると、自己複製と分化のバランスは正確に保たれていた。

【考察】今後の課題は、個々の幹細胞がランダムに振る舞う一方で、集団としてはカオスに陥ることなく、安定した秩序を保つメカニズムを解明することである。数理統計学や生物物理学的手法によって、幹細胞の複雑なふるまいを生み出すシンプルな行動原理の解明を目指している。更に、それを担う分子メカニズムの解析を行っている。

【参考文献】*Cell Stem Cell* 14, 658 (2014); *Science* 328, 62 (2010); *Cell Stem Cell* 7, 214 (2010); *Science* 317, 1722 (2007); *Dev Cell* 12, 195 (2007)

口 演 発 表
(一 般 口 演)

組織透明化技術を応用した肺癌の組織形態の 三次元解析

秋田大学 医学系研究科 器官病態学講座 工藤-浅部 幸紹

【目的】肺腺癌は死亡率の非常に高い疾患で、日本人の主要な死因の一つとなっている。近年、肺腺癌の中でも、病理組織学的に micropapillary pattern や STAS (Spread Through Alveolar Spaces) といった浸潤パターン、進展形式を示すものが予後不良であることが明らかとなった。しかし、これらの特徴的な組織形態を示す肺腺癌の本態(三次元構成、肺実質を破壊していく過程など)は未解明である。その背景には、従来の二次元的な病理組織学的解析法(3-4 μ mに薄切した組織切片を染色し、光学顕微鏡下で観察)の限界があると考えられる。そこで我々は、組織透明化、蛍光多重染色、レーザー共焦点顕微鏡による三次元再構成を組み合わせることで、予後不良な肺腺癌の立体構築、浸潤様式を解析する本研究を着想した。今回はまずその予備実験として行った転移性肺腫瘍の組織透明化、蛍光免疫染色およびレーザー顕微鏡観察の経過を報告したい。

【方法】近年、様々な組織透明化法が提唱されてきたが、我々は電気泳動を行う CLARITY 法を採用し、自作の試薬と一般的な電気泳動装置「Mupid-2plus」を用いて組織透明化を試みた。この方法を用いた理由は、使用する試薬が単純であり、かつ工程が短いことである。検討対象とした組織は、病理解剖時に採取された転移性肺腫瘍である。具体的にはホルマリン固定後にパラフィン包埋された組織と未包埋の組織を用いた。パラフィン未包埋の肺組織を約1mmに薄切する際には、特殊な装置を用いることなく、メスを用いて手動で行った。また、スライドガラスに乗せて観察する際には、通常の薄切切片(約4 μ m)に比べて厚いため、組織の周りを支持する必要があったが、目的に合った市販製品がなかったため、粘性の高いマリノールを組織周囲に繰り返し塗ることで対応した。透明化の手順や処理方法については既報論文を参考にしつつ検討を進めた。

【結果】約1mmの厚さをもった肺組織であっても、透明化を施すことで深部まで観察することが可能であった。三次元再構成の結果、肺胞内に進展する腫瘍の立体構築が明らかになった。

【考察】今回、肺腫瘍の浸潤形式を立体的に観察することに成功した。ただし、既存の肺胞上皮の染色性が不良であり、この点については電気泳動による熱の影響が考慮された。

【参考文献】Lee E et al., ACT-PRESTO: Rapid and consistent tissue clearing and labeling method for 3-dimensional(3D) imaging. *Scientific Reports* 6:18631. doi:10.1038/srep18631

【使用機器】Mupid-2plus (ミューピッド)

X線CT データを活用したモデル生物の高精細 3DCG アトラス作成の試み

国立遺伝学研究所 技術課 前野 哲輝

【目的】X線CT装置は医療及び工業分野などを中心に広く利用されているが、近年、生物学分野においてもパワフルなツールとして認知されてきている。それは、ヨードなどの造影剤を用いた染色手法により観察対象が広がったことが大きい。当研究所でも2006年に導入されたマイクロフォーカスX線CT装置（以下、microCT）を使用し、マウス胎児を材料として、標本採取法や固定液、染色方法などに関して条件検討を行ってきた（2013年の本技術研究会にて報告）。この経験を踏まえて、現在では魚類、海洋小型生物、昆虫、植物などを対象とした研究者への支援も行っている。その過程で演者は、microCTで得られたデータが詳しく解析されずに埋没してしまうことを少なからず経験した。その原因として、高額なうえに複雑な操作体系の3次元画像解析ソフトウェアの使用や、CT画像の読影に不可欠な形態学の知識不足が大きな障壁となっていることが考えられた。そのような問題を解決するために、個々の研究者の目的に応じて使用可能な複数の解析ソフトウェアを使い分けて、microCTデータから断面動画や3D画像を作成する研究支援を行っている。しかし使用してきた生物分野の画像解析ソフトウェアのみでは表現手段として限界があるため、CGソフトウェアの導入を検討した。そして、目標を「構造名を付記した3Dの画像アトラス」と設定し、スキルアップと同時に研究者の知識不足を補う教材を提供することを目的とした。

【方法と結果】検討には、過去に取得したマウス胎児のデータ（2013年、本技術研究会にて報告）を中心に使用した。CGソフトウェアに読み込む3Dファイルの作成には、Tri3D-BON 32bit版（ラトック社）、OsiriX（Pixmeo SARL, Swiss）、Imaris 8.2&9.0（Bitplane, UK）を比較検討した。次に良好な結果が得られたImarisを用いて各臓器のセグメンテーション作業を行い3Dモデルファイルに出力した。そのファイルをCGソフトウェア”CINEMA 4D（Maxon, DEU）”に読み込み、必要な処理を行ったのち、投稿サイト「Sketchfab」上でライティングなどの基本的な設定と構造名を付記して試験的に公開した。

【考察】まだアトラスと呼べるほどのものはできていないが、今回の試みでCTデータを3DCGソフトで処理し、ウェブ上で公開するまでの道筋をつけることができたと考えている。本発表では、これまでに作成した3D画像を紹介しつつ、ソフトウェア選択やファイル容量と解像度の問題、PCの改善など、CGについて全くの素人の演者が経験したことについて報告したい。

【参考文献・資料】

FaceBook ページ「国立遺伝学研究所 3D Imaging Room」

<https://www.facebook.com/3DimagingRoomNIG/>

RI センター耐震工事後の In situ hybridization 実験再立ち上げにおける試行錯誤

愛媛大学 医学部 解剖学・発生学講座 山宮 公子

【目的】今回、大学内 RI センターの耐震工事に伴い約1年半実験室を閉じ、工事後 In situ hybridization 実験を再開するにあたり実験室、器具、試薬、機器等の準備をし、実験の立ち上げをすることになりました。建物全改修のため使用していた器具や老朽化した機器を廃棄したため、器具を新しくし、機器は代替え機になりました。そのため今まで通りの結果がでるか、またその結果を今までと同等として実験を進めてよいのかを検討しました。

【方法】我々が行っている In situ hybridization 実験は凍結切片に RI 標識した DNA probe を免疫組織化学染色のように目的とするところに反応させ、その後乳剤を塗り感光させ現像することによって反応を可視化します。

1. 頭の中で実験を再現し必要なものを書き出し揃える。
2. 実際に一通り実験をして足りないもの、問題点を考察する。

【結果】

- 1) 必要なものすべて揃っていたので途中で止まることなく最後まで初回実験は出来た。
- 2) しかし二回目以降の実験で次々に問題が発生した。

- ・アイソトープの不良品、 TdT (酵素) の Lot. の違いによる反応の違い
- ・シンチレーションカウンター、画像解析機器の変更による前機種との違い
- ・自らの思い込みによって起きた組織切片の損傷問題 等

【考察】振り返ってみてみると一番の問題は自らの勘違いによって起きた組織片の損傷だと思います。実験の基本である試薬の確認を怠ったこと、また試薬の Lot. が変わったときは注意が必要なことを忘れていたこと。そして再開実験初回の結果がでた時スライドを落とし割ってしまい、検鏡がよくできなく問題点に気がつかなかったことだと思います。もし初回で組織切片をよく観察していれば組織の損傷に気づき、固定液の間違えに気がつき同じ失敗をすることなく組織切片に DNA Probe を反応させる行程に進めたはずでした。しかし今回はこの固定液の間違えた以外にもアイソトープの不良品、TdT の Lot. の違いによる品質の違いで問題が起こり、なかなか前に進むことが出来ませんでした。新しい実験・再実験を始めるときは一つ一つの行程で確認を怠ってはいけないこと、実験の基礎、基本を忘れないことが実験をするものにとって大切なことを学びました。まだまだ改良しないといけないところ、また、この固定液の間違いで古い論文から固定無しでもこの実験が可能であることを知り、実際に実験をして確認しましたが、固定有り無しで反応の強さの違いがあるので、どちらがよいのか今後検討していきたいと思います。

【参考文献・資料】 Å. Dagerlind, K. Friberg, A. J. Bean, and T. Hökfelt (1992) Sensitive mRNA detection using unfixed tissue : combined radioactive and non-radioactive in situ hybridization histochemistry. *Histchem.* 98:39-49

プロテオミクストレーニングコース開催に向けた SDS-PAGE からゲル染色までの条件検討

基礎生物学研究所 技術課 牧野 由美子

【目的】今年、7月19日～21日にかけて基礎生物学研究所-プリンストン大学 合同プロテオミクストレーニングコースが開催された。コースは質量分析によるタンパク質の同定と定量について講義と実習からなり、実習を担当した。なお、言語は英語である。

質量分析装置を用いたタンパク質同定のおおまかな流れとしては、SDS-PAGE→ゲル染色→検出→切り出し→還元アルキル化→酵素消化→ペプチド抽出→質量分析装置による測定、である。実習は1日目午後の4時間と2日目午後の3時間が割り当てられた。時間内に全ての行程を行えないため、還元アルキル化をSDS-PAGEの前に行ったうえ、検出からを実習で行うことにした。このため、染色まで行ったゲルを準備した。

実習のテーマは、アフリカツメガエルの原腸胚と神経胚に存在する核タンパク質の比較である。ゲル全体に明瞭なバンドを検出し、原腸胚と神経胚で異なるバンドパターンであることなどが必要である。これらに対応するため、ゲル作製方法の検討を行った。

【方法】以下の項目について検討を行った。

(1) SDS-PAGE の泳動バッファー

泳動には、4-12% Bis-Tris Plus Gel のプレキャストゲルを用いた。MOPS バッファーと MES バッファーでタンパク質の大きさの分離領域が異なるため、この2つのバッファーについて検討を行った。

(2) 染色試薬

高感度なゲル染色方法として主に、銀染色と蛍光染色があるが、銀染色は脱染色を行う必要があり時間がかかるため、脱染色を省くことのできる蛍光染色を採用した。

蛍光試薬は、Oriole と Flamingo について検討を行った。

【結果】SDS-PAGE については MOPS バッファーを採用し、10kDa 以上のタンパク質の分離を行った。蛍光染色は、感度が良く比較的安価な Flamingo を用いることになった。さらに、タンパク質調製の際の核タンパク質抽出キット、ショ糖密度勾配遠心のショ糖濃度を検討し、適したバンドパターンを得た。

【まとめ】4 グループ各 2 枚のゲルの調製をトレーニングコース開催当日まで行ったが、ほぼ条件を満たしたゲルを作製することができた。作製したゲルは問題なく用いられ、どのグループも順調に実習を終えることができた。

【参考資料】

- ・谷口寿章 (2003) 細胞工学別冊実験プロトコールシリーズ 最新プロテオミクス実験プロトコール 秀潤社

大型スペクトログラフのランプ室結露対策

基礎生物学研究所 技術課 近藤 真紀

【目的】

大型スペクトログラフは、30kW キセノンランプの白色光を回折格子で分光し、紫外から赤外に渡る波長 250nm～1000nm の単色光を照射する装置である。高い波長精度で太陽光の2倍の光強度で照射するため、出力の高いランプを使用している。

ランプ交換時に、ランプハウス内部とランプ表面に結露が見つかった。ランプは点灯時高温になるため、表面に水滴があると破損の恐れがある。そのため、ランプハウス内部の結露を防ぐ対策をいろいろ試みたので報告する。

【方法】

本来、ランプハウスにつながる空冷系統は、外部とは独立して循環している。結露が見つかったのは外気の湿度が高い日だったので、なんらかの原因で外気が空冷系に侵入したため結露したと考えられる。その対策として、以下の方法を試みた。

- (1) 空冷装置のドレインが外部に開いているので、逆支弁を設置した。
- (2) ランプハウス扉を開放して除湿機を設置した。
- (3) 建物内部が陰圧になって外気を吸い込んでいたため、原因を追求した。同じフロアにある水生動物室が強い陰圧で、室内に吸気口がなく扉を開放していたため、フロア全体が陰圧になっていたと判明。水生動物室に吸気口設置し、扉を閉鎖するようにした。

【結果】

- (1) 逆支弁設置後は結露の程度は軽くなったが、結露自体はなくならなかった。
- (2) 除湿機を運転している間はランプハウス内の湿度は低下した。しかしランプ点灯時は扉を閉める必要があり、その状態でランプを点灯・消灯すると、内部の湿度が点灯前より上昇した。
- (3) 陰圧はかなり解消したが、ランプ点灯・消灯後にランプハウス内の湿度が上昇する問題は解消されなかった。

【考察】

扉を閉めて点灯・消灯した時のランプハウス内の湿度は、外気の湿度が高い時に高いことから、陰圧解消後もなんらかの原因で空冷系に外気が侵入していると考えられる。

現状では、照射予定のない時間帯はランプハウス扉を開放し除湿機をかける、という運用で対応しているが、空冷装置を更新する際には仕様に湿度対策を盛り込む予定である。

中学生対象社会貢献事業における 微生物実験ワークショップテーマの実験内容の検討

筑波大学 生命環境系技術室 応用生物化学グループ 木澤 祥恵

【目的】

筑波大学の技術職員による中学生対象社会貢献事業「夏休み自由研究お助け隊 2017」において半日（説明を含めて3時間）で行うことができる微生物ワークショップテーマの内容を検討する必要がある、個人ごとに行う、大学ならではの機器を使用した実験を、という条件に基づいて中学生に興味を持ってもらえそうな微生物関連の題材を検討した。今回は中学生にとっても身近であり、健康食品として近年注目されている甘酒を取り上げ、当該時間内で行うことができる、米麴のアミラーゼによるデンプン糖化を経時的に観察する実験を、酵素反応と培養との二種類の方法を併用して行ったので、この内容および検討の経緯について報告を行う。

【方法】

- 1) 酵素反応によるデンプンの糖化の観察
米飯と水、米麴を混和して60℃まで加熱したビーカーを60℃の恒温水槽で加温し、経時的にサンプリングを行ってデンプンの糖化の過程を調べた。糖化の過程は中学生に馴染み深いヨウ素デンプン反応のほか、尿糖測定用試験紙、糖度計というそれぞれスケールと原理の異なる測定方法を併用した。
- 2) 麴菌の培養によるデンプンの糖化の観察
可溶性デンプン1%を含むPDA培地の寒天プレートに米麴を1粒ずつ埋め込み、自宅に持ち帰って2-3日培養後、ヨウ素液をかけて色素で染まらない部分（ハロ）の状態を観察してもらった。対比として納豆、テンペでも同様に培養してもらった。

【問題点と対応策】

別途準備したサンプルもあったが、実質2時間の実験で尿糖検査用試験紙、糖度計、ヨウ素デンプン反応という異なるスケールと原理を用いた方法で糖化のメカニズムを追跡することができた。ただ、サンプリングの際に米飯と米麴を混和しすぎて結果の呈色が見づらくなることが明らかになったため、今後の要検討課題となった。

また、実験に使える時間を確保するために、スライドや模型を使った説明は「甘酒の中のデンプンの糖化のメカニズム」に絞り込み、実験方法についてはその場でのデモンストレーションを主として後に補足できるよう資料プリントを配布した。また、一人の受講生に一人のサポートが付いて手技についての質問にはその場で答えられるよう対応した。

3Dプリンタによるタンパク質構造模型の作成と教材利用

東北大学 農学研究科・農学部 岡田 夏美

【目的】

東北大学農学研究科技術部では、教育・研究への活用を目的として3Dプリンタを2017年7月に導入した。学部3年生の学生実験の1つである「酵素・タンパク質実験」において、実験内容の理解を深め、タンパク質の立体構造に対する関心を高めるため、同機でサマイモ酸性フォスファターゼ (sweet potato purple acid phosphatase, PAP) の立体構造模型を作成した。

【方法】

単量体(2点)、二量体、基質のモデルを下記の手順で作成した。

立体構造データをProtein Data BankよりPDBファイルで取得し、Chimeraで表面モデルを得た後にSTLファイルに変換した。Meshmixerでサポートを作成し、ダヴィンチPro 1.0 3in1(熱溶解樹脂積層方式)で出力を行った。材質にはABS樹脂を用い、積層ピッチ0.2mm・内部充填率10%の設定で出力した。

出力したモデルは、(1)基質結合部位の同定、(2)単量体を使用して二量体の形を推測、(3)基質と酵素のスケール理解、の3つの観点から、レポート課題に加える等して活用した。

【結果】

学生の反応は概ね好意的であり、特に単量体を組み合わせて二量体にするモデルが注目を集めた。基質結合部位の同定については3D viewerとの併用が必要であり、次年度への課題を残した。

【考察】

タンパク質の立体構造の解説には例年3D viewerを用いていたが、操作と理解に専門的な知識が必要であった。立体構造モデルの併用により、パズル感覚で直観的に形を理解できるなど、初学者の心理的なハードルを下げる効果が見受けられた。一方で、単色モデルでは分子配置を示せない等、情報量に限界があるため、フルカラー模型の作成が望まれる。その他、初年度の反省点として、用意したモデルの個数が少なかった点が挙げられた。また、実際の操作と酵素の形状を結び付けて実験を行うためには、実験終了後にモデルを提示するのではなく、開始時の講義で立体構造モデルを示し、操作の合間に自由に手に取れる形にするのが効果的であると思われた。

実験教育支援のための大学横断型技術研修会 (遠隔実習編)

福井大学 ライフサイエンス支援センター バイオ実験機器部門 高木 均
柄谷 和宏
旭川医科大学 教育研究推進センター 竹内 文也

【目的】大学横断型技術研修プロジェクトは、進化する実験技術や最先端の研究技術に対して共通機器部門が対応していくための人材育成を、大学連携により効率的に行う方策を検討するプロジェクトである。連携の試みの一環として、2015年度に対面型の実験研修会を福井大学において2度開催し、この経緯について昨年度の本研究会で報告した。参加校、参加者の評価などから、大学連携事業としての実験教育支援の意義も確認できたが、より簡単に開催、受講できる工夫の必要性も提議された。ICT技術の活用はこの点を解決する可能性があり、本プロジェクトに有効な遠隔実習システムの模索を2016年度から始めた。

【方法】旭川医科大学・遠隔医療センターが提供するWeb会議サービスを利用することで、高品質なWeb会議と接続のための技術サポートを受ける環境を無料で確保し、大学連携事業を遠隔で進めるためのICTシステムとして活用した。これにより、旭川医科大学・遠隔医療センター会議室で講演する講師と、受講大学に設けられた受信ブースの受講者の間を、双方向通信により実習形式で進める実験解析に関する研修会開催が可能とした。このシステムを使い、2016年に「EC(Expression Console)とTAC(Transcriptome Analysis Console)を使ったDNAアレイ解析実習」、2017年に「研究者のための画像処理(Photoshopによるオンライントレーニング)」と題した遠隔実習を開催した。

【結果】2016年度研修会は、北陸地区国立大学学術研究連携支援対象校を中心に受講者募集を行い、6大学24名が受講、遠隔実習として実施した。2017年度研修会は国立大学法人生命科学研究機器施設協議会参加校にも募集対象を広げ、8大学1施設で85名が参加し、実施した。実習後アンケートの結果は大学連携の効果、遠隔型で行う効果の点で評価が高いことを示しており、遠隔型研修会の効果として受講者、実習講師(協賛企業)、主催者のいずれもが少ない負担で大きな受益があることが証明された。

【考察】大学連携により遠隔型で行う実験教育支援を進めることは、参加大学の研究支援としても意味深い試みと言える。ここまでの試みを通じて、1拠点当たりの受講人数、講演時間に対する講演内容量など補正すれば、解析実習としてはこれらの意義を果たす支援となりうる。今後実験実習への適用を進めることで、大学連携の研究支援システムとしても運用できる可能性もあり、適用可能な実験の拡張を試みていく必要がある。

同一動物種の一次抗体を用いた多重染色とその条件検討

浜松医科大学 器官組織解剖学講座 技術部 医用動物資源支援部
佐々木 健, 山本 麻里奈, 徳山 喜心, 松本 晴子, 山下 遼, 高林 秀次, 佐藤 康二

【目的】生体内での分子の分布は、解剖学や組織学に限らず生命科学全般における極めて重要なテーマとして古くから研究されてきた。このような研究では、対象分子に対する抗体(一次抗体)を利用した免疫染色法が汎用されており、さらに複数の異なる一次抗体を組み合わせることにより、「異なる分子を同一組織上で同時に検出(可視化)する免疫多重染色法」も非常に重要な技術とされている。しかしながら、この多重染色(二次抗体を用いた間接法の場合)では、基本的に一次抗体の免疫動物種を異種にする必要があり、利用可能な一次抗体が同一動物種であったため、多重染色に苦慮して染色自体を断念する場合も少なくはない。その一方で、熱湯処理による抗体の剥離/失活現象を利用し、一次抗体の可視化後に熱湯処理を行うことにより同一動物種の一次抗体を用いた多重染色手法が報告された(1-4)。しかし、これらの報告では加熱温度(熱湯温度)や加熱液の詳細な検討はあまりなされていない。このような背景から、本研究では同一免疫動物種の抗体を用いた多重染色を行う際の、加熱処理の温度と時間、加熱処理液に関する検討を行った。

【方法】染色対象組織は、マウス、ラット、ヒトの脾臓、扁桃、脳、血管等で、一次抗体はKi-67、PCNA、ss-DNA、 α -actin、CD20、肥満細胞、マクロファージ等に対するものを用い、それらはウサギ、マウス、ヤギ由来の抗体であった。加熱温度は70~105°C、加熱時間は1~20分、加熱処理液は10mMクエン酸バッファー(pH6.0)、1mM Tris-EDTAバッファー(pH9.0)を用いた。なお、これらの可視化にはOpal kit(PerkinElmer)によるチラミド蛍光染色法を利用した。

【結果と考察】加熱処理液に10mMクエン酸バッファーを用いた検討では、多くの場合において加熱温度80度、加熱時間10分辺りを境に一次抗体の剥離/失活が認められた。なお、その他の加熱処理液については現在検討中である。また、Opal kitによる可視化は、検出感度が極めて高いため、一次・二次抗体は従来の可視化手法(DABやAlexa蛍光色素)よりも数倍低い使用濃度が適していた。さらにOpal kitの発色液自体も、推奨濃度(100倍希釈)より低濃度(800倍希釈)で十分な結果が得られた。本報告により、同一免疫動物種の一次抗体を組み合わせた多重染色の汎用性がさらに高まることが期待される。

【参考文献】

- 1) 青木ら, 病理と臨床 1996; 14 1533-6.
- 2) Tóth and Mezey, J Histochem Cytochem. 2007; 55: 545-54.
- 3) Ikeda et al., Acta Histochem. 2011; 113: 117-24.
- 4) 榎ら, 生物学・生理学技研報 2013; 24: 104-5.

カブトムシにおける Larval RNAi

基礎生物学研究所 技術課 水谷 健

【目的】

二本鎖 RNA (dsRNA) により、配列特異的に遺伝子の発現が抑制される現象、RNAi (RNA interference) は、1998年に線虫で発見された。その後様々な生物においてもこの現象の存在が明らかになり、遺伝子の機能解析法として広く使われる様になった。昆虫では初めにキイロショウジョウバエでその有効性が確認され、所属する進化発生研究部門でも主要な遺伝子の機能解析手法として用いられている。RNAi は、遺伝子を改変すること無く特異的に標的遺伝子の発現を抑制できるが、その効果は一過性のものであると考えられるため、胚に対して RNAi を行っても成虫になる頃にはその効果は消失してしまう。従って、蛹や成虫での標的遺伝子の機能を解析するには、幼虫期に dsRNA の注射を行う必要があり、これを Larval RNAi という。進化発生研究部門では、様々な昆虫に Larval RNAi を行っているが、今回は完全変態を行うカブトムシを例に、基本的な実験手法について紹介する。

【方法】

1. dsRNA の鋳型の調製 1). cDNA を鋳型にして標的遺伝子に特異的または degenerate プライマーを用いて PCR 反応を行う。 2). 電気泳動を用いて、PCR 産物の増幅を確認。精製後、4-topo vector にライゲーションする。大腸菌に形質転換後、選択培地 (LB, Amp プレート) を用いて培養する。コロニーを突いて培養し miniprep。シーケンス解析を行ない、目的遺伝子であることを確認する。 3). 得られたプラスミドを鋳型とし、4-topo vector 特異配列に、T7 プロモーター配列を付加したプライマーを用いて PCR 反応を行い精製。これを dsRNA の鋳型とする。

2. dsRNA の合成 1). AmpliScrib T7-Flash Transcription Kit (Lucigen) を用いて dsRNA を合成する。37°C、オーバーナイトで行う事で、二本鎖を形成させる。 2). DNase 処理をした後精製し濃度測定、電気泳動で dsRNA ができているか確認。二本鎖の形成が不十分な場合、アニーリング処理を行う。

3. カブトムシ幼虫へのインジェクション 1). 前蛹になる (蛹室を作る) 少し前のカブトムシ終齢幼虫を RNAi に用いる。 2). dsRNA は使用する濃度に希釈し、一匹分を PCR チューブに分注。 3). 1 ml シリンジで T1 (第一胸部体節) の側面に針を刺し、dsRNA を注入する。幼虫は飼育用ボトルに戻し、蛹室形成、蛹化、羽化、表現型を観察する。

【結果】

概ね RNAi 用の dsRNA 調製に関する一通りの操作は習得できた。インジェクションは、カブトムシ幼虫は大きく比較的簡単だが、小型の昆虫ではインジェクターの操作が必要となるため、その操作にも習熟していきたい。

口 演 発 表

(奨 励 研 究 採 択 課 題 技 術 シ ン ポ ジ ウ ム)

細胞種特異的に発現する蛋白質プローブによる 大脳皮質内記憶固定化過程の可視化

理化学研究所 脳科学総合研究センター 行動神経生理学研究チーム 松原 智恵

【背景及び目的】睡眠は感覚経験を記憶として固定化する役割がある。発表者の属する研究チームは、記憶の固定化に重要となる大脳皮質トップダウン経路を発見した。記憶の神経基盤となっているのは、シナプスにおける「長期増強」というメカニズムであると考えられる。そこで、発表者らは、新しく開発された「長期増強により新生・増大したスパインを特異的に蛍光標識し光で操作できるプローブ」(Hayashi-Takagi *et al.*, *Nature* 2015)を導入することで、大脳皮質トップダウン入力と学習に伴う長期増強の間にある因果関係を明らかにし、記憶メカニズムを解明することを目指す。本年度は、大脳皮質においてトップダウン入力の受け手である神経細胞の細胞種特異的に上述のプローブが感染するようにプラスミドトランスファーベクターの遺伝子配列を改変し、AAV (アデノ随伴ウイルス)を作製して、マウス生体実験での検証を行う。

【方法】これまで、記憶に伴う神経活動や樹状突起構造の変化といったミクロスケールの現象と、学習および記憶といった個体の行動発現として表出されるマクロスケールの現象の間に、直接の因果関係を検証することは難しかった。そこで発表者らは、東京大学河西研究室において開発された蛋白質プローブ(As-PaRac1)の導入を図ることで、この問題の解決を目指した。さらに、特定の神経細胞種に特異的にこの蛋白質プローブを発現させることができるウイルスベクターを作製するため、発表者は、上記の蛋白質プローブをコードする遺伝子配列の両端に loxP と呼ばれる DNA 配列を挿入し、DNA 組み換え酵素 Cre を発現している細胞のみに部位特異的組み換え反応が生じるように、プラスミドトランスファーベクターの組み換えを行った。さらに、そのプラスミドを増幅・精製し、そこから作製された AAV (アデノ随伴ウイルス) をマウス生体脳内に導入し、検証を行った。

【結果及び考察】プラスミドトランスファーベクターの組み換えを行い、蛋白質プローブ(As-PaRac1)をコードする遺伝子配列の両端に loxP と呼ばれる DNA 配列を挿入して、細胞種特異的に発現する AAV を作製した。この蛋白質プローブがマウス生体脳内で機能するかどうかの検証は、本研究室の平井研究員が主体となって行った。その際、大脳皮質5層錐体細胞特異的に Cre を発現する遺伝子改変マウス(Rbp4-Cre)に上記の蛋白質プローブを導入し、睡眠を必要とする記憶課題をマウスに行わせ、学習前後のスパイン動態を2光子顕微鏡イメージングにより観察した。その結果、大脳皮質5層錐体細胞のうち、学習で活性化した細胞において新生・増大したスパインだけを特異的に AS-PaRac1 で標識することに成功した。今後、大脳皮質トップダウン入力の受け手である一次体性感覚野の神経活動に着目し、学習前後において特定の神経細胞種のスパイン形態変化を追跡することで、皮質トップダウン入力の受け手である細胞群の樹状突起スパインに記憶が貯蔵される過程を直接的に明らかにすることができると期待される。

【参考文献・資料】

1. Manita *et al.* *Neuron* 2015; 86(5), 1304-1316
2. Hayashi-Takagi *et al.* *Nature* 2015; 525, 333-338
3. Miyamoto *et al.* *Science* 2016; 352(6291), 1315-1318

熊本大学生命資源研究・支援センター 動物資源開発 研究施設 本館マウス飼育室内の各種環境因子

熊本大学 生命資源研究・支援センター 実験動物分野 中村 直子

【目的】熊本大学生命資源研究・支援センター 動物資源開発研究施設（CARD）は、原則、感染実験区域以外における実験動物（動物）の維持に関わる様々な作業を、全てCARDにて請け負う型の動物実験施設である。飼育者が臨床症状に異常のある動物や死亡動物を発見した場合はメールや掲示により利用者へ報告しており、時々、異常や死亡の感染症の関与の確認を希望する利用者の依頼があり、我々が剖検及び微生物検査をおこなっている。我々は、これらの動物の剖検・検査記録から、数年前から、哺育中の母マウスの死亡が散見されることに気づいていたが、系統や、飼育室に偏りがなく、全死亡母マウスが熊本大学で問題とする病原微生物への感染もなく、死亡原因は不明のままであった。CARD本館は、1981年竣工の古い施設であり、新館は2000年竣工の比較的新しい施設であるが空調機の更新などが必要な状態で、どちらも、実験中の動物を取り巻く環境因子を把握できていない状況であったため、母マウスが死亡する原因の解明のために一旦基本に立ち返ろうと考え、まず、CARD本館内のマウス飼育室内の環境の状態を把握するための検討を開始した。

【方法】1. 飼育室内環境：CARD本館内のA、B2つの飼育室内のアダルト、5匹のマウスを収容したケージ交換直前のケージ内について温湿度、臭気物質を測定し、それぞれの飼育室内の飼育装置内の照度及び振動を測定した。2. マウス腸内細菌叢：動物生産施設より導入したICR、SPF、4週齢、雌マウス3匹ずつをA、Bそれぞれの飼育室へ導入し、飼育中の全ケージから集めた糞を検査対象マウス飼育ケージに混和しながら3ヶ月間飼育し、飼育室導入前後の糞を検体として腸内細菌叢の検査をおこなった。

【結果】1. アンモニア濃度は8.3～120ppmとA室、B室のケージで差がみられたが、その他の臭気物質の濃度には大きな差がなかった。騒音は、A室、B室それぞれ平均47.2、64.5dBで飼育装置のファンの有無の違いによる差が見られたものの、振動は、40～50dBで飼育装置の影響はなかった。照度は、両室とも棚上部装置前面で633～720Lxと高値であったが、棚上部装置奥は28～35Lxと下がり、棚下部装置前面は152～183Lx、棚下部装置奥は15～18Lxであった。2. 飼育室導入前後の腸内細菌叢構成は、個体レベルでの変化が見られた個体があったものの、同じ動物実験施設内の異なる飼育室間レベルでは、腸内細菌叢構成の明確な差を見いだすことができなかった。

【考察】今回の検討からは哺育中の母マウスの死亡原因に繋がるような結果を得ることはできなかったが、自施設の飼育室や使用中の飼育装置の環境因子、飼育中のマウスの腸内細菌叢構成を把握できた。今後最終的に母マウスが死亡する原因を排除するために、血液生化学的検査などもおこなって死亡した状況を詳細に検討し死亡阻止に繋がりたいと考える。

飼育作業にストレッチハンドリングを組み込むことによるラットのストレス軽減効果

岡山大学 自然生命科学研究支援センター 赤木 佐千子

【目的】 実験動物のストレスは、実験データに歪みをもたらす場合があることが知られている。実験動物のストレスの軽減は、実験データの正確性・再現性を確保する上でも、また無用の苦痛を排除するという実験動物福祉の観点からも、非常に重要である。

近年、実験動物に対して強制的な運動を課し、全身の骨格筋を脱力させる「ストレッチハンドリング」が提唱されている。報告者の所属機関の最近の研究は、ストレスに応答して副腎皮質から放出されるコルチコステロン血中濃度を測定することにより、ストレッチハンドリングの実施が動物のストレスを軽減させることを示した。

動物実験の現場では、ストレッチハンドリングは採血や投与などの実験処置の直前に行うことが多いと考えられるが、実際には多くの動物に対して処置を行う場合、1匹に対してその都度2分間程度かけてストレッチハンドリングを行うことはあまり現実的であるとは言えない。発表者は大学の動物実験施設において業務に従事する中で、日々の飼育管理の中にストレッチハンドリングを位置づけることでストレス軽減効果が高まるのではないかと考えた。

本研究においては、ケージ交換のタイミングを基準としてラットに異なる頻度でストレッチハンドリングを実施し、血中コルチコステロン濃度をストレスマーカーとして用いることでストレスの程度を評価する。

【方法】 一般的に広く使用されている系統である Wistar ラット♂を用いる。ケージ交換のタイミングを週1回とし、ストレッチハンドリングを行う頻度について①無処置、②週に1回、③週に2回の3群に分ける。全ての群において一週間ごとに頸静脈より採血を行う。4回目の採血が終了した時点で安楽死とする。採取した血液から、酵素免疫抗体法によってコルチコステロンの測定を行う。

【結果と考察】 結果およびこれに基づく考察については発表の中で報告することとしたい。マウスに比べて大型のラットに採血や投与などの処置を行うことに対して、恐怖感からこれらの処置を苦手としている若手研究者は多い。動物が従順であれば術者の受傷事故を防ぐことができるだけでなく、実験データのばらつきも減少し、その結果、使用する動物数を最小限に抑えることが可能となる。本研究は日常的な飼育管理の中心作業であるケージ交換作業に着目し、このタイミングでストレッチハンドリングを実施することによる効果を検討するものであり、倫理的な実験動物の取り扱いの基準である 3R's のうち苦痛の軽減、使用動物数の削減に寄与することが期待される。

マウスの哺育放棄減少を目的とした 環境エンリッチメント選びに関する研究

岡山大学 自然生命科学研究支援センター 動物資源部門 石原 すみれ

【目的】 報告者は大学動物実験施設において実験動物の飼育管理業務に従事している。飼育管理業務の中には、遺伝子組換えマウスの系統維持があるが、母親マウスが出産しても仔食殺や哺育放棄により、思うように維持ができないことがある。さまざまな原因が考えられるが、その一つに飼育環境におけるストレスの存在が強く疑われる。

近年動物が受けるストレスを軽減させ、個々の動物実験の精度を高めることを目的とした環境エンリッチメント製品が数多く商品化されている。そこで本研究では環境エンリッチメント製品が母親マウスに与える仔食殺、哺育放棄軽減効果についての検討を試みた。

評価の指標として、ストレスに対応して副腎皮質より放出されるグルココルチコイドであるコルチコステロンを用いる。そして妊娠中・出産後の環境エンリッチメント製品の使用による母親マウスの血中及び尿中コルチコステロン濃度の変化からストレスの程度を数値化する。これによって仔食殺、哺育放棄軽減効果における環境エンリッチメント製品の効果について検討することが本研究の目的である。

【方法】 動物は、遺伝子組換えマウスのバックグラウンドとして多用されている C57BL/6 系統マウスを用いた。夕方に♀マウスの膣を確認し、腫れの状況から発情前期と判断した♀マウスがいたら、それぞれ♂1×♀1 でペアを作成し交配させた。翌朝、膣栓確認により交配成立が確認された段階で、♀マウスはポリカーボネート樹脂製、木製、紙製の3種類の環境エンリッチメント製品使用群及び不使用（対照）群に分けて個別飼育を行った。交配は各条件の♀マウスを4匹確保するまで実施した。

血液サンプルは、尾静脈用翼状針とヘマトクリット毛細管を用い採取した。尿サンプルは、マウスを保定し仙骨刺激でアルミホイルの上に尿を排泄させ、マイクロピペットで採取した。サンプルは、交配前馴化時、妊娠10日目、15日目と、産後5日目、10日目、15日目、20日目とし、コルチコステロン用検査キットで検査した。

【結果および考察】 本稿執筆時点ではまだ予定するすべての群のデータが出そろっておらず、結果およびこれに基づく考察についても本稿で明らかにすることができない。講演発表の中で報告することとしたい。

【本研究の社会的意義】 動物実験は研究上やむを得ない手段であるが、その実施には科学的な観点のみならず動物愛護の観点も尊重し、両立させることが社会一般からの要請である。適切な環境エンリッチメント製品の活用は、それを実現する一つの方策であり、本研究はその科学的評価の基礎的なデータを提供するものとなるだろう。また本研究が着目する母親マウスの仔食殺、哺育放棄の低減は、貴重な研究資源である遺伝子組換えマウスの安定した系統維持を通じて、動物使用数の削減にも資するものとなることが期待される。

計算機システムの安定稼働を支援するための 信頼度の高い分散協調型監視方式の開発

大分大学 理工学部 技術部 原榎 稔幸

【目的】私の職場である情報系コースでは、教職員や学生が教育・研究に利用するための専用のサーバやPC、ネットワークを導入しており、私はそれらの運用管理業務を担当している。それらのITインフラを安定稼働させるには、日々のメンテナンスとともに、障害発生時に迅速に対応し復旧する必要がある。通常の監視アプリケーションは、現状の可視化や障害発生時の通知などの機能を有するが、障害原因を特定するための情報提示は不十分と考える。例えば、あるサービスが停止した場合、その原因が機器にあるかネットワークにあるかアプリケーションに問題があるか、など考えられる原因は多岐にわたる。そこで本研究では、サーバやネットワークなどの計算機システムを安定稼働させるための支援として、複数箇所に設置したITインフラ監視装置を用いた分散協調による監視方式を提案する。この方式は従来の集中型監視で実現困難であった障害原因の早期特定が期待できる。

【方法】上記の目的を実現するために、ITインフラの稼働状況を監視したデータを収集し、障害の発生状況と推定した障害原因を可視化するシステムを構築する。監視データを収集するために、安価な組み込み機器実装したシステム監視装置を複数台設置する。それらがITインフラを監視した結果を有線LAN、無線LAN、もしくは近距離無線通信規格によりサーバへリアルタイムに監視結果を送信する。ITインフラの有線LAN、無線LANに障害が発生した場合は、通信監視装置同士で機器間通信をおこない、パケットリレー方式でデータ転送してサーバへ収集する。それらの監視データをサーバで分析することで障害を可視化する。

【結果】今回、監視装置は安価なシングルボードコンピュータ Raspberry Pi を用いて実現した。装置にLinux系OSを搭載し、OS上で動作するネットワーク監視および機器間通信のアプリケーションはPythonで実装した。監視装置とサーバとの情報送受信にはMQTTプロトコルを用い、装置間の近距離無線通信にはBluetoothを用いた。実験として、ITシステム稼働中の部屋に各1台、計4か所に監視装置を設置して情報収集をおこなった。その際、通信障害を想定し有線LANと無線LANの通信経路の一部を遮断したところ、機器間通信で隣接した部屋にある装置を経由し、サーバに通信不具合発生情報を送信できた。

【考察】今回の実験結果から、Bluetoothを用いた監視機器間のアドホック通信を成立させるには、機器の配置場所に配慮する必要があることが明らかになった。今後は、この監視機器を導入したITシステム管理を実現するために、引き続きBluetoothによるアドホック通信について調査するとともに、他の近距離無線通信規格を利用することも検討する。

画像処理技術と移動ロボットを活用した ネットワーク機器監視手法の開発

埼玉大学 情報メディア基盤センター 小川 康一

【目的】大学のネットワークは、企業に比べて自由に利用できる環境にある。そのため、利用者はネットワーク機器を用意し、自身の判断でネットワークに接続している。このような環境では、利用者の不注意によりネットワーク障害を頻発させていることが多い。利用者が使用するネットワーク機器は管理機能が乏しく、SNMPなどの監視プロトコルが利用できないため、通常のネットワーク管理システムは機能しない。利用者はITに必ずしも詳しくないため、ネットワーク管理者が障害の発生した部屋に出向き、障害の解決を余儀なくされている。この課題に対し、ネットワーク管理者が障害対応時に行う「目視」による切り分け作業に着目した。Webカメラと小型コンピュータのRaspberry Piを用い、画像処理によりLEDインジケータを認識する監視装置を開発している[1]。しかし、この方法では、監視装置ごとに移動体通信回線が必要で、監視対象が多い場合はコストが高くなる。そこで、本研究において移動ロボットを利用した監視情報を収集する手法を着想するに至った。

【方法】家庭用のお掃除ロボットであるルンバをベースとした移動ロボットを開発した。あらかじめ、移動ロボットと監視装置間で無線LANによるアドホックネットワークを形成する。情報収集は、監視装置が設置されている部屋の近傍の廊下を移動ロボットが走行することにより実現する。移動ロボットの制御はRaspberry Piで行い、環境情報の収集のために深度センサーやレーザ測距センサーなどのデバイスを装備した。この移動ロボットを中心とした監視システムを開発した。監視システムは、監視装置、移動ロボット、監視情報集約サーバ、管理者端末（移動ロボット制御・監視情報表示）で構成される。本研究では、監視システムを基本として、以下の追加機能の実装と大学構内での実験を行った。

1. 移動ロボットの遠隔操作による監視情報の収集
2. SLAMを利用した自動走行による監視情報の収集
3. 監視装置のRSSI値を利用した移動ロボット制御による通信の最適位置の探索

【結果】1の遠隔操作による情報収集では、移動ロボットの操作経験や走行する場所の事前情報が必要であった。そこで、環境地図を作成し自己位置推定を行う、2のSLAMにより自動走行と自動収集を実現した。さらに本手法を発展させ、監視装置と移動ロボット間の通信が最適に行える位置を探索するために、3の移動ロボットを制御する手法に結実した。

【考察】本研究の実用化には、移動ロボットの運用方法についての検討が必要である。現状、1台の移動ロボットでは電源の問題があり、充電している間に監視情報の収集ができない問題がある。そこで、複数の移動ロボットを交互に走行させることを検討中である。

【参考文献・資料】[1] 小川康一、吉浦紀晃：小型コンピュータと画像処理技術を活用したネットワーク機器監視装置の開発、情報処理学会研究報告、2017年。

電磁気学教材としての簡易電子顕微鏡製作Ⅱ

名古屋大学 全学技術センター 神野 貴昭

【目的】

市販の実験装置は、使いやすさが向上するとともにブラックボックス化が進んでいる。ブラックボックス化は、装置の仕組みや測定原理を覆い隠してしまうため、教育機関としては望ましくない側面がある。

そこで、学生たちの装置に対する理解を深めるために、単純な構造で分解や組み立てが容易に可能な装置を製作することを考えた。本研究は、装置の仕組みや測定原理と電磁気学のつながりを学生に意識させることを目的として、簡易電子顕微鏡を製作するものである。実際に研究で扱う実験装置の原理を学ぶことで、基礎科目の知識をより確かなものにしていくことが大学の教育としては望ましいと考え、本研究を進めている。

【方法】

本研究は、昨年度からの継続研究である。昨年度は、主に電子顕微鏡の電子線照射系及び電子レンズ系を製作し、より基礎的な電磁気学の内容の教材となるように研究を実施した。今年度の研究では、昨年度の問題点の解決と検出器系及び制御系の製作に取り組み、実際に走査型の電子顕微鏡として、像を得ることを目指している。

具体的には、KF40配管の規格をベースにした鏡筒の再製作、電子線加速用高圧電源の再製作、LabVIEWとUSB-6001(National Instruments)を用いた電子線走査の制御、偏向コイル用の電流増幅回路の製作、シンチレータと光電子増倍管を組み合わせた二次電子検出用のEverhart-Thornley検出器(ET検出器)の製作、油拡散ポンプ(VPC-51)の導入による真空排気系の改善などに取り組んでいる。

【結果】

予稿を執筆している現状では、鏡筒や高圧電源のなどの再製作は完了している。鏡筒の構造の見直しや、高圧電源をはじめとする電子回路系の配線などの見直しにより、昨年度よりも装置の取り扱いのしやすさは向上した。

検出器系にはいくつかの問題があり、まだ二次電子像を得る段階までは進んでいない。電子線走査の制御系については、最低限の製作はできているが、検出器系の製作が遅れているため、調整すべき点が残っている。

真空排気系については、油拡散ポンプ(VPC-051)を導入にしたことにより、真空度は大きく改善し、昨年度の問題であった電子銃フィラメントの寿命の問題はほぼ解決した。

【考察】

今後は、検出系の製作を進めつつ、その他の部品の調整を行っていく。また、製作した装置を教材として活用するための資料作成や、効果的に利用するためのデモ実験などの計画も進めていく予定である。

IoT 社会を支えるスマートセンサの設計・試作環境の構築

豊橋技術科学大学 技術支援室 飛沢 健

【目的】スマートセンサは、今後の IoT（ありとあらゆるものが接続されたインターネット）社会を支えるセンシングの主役となるため、その試作環境の構築が急務である。

スマートセンサとは、センサと LSI (Large Scale Integrated circuit) を一体化した高機能・高性能デバイスである。異種材料や特殊製造プロセスが必要なスマートセンサの開拓を行うことは、異種材料が他の製品へ悪影響を及ぼさない検証が必要となるため、企業では、たいへん困難である。本学の設備を利用することでそのセンサを開発することが可能であるが、様々な分野の研究者がスマートセンサを開発するには設計を含めた試作環境が必要である。スマートセンサの試作には、専用の半導体製造プロセス（熱処理、薄膜堆積、不純物導入など）と、設計のための専用のパラメータが必要である。本研究では、スマートセンサの試作に必要な製造プロセス条件および設計に必要なパラメータを抽出しまとめた、設計・試作環境を構築することを目的とする。

【方法】設計に必要なパラメータの抽出用のトランジスタ・抵抗素子などのテスト素子を搭載した試作 LSI を製作し、半導体プロセスの製造条件のまとめ、および電気特性から設計パラメータを抽出する。

プロセス条件の取得の際には、試作 LSI 上に膜厚をエッチング後のモニタリングできるパターンを配置するのと、酸化等の工程では膜厚・エッチングモニタリング用の Si ウェーハを一緒に処理する等の工夫をした。ウェットエッチングレート、ドライエッチングレート、成膜レート、シート抵抗の項目について検討を進める。

設計データの抽出は、まず、ゲート長と幅を振ったトランジスタが配置された試作 LSI の電気特性を半導体パラメータアナライザによって測定する。つぎに取得した測定データをソフトウェア (Keysight (Agilent) Technologies 社製: IC-CAP) に入力し、SPICE パラメータを抽出する。Level 3 までの SPICE パラメータの抽出が可能である。

【結果】半導体製造プロセスの一部条件だし結果（ウェットエッチングレート、ドライエッチングレート）を取得することができた。

【考察】今回取得したプロセス条件だし結果は、母数が少ないこともあり、バラツキまでは網羅できていないため、今後継続してデータの収集を行う必要があると考えられる。

設計データ抽出用の LSI は製作途中であるため、今後製作した LSI を完成させ、ゲート長と幅を振ったトランジスタ測定し、IC-CAP によって SPICE パラメータを抽出する。プロセス条件と SPICE パラメータをまとめて、研究者が活用できるデータベースを構築する。

電気穿孔法、膜透過ペプチドを用いた細胞への タンパク質導入条件の検討

鳥取大学 技術部 工学・情報系部門 水田 敏史

【目的】タンパク質の構造・機能解析において、タンパク質の精製後に試験管内で解析を行う手法が広く用いられてきた。しかし、試験管内と細胞内では環境が大きく異なるため、近年は細胞内環境下におけるタンパク質の構造・機能評価に関する研究が注目されている。細胞へのタンパク質導入方法として、プラスミドを用いた導入方法が一般的であるが、この手法では細胞内の材料でしかタンパク質を生産できない。細胞外でタンパク質を調製することにより、同位体ラベル、蛍光ラベルなどの導入が可能となる。そこで、タンパク質を細胞外から細胞内に導入する手法として、電気穿孔法（エレクトロポレーション）、膜透過ペプチドによる導入条件の検討を目的とした。

【方法】タンパク質を導入する細胞として、マウス神経芽細胞腫（Neuro 2a）を用いた。エレクトロポレーションによる導入実験では、培養後の細胞を PBS Buffer で洗浄、トリプシン EDTA 溶液で細胞を剥離、回収し、約 10×10^6 cells/ml になるように細胞数を調整した。エレクトロポレーターのパルス条件、Buffer を検討し、GFPuv の導入を行った。膜透過ペプチドによる導入実験では、細胞がフラスコに接着した状態で GFPuv-TAT（GFPuv の N 末端側に TAT 配列を追加した変異体）を含む PBS Buffer を添加し、 37°C 、5% CO_2 条件下で導入を行った。両実験において、細胞内への GFPuv 導入確認は、共焦点レーザー顕微鏡を用いた。

【結果】共焦点レーザー顕微鏡を用いて細胞を観察し、エレクトロポレーション、膜透過ペプチドともに GFPuv の細胞内移行を確認した。また、膜透過ペプチドによる導入実験において、10 μM GFPuv-TAT を含む PBS Buffer を培養細胞に添加し、 37°C 、5% CO_2 条件下で 15 分間細胞をインキュベートした結果、GFPuv の細胞内局在が確認された。

【考察】マウス神経芽細胞腫におけるタンパク質細胞内導入条件を確認することができた。各導入法において、損傷を受けた細胞の割合が不明であるため、生細胞数を測定する必要がある。また、今回は細胞内導入タンパク質として GFPuv を用いたが、今後は細胞内で機能することが期待されるタンパク質に蛍光標識を行い、導入検討を行う予定である。

飢餓ストレス応答機構解明に向けた 分子イメージング手法の開発

東海大学 生命科学統合支援センター 岡田(山口) 千沙

【目的】真正粘菌変形体は、低温・飢餓・乾燥等の生育に不利な環境下で、活発な原形質流動を停止し、飢餓適応システムにより細胞壁を持つスクレロチウム(Sc)に分化する。これまで私達は Sc 形成過程で活性のピークを示すリン酸化ミオシン脱リン酸化酵素(Pase)の諸特性等について明らかにしてきた。今年度の奨励研究採択課題において、私達は蛍光分子イメージング法を用いて飢餓適応によるダイナミクスな Pase・ミオシン・アクチンの観察手法の開発を推進してきた。

真正粘菌の蛍光イメージングにおける大きな障害は、非常に強い自家蛍光シグナルである。そこで本研究では、(1)真正粘菌を用いて自家蛍光が強いサンプルに対するイメージング手法を開発する。それにより、神経や心筋細胞、さらには植物のような自家蛍光が強いサンプルの分子イメージングにも幅広く応用可能となる。(2)また抗 Pase, ミオシン抗体は共にウサギに免疫して得られていることから、同じ種類の動物に免疫して作製された抗体による蛍光抗体法も検討していく。これらが解決されれば、(3)細胞運動・細胞壁の有無等、様々な細胞形態における免疫染色手法が確立でき、Pase の細胞内分布から変形体が飢餓ストレスを受けた場合、原形質流動を停止する為に細胞内でどのような分子のリモデリングが行われるかが明らかになる。

【方法】真正粘菌変形体および Sc を固定し、蛍光抗体法の検討に用いた。

(1)自家蛍光が強いサンプルからの蛍光シグナル取得方法検討には、まず①共焦点レーザー顕微鏡を用いて自家蛍光と目的蛍光スペクトルを分離する方法を用いた。②また広義の自家蛍光に含まれる細胞内小器官の光散乱を軽減できる透明化試薬に着目し、複数の試薬を用いて自家蛍光に対する影響を調査検討することにした。(2)同じ動物種から得られた抗体を用いた間接染色では、二次抗体のクロスリアクトが懸念されることから、①Pase あるいはミオシン抗体についてアビジン-ビオチン法を用いる方法を検討した。また②一次-二次抗体複合体を作製しその溶液を用いて染色を行い、それぞれの方法を比較考察した。

(3)(1), (2)の方法による蛍光抗体法から、真正粘菌変形体および Sc における Pase, ミオシン, アクチンの局在を明らかにする。尚, アクチンは Phalloidin を用いて染色した。

【結果・考察】変形体および Sc のアクチンおよび, Pase もしくはミオシンのアビジン-ビオチン法による染色を行ってスペクトル分離画像を得たところ, 自家蛍光と分離した目的蛍光シグナルを得ることができた。アクチンはこれまでの知見と再現性ある位置に局在が検出され, Pase・ミオシン・アクチンの局在は近傍に位置することが認められた。さらに透明化試薬, あるいは一次-二次抗体複合体を用いた染色結果と合わせて詳細を報告する。

ポスター発表

Inverse-PCR 法と次世代シーケンス技術を用いた 外来遺伝子挿入位置同定法開発

東海大学 伊勢原研究推進部 生命科学統合支援センター 鈴木 英樹

【目的】トランスジェニック動物の外来挿入遺伝子位置特定やゲノム編集生物の off-target 部位特定には多額の費用と時間がかかる。InversePCR 法と次世代シーケンス技術を用いて、簡便で迅速・低コストな外来挿入遺伝子ゲノム位置特定法の開発を行った。

【方法】ゲノム編集ノックインマウスと一般的な DNA 注入法により作出された外来遺伝子導入マウスの尾からゲノム DNA を抽出し、順次下記実験を行った。①g-Tube によるゲノム DNA 断片化の条件検討 ②末端平滑化・自己環状化の条件検討 ③Inverse-PCR の条件検討 ④MiSeq による次世代シーケンス ⑤配列解析による外来遺伝子挿入部位候補領域の特定

【結果】2ug のゲノム DNA を断片化・平滑末端化し 400ng を 1ng/ul 濃度にて自己環状化させ、2 段階の inversePCR (PrimerStarGXL2 倍量/2stepPCR/30 サイクル) を行う事で特異性と収量が確保できた。次世代シーケンス解析の結果、計 7 個体について、外来導入遺伝子のゲノム挿入位置候補領域を各個体毎に数個所にまで絞り込む事に成功した。

【考察】on-target 領域も検出され本法の妥当性が示されるが、最終的な位置確認が必要。

ジンバイソウ生息土壌における eDNA 真菌叢解析

岩手大学 農学系技術部 長井 和哉

【目的】蘭の一種であるジンバイソウは生息数が少なく、保護の対象となつてはいるが、移植すると生存率が低下してしまう移植困難植物である。ジンバイソウの保全のため移植成功率の向上を目指すことを目的として、ジンバイソウ生息土壌と移植候補地の土壌中に生息する真菌叢の解析を行った

【方法】土壌中から eDNA を抽出し、網羅的に真菌類を増幅させるユニバーサルプライマーを用いて次世代シーケンサーによる真菌類メタゲノムシーケンスを行った。得られたデータの解析は blast2go プログラムを用いて行った。

【結果】真菌類メタゲノムシーケンスの結果、サンプルごとの真菌叢にバラツキがあったが、ジンバイソウ生息土壌と移植候補地どちらも uncultured fungus が圧倒的な優占種であることが分かった

【考察】ジンバイソウ生息土壌と移植候補地間の真菌叢を比較することで移植候補地を選択できる可能性が示唆された。今後は実際に移植し、経過を観察して真菌叢と移植成功率の関連性を調査する必要があると考えられる。

10x Genomics 社 Chromium™ システムによる 非モデル生物のゲノムアセンブル

基礎生物学研究所 技術課 山口 勝司

10x Genomics 社 Chromium™ システムは、マイクロエマルジョン作製技術を利用した、イルミナ社次世代シーケンサー用の前処理機器である。長い数分子 DNA をマイクロエマルジョンに封じ込め、エマルジョンごと個別の「目印」を付加させることで、イルミナ社の short read 次世代シーケンサーのデータから、元の長い数分子 DNA の配列を復元する。これによりゲノム配列のロングアセンブルを対立遺伝子の分別まで含めて達成できる。

【目的・方法】Chromium™ システムを用いて、実際に非モデル生物のゲノムアセンブルを行った。アセンブル解析はメーカーより提供された supernova v1.2 を利用した。

【結果・考察】行った数種の非モデル生物種でのアセンブル結果は、数 M から 10M に近い scaffold N50 値（配列不明な N を含めて繋げ合わせた加重平均長）となった。これはイルミナシーケンサーを単独で用いた通常解析では到底達成できない長さであり、本システムの有効性が発揮された。生物種ごとの長さの違いが、その生物種の配列に起因するものか、単離ゲノム品質の状況によるものか、今後様々なサンプルを通じて検証を進めたい。

一分子リアルタイムシーケンス技術を用いた DNA 塩基修飾検出法について

基礎生物学研究所 技術課 尾納 隆大

【目的】ゲノムメチル化領域の特定を目指す共同利用研究課題の遂行のため、一分子リアルタイムシーケンサーPacBioRS II を用いた DNA 塩基修飾検出法・解析方法の把握に努めた。

【方法】塩基修飾解析の手順を以下に記す。

- ① リファレンス配列（塩基修飾の有無を知りたい配列）の作成・入手
- ② 全ゲノム増幅したコントロールの作成（塩基修飾を外したサンプルをシーケンスして得られた生データをリファレンス配列にマッピングする）
- ③ 塩基修飾解析（塩基修飾を残したままのサンプルをシーケンスして得られた生リードを使用して②で作成したコントロールと比較する）

【結果・考察】SMRTPortal もしくは SMRTLink（どちらも PacBio 純正のツール）を使用した塩基修飾解析の基本的な流れを押さえることができた。しかしどちらのツールでも単一分子の塩基修飾解析を行うことはできないことも分かった。現在、この問題点を解決するために SMALR というサードパーティツールの把握に努めている。

TCGA データセット活用方法の検討

東北大学 大学院農学研究科・農学部 技術部 小森 和樹

【目的】TCGA とはがんゲノムのデータベースである。様々なデータが登録されており、マイクロアレイ、メチレーション、次世代シーケンサーによって取得された配列情報などを取得して利用することができる。公開されたデータを利用し、研究を進めることは非常に有意義である。

【方法】

- (1) DataPortal を利用して簡単に利用する方法について検討した。
- (2) データをダウンロードし、解析する方法について検討した。

【考察】(1) DataPortal を利用する方法は非常に簡単であり、情報系の技術を持たない研究者でも簡単に情報を引き出せることがわかった。(2) データをダウンロードして解析する方法は敷居が高く、情報系の技能を持ったものでも、ある程度習熟期間を設ける必要があることがわかった。TCGA は非常に有用なデータベースであり積極的に利用すべきである。

【参考文献・資料】

TCGA (<https://cancergenome.nih.gov/>)

フローサイトメトリーによる自家蛍光物質の有用性

浜松医科大学 先進機器共用推進部 柴田 清

【目的】フローサイトメトリーの解析において細胞内の自家蛍光は、ネガティブポピュレーション (NP) の中に隠れている。今回、355nm のレーザーによる自家蛍光物質の解析が、フローサイトメトリーに有用なのか以下のことについて検討した。

【方法】材料は、対数増殖期にある K562 細胞を使用した。界面活性剤 TritonX を使用し、細胞を壊死させ、その変化を FACS Aria (BD) にて解析した。自家蛍光物質の励起波長は 355nm、蛍光波長 450nm で測定した。同時に、Propidium Iodide (PI) により細胞の生死判定、また Rodamin123 によるミトコンドリアの膜電位との関連を解析した。

【結果と考察】355nm 励起の NP は、通常解析とは逆で、Positive Population (PP) の位置とした。TritonX による細胞への傷害度に応じて Population は、左方移動し、蛍光強度は減少した。この減少傾向は、PI と Rodamin123 の蛍光強度の変化と一致した。この結果から次の事が、明らかになった。細胞の生死判定に蛍光色素が不要となった。生死判定に蛍光色素が不要となったので、他の蛍光色素の影響を受けず解析、ソーティングが可能となった。

多次元フローサイトメトリー解析法の確立

神戸大学 バイオシグナル総合研究センター 川本 智, 岩崎 哲史, 鎌田 真司

【目的】細胞にレーザーを照射し、得られた蛍光強度を解析するフローサイトメトリーは、機器、抗体、蛍光色素の進歩などもあって現在の医学、生物学における研究には欠かせない技術となっている。今回は、これまで個々に行っていた細胞に関する生化学、分子生物学的な解析を、フローサイトメーターを用いて細胞単位で同時に解析することを目的とした「多次元フローサイトメトリー解析」を行うための条件検討について報告する。

【方法】悪性黒色腫メラノーマは発がんプロモーターTPA により細胞増殖が阻害されることが知られている。そこで、ヒトメラノーマ培養細胞を材料とし、TPA を処理した際の細胞内のシグナル伝達分子遺伝子発現量、タンパク質発現量、細胞周期の変化をフローサイトメーターで解析した。これらの解析結果（パラメータ）を同時に得るため、細胞の固定、透過処理、ハイブリダイズ等の条件を検討した。

【結果・考察】サンプル調製の条件を至適化することで、複数パラメータの解析を行うことができた。調製の条件について情報を蓄積していくことにより、様々な試料、パラメータの組み合わせでの同時解析が可能になると思われる。

フローサイトメトリーを用いた講習会の取り組みと課題

滋賀医科大学 実験実習支援センター 森 康博

【目的】2010年よりフローサイトメトリーの講習会を行っていたが機器の利用者増加につながっていなかった。そこで講習会後のアンケート結果から初心者が難しいと感じている蛍光補正を抵抗なくできることを目的に講習内容を検討した。

【方法】参加者には外国人がいたので講義を英語で行った。その後3グループに分かれて実習を行う際にも外国人には英語で対応した。資料に関しても操作方法を映像化し、講習会後も希望者には映像を視聴できるようにした。

【結果】フローサイトメーターの利用は当初年間450回程度だったものが600回を超えるようになった。またセルソーターの利用は当初年間40回程度だったものが120回を超えるようになった。

【考察】今後も講習会を通してフローサイトメトリーの利用につなげていくため、講習会の映像化や開催回数など講習会の改良を行い利用者の増加につなげていきたい。

Lowry 法のお邪魔虫” 界面活性剤” の影響を調べる

九州工業大学 情報工学部 楠本 朋一郎

【目的】我々の研究室では細胞膜タンパク質を取り扱う都合上、界面活性剤で細胞膜から膜タンパク質を抽出する必要がある。細胞膜タンパク質はカラムクロマト等によって精製する際も、水溶液での可溶化状態を維持するために界面活性剤を添加する。しかし、タンパク質の定量をするにあたり界面活性剤は Lowry 法にて影響があることが古くから知られているため、TCA-Lowry 法や BCA-Lowry 法などの変法を適用している。ただし、これらの方法は前者は手法が煩雑で誤差が出やすく、後者は時間管理が厳密になり試薬も高い。今回界面活性剤ごとに Lowry 法への影響の有無やその程度を調べた。

【方法】試料に BSA を用いて、Lowry 法の際に様々な界面活性剤を添加して影響を調べた。

【結果】Triton X-100 や MEGA 9+10 など影響が出るものもあれば、意外に影響がない界面活性剤も存在した。

【考察】影響のある界面活性剤でも濃度を考慮すれば問題なくなるものもあり、今後不必要に TCA-Lowry 法などでやっていた試料について見直していく必要があると考える。

キシレン代替品の比較検討

北里大学大医学部 形態系 安井 美江、中丸 尚美、橋村 美紀、沼田 賀子、梅沢 敦子、小栗 康子、新村 朋子、勝又 修、阪本 桃子、西槇 俊之

【目的】北里大学医学部ではキシレンを代替品に切り替え、安定的な作業環境を構築しているが、エラスチカ・ワンギーソン染色 (EVG 染色) に於いてピクリン酸の流出を経験し、問題点として前回報告した。現在いくつかのキシレン代替品が入手できるようになり、それらを比較した結果を報告する。

【方法】脱パラフィン、透徹、封入までをファルマ、ユーアイ化成、メルク、和光の 4 社の製品で比較検討を行った。

【結果】HE 染色を始めとした基本的な染色では水分に弱い代替品は工夫を要するが、すべての製品で良好な染色結果を得た。問題であった EVG 染色では 2 社の製品でピクリン酸の流出は起きなかった。水分に弱い製品、刺激臭の有無、封入剤の凝固速度など異なる特性を知り得た。

【考察】それぞれ利点・欠点があり、作業環境や染色種類で適切な代替品の選択を勧める。北里では一定の利用方法を確立し、現在染色の問題は解消され安定した結果を得ている。

ハーフ(バスケット&ステンバット)と、ミニバスケット

浜松医科大学 腫瘍病理学講座 加茂 隆春

【目的】 前回報告の“ハーフバスケット”(7枚用)は、試作改良し、それに付随するステンレスバット(“ステンバット”50~65ml)も完成させた。さらに開発中の、“ミニバスケット”(4枚用)は既存の丸バット溝付5枚立用(ガラス)に入る。【方法】 これらを用いて(脱パラ~脱水、封入)、蛍光 *in situ* hybridization(FISH法)、免疫組織化学酵素抗体法(免疫染色)を施した(ステンバット+ハーフバスケット:A、ミニバスケット+丸バット溝付:B)。FISH法の、前処理(95℃)、プロテアーゼ処理(37℃)、プローブ洗浄(72℃)をするとき(A)、ヒト乳癌で、HER2/J-CRP17 プローブを用いる。免疫染色は賦活処理液(95℃/40分)に浸漬するとき(AB)、一次抗体はKi-67(MIB-1)、AE1/AE3、TTF-1、CK-20を用い、ヒト肺癌、大腸癌を染色する。【結果】 FISH法は、良好な陽性シグナルを得た。免疫染色(A)は、すべてが良好に染まり、(B)はKi-67、AE1/AE3が(A)より染まりが弱かった。【考察】 少数(2~7枚)のオーダーも、溶液のエコ、タイムラグの解決になり、用手法によるプレパラート作製が容易になった。【参考文献・資料】 加茂隆春. 第2報ハーフバスケット&専用バットと、ミニバスケット(4枚用), 第96回日本病理組織技術学会, 2017年8月

顕微鏡下における培養液自動交換システムの検討

徳島大学 技術支援部¹⁾, 徳島大学大学院 医歯薬学研究部 法医学分野²⁾
北池 秀次¹⁾, 庄野 正行²⁾

【目的】 細胞を培養するためには、滅菌的な環境という基本的な条件に加え、pHと温度の安定が求められる。顕微鏡下で培養を行いながら観察をする特異な環境においても、インキュベーターで行うようにpH域を保つことが理想とされる。これまで、デジタルタイマーを使用して細胞培養液を交換していたが、前回の報告をもとに顕微鏡下における細胞培養液を正確に自動交換するシステムを検討したので報告する。

【方法】 培養細胞はPC12細胞、細胞培養液(DMEM)はpH指示薬となるフェノールレッドが添加されているものを使用し、液晶ディスプレイを通して基本細胞培養液から得られるRGBデータをデジタルカラーセンサーにより測光し、自動的に細胞培養液を交換させた。

【結果】 顕微鏡下において、細胞の代謝による細胞培養液のpH変化を、液晶ディスプレイを通してデジタルカラーセンサーが読み取ることを確認した。顕微鏡下においても細胞培養液の状態を目視ではなく自動的に判別することによって、細胞における至適pHが正確に維持できることが示唆された。

医学科 1 年の生物系学生実習における 電子顕微鏡指導法の紹介

浜松医科大学 医学部 総合人間科学講座 外山 美奈

浜松医科大学では、医学部医学科 1 年生に対し生物系学生実習を課すことで、生命現象一般の理解促進を図っている。そのため、実習内容はカエルの解剖、タンパク質の精製法、動物の交互転向反応、顕微鏡観察実験など多岐に亘る。特に顕微鏡観察実験では、ルーペから実体顕微鏡、光学顕微鏡まで理解を深めさせた後に、電子顕微鏡についても実習させ、生命機能を支える構造の理解の促進を図っており、私はそれらすべての教育に関わっている。

この電子顕微鏡実習はタイトルを「光学顕微鏡と電子顕微鏡による微細構造の比較」として、材料はキイロショウジョウバエ *Drosophila melanogaster* の幼虫と毛髪（ヒトの毛髪と人工毛）を用い、光学顕微鏡と電子顕微鏡を比較させる実習を行っている。総勢 115 名という大人数の学生を対象として、電子顕微鏡について短時間でわかりやすく指導するために、様々な工夫をしているので報告する。

岩石薄片技術の紹介とその応用

北海道大学大学院 理学研究院 技術部 中村 晃輔

【目的】薄片技術とは地質学分野で岩石試料の内部構造を知るために、岩石をスライドガラスに接着し、鉱物が光を通す均一な $30\mu\text{m}$ の厚さになるまで研磨にて作製するプレパラート技術の一つである。この技術を応用すれば、あらゆる試料でも硬度を上げれば研磨によって任意の厚さにすることができる。例えば、硬組織と軟組織をプレパラート化すれば内部構造の同時観察が可能となるし、表面の研磨によって分析にも対応できる。薄片技術を応用して生物学分野にも貢献できればと考えている。

【方法】生物試料の軟組織部分を樹脂に置換してブロック化して薄片試料にする。

【結果】軟組織を硬化することで、研磨によって任意の厚さにすることは可能となる。また、表面を鏡面研磨することで、分析も可能となる。

【考察】細胞レベルまで保存される最適な固定法や樹脂置換方法を確立させたい。本研究会に参加して、生物学の標本作製の基本等を学ばせてもらいたいと考えている。

奨励研究の申請許可と採択を受けて —メダカ全身組織バーチャルスライドの作製と そのデータベース化—

¹北里大・医・解剖、²岡山大・理、³山口大・医・病理、⁴東京大・院・新領域
西槇 俊之¹⁾、勝村 啓史²⁾、小賀 厚徳³⁾、尾田 正二⁴⁾、太田 博樹¹⁾、小川 元之¹⁾

奨励研究は、教育・研究機関の教職員等であって、他の科学研究費助成事業の応募資格を持たない者が一人で行う教育的・社会的意義を有する研究を助成し、奨励することを目的としている。これまで本学では、教育系技術職員が申請することは認められていなかったが、平成 29 年度から医学部の教育系技術職員も申請することが可能となった。本学での応募条件としては、1) 研究課題について、応募許可申請書を事前に提出し、技術担当部長・所属長が勤務時間中に研究を行うことを承認していること。2) 研究課題が所属部署の業務に関連し、今後の業務の改善・改革に繋がる内容であることとある。その過程の中で、本課題である「メダカ全身組織バーチャルスライドの作製とそのデータベース化」を申請する運びとなり、初申請で採択されることができた。本発表では、本学における奨励研究の申請許可に至った経緯や採択された研究課題について紹介する。

MRI データ処理環境の高速化 —PC クラスタと 10Gb ネットワークの導入—

生理学研究所 技術課 伊藤 嘉邦

生理学研究所心理生理学部門では、7T-MRI から得られる高解像度画像データと 3T-MRI の高解像度化によるデータの大容量化に対応するために、データ処理環境の高速化を推進している。

その一環として、これまでは fMRI データの解析に Windows PC で動作する MATLAB+SPM を用いてきたが、これに加えて Linux 上で動作する Free Surfer 等の解析ソフトを使用するために、PC クラスタ・システムを導入した。また、PC クラスタを利用する際にユーザー側の PC との間で大量のデータを転送する必要があるため、研究室内に 10Gb Hub を複数台設置して 10Gb ネットワーク環境を構築した。

PC クラスタ・システムは、Xeon E5-1660v4 (8Core/3.2GHz/16GB/SSD128GB) × 4 台を InfiniBand (100Gbit/sec) を使って接続し、Job 管理用に Xeon E5-2603v4 (6Core/1.7GHz/16GB) を用い、データ格納用としてファイル・サーバー(96TB) × 2 台を搭載している。

PC クラスタは、CentOS 6.9 に Open MPI をインストールしてあり、定型のデータ処理をバッチ的に実行することで、従来のように個人個人の PC で処理を行うよりも短い時間で効率良く処理を行うことができる。

差し込みメール配信アプリケーションの開発（２）

生理学研究所 技術課 村田 安永

【目的】前回開発したアプリ(entMail)は短期間で動作するようにする必要があったため、Windows フォームで作成したが、高 DPI 環境でも利用できるようにするため、WPF (Windows Presentation Foundation) で作成し直すことにした。また、編集機能を追加し、その中で自動的に入力文字に色が付く機能と、入力補完機能を実装して利便性を向上させることにした。

【方法・結果】WPF については詳しい書籍がなかったので、ネット上から情報をかき集めて開発を行った。自動的に入力文字に色を付ける方法については、“WPF SyntaxHighlightBox” というプログラムのソースコード解析を行って習得した。このプログラムでは、入力時とスクロール時の速度低下を防ぐための工夫がされており大変参考になった。ただし、たまに色が付かない、日本語入力時にアンダーラインが表示されないなどの問題があったので、大幅に修正を行った。

【考察】目的の編集機能は作成できたが、入力時とスクロール時の速度面で改善の余地がある。今後できる限りの試行錯誤を行ってアプリを完成させたい。

基生研技術課 Web サイトのリニューアル

基礎生物学研究所 技術課
諸岡 直樹、斎田 美佐子、尾納 隆大、西出 浩世、水谷 健

【目的】基生研技術課 Web サイトでは業務内容の紹介と生物学技術研究会での報告論文データベースを一括してコンテンツ管理システム (CMS) で運用を行ってきた。しかし CMS の更新が困難となり、セキュリティの観点からも更新が望まれていた。今年度 Web サイトを以下の 2 つに分割リニューアルしたので、その経緯や採用したシステムを紹介する。

【技術課サイト】CMS で管理を行っていたが、内容の更新が少ないことやセキュリティに配慮して、静的な Web サイトとして新たに構築しなおすこととした。ただし、HTML で編集するには担当者の知識不足や時間的な制約もあり、市販のソフト (テンプレートが豊富でレスポンシブデザインにも対応したもの) を利用しサイトの全面的な再構築を行った。

【生物学技術研究会報告サイト】CMS は NetCommons 2、報告論文の管理にはリポジトリモジュール Weko を用いた。また従来サイトと同じログイン ID とパスワードで利用可能なよう、移行をおこなった。それぞれの報告論文の本文 (PDF) は、Excel ワークシートに所定のフォーマットでまとめたメタデータとともに、WekoDataConverter でインポートファイルに変換し、Weko へインポートを行った。

FlashAir を用いた温湿度監視警報装置の作製

生理学研究所 技術課 吉村 伸明

【目的】SD メモリカードに無線 LAN を内蔵し、簡単にデジタルカメラのファイル共有ができる Toshiba の FlashAir SDHC メモリカードがある。これはマイコンを内蔵し、多くの公開された Application Programming Interface を持っており、無線 LAN、Web サーバー、Serial Peripheral Interface、ファイル操作などをプログラムすることで自在に制御できる。これをマイコンと見立てて装置を設計することで、面白い発見は無いかと試作してみた。

【方法】Inter-Integrated Circuit (I2C) でセンサーから計測結果を読み取り、I2C で液晶ディスプレイに表示、ファイルへ記録、異常時にはメールを送信することとした。実装されている汎用スクリプト言語である Lua でプログラムを行う。

【結果・考察】小型に設計することが容易。無線 LAN は消費電力を食う。メモリー等使えるリソースは少ない。ファイルの記憶容量はたっぷりある。内蔵 RTC は正確とは言えない。状態を監視する方法が少ないためデバッグが大変。セキュリティ更新に追われない。工夫次第でいろいろな応用ができる面白いデバイスである。

簡易電力モニタリングシステムの構築

東北大学 工学部・工学研究科 技術部
安齋 あいり，横山 梨香，大村 安幸，藤澤 政則

【目的】省エネ活動には、自身が使用している電力量の可視化が重要な役割を果たすが、可視化装置の導入には大規模な工事やコストが必要となる。そこで、導入前の検証を目的として、安価に導入可能な簡易電力モニタリングシステムの構築及び性能の確認を行った。

【方法】電力量の測定を行うセンサモジュールは、変流器 (CT)、電力量センサ (オムロン製 KM-N1-FLK)、マイコンを組み込んで製作した。マイコンは Arduino、Raspberry Pi 等を使用し、それぞれの使用感を検証し選定した。電力量の可視化は、ディスプレイを用いる方法と、Web アプリケーションを用いる方法の 2 パターンを検証して実装した。この装置を当学高速中性子実験室に設置し、ヒートレスエアドライヤー装置を対象として実験中の電力使用量の測定を行った。

【結果】電力量の可視化によって、電力消費の原因や傾向の把握が可能になった。また、得られた情報を元に省エネ対策を行い、装置の電力使用量を抑えることが出来た。

【考察】今後は本システムを様々な環境下の装置に対して活用するべく、センサモジュールの小型化及び設置の簡易化と、可視化アプリケーションの汎用化を進める。

東北大学総合技術部情報ネットワーク職群研修の開催 3

東北大学大学院 医学系研究科・医学部 広報室 一條 肇

【目的】今年度も東北大学総合技術部情報・ネットワーク群（以下、情報群）からの要請があり、3年目の研修開催が決まる。前回は企画段階で見誤った点もあり、その反省を生かす他に、昨年の報告時に頂戴した意見・指摘等も取り入れてみた。具体的には、一日の研修でも扱う内容は限りなく絞る、参加人数を制限し複数講師が担当するなどの見直しを行った。テーマは、開催要望が多かった「動画コンテンツ制作のための基本的な撮影技術と編集について」を主とした研修内容で、企画・調整・開催することにした。

【結果・考察】今回も職務内容や職名を問わずに参加を呼びかけたところ、他の技術職員から勧められて参加した、今後担当するからぜひ参加したいという意見が見られた。技術的な内容を多く取り入れることで、広報に関する内容は減ったが、今まで自己流で行っていた撮影者などは、実際のプロに話を聞いて大変勉強になったという意見が見られた。広報・知財管理グループとしての研修は、今回で終了の予定だったが、今後の開催も期待されたので、職群と相談の上で、参加者の業務実態等を調査しながら、よりニーズに合った研修を企画・開催できるように取り組んでいければと思う。

子ども向けプログラミング体験教材の検討

神戸大学 工学研究科 電気電子工学専攻 松本 香

【目的】プログラミング学習の足がかりとなるような小学校高学年～中学生程度を対象とした初心者向けプログラミング教材について検討する。自らプログラム製作を行うことで「プログラミングの面白さ」を体験させたいと考える。

【方法】米のマサチューセッツ工科大学（MIT）メディアラボが開発した初心者向けプログラミング言語“Scratch”を用いる。今回は Robotist と Studuino を用いて簡易なロボットを製作し、このロボットの動作を制御するプログラミングを体験してもらう。

【結果】小学生にはロボットの組み立てを行ってもらったが、ブロックの向きに気をつける必要があり、保護者の協力が必要であった。中学生にはロボットへのプログラミングを体験してもらい、センサーやLEDの制御を行うことができた。ロボットの組み立てからプログラムの作成まで一通り体験してもらえるよう今後更に検討したいと考える。

【参考文献・資料】

富重真理，荒川等，大野芳久，本田俊光，“フィジカルコンピューティンググループ 2015 年活動報告”九州地区総合技術研究会 in 九州工業大学・報告集，P.120，2016.3

液体シンチレータ着色の原因探査

基礎生物学研究所 技術課 澤田 薫

【目的】液体シンチレータは低エネルギーベータ線核種の放射能測定に使用し、実験サンプルの測定のみならず表面汚染検査など施設管理にも重要な試薬である。表面汚染検査のサンプルで液体シンチレータがピンク色に着色する事案が発生した。液体シンチレータの着色は色クエンチングを起こし、測定効率を低下させるため原因を探った。

【方法】原因としてスミアろ紙のロットの違いと液体シンチレータの劣化とが考えられた。新旧ロットのスミアろ紙を各部に切り分けたものと、液体シンチレータ (Emulsifier-Safe と Ecoscinti-XR) を様々な組み合わせでバイアル瓶に入れ、着色が発生するか観察した。また、着色した液体シンチレータの測定効率と吸光度も測定した。

【結果と考察】新ロットスミアろ紙の番号が印刷された部分と Emulsifier-Safe の組み合わせで着色が観察された。原因は番号の印刷に使用されたインクだと思われる。Ecoscinti-XR では着色が見られないので、液体シンチレータを変更することを考えている。

マイクロインジェクションで FLP/FRT システムの組み換えを起こす試み

基礎生物学研究所 技術課 竹内 靖

【目的】FLP-FRT システムとは出芽酵母由来の組み換えシステムで、特異的配列 (FRT) に対して組換え酵素である FLP が組み換えを起こす。マウスで FLP/FRT システムの部位特異的組換えシステムを働かせるためには FLP の TG マウスとの交配が用いられる事が多い。

今回は TG マウスを用いず、体外受精後にマイクロインジェクションを行う事により組み換えを起こす事を試みた。

【方法】FRT 配列が導入されたノックアウトマウスの雄を用いて体外受精を行い、その受精卵の核にキットを用いて合成した FLP の mRNA をマイクロインジェクションした。翌日まで培養して 2 細胞期胚を偽妊娠マウスに移植して仔を得た。その仔をジェノタイプピングして組み換えを検出した。

【結果】PCR により、組み換えが起こった個体を検出できた。

【考察】FLP の mRNA をマイクロインジェクションする事により、FRT 配列で DNA の組み換えを起こす事が出来た。

センシング技術を用いた小型実験動物の行動解析

宮崎大学 工学部 教育研究支援技術センター 長友 敏

【目的】 マウスを用いた小型実験動物の行動解析は、医薬品や食品の開発、病態モデルの評価やその原因究明など生命科学研究の重要な研究手法になっている。近年、定量的な実験結果、実験者の負担軽減、実験動物への動物福祉も考慮したセンシング技術を利用した計測システムが求められている。本報告では、平成 23 年度から、本学の工学部、農学部教員と計測システムの試作開発を実施してきた報告をする。

【方法】 本研究に用いたセンシング技術について、使用したセンサは、CMOS カメラ、Kinect センサ、熱画像カメラを使用した。ソフトウェアは、画像処理ライブラリを利用したプログラムにて作成し画像解析をおこなった。

【結果】 センシング技術を用いて、小型実験動物の CMOS カメラでは位置情報、Kinect センサでは三次元位置情報、熱画像カメラでの計測では位置情報と表面温度情報を同時に取得した。

【考察】 今後の方針として、生命科学分野実験への配慮、実験コスト、動物福祉などに対応した実用的な行動解析システムを提案する。

新たな過剰排卵誘起剤を用いたマウス体外受精について

基礎生物学研究所 技術課 野口 裕司

【背景・目的】 マウスの体外受精は、より多くの卵子を得るために、雌個体への過排卵処理を施すことから始まる。近年、従来の方法（PMSG-hCG 法）よりも、さらに多数の採卵が望める過剰排卵誘起剤が開発された。その大きなメリットから、今年度より当動物施設でも用いるようになったため、その体外受精について報告する。

【方法】 C57BL/6J マウスの雌個体に対し、過剰排卵誘起剤（CARD HyperOva）とヒト絨毛性性腺刺激ホルモン（hCG）を 48 時間間隔で腹腔内に投与し、過排卵を誘起した。その hCG を投与した 17 時間後、雌個体より卵管膨大部を摘出し、受精培地（TYH 培地）に取り出した卵子へ媒精した。翌日、2 細胞期に達した胚について確認した。

【結果】 4 週齢において、1 匹あたりから数多くの卵子が得られ、予想を上回るマウス胚を得ることに至った。

【考察】 4 週齢での本誘起剤の使用は、効果があるものとする。特に遺伝子改変マウスの雌個体を用いた体外受精の場合、その匹数に限りがある状況であれば、より多くの採卵を期待する上でも、有意義な選択肢のひとつであると言える。

マウスの基本的実験手技の向上をめざして

生理学研究所 技術課 窪田 美津子

【目的】2015年より、動物実験の基本理念である3R (Reduction、Refinement、Replacement) を考慮したマウス、ラットの正しい取り扱い方と、基本的な手技の習得をめざすことを目的に講習会を開始した。動物手技訓練用モデルを活用し、動物への苦痛の軽減と受講者のスムーズな実技への移行を実現したが、回数を重ねるうち、実験に必要な手技と合致しないという意見や、受講者の習得度合いのばらつきがみられるようになったため、これらを改善するため以下の取り組みを行った。

【方法】参加者のアンケート集計結果から、経口投与、腹腔内投与、下顎静脈採血の習得度合いは約80%、尾静脈採血と尾静脈投与は約30%との結果が得られたため改善を試みた。

【結果】血管の走行がみやすいように保定器を変更、注射針のゲージ数変更、実験動物用翼付採血針を採用した結果、経口投与、腹腔内投与、下顎静脈採血の習得度合いは100%、尾静脈採血と尾静脈投与は50%以上となり、大きく向上した。

【考察】上記以外では、広報の方法や、利用者の意識について改善の必要がある。

齧歯類微生物自家検査の取り組み

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。自然科学研究機構動物実験センターにおいても3ヶ月に一度ICLASモニタリングセンター（以下ICLAS）に検査依頼を行ってきたが、検査結果早期入手・経費削減・汚染事故発生時早期対応を目的に、自家検査を導入することとなった。

【方法】検査体制は獣医師1名・技術職員1名の2名体制で行うこととし、ICLASにて研修を受けた。検査方法はICLASに準じた。2016年10月から2017年11月までの約一年間を平行期間とし、ICLASへの委託検査と自家検査の結果を比較した。

【結果】平行期間中の自家検査検体数は、マウス148匹・ラット43匹であった。その間に委託検査・自家検査同時にTyzzer菌感染が摘発された。それ以外はどちらも全て陰性であった。

【考察】陽性例を見ることはまれだと考えられるので、今後も定期的に研修が必要だと考えている。また今後は現在検査項目になっていないが、他施設で必要項目とされている*Helicobacter* spp. や緑膿菌についても検査ができるよう検討したい。

電解次亜水(MORI ZIA)を用いた 飼育器具等の消毒効果について

岩手医科大学 医歯薬総合研究所 動物研究センター¹⁾, 株式会社グロービック²⁾
 岩手医科大学 医歯薬総合研究所 実験動物医学研究部門³⁾
 安野 航¹⁾, 小林 秀範²⁾, 塩谷 明子²⁾, 高橋 智輝¹⁾, 若井 淳^{1),3)}

【目的】電解次亜水(MORI ZIA)とは食塩水を電気分解することで生成される弱アルカリ性電解水であり、広い抗微生物スペクトルとその即効性から、優れた消毒効果が期待できる。本研究ではMORI ZIAを実験動物施設に導入した場合を想定し、飼育器具や動物用実験器具に対する消毒効果の検討を行った。

【方法】マウス用飼育ケージおよび給水ボトルノズルを被消毒物として使用した。また、アクリル製の動物用吸入麻醉ボックスを想定し、アクリル板を被消毒物として使用した。それぞれの被消毒物をMORI ZIAを用いて消毒後、一般生菌数を測定した。

【結果】全ての被消毒物において、MORI ZIAの優れた消毒効果が確認された。

【考察】優れた消毒効果に加え、アクリル板へのダメージが小さいことから、MORI ZIAは優秀かつ安全性の高い消毒薬であると考えられた。

動物施設の新築と改修について

北海道大学大学院 獣医学研究院 技術室 板 宗克

北海道大学獣医学研究院では、獣医学の教育や研究に使用する多くの実験動物を飼養保管している。本年度（平成29年度）は、動物実験における環境を整えるため、動物施設の新築及び既存施設の改修を行っている。その中で動物施設担当の技術職員は、現場当事者として新改築工事の多岐に関わる仕事をしている。

具体的には、工事施工業者と事務員・教員との架け橋となり、研究者の要望を出来る限り多く応えられるよう工事会議に参画している。また、工事に伴う飼育動物の一時保管先への移動や機器・什器の引越し作業計画も執り纏めている。

本発表では、動物施設の新改築工事に対して必要な準備、問題点等を整理し、現時点での動物施設更新について報告する。

- ・新築工事（平成29年1月5日～平成29年8月31日）
- ・改修工事（平成29年6月26日～平成30年3月23日）

サル用タスク装置の製作とモンキーチェアの改良

生理学研究所 技術課 戸川 森雄

【目的】我々の研究室では、社会的認知機能の脳内メカニズムを解明するため霊長類動物を用いた実験パラダイムの開発に取り組んでいる。これは互いに相手の行動情報をモニターし、それを利用して意思決定を行っている2頭のサルにより神経活動を記録・解析する方法で行うものである。今回この実験を可能にするためボタン押し課題用の装置を製作し既存のモンキーチェアにも改良を施したので報告する。

【方法】サルをモンキーチェアに座らせたままボタン押し課題を行わせる必要性からボタンを配した実験用パネルを製作し、それをモンキーチェアに取り付けて使用することにした。モンキーチェアの改良は、既存の2種類のチェアで実験パネルが取り付け可能となるように改良を施し対応した。

【結果】製作した実験用パネルは、ボタンの位置関係、動作状態などで不具合が見つかりそれぞれ対応を要した。またオープンタイプのチェアは、サルの力で腕周りの囲み部分が広がり補強材を入れて対処した。現在は、実験に問題なく使用できている。

中・大型動物の実験支援における技術者の役割

岡山大学 自然生命科学研究支援センター 矢田 範夫

ブタやヤギなど産業動物の世界からやってきた実験動物が注目されている。マウスやラットによる基礎研究の成果を臨床へ橋渡しする上で、中・大動物による安全性・有効性の検証は欠かせない。またda Vinciなどロボット手術や臓器移植、救命救急分野の手技確立、さらに若手医師のトレーニングなどの場面においても中・大動物は一層重要な地位を占めつつある。一方、中・大動物の手術の術前準備・術中管理・術後ケア等の手技は、ヒトの医学を学んだ医師といえどもまったく別の世界に属する。またそのために決して適切でないものも含めて自己流の方法が各研究グループごとに伝承されてきたのも現実であった。

そこでわれわれは、中・大動物を対象にした「ウェットラボ技術支援サービス」を立ち上げ、日常の飼育管理だけでなく実験における周術期管理全般を動物実験施設の実験動物技術者と獣医師・動物看護師のチームが担う態勢を構築した。イヌ、ブタを中心に始まったこのサービスは、昨年から新たにヤギも対象に加わり、多くの実施例を重ねてきている。本発表では、実験動物としての中・大動物において動物福祉の考え方を真に実現する上で、技術者による技術支援業務が有する大きな意義について報告したい。

簡便な組織特異的ゲノム編集のための トランスジェニックゼブラフィッシュの作製

国立遺伝学研究所 技術課 坂 季美子

【目的】ゼブラフィッシュにおける CRISPR/Cas9 法を利用した組織特異的ゲノム編集技術を開発する。これにより任意の組織で遺伝子破壊・改変することを可能にする。

【方法】国立遺伝学研究所・初期発生研究部門は、様々な組織で転写因子 Gal4 を発現するトランスジェニックゼブラフィッシュリソースを有する。このリソースに着目し、トランスポゾンを用いた遺伝子導入法により、Gal4 認識配列 UAS の下流に Cas9 配列とレポーター遺伝子配列をもつトランスジェニックフィッシュ (UAS:Cas9 フィッシュ) を作製する。

【結果】作製した UAS:Cas9 フィッシュと筋肉組織及び卵細胞において Gal4 を発現する系統を掛け合わせ、得られた胚において期待される組織でのレポーター遺伝子の発現を確認した。更にこれらから得た受精卵に、アルビノ表現型の原因遺伝子 *slc45a2* を標的とする gRNA を微量注入したところ、標的部位の切断と欠失等を伴う修復を確認した。

【考察】体細胞でのゲノム編集が確認された。今後、gRNA 注入フィッシュを掛け合わせ、*slc45a2* 遺伝子変異の次世代への継承を解析し、UAS:Cas9 フィッシュの有効性を評価する。

ゲンジボタル雌雄における相互同期過程の 発光パターン解析

徳島大学 技術支援部 辻 明典

【目的】ホタルの集団による明滅は、神経細胞のバースト発火、心筋細胞の拍動や概日リズム等にも見られる同期現象として知られている。本研究では、ゲンジボタル雌雄の明滅が相互に同期する過程について発光パターンを用いて解析を行ったので報告する。

【方法】①ゲンジボタル雌雄の組を直近に配置し、高感度カメラを用いて明滅を撮影。②ホタルの発光部を画像解析し、時間-相対発光強度の発光パターン波形を生成。③発光パターンより 1 回の明滅を 1 周期とし、データ全体の周期よりヒストグラムを作成。④周期の変化を時系列データとした波形を生成、近似曲線を適用して雌雄の周期の遷移状態を分析。

【結果】実験にはゲンジボタルの雄・雄 12 組、雌・雄 22 組、雌・雌 8 組を用いた。雌・雄それぞれの周期のヒストグラムより、連続して明滅するとき①雌は雄に比べ分布の中心で高い値を示し、安定した周期で明滅することを確認した。さらに、雌雄が相互に同期する過程では、雌雄によらず②1 回の明滅毎に互いの周期が逐次調整され、③時間経過に伴い、雌雄のいずれも周期が短く(明滅が速く)なることが明らかとなった。

概日リズムを持つ植物の収集

¹名古屋大学 全学技術センター（共通），²名古屋大学情報学研究科
¹吉野 奈津子，²青木 撰之

【目的】依頼業務として身近で動く植物の収集を行った。また試験的に微速度撮影を行い運動の確認を行った。

【方法】葉や花が開閉運動すると思われる植物を野外観察園、名古屋大学構内等で採集、育成し、9cmポットに鉢上げした。種子から育成したものは、9cmポットで高さ10cm程度まで育成して利用した。植物は室内にてインターバルレコーダー レコロ(キングジム製)を用いて微速度撮影を行った。撮影期間は0.5日～4日間、撮影間隔は30分に1回である。

【結果】マメ科の多くで運動が見られ、葉の着位置により動きが異なることが確認された。

【考察】撮影画像を利用するためには葉の少ない個体を選ぶこと、葉の動きを予測して撮影環境を整える等更に検討が必要である。

【参考文献・資料】P.サイモンズ(1996)動く植物 植物生理学入門. 八坂書房.

ゼニゴケ形質転換体の作製

基礎生物学研究所 技術課 林 晃司

【目的】身近なコケ植物であるゼニゴケは、国内外に広く分布しており、近年は生物学等の研究分野において、モデル植物として注目されつつある。私の出向先の研究部門においても、膜交通と呼ばれる、細胞小器官の間における物質輸送の仕組みを解明するために、実験材料の一つとしてゼニゴケを用いており、その形質転換体の作製は、必須となる手技の一つである。その習得を兼ねて、これまで形質転換体の作製を繰り返し行ってきた。

【方法】形質転換は、アグロバクテリウムを介した方法で行った。成長点除去の切断処理をして4日間培養したゼニゴケ幼葉状体と、目的の遺伝子を導入したアグロバクテリウムを共培養することで、切断面にアグロバクテリウムが感染し、遺伝子導入が行われる。

【結果】おおむね効率良く形質転換株が得られたが、用いたゼニゴケ変異体株によっては、効率の低いものもあった。また、手技に不慣れな当初には、カビなどの発生により、再作製を余儀なくされるケースもあった。

【考察】形質転換効率の低い株については、作製方法に少し変更を加えることで、改善する可能性があると考え、今後試みる予定である。

樹木粉碎機の多様な活用の紹介

徳島大学 技術支援部 蔵本技術部門（薬学部薬用植物園） 今林 潔

【目的】薬用植物園では標本樹木の剪定枝や、台風などで倒木した樹木は園内で貯蔵するか、産業廃棄物として有料廃棄していた。

【方法】平成 19 年度教育研究等支援事業の学内募集に申請して、「樹木廃棄物の処分の効率化および有効利用事業」として採択され、自走式樹木粉碎機を導入することができた。

【結果】徳島大学が掲げる「地球にやさしい環境対策」として「CO₂削減」、「廃棄物排出量の抑制およびリサイクルの促進」、「キャンパス緑化を適正に管理および推進」に貢献できた。また、機械導入前までは研究用材料植物の根茎や枝は、長時間をかけて剪定鋏等で切断していたが、導入後は短時間でチップすることが可能となった。

小型レーザー加工機の安全・安定運用

生理学研究所 技術課 佐治 俊幸

出力 50W、加工面積 400X400mm の小型レーザー加工機(大門レーザー JV440)を導入した。中国製で 20 万円を切る価格で売られている樹脂、木材、皮加工が可能な、ホビー用の加工機ではあるが、厚さ 10mm までのアクリル樹脂板の切断や穴開けが可能であり、表面彫刻も行える。制御ソフトは、常用している JW-CAD と以前より保有している CorelDraw に添付のプラグインを導入する事で対応可能であり、この能力であれば、生理研機器研究試作室でのアクリル樹脂加工に十分に適用可能であると判断した。

今夏以降、この加工機を使って実験機器の試作を数点行い、従来の切削加工では手間のかかった加工が、容易に行えることが判った。また、CAD での製図後、材料の切り出しが容易に完了するため省力化にも貢献し、度重なる仕様変更にも対応可能となった。

しかし、安価であるが故に、「光軸調整が難しい」「動作音が大きい」「フェールセーフ機構が無い」などの不都合な点が数多く存在した。そこで、導入後に実施した、安全・安定運用のための改良点を解説すると共に、この小型レーザー加工機で試作した実験機器を紹介する。

東北大学大学院歯学研究科における 研究設備の共用化への取り組み

東北大学 大学院歯学研究科 技術部 知識 麻友子

【目的】当研究科には共同研究教育施設として共同実験ラボセンターが設置されているが、その管理は各ラボの担当教員が独自に行っていた。このため様々な課題を抱えており、研究科として統一的な管理が求められていた。こうした状況を背景に、利便性の向上・担当教員の負担軽減・共用化の促進を目的として、技術部を中心に管理体制の整備を行った。

【方法・結果】各ラボの状況調査と担当教員の意見収集を行った後、技術部へ管理を移管できるラボから整備を開始した。技術部管理とすることで共用化が飛躍的に進み、利便性の高い施設へと近づいた。さらに、研究科外の利用者について利用料金を設定し、大学全体へ利用を開放することで、センター創設以来初めて利用料収入を得ることができた。また、センターの運営資金獲得のため、文部科学省の先端研究基盤共用促進事業への応募も行った。採択には至らなかったものの、外部資金調達へ向けた非常に良い一歩となった。

【考察】共用化は徐々に進んでいるが、未だ手つかずのラボや改善点も多い。今後はより一層利便性が高く、開かれた施設を目指し、種々の取り組みを進めていきたい。

部局における技術部の創設と今後の展望

東北大学 大学院歯学研究科 技術部 河内 英智

【目的】これまで本研究科の殆どの技術職員は各研究室にそれぞれ所属し、研究室の一員として業務を行ってきたが、近年ではネットワークや共用機器管理、広報、安全衛生など研究科全体の事業に携わる共通業務の技術者のニーズが高まっていた。研究科内で前例がない業務を担う技術職員の育成をしながら、効率的な業務を行っていくためには既存の体制を大きく変え、組織化を図っていく必要があった。「歯学研究科技術部」を立ち上げるべく、私自身がこれまで中心となって取り組んできた活動内容について報告する。

【方法】必要とされる業務に対してどういった人材を集めるか、どのような運用体制を整備して、技術者を育成していくかを検討し提案を行った。採用業務についても積極的に関わり、教員や事務、様々な組織と連携して受け入れの準備を整えた。現在は各業務の確立と職員の育成を試行錯誤しながら進めている最中である。

【考察】技術部を創設し今年で2年目となるが、問題点や今後の課題、全学的組織である東北大学総合技術部との関係から部局における技術組織の在り方を考える。

東京大学大学院農学生命科学研究科技術部 分析技術グループ活動報告(研修企画運営)

東京大学 大学院農学生命科学研究科 黒岩 真弓、白井 深雪、曾我 竜一、
池田 正則、澤田 晴雄、高橋 功一、藤田 真志、佐々木 潔州、堀 吉満

大学院農学生命科学研究科技術部分析技術グループは、附属演習林・附属牧場・生態調和農学機構・水産実験所・附属技術基盤センターからなる5附属施設横断型の技術向上グループとして2013年度に発足した。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技術までを考えている。体制は各施設から選出された9名からなるワーキンググループで活動を行っている。その1つとして技術向上の目的達成のために毎年研究科技術職員を対象とした研修を行っている。2013年度の発足から今年度まで「pH測定技術」をターゲットとした研修の企画運営を行ってきた。

今回は、この研修テーマをどのように決定したかということから始まり、準備・運営についての工夫点、実際の研修の様子・効果などについて報告させていただく。

浜松医科大学における解剖学教育による社会貢献の紹介

浜松医科大学 器官組織解剖学講座 技術部 佐々木 健, 佐藤 康二

【背景】解剖学は医学教育の根幹をなす学問であり、多くの大学において最初に学ぶ専門基礎科目となっている。また、コメディカルと称される医療従事者を育成する大学・専門学校においても解剖学は必須科目であり、そのような教育機関の数も増加傾向にある。一方で、人体を用いた肉眼解剖実習は、その特殊性から医学生や歯学生といった一部の学生のみに限られてきた歴史があった。しかしながら、近年、コメディカル教育の充実やより優れたコメディカルの育成という目的に献体数の増加も相まって、現在多くの医学部・歯学部において、コメディカル学生に対し解剖体を用いた見学実習を行っている。今回は浜松医科大学における見学実習等の現状について紹介するものとする。

【浜松医科大学での現状と考察】浜松医科大学では、静岡県下の13の大学・専門学校・団体の実習見学を受け入れている。またこれ以外に、献体を用いた脳外科のオペトレーニングも実施している。これらの事業は多くの教育機関や団体、見学者や外科医師に好評であり、同時に社会貢献という役割を担っている。その一方で、過剰傾向にある見学者への対応や倫理面に関する問題点もあり、これらは今後の課題になると思われる。

新規利用者を対象にした遺伝子組換え実験に関する 安全講習での取り組み

滋賀医科大学 実験実習支援センター 中瀬 拓也

【目的】実験実習支援センターの新規利用者を対象にした講習会のプログラムの一つである「遺伝子組換え実験室の利用法と手続き」で、限られた時間内で網羅的に説明し、受講者の理解を得られるために実施した取り組みを報告する。

【方法】1)英訳の追加：留学生の理解を得られるために英語訳を追加した。2)QRコードの利用：参考資料のQRコードを追加し、スマートフォンやタブレットから簡便に閲覧可能にした。3)遺伝子組換え実験を規制する法律：法令違反による実験停止や調査、罰則規定があることを強調した。4)拡散防止措置：イラストや写真を交えて説明した。5)機器取扱注意の説明：共同利用実験施設でのルールを強調した。

【結果・考察】アンケートでは「遺伝子組換え実験について勉強になった」との声が多かった。「簡単なテスト形式の方が記憶に残る」、「設備について詳しく知りたい」という意見もあった。アンケートの意見や外部の講習会や研修への参加を通じて、発表の内容をブラッシュアップしていきたい。

病理業務における試薬の管理について

富山大学 医薬系技術部（病理診断学） 八田 秀樹

近年、毒物および劇物をめぐる事件や事故が発生する度に、化学物質等の適正管理が世界的にも注目されて、関係法規制へのコンプライアンス遵守がより強く求められてきている。云い換えれば、今後発生してしまう事件・事故があるとするならば、対象化学物質に対して更なる厳しい法規制が加わることになる。また、これまで法規制対象外であった試薬が新規に法規制に縛られる可能性があるため、常に最新かつ十分な知識を得るよう努め、化学物質の適正管理を自主的に実施することが重要と考えられる。

平成16年4月に全国の国立大学が法人化されて10数年経過した。法人化以前は人事院規則等が適用されていたが、各国立大学法人は、それに代わって労働基準法や労働安全衛生法等に基づいて自主的な就業規則に移行させた。そのため、特に特定化学物質障害予防規則（特化物規則）や有機溶剤中毒予防規則（有機溶剤規則）への対応に苦慮したことが記憶に新しい。

今回は、病理業務で使用する試薬を中心に、特化物規則や有機溶剤規則のみならずその他の関係法規制に準じた適正管理についても、それらの現状と対策を考察し報告する。

試薬管理システム CRIS の導入に関して

生理学研究所 技術課 山田 元

【目的】2018年より、生理学研究所では Web を用いた試薬管理システム CRIS を毒劇物などの管理に用いることが計画されている。本システムは分子科学研究所、基礎生物学研究所とともに運用する形であり、分子科学研究所では他の2研究所に先駆け、システムの運用を開始している。生理学研究所では分子科学研究所の運用を参考にしながら、現在本格的な運用前の準備を行っている。そこで様々な問題点が表れたのでそれに関して報告を行う。

【結果】試薬管理システムは、特に毒劇物の管理などで他大学でも多く導入され、実績もあることから現在書面で行っている試薬の管理を比較的容易にペーパーレス化できるものと考えていた。しかし、実際には生理学等の実験で頻繁に用いられる多くの製品が CRIS の試薬データベースに登録されていない、研究所の届出書式を反映させたはずのデジタル書式の形式に、必要不可欠な部分の欠落がみられるなど多くの問題がある事が判明した。また、試薬を CRIS に登録する際に、ヒューマンエラーを誘引し易い行程があるなどの問題点があることも判明した。

☆☆☆☆☆☆ 編集 ☆☆☆☆☆

発行日：平成30年2月5日

●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，田中 幸子，壁谷 幸子，牧野 由美子，
内海 秀子，野口 裕司，中村 貴宣

●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