

合同開催

第41回 生理学技術研究会
第30回 生物学技術研究会

予稿集

日時:2019年 2月14日(木)、15日(金)

会場:岡崎コンファレンスセンター

大学共同利用機関法人 自然科学研究機構

生理学研究所 技術課

基礎生物学研究所 技術課

第41回 生理学技術研究会

(同時開催：第15回 奨励研究採択課題技術シンポジウム)

第30回 生物学技術研究会

会期：2019年2月14日(木)～15日(金)
会場：自然科学研究機構 岡崎コンファレンスセンター
主催：生理学研究所 技術課
〒444-8585 愛知県岡崎市明大寺町字西郷中3-8
<http://www.nips.ac.jp/giken/>
TEL：(0564)55-7702, FAX：(0564)52-7913

基礎生物学研究所 技術課
〒444-8585 愛知県岡崎市明大寺町字西郷中3-8
<http://www.nibb.ac.jp/tech>
TEL：(0564)55-7655, FAX：(0564)55-7657

プログラム

2月14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：藤田医科大学 医学部 解剖Ⅱ 臼田 信光 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15日(金)

口演会場1 (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	～	14:40	奨励研究採択課題技術シンポジウム(S9～13)
14:40	～	15:00	まとめ
15:00	～	16:30	見学

口演会場2 (1階 中会議室)

8:50	～	9:00	挨拶、事務連絡
9:00	～	10:20	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	～	14:20	一般口演(A9～12)
14:20	～	14:50	話題提供(T1)
14:50	～	15:00	まとめ
15:00	～	16:30	見学

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) 「電子顕微鏡による研究・実験技術・研究環境」
藤田医科大学 医学部 解剖Ⅱ 臼田 信光 教授 12

奨励研究採択課題技術シンポジウム（1階 大隅ホール）

- (S1) 仮想環境を用いたサイバー攻撃・セキュリティ学習教材の開発
京都工芸繊維大学 高度技術支援センター 秋山 剛志 14
- (S2) AR・VR・MR・DL 技術を活用したオシロスコープ実習補助教材の開発
長野工業高等専門学校 技術支援部 大平 祐介 15
- (S3) スマートフォンの Wi-Fi 電波を利用した災害等における要救助者探索補助装置の開発
富山高等専門学校 技術室 小泉 敦 16
- (S4) 本当は知らない、正しい保護具着用を普及するためのシミュレーター開発
小山工業高等専門学校 教育研究技術支援部 技術室 生井 智展 17
- (S5) 照度制御型小型実験動物観察システムの研究開発
宮崎大学 工学部 教育研究支援技術センター 長友 敏 18
- (S6) リモートセンシングによる広域の植物蛍光強度分布画像取得の提案
静岡大学 技術部 教育研究第一部門 増田 健二 19
- (S7) 植物培養細胞を用いた軽油の主成分 C15 アルカンを合成する遺伝子のスクリーニング
名古屋大学 全学技術センター 生物・生体技術支援室 小島 久恵 20
- (S8) 赤ちゃんはなぜ抱っこされると大人しくなるのか? マウスを用いた研究から
筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構 鹿糠 実香 21
- (S9) *Chst14* 遺伝子欠損マウスの出生率改善方法の検討
信州大学 基盤研究支援センター 動物実験支援部門 嶋田 新 22
- (S10) CRISPR/Cas9 を用いた潜在致死な遺伝子を標的としたモザイク体の作製
秋田大学 バイオサイエンス教育研究サポートセンター 場崎 恵太 23
- (S11) EOSIN 蛍光の応用によるミクロ組織解析法
愛媛大学 学術支援センター 病態機能解析部門(医学部等技術部) 首藤 政親 24

- (S12) コラーゲンの生理的及び病的架橋の LC-MS/MS による同時解析
島根大学 医学部 長子 晴美 2 5
- (S13) 非放射性試薬によるナトリウム依存性グルコース輸送体(SGLT)の
活性測定法の開発—in vivo における測定
生理学研究所 技術課 齊藤 久美子 2 6

一般口演（1階 中会議室）

- (A1) crisprant 作製における温度条件の検討
基礎生物学研究所 技術課 高木 知世 2 8
- (A2) 唾液からの DNA 抽出と遺伝子解析の試み
鹿児島大学 遺伝子実験施設 西谷 篤, 櫻井 芳生, 田中 翔 2 9
- (A3) UPLC におけるキサントフィル成分の測定
基礎生物学研究所 技術課 野田 千代 3 0
- (A4) 顕微蛍光セルマニピュレーターを用いた微生物の 1 細胞分離培養法確立の試み
九州大学 農学研究院研究教育支援センター 奥川 友紀 3 1
- (A5) 東北大学農学部コンピュータ演習室の紹介
東北大学 大学院農学研究科・農学部 技術部 小森 和樹 3 2
- (A6) 3D プリンターを用いたシトクロム *bd* オキシダーゼの基質結合部位造形と考察
九州工業大学 情報工学部 楠本 朋一郎 3 3
- (A7) ナノポアシーケンサーMinION による、がんの構造変異検出
広島大学 自然科学研究支援開発センター・生命科学実験部門・生命科学機器分析部
木村 真吾 3 4
- (A8) 環状ゲノムのフィニッシング ～効率化を目指して～
基礎生物学研究所 技術課 尾納 隆大 3 5
- (A9) 炭焼きの「見える化」で初心者でもできる技術開発と教材化への検討
鹿児島大学 教育学部 実習地 池田 充 3 6
- (A10) 技術部(技術職員)による学内セミナー開催のノウハウ ～低負担で高集客を目指そう！～
浜松医科大学 器官組織解剖学講座¹⁾ 技術部²⁾
佐々木 健^{1,2)}, 宮田 学²⁾, 蓑島 伸生²⁾, 佐藤 康二¹⁾ 3 7
- (A11) 富山大学薬学部附属薬用植物園における展示植物ラベルの工夫
富山大学 医薬系技術部 高尾 泰昌 3 8
- (A12) 大型スペクトログラフ ランプ室結露対策 2
基礎生物学研究所 技術課 近藤 真紀 3 9

話題提供（1階 中会議室）

- (T1) 私のライフワークとその探究
北里大学 医学部 解剖学研究室 西槇 俊之 4 2

ポスター発表（1階 大隅ホール、ホワイエ）

(P1)	細胞分裂直前の観察条件の確立	基礎生物学研究所 技術課 壁谷 幸子	4 4
(P2)	超薄切切片作製の技術向上	兵庫医科大学 共同利用研究施設 篠崎 亮太	4 4
(P3)	ハーフバスケット（+専用バット）と、ミニバスケットを用いた鍍銀染色とPAS染色	浜松医科大学 腫瘍病理学講座 加茂 隆春	4 5
(P4)	新規睡眠制御因子のイメージング技術を用いた解析	筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構 山田 智子	4 5
(P5)	共同利用機器HPLC/MSにおけるTLC法の活用	徳島大学 技術支援部 蔵本技術部門 北池 秀次	4 6
(P6)	新規開発した簡便ゴニオメーターを用いた生体骨のX線観察支援	大阪大学 工学研究科 大瀬 昌明	4 6
(P7)	組織型が異なる2種類の肺癌検体を用いた組織透明化技術による 三次元再構成と今後の課題	秋田大学大学院 医学系研究科 器官病態学講座 工藤 浅部 幸紹	4 7
(P8)	フローサイトメトリーによる細胞内自家蛍光物質の解析	浜松医科大学 先進機器共用推進部 柴田 清	4 7
(P9)	FMO (Fluorescence Minus One)による蛍光漏れ込みの原因特定	高知大学 設備サポート戦略室 片岡 佐誉	4 8
(P10)	SDS-PAGEゲルからのタンパク質(ペプチド)抽出における特殊例	広島大学 技術センター 山口 信雄	4 8
(P11)	フォトダイオードによる蛍光測定を試み	東京大学 理学系研究科 理学部 技術部 佐伯 喜美子, 八幡 和志	4 9
(P12)	簡便・迅速・安価な新規RAD-Seq法の開発	基礎生物学研究所 技術課 山口 勝司	4 9
(P13)	マイクロアレイと次世代シーケンサーRNAseqのクオリティ検証と比較	広島大学 技術センター 森原 なぎさ	5 0
(P14)	ゲンジボタルの集団による明滅リズムの形成	徳島大学 技術支援部 辻 明典	5 0
(P15)	コモンマーマーモセットを育てる ～授乳、離乳、そして元の社会への6ヶ月～	岡山大学 自然生命科学研究支援センター 橋本 春菜	5 1
(P16)	母乳中免疫成分と子のアレルギー疾患発症との関連	静岡大学 技術部 阿部 紗織	5 1
(P17)	ゲノム編集技術の効率化	生理学研究所 技術課 三寶 誠	5 2

(P18)	ラットの生体モニタリング ～安楽死処置から確実な死に至るまで～ 岡山大学 自然生命科学研究支援センター 赤木 佐千子	5 2
(P19)	学内の研究者向け動物実験手技映像教材の制作 岡山大学 自然生命科学研究支援センター 石原 すみれ	5 3
(P20)	国立遺伝学研究所ゲノム変異マウス開発支援部門 紹介 国立遺伝学研究所 技術課 木曾 誠	5 3
(P21)	FileMaker と iPad を用いた SPF 動物管理システム 生理学研究所 技術課 山口 登	5 4
(P22)	自然科学研究機構 動物実験施設の改修・増築工事に向けての準備について 生理学研究所 技術課 窪田 美津子, 廣江 猛	5 4
(P23)	動物施設改修後の運営について 北海道大学 大学院 獣医学研究院 技術室 板 宗克	5 5
(P24)	東京大学三崎臨海実験所で行っている生物採集方法の事例紹介 東京大学大学院 理学系研究科 附属臨海実験所 幸塚 久典, 川端 美千代, 伊藤 那津子, 関藤 守	5 5
(P25)	キャンパス内での里山植物観察講座 ～観察会を通じて考える自然環境保全～ 広島大学 技術センター 塩路 恒生	5 6
(P26)	遺伝研の一般公開において見頃となる桜 国立遺伝学研究所 技術課 矢野 弘之	5 6
(P27)	富山大学薬学部附属薬用植物園の施設紹介と地域貢献活動 富山大学 医薬系技術部 (附属薬用植物園) 村上 芳哉, 高尾 泰昌, 辰尾 良秋	5 7
(P28)	野外観察園における業務支援室との園内作業の試み 名古屋大学 全学技術センター (共通) ¹⁾ , 業務支援室 ²⁾ 吉野 奈津子 ¹⁾ , 金子 千晴 ²⁾	5 7
(P29)	加速度センサを用いた運動能力向上システムの開発 ～データ収集・分析手法の検討～ 浜松医科大学 技術部 村松 歩	5 8
(P30)	生物情報解析システム Ver. 5 の導入 基礎生物学研究所 技術課 西出 浩世	5 8
(P31)	静的サイトジェネレーターHugo を活用したデータベース型サイトの再構築 生理学研究所 技術課 村田 安永	5 9
(P32)	モジュール構造を取り入れた心理学実験装置の開発 生理学研究所 技術課 伊藤 嘉邦	5 9
(P33)	アルミフレームを用いた実験動物用チェアの製作 生理学研究所 技術課 佐藤 茂基	6 0
(P34)	電気回路工作関連の業務依頼について 神戸大学 工学研究科 電気電子工学専攻 松本 香	6 0
(P35)	レーザー加工機(JV440)での加工例 生理学研究所 技術課 佐治 俊幸	6 1

(P36)	マイクロフォーカス X 線 CT 装置による Multi-step Scan 法の有効性 国立遺伝学研究所 技術課 前野 哲輝	6 1
(P37)	3D プリンタ出力サービスの紹介 分子科学研究所 技術課 水谷 文保	6 2
(P38)	医工連携事業から超音波発生機器を医療現場に導入させる 富山大学 医薬系技術部 (病理診断学) 八田 秀樹	6 2
(P39)	マグネットに植物の種子をデコレーション 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	6 3
(P40)	東北大学総合技術部情報ネットワーク職群研修の開催 4 東北大学大学院医学系研究科・医学部 広報室 一條 肇	6 3
(P41)	プレーイングマネージャーとして、生物系技術職員のキャリアを考える 国立遺伝学研究所 技術課 古海 弘康	6 4
(P42)	タンパク質の分離における遠心機と桐山ロートの比較 同志社大学 生命医科学部 医情報学科 太田 太恵子	6 4
(P43)	東京大学理学部生物学科 3 年向け学生実習での取り組み ～マイクロピペットから電子顕微鏡まで～ 東京大学 理学部 生物学科 渡辺 綾子	6 5
(P44)	1 年次生物学実習におけるスケッチの指導方法の紹介 – 浜松医科大学医学科 – 浜松医科大学 医学部 総合人間科学講座 外山 美奈	6 5
(P45)	遺伝研技術課における衛生管理業務への取り組み 国立遺伝学研究所 技術課 大石 あかね, 矢野 弘之, 坂 季美子 坂本 佐知子, 谷田 勝教, 古海 弘康	6 6
(P46)	解剖実習室 (実習中) における大量のカビの発生とその対策 浜松医科大学 器官組織解剖学講座 ¹⁾ 技術部 ²⁾ 学部学生 ³⁾ 佐々木 健 ^{1,2)} 平田 紗也 ³⁾ , 山本 麻綺 ³⁾ , 大山 晃生 ³⁾ , 中村 将人 ³⁾ , 佐藤 康二 ¹⁾	6 6
(P47)	記録的猛暑の 2018 年夏、衛生管理者はどう動いたか ～動物実験施設での熱中症対策の取り組み～ 岡山大学 自然生命科学研究支援センター 矢田 範夫	6 7
(P48)	代替キシレンに伴う組織標本作製時の作業工程と作業環境の整備 (まとめ) 北里大学 医学部形態系 中丸 尚美, 梅澤 敦子, 安井 美江	6 7
(P49)	酢酸ウラン廃棄物の取扱について 東北大学 農学研究科・農学部 技術部 (電子顕微鏡室) 伊東 久美子, 三浦 利彦, 成田 寛幸	6 8
(P50)	実験で生じる有害な廃棄物の処分委託のための情報提供 基礎生物学研究所 技術課 松田 淑美	6 8
参加者名簿		6 9

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。

■旅費支給者の方へ

証明書や書類を依頼された方はご提出ください。航空機利用の場合、領収書と航空チケットの半券（半券が無い場合には搭乗券）をお持ちください。帰りの分は、後日郵送してください。

■手荷物について

研究会の間、手荷物はお預かりいたしません。大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でお願いします。

■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

ホテルをご利用の方は、ご自身でご予約ください。

研究所周辺のホテル https://www.nips.ac.jp/profile/access_stay.html

<https://www.nibb.ac.jp/about/hotel.html>

■ロッジ宿泊者へ

鍵は研究会の受付でお渡しします。13時から18時に間に合わないときは、OCC 事務室までご連絡ください。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。

■連絡先

生理学研究所 技術課 （TEL: 0564-55-7702, FAX: 0564-52-7913）または
基礎生物学研究所 技術課（TEL: 0564-55-7655, FAX: 0564-55-7657）までご連絡ください。
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（<https://www.nips.ac.jp/giken/> または <https://www.nibb.ac.jp/biogiken/>）よりダウンロードが可能です。

原稿は、2019年2月12日（火）までに、Word File と PDF File を事前に指定された方法で提出をお願いします。PDF File はレイアウト等の確認のために使用します。

■発表について

1. ポスター発表は、ポスター討論の前に画像ビューワーを用いて説明をしていただきます。説明用画像は一人1枚で発表時間は1分間です（画像は事前に指定された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. 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。
3. 口演発表（一般口演、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。
4. 口演発表者のPCの出力端子として、アナログRGBミニD-SUB 15ピンとHDMI端子が使用できます。
5. 口演発表者で最初のセッションの方は8時40分から、それ以降のセッションの方は直前の休憩時間に、PCの接続をおこないますので演台へお持ちください。
6. 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。

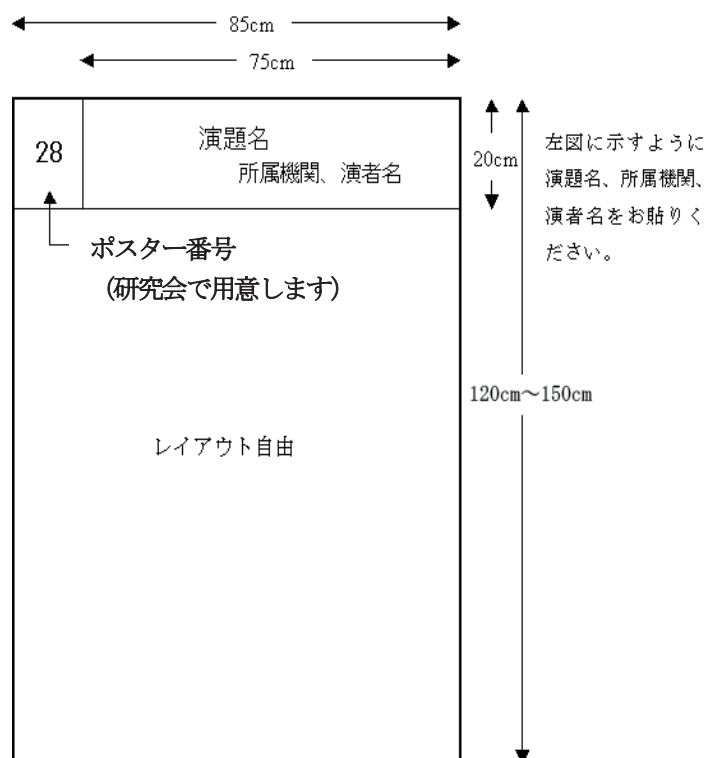
■ポスター作成について

ポスターは一発表演題につき1枚です。サイズは横85cm×縦120～150cm縦長です。上部20cmに発表演題名、所属機関名、発表者名を右図のように記入してください。

パネルの左上に発表番号が貼ってあります。所定のパネルにご展示ください。

■ご不明な点がございましたら、以下へお問い合わせください。

- ・生理学研究所 技術課
giken41@nips.ac.jp
- ・基礎生物学研究所 技術課
giken@nibb.ac.jp



研究会会場周辺地図

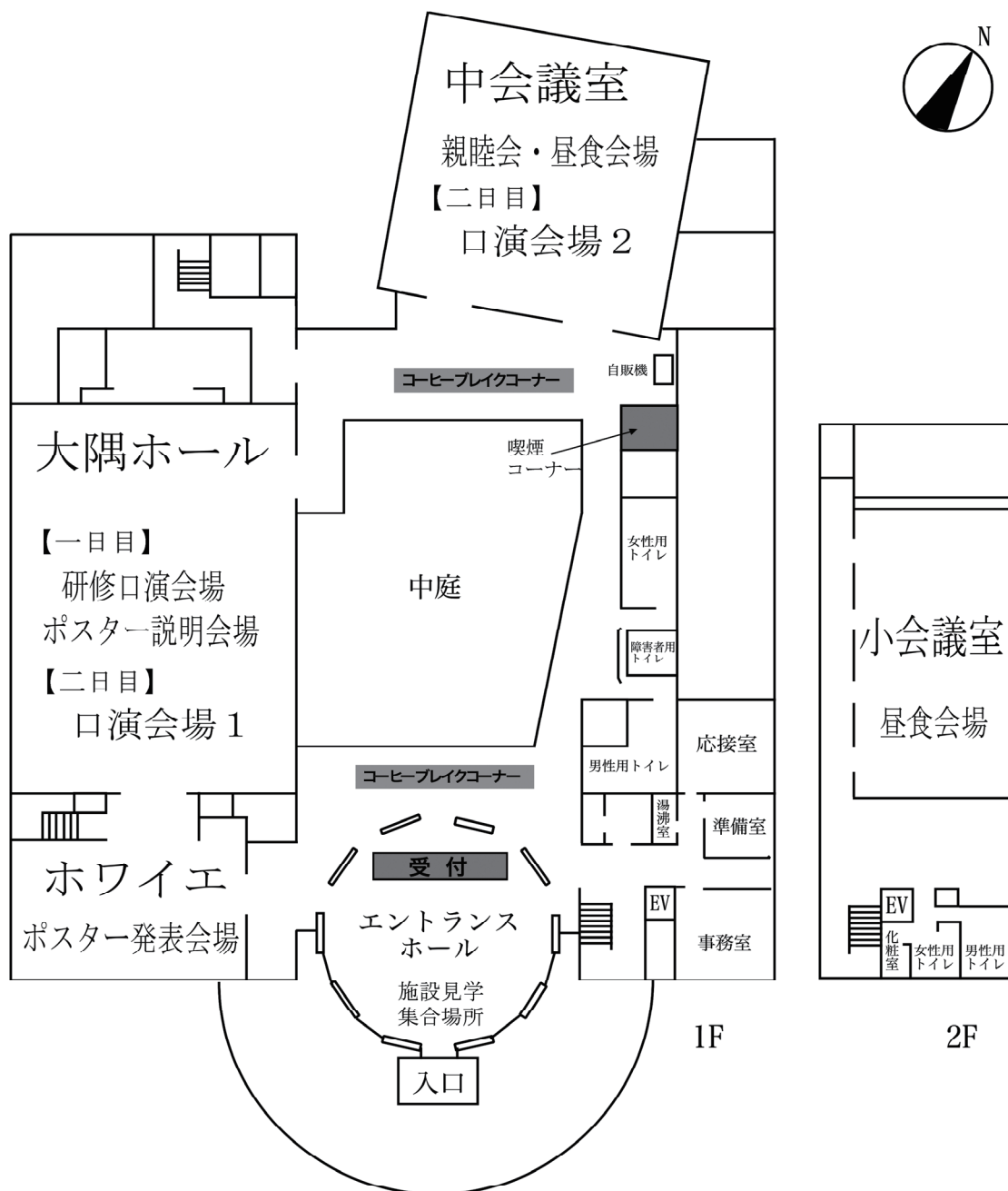


- ◆ 東岡崎駅から「岡崎コンファレンスセンター」までは徒歩で10～15分程度です（ほとんど上り坂）
タクシー乗り場とバス停は、ともに東岡崎駅の南側にあります。
バスは「竜美丘循環線、のりば 東岡崎駅 南口11番、おりば 岡崎高校前」

◆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

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

研 修 講 演

「電子顕微鏡による研究・実験技術・研究環境」

藤田医科大学 医学部 解剖Ⅱ 臼田 信光

【背景】40年間、共同利用研究者として生理研で電顕を使用しています。初めて生理研を訪れた際に「研究所を、電顕技術を支える拠点にする。」と浜清先生から伺い、見上げる新しい超高圧電顕の異様はその言葉を具現します。医学生の際、初めて目にする様々な研究技術に心を踊らせ、なかでも電顕が、担当する技官の親しく厳しい指導と、自分の趣味が写真であったので、私が医学生から現在まで継続して使用する研究技術となりました。

【電顕技術】電顕で細かく見れば新しいものが見える、という時代はすでに終わっていて、構造と物質の関係解明に力を入れるために、学位研究として免疫電顕法の開発を行いました(1)。同時にペルオキシソームの全蛋白の精製を目指し、生化学教室で指導を受け抗体作製を行い、電顕を夜中に使用し、朝には撮影したフィルムを技官に手渡し現像をお願いしました。加えて、鏡体の分解組み立ての指導を受けました。蛋白実験での技師の関与は器具洗浄のみで、分野による研究者と技師の関わり方の違いを実感しました(2)。その後、1年おきに3ヶ月程度、米国の医大で電顕を中心に腫瘍病理学研究を行い(3)、気がつくと病院で病理医になる指導を受けていました。1990年頃は医学部と病院の2箇所に複数台の電顕があり、病院では、複数人の technicians は写真撮影までの全過程を行い、病理医が写真を読みます。一方、医学部で私は、自分の研究のために標本作製・観察を行い、departmentのために機器保守の大半を行い、医学生・大学院生に電顕・蛋白研究の指導を行いました。年を経て、電顕、technician の数はともに減り、2000年頃には医学部の電顕は消え、病院には腎生検用の電顕が1台、technician が1人のみになりました。

【研究環境】この40年で、日米両国で医学部・医療現場での電顕室の電顕数・研究者数・技師数という環境は大きく変わり、記録技術はフィルムからデジタルに様変わりしました。一方、求められる技術は主に通常電顕で、機器・技術ともにあまり変わっていません。2001年に私は岡崎近くの藤田医大に移動し(4, 5)、最先端電顕に再び巡り会いました。永山國昭先生の位相差クライオ電子顕微鏡開発に携わり(6)、最近では SBF-SEM と、再び超高圧電顕を利用しています(7)。技術系職員と諸先生方の息の合ったチームタッグに支えられ、研究を進めることができます。

全国的に、研究者の立場は職員に代わり大学院生と博士後研究員が増え、常勤であった技術系職員が、気がつくと非常勤職員に変わっています。新しい最先端の電顕技術が開発される中で、生理研が日本の研究拠点としての役割を担い続けるために、技術系職員のあり方として最も大切なのは研究者との息の合った仕事と結論いたします。

【参考文献】1. Histochemistry 78, 1983; 2. J Cell Biol 112, 表紙写真, 1991; 3. PNAS 85, 1988; 4. NEJM 344, 2001; 5. Nature Cell Biology 9, 表紙写真, 2007; 6. J Electron Microsc (Tokyo) 58, 2009; 7. 投稿準備中, 2019.

口 演 発 表

(奨励研究採択課題技術シンポジウム)

仮想環境を用いたサイバー攻撃・セキュリティ学習教材の開発

京都工芸繊維大学 高度技術支援センター 秋山 剛志

【目的】

近年、マルウェア感染や標的型メール攻撃、不正アクセスなどが社会問題となっている。ユーザが攻撃に気付かないことも多く、セキュリティ対策製品やサイバーセキュリティの専門家が対処するだけでは不十分であり、ユーザのセキュリティに関する知識・関心を向上させることが重要である。著者は、Raspberry PI を用い標的型メール攻撃への対応を体験的に学習できる教材を開発した。[1] 本研究では、開発した教材を実践し得られた問題点を解消するため、仮想基盤を用いセキュリティ専門家だけでなく一般ユーザが、普段の業務に近い形で体験的にサイバー攻撃について学習できる教材を開発することを目的とした。

【方法】

小型 PC に仮想基盤を構築し、仮想環境でファイヤウォール、ルータ、メール・Web サーバ、演習用 Windows 端末、管理サーバを動作させる。仮想基盤は、無線 LAN ルータに接続しており、利用者はノート PC から無線 LAN ルータ経由で、演習用 Windows 端末に接続する。管理サーバは学習コースを管理しており、ブラウザでアクセスすることによって、学習コースを選択できる。学習コースを選択すると手順が表示され、必要な命令を各サーバに送り学習が開始する。学習コースは、サーバ管理者向け、一般ユーザ向け、セキュリティ担当者向け、監査担当者向けのコースを用意した。

本報では、一般ユーザ向け標的型メール攻撃コースを紹介する。学習を開始すると送信される問題を、演習用 Windows 端末のメールソフトで受信する。その後、ランダムに問題のヒントが書かれたメールが、添付ファイル・URL・HTML 形式など様々な種類で送付され、セキュリティ情報や注意喚起、業務連絡などのメールもランダムに配信される。その間にフィッシング・スパム・マルウェア添付等の攻撃が行われる。普段の業務に近い環境・操作で標的型メール攻撃への対応を体験的に学ぶことができる。

【まとめ】

仮想基盤を用い、サイバーセキュリティの専門家から一般ユーザまで、簡単かつ体験的に特別な環境が不要なサイバー攻撃・セキュリティ学習教材の開発を行った。本教材を用いることにより、実際の業務に合わせた様々な学習ができる。しかし、本教材は、評価ができておらず学習効果の検証が不十分である。今後、実践例を増やすとともに評価を行い、学習効果を検証し、学習コースの内容を検討する必要がある。

【参考文献・資料】

[1] 秋山 剛志：Raspberry PI を用いた情報セキュリティ教材の開発，日本産業技術教育学会第 31 回全国大会講演要旨集，p. 49（2018）

AR・VR・MR・DL 技術を活用した オシロスコープ実習補助教材の開発

長野工業高等専門学校 技術支援部 大平 祐介

【目的】オシロスコープは電気電子系の学生実験実習を行う上で大変重要な計測器であるが、ボタンの多さや操作手順の多さにより、操作の習得に時間がかかってしまう。また、技術者として低学年のうちから新しい技術へ関心を持つことが大切であるが、低学年の授業では基礎が中心となるため、新しい技術に触れる機会が少ない。そこで本研究では Augmented Reality、Virtual Reality、Mixed Reality、Deep Learning といった新しい技術を活用し、オシロスコープの操作方法を面白くて分かりやすく提示する教材の開発を行うことを目的とする。

【開発した教材】本研究で開発した教材は以下の通りである。

AR 教材：オシロスコープの操作方法を提示する

VR 教材：オシロスコープの動作原理を提示する

MR 教材：オシロスコープの操作方法および動作原理を提示する

DL 教材：オシロスコープの設定画面を検出する

上記教材の開発環境は Unity を使用している。AR 教材はタブレット上で動くアプリとなっており画像認識に Vuforia を使用している。タブレットをオシロスコープにかざすと仮想ボタンが表示され、そのボタンを押すと説明が開始される。また、プローブの設定など一連の手順が必要な場合は、手順ごとに画像を表示しながら説明を行う。VR 教材は GearVR を使用し、仮想空間内に巨大なオシロスコープを設置し、その中をユーザが自由に動き回ることによって動作原理を体感することができる。MR 教材は Hololens を使用し、両手を自由に使える状態で操作方法と動作原理を提示し、その様子をプロジェクタに投影することができる。DL 教材は darknet フレームワークの Yolo による物体検出を行い、従来教材では操作方法の提示のみであったのに対し、現在の設定の状態を検出して誤りを検出し、正しい設定のための操作方法を提示することができる。

【結果】本校電気電子工学科 2 年の学生が行っている実験実習の授業で MR 教材までを使用している。教材使用後にアンケート調査を実施し、教材の有効性を確認している。

【参考文献・資料】

Unity (<https://unity3d.com/jp>)、Vuforia (<https://developer.vuforia.com/>)、GearVR (<https://www.galaxymobile.jp/gear-vr/>)、Hololens (<https://www.microsoft.com/ja-jp/hololens>)、darknet (<https://pjreddie.com/darknet/>)

スマートフォンの Wi-Fi 電波を利用した災害等における 要救助者探索補助装置の開発

富山高等専門学校 技術室 小泉 敦

【目的】

豪雨豪雪による土砂崩れ・水害・雪崩や、火山活動による落下物等の自然災害によって、土砂や雪、がれきなどに人が閉じ込められてしまう被害が発生している。救助活動は要救助者が発する声や音を頼りに行っているが、他の救助活動・報道のための車両・ヘリコプターの騒音にかき消されることがや、要救助者が声や音を発することができないなどの条件が重なると、発見が大幅に遅れてしまう。

本研究では、保有率が7割を超え、要救助者が携帯している確率も高いと考えられるスマートフォンの Wi-Fi 機能に着目し、Wi-Fi 機能が定期的に放つ電波（Probe Request）を補足することで、要救助者の発見を補助する装置を開発する。

【方法】

スマートフォンの Wi-Fi 機能が定期的に放つ電波（Probe Request）を補足し、電波強度を記録する機器を RaspberryPi3 とモニターモードに切り替え可能な USB 無線 LAN アダプタ（WI-U2-433DM）を組み合わせて作成した。tcpdump コマンドで補足する Wi-Fi 電波の中から、Probe Request 信号のみを記録する。

計測のため、3秒毎に Probe Request を発信するスマートフォンアプリを Android Studio で作成した。アプリをスマートフォン（arrows M04）にインストール・稼働させ、深さ約20cmの穴に埋め、地面から約150cmの高さで埋没地点から一定距離毎の Probe Request の補足状況を記録した。埋没地点は、掘った穴に徐々に水がたまるほど水分が多く、小ぶりの石も多数含んだ地質で、雑草が生い茂った場所である。

【結果】

地質やスマートフォンの向きや指向性によって変化すると考えられるが、埋没地点から約4m程度離れると、電波を検出できない場合があった。

また、埋没地点に近いほど電波強度が高くなる傾向にはあったが、1m程度離れた場所でも埋没地点の真上と変わらない電波強度が検出される個所があった。

【考察】

今回は約20cmの穴に埋めて計測したが、更に深い穴に埋めたり異なる地質の穴に埋めたりした計測結果を比較することで、土（土砂）に埋まった場合の有効性を検討できる。

今後、まとまった積雪があり次第、雪に埋没させて計測を行う予定である。

本当は知らない、正しい保護具着用を普及するための シミュレーター開発

小山工業高等専門学校 教育研究技術支援部 技術室 生井 智展

【目的】近年は作業者への保護具の着用管理や意識向上に伴い、ほとんどの作業現場で守られ、本校においても着用管理は厳しくしている状況にある。しかし、正しい着用の仕方がなされているか、実習授業などを見ると言い切れないことがある。特に防塵マスクでは、マスクと顔の間に隙間がある状態など、見た目での正しい着用がなされているかは判断が困難な場合があり、作業者の意識と知識が正しい着用に大きく影響を受けると考えている。従来の教育手法の説明やビデオのみでは保護具の特性を理解しきれない、不具合が起きると、どのような重大な問題につながるのかをイメージできないことが正しい着用につながらないと考えた。そこでイメージを具体的な像にするために、着用不具合体験シミュレーターを開発し、正しい保護具着用の教育を普及させ、事故や健康障害をなくす活動に寄与することを目的とした研究を行う。

【方法】今回の開発で対象とする保護具は防塵マスクについて行う。

シミュレーターの構造は、囲われた透明アクリル板で作られた箱の中に、頭部形のマネキン（発泡スチロール製）を設置し、各種規格のマスクを着用させる。箱の中へ、煙発生装置を用い模擬煙を投入する。マネキンの口から人間の呼吸同等に調整した空気を、掃除機を使って吸入、または、工場エアーを使って吐出させる。吸入の際にマスクから漏れた模擬煙は、透明アクリルで製作した観察用の管で見える仕様とした。

このシミュレーターに国家検定規格の防塵マスク 2 種類（DS2、RL2）について、顔とマスクに隙間が限りなく無い状態（テープで目張り）、通常の着用で良好となる状態（ほぼ隙間が見えない状態）、通常の着用で悪いとされる状態（隙間が容易に見える状態）の 3 条件について煙の漏れを観察する。

【結果】今回の装置を製作過程で、煙発生装置を有害物質が含まれず、安定的に煙を発生させられるスモークマシンの選定や、流量測定方法、掃除機の吸引能力と大きさ、煙や粉を吸い込むため、箱、管が容易に分解でき、楽に清掃や交換が可能な構造の設計、微量な煙の流れでも目視できる照明の設置など、多くの課題発生と対策を実施し、完成に至った。防塵マスク規格 DS2、RL2 について 3 条件で実験した結果、防塵マスクの各条件ではっきりと差がでる煙の観察が可能となった。学生に実験の様子を見せた後の意見としては、着用状態が変わるだけで、これだけの煙の吸い込みに差がでることに驚いたという意見が多数であった。

【考察】現在、3 条件のパターンでの実験であるが、今後、マスクの状態やマネキンの大きさを変えてなど、考えられるパターンの実験を計画している。また、多くの方々に、このシミュレーターの活用方法の意見を伺いたい。

照度制御型小型実験動物観察システムの研究開発

宮崎大学 工学部 教育研究支援技術センター 長友 敏

【目的】 マウスやラットなどの小型実験動物を用いた観察による評価は、医薬品や食品の開発、病態モデル動物評価やその原因究明など生命科学研究の広範囲に渡って、重要な研究手法となっている。

近年、動物観察へのセンシング技術の導入により観察者の利便性は向上している。さらに、小型実験動物観察と情報処理技術の融合により、観察画像の画像解析による観察方法が注目されている。その理由として、画像解析技術の向上により多様な観察項目のデータ取得や非侵襲的な観点による動物福祉面での問題解決などの期待がある。本研究では、小型実験動物観察における観察エリアの照度制御システムを提案する。本システムでは、通常の照度制御の他に、カメラ撮影による観察画像の画像輝度の維持を目的とした照度制御を提案する。

【方法】 照度制御型小型実験動物観察システム (Laboratory Animal based Monitoring System: 以下 LAMS) を提案する。LAMS は、上部に設置している LED 照明を PWM 制御にて自動的に調光し、観察用ケージを設置する観察エリアの照度を制御する。そして上部から CMOS カメラで撮影し、観察する構造になっている。本研究の評価方法として、照度制御評価実験、画像輝度値制御評価実験を行った。

【結果】 照度制御評価試験では、決められた時間に対して目標値付近での調光を確認した。画像輝度値制御評価試験では、障害となる外部照明の変化が、高出力から低出力になった場合の自動調光により、目標画像輝度値にほぼ収束されることを確認した。低出力から高出力に調光した場合は、目標画像輝度値に到達しなかった。

【考察】 照度制御評価について、LED 照明が高出力になるにつれて照度センサの値にばらつきがみられた。原因としては、照度制御コントローラへの入力信号が高出力すなわち LED 照明が明るくなると、多くの電流が LED 照明へ流れるため電圧が不安定になり、LED 照明が微少な時間ではあるが点滅する。その影響により照度センサの感知にばらつきが発生したと考えられる。今後は、照度調整ユニットの安定した出力を検討する。画像輝度値の制御性能評価について、制御方法にて、外部照明の変化が低出力から高出力への調光制御方法について再検討する。画像輝度値は、観察エリアやベースプレートの色、材質により制御パラメータが変化し、制御範囲も変化する。そのため、照度および画像輝度値の制御範囲について、小型動物実験利用の観点から制御範囲として適切であるか使用者と検討する必要がある。

リモートセンシングによる広域の植物蛍光強度 分布画像取得の提案

静岡大学 技術部 教育研究第一部門 増田 健二

【目的】 GOSAT 衛星など高分解能フーリエ赤外分光装置を搭載した衛星観測により、地上植生からの蛍光が観測可能であることが報告された。こうした衛星計測の地上での検証の必要性から、ドローンや圃場上空に設置したクレーンをプラットフォームとして用いた植物蛍光計測法が提案されている。農業や林業で活用しやすいよう、距離 10～100m 程度から群落レベルでの広域の植物蛍光観測が可能なシステムを開発する。

【方法】 地上において、数 10m 程度の距離から群落レベルで樹冠からの蛍光が観測可能なリモートセンシング装置の開発^{1)–2)}について報告する。この装置では、天体望遠鏡によって観測対象を比較的狭い視野角内に限定し、冷却式 CCD 分光器によってスペクトルを計測する。また、同じ視野内において光学フィルターにより波長帯域を限定して冷却式 CCD カメラにより撮像し、複数の画像間の演算によって蛍光強度分布画像を取得する。広域画像測定では、冷却式 CCD カメラに超広角レンズ（焦点距離 10mm）を直接取り付け、半値全幅 10 nm のフィルターによる広域強度分布画像を取得する。広角レンズの前にフィルターアダプタを取り付け、フィルターをスライドさせて画像測定を行う。

【結果】 新しい蛍光算出法として、同時計測した白板の反射スペクトルにダイズの反射率を掛けて模擬反射スペクトルを作り、実測された植生スペクトルと蛍光のない波長域で一致するようにスケーリングを行い、植生スペクトルから模擬反射スペクトルを差し引くことにより、蛍光スペクトルを算出することができる。また広域蛍光画像で使用するフィルターとしては、蛍光強度のない波長領域の中心波長 740 nm、半値全幅 10 nm のフィルター（F740）と、蛍光強度のある波長領域内の F780 の 2 枚のフィルターを用いる。具体的には F740 フィルターで撮影した近赤外域反射光画像を F790 フィルターで撮影した蛍光・反射光の重畳画像から差し引くこと（ $F790 - F750$ ）により蛍光強度分布画像を取得できる。

【考察】 ダイズの蛍光強度の日変化では、太陽光の照度変化に伴い、提案手法のスペクトル解析と酸素 A バンドを利用した画像データ解析の結果がよく一致した経時変化を示すことから、蛍光成分が安定して取得できている。また、超広角レンズを用いた方法では、距離 50m において広域（幅 50.4m×奥行 37.9m）の蛍光強度分布画像が取得できている。

【参考文献・資料】

- 1) 学振データベース：平成 26～28 年度科学研究費助成基金（基盤(C)）課題番号：26340003
- 2) K. Masuda, H. Saito, Y. Mabuchi, N. Manago, H. Kuze : IGARSS IEEE International, ,2014, 2993–2996, DOI:10.1109/IGARSS.2014.6947106

植物培養細胞を用いた軽油の主成分 C15 アルカンを合成する遺伝子のスクリーニング

名古屋大学 全学技術センター 生物・生体技術支援室 小島 久恵

【目的】藻類を用いてバイオ燃料を生産する技術は実用段階にあるが、ガソリンや軽油の主成分であるアルカンを作る方法はまだない。これは、藻類には脂肪酸を脱カルボニル化し、還元してアルカンに変換する酵素がないからである。軽油の炭素鎖長はC15前後であり、多くの藻類はC16の脂肪酸を合成できる。したがって、この鎖長の脂肪酸をアルカンに変換できる酵素があれば、軽油のアルカンを藻類に作らせることが可能になる。被子植物は二段階の反応で脂肪酸からアルカンを作る酵素CER1とCER3を持つ。しかし、多くの植物のCER1、CER3はC24以上の脂肪酸しか基質にできず、軽油の生産には使えない。

C16脂肪酸を基質にするCER1、CER3をもつ植物を探すために約230種類の植物の花粉を分析し、スイレンを始め、いくつかの植物がC15アルカンを合成することを見出した。これらの植物が持つCER1、CER3の活性評価をするため、シロイヌナズナの*cer1cer3* 二重変異株にこの2つの遺伝子を導入し、生成するアルカンを分析した。しかし、この方法では形質転換してから結果を得るために約2ヶ月かかり効率的ではない。

そこでタバコ培養細胞BY-2を用いて、活性評価の効率化を試みた。まず、形質転換細胞株を作製し、その株を分析したところ、アルカンを検出することに成功した。次に、形質転換の条件や培養条件を検討することで、一過的発現系を確立することを目指した。

【方法】タバコ培養細胞 BY-2 にアグロバクテリウムを感染させるために、この2つを共培養するときの条件のうち、以下の項目について検討した。

- ・細胞に遺伝子を導入する時に使用するアグロバクテリウムの種類
- ・培養方法 静置培養か懸濁培養か ・共培養の時間、温度
- ・抗生物質の有無 通常は入れないが、バックグラウンドを下げるため添加した。

また、抽出効率を上げるため、溶媒の種類やサンプル中の水分を除く方法を検討した。

【結果】一過的発現系でも十分に活性評価ができるようになった。植物によっては CER1、CER3 をそれぞれ複数持ち、それらの組み合わせ全てを評価するのは煩雑であるため、活性評価が短時間でできたことは非常に有用であった。スイレン以外にアサガオ、トキワマンサク、アムボレラの遺伝子の評価をしたが、スイレンを上回るものは見つけられなかった。

【考察】C15 アルカンを合成しているスイレンの遺伝子でも C16 以下のアルカン BY-2 では合成することができなかった。これは C15 アルカンの基質である C16 脂肪酸が葉緑体に局在し、小胞体に局在する CER1、CER3 タンパク質が触媒できないことも 1 つの原因と考えられる。今後は CER1、CER3 に葉緑体移行シグナルを付加して葉緑体で C15 以下のアルカン合成させることを予定している。

【参考文献・資料】Yoshioka, Y. *et al.* (1996) *Plant Cell Physiol.* 37:782

赤ちゃんはなぜ抱っこされると大人しくなるのか？ —マウスを用いた研究から—

筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構 鹿糠 実香

【目的】

泣いている赤ちゃんは抱っこされると、泣きやみ、おとなしくなりやすい。マウスでも母親が仔を口でくわえると、仔は瞬時にコンパクトな姿勢となり、動きを止める。これらは「輸送反応」と呼ばれる現象である。輸送反応に伴う体動の減少、鳴き声の減少、目を閉じるなどの行動のメカニズムについては、まだよく分かっていない¹⁾。

私たちの研究室では、輸送反応時に観られる現象が睡眠中のような脳活動に瞬時に変化するためではないかという仮説の下、輸送反応のメカニズム解明に取り組んでいる。

【方法】

1. 人為的刺激による仔マウスの輸送反応
 - ・仔マウスの首背面の皮膚をつまみ、輸送反応を人為的に誘導した¹⁾。
2. 仔マウスの輸送反応時の脳波測定
 - ・既存の成体用の電極を超小型に改良した仔マウス用の電極を作製し、輸送反応時の脳波計測を実現した。
3. 輸送反応に関与する脳部位の特定
 - ・仔マウスの輸送反応時固有の脳活動の誘導に関与する脳部位を特定するため、Cre-loxP システムで特定の脳部位の神経細胞を破壊した仔マウスの輸送反応を観察した。
 - ・生後 0 日のマウスの脳内へのウイルス局所投与による脳部位の絞込みを検討中²⁾。

【結果】

仔マウスの輸送反応の際には、深いノンレム睡眠中の脳波に類似した大脳皮質活動が瞬時に誘導されることが明らかとなった。さらに、輸送反応が特定の神経細胞群を破壊することで大きく低下することも判明した。

【考察】

輸送反応時に仔マウスがおとなしくなるメカニズムの一端として、深いノンレム睡眠に似た脳活動が誘導されることが重要であると示唆された。さらに、輸送反応に重要な神経細胞群の同定に成功した。これら神経細胞のより詳細な解析を可能とすべく、出産直後の仔マウスの脳内に遺伝子導入用ウイルスを局所投与する技術の構築が不可欠である。

【参考文献・資料】

- 1) Esposito G, Yoshida S et al., Infant Calming Responses during Maternal Carrying in Humans and Mice. *Current Biology* 23, 739-745(2013).
- 2) Chen J and Kriegstein AR. A GABAergic projection from the zona incerta to cortex promotes cortical neuron development. *Science*. 350, 554-8(2015).

Chst14 遺伝子欠損マウスの出生率改善方法の検討

信州大学 基盤研究支援センター 動物実験支援部門 嶋田 新

【目的】信州大学医学部で最近発見された新型エーラスダンロス症候群(mcEDS)は、*CHST14* 遺伝子の変異を原因とする単一遺伝子疾患である。その疾患モデル動物として、*Chst14* 遺伝子欠損マウス(B6;129S5-*Chst14*tm1Lex/Mmcd; B6;129S5-*Chst14* K0)が期待されるが、ホモ接合体欠損(*Chst14*^{-/-})の出生率は全産仔の内 1.9%と低く、成獣を用いた安定的な解析が困難であった。また、C57BL/6 系統に数世代の戻し交配を行うと、*Chst14*^{-/-}は全く産まれないという報告もあり、出生率と遺伝背景との関連が考えられた。そこで、本研究では、①子育てが上手な系統として知られる ICR 系統への体外受精(IVF)・胚移植(ET)と②産仔数と離乳率が安定した系統として知られる、BALB/cA 系統への戻し交配の 2 つの方法により、出生率が改善するのかを検討した。

【方法】①IVF・ET では B6;129S5-*Chst14* ヘテロ K0 (*Chst14*^{+/-})の雌雄からそれぞれ精子と未受精卵を採取し HTF ドロップ中で受精させ、受精卵を mHTF で培養した後、翌日 2 細胞期胚を仮親(ICR♀)へ移植した。その後、産仔の遺伝子型を確認した。

②戻し交配では、*Chst14*^{+/-}と BALB/cAJc1 との交配を 12 世代繰り返すことで進めた。また、戻し交配の各世代の *Chst14*^{+/-}の同腹仔同士を交配して得られた産仔の遺伝子型を確認し、*Chst14*^{-/-}個体の出生率が BALB/cA 系統への戻し交配で改善するのかを検討した。さらに、マイクロサテライトマーカーを用いて戻し交配個体の遺伝背景が B6;129 から BALB/c に置き換わっているかを確認した。

【結果】IVF・ET による *Chst14*^{-/-}個体の出生率は 0%であり、改善がみられなかった。一方で、BALB/cA への戻し交配では、戻し交配 1~10 世代目において、各世代の *Chst14*^{+/-}同士を交配したところ、*Chst14*^{-/-}の出生率は 5.0~18.2%と、メンデルの法則と比べると低くはあるが、戻し交配前に比べて改善した。また、戻し交配 12 世代目の *Chst14*^{+/-}個体においては、使用したマイクロサテライトマーカーのすべてが BALB/cAJc1 に置き換わっていることを確認した。

【考察】*Chst14* K0 において遺伝背景がその出生率に影響を与えることが示された。更に、繁殖に問題のある遺伝子組み換え動物の適切な遺伝背景への戻し交配は、出生率改善などの動物実験の適正化に貢献できる可能性が示唆された。本研究によって、出生率の改善に成功した戻し交配 12 世代目の *Chst14*^{-/-}個体を用いた病態解明研究が現在進められており、今後の発展が期待される。

CRISPR/Cas9 を用いた潜在致死な遺伝子を 標的としたモザイク体の作製

秋田大学 バイオサイエンス教育研究サポートセンター 場崎 恵太

【目的】 CRISPR/Cas9 システムの開発により、ノックアウト (KO) 動物を短期間で容易に作製できるようになった。本センターで C57BL/6J (B6) 系統由来の胚に、CRISPR/Cas9 を導入したところ、ファウンダー (F0) マウスの 80-90%程度が KO ホモ接合体であった。

KO ホモ接合により致死となる遺伝子を標的とする場合は、ヘテロ接合体を実験に用いる必要がある。しかし、同方法では、ヘテロ接合体をほとんど得られないのが問題となる。

そこで、報告者は、卵割後に一方の細胞のみに CRISPR/Cas9 を注入することで、“モザイク状態の胚”を作製すれば良いのではないかと考えた。モザイク体では、野生型と変異した細胞が混在するため、標的が致死遺伝子であっても生存できる。また、この F0 マウスから次世代 F1 で、ヘテロ接合体を効率的に獲得することを本研究の目的とした。

【方法】 過剰排卵処置したマウス B6 系統から未受精卵を採取し、体外受精に用いた。媒精後 24 時間で 2 細胞期に発生した胚の片側割球のみに、gRNA および Cas9 蛋白質を顕微注入した。注入後、正常な 2 細胞期胚をレシピエント ICR 系統に卵管内移植した。移植後 19.5 日目で自然分娩もしくは帝王切開により産仔を得た。産仔の尾を採取し遺伝子型解析に用いた。対象群では、媒精後 8 時間の前核期胚に gRNA および Cas9 蛋白質を注入した。

【結果】 ホモ接合 KO で致死となる pancreatic and duodenal homeobox 1 (Pdx-1) 遺伝子を標的とし、エクソン 1 上に 2 種の gRNA を設計した。2 種の gRNA を設置することで、高率に indel もしくは Excision 変異した個体が得られると考えた。

Pdx-1 遺伝子は、膵の形成に寄与し、KO ホモ接合体では膵の発育不全により生後間もなく死亡する。しかし、モザイク体では野生型細胞が混在するため、致死の原因となる器官の欠損を防ぐことができる。2 細胞期胚への注入法で得た胚 194 個より産仔 79 匹を獲得した。獲得した産仔について、現在解析を行っている。

【考察】 CRISPR/Cas9 システムでは F0 マウスで高頻度にホモ接合 KO を引き起こすことができる。しかし、その高率さゆえにヘテロ接合体を得ることが難しく、潜性致死となる遺伝子を標的とした研究には不向きであった。本法では、CRISPR/Cas9 システムの導入効率をそのままにモザイク体 F0 を作製し、ヘテロ接合体 F1 を得ることができる。潜性致死な KO 接合体等の作製ツールとして活用が期待される。

EOSIN 蛍光の応用によるミクロ組織解析法

愛媛大学 学術支援センター 病態機能解析部門(医学部等技術部) 首藤 政親

【目的】

血管疾患を始め腫瘍など様々な病気が血管変性から発見できる。本研究は、血管内腔 3D による微細形態を確認するというもので、血管の損傷部を極めて早期発見する等、血管障害疾患に応用できる。

また、血管の微細変化を捉えられるという手法は、安価であり、実験に成功すれば幅広い施設での応用が可能であると考えられる。

【方法】

血管内腔を EOSIN 蛍光ゼラチンで型どり、レーザー顕微鏡で μm レベルの 3D 化情報を得て、同一部位を電子顕微鏡で nm レベルでの細胞小器官の形態を観察する。

〈実験手順〉 還流固定→EOSIN+青色蛍光ビーズ溶液を流し込み血管腔内の鑄型生成→氷温冷却→1~2 mm 厚切片の組織作成→マイクロスライサーで、厚切片作成→ヘキスト核染色→封入→レーザー顕微鏡撮影・画像取得→免疫電子顕微鏡試料作製・撮影

* 微細構造観察では、還流固定を十分に行う必要がある。しかし固定を十分にしすぎると、鑄型溶液で血管破裂が起こるため、注意が必要となる。

* 還流固定・鑄型形成において、血管への溶液流入時、血管周辺への浮腫（液漏れ）がしないよう血管圧のかかり具合を実態顕微鏡にて確認する。

* EOSIN 溶液は、レーザー顕微鏡観察時に溶け出さない凝固性が求められる。

尚、上記とは別に、蛍光物質+ゼラチンで血管鑄型を形成する方法もあるが、一回の実験費用が高額であり、検証には相当数の実験データが必要であるため、断念せざるをえなかった。

【結果】

血管の EOSIN 蛍光三次元画像と同じ部位での電子顕微鏡画像による微細二次元画像の撮影に成功した。

部分還流の撮影には成功した。

【考察】

EOSIN 溶液の粘性と凝固性を保つため、実験方法の更なる検証が必要である。

還流固定・鑄型形成に関しては、臓器を特定し詳細な条件設定を行う必要がある。

上記問題を克服できれば、最終目標である全身還流の撮影への道が開ける。

【参考文献・資料】

「レーザー顕微鏡三次元画像から電子顕微鏡微細画像への観察法の検討」生物学技術研究会報告 25 号, 114-115, 2014-07-28

コラーゲンの生理的及び病的架橋の LC-MS/MS による同時解析

島根大学 医学部 長子 晴美

【目的】

加齢に伴って起こる膝などの関節痛の予防や治療法の開発のために、関節軟骨の主要成分であるコラーゲンの液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析 (LC-MS/MS) による解析を行っている。コラーゲンが特徴的な三重らせん構造をとるためには規則的な架橋（生理的架橋）の形成が必要である。その指標であるピリジノリンとデオキシピリジノリンを定量することにより、軟骨の質を評価することができる。一方、老化に伴い糖がコラーゲンに非酵素的に結合することにより架橋がおこること（病的架橋）が知られており、その指標となるのがペントシジンである。従って、これらコラーゲンの生理的架橋（ピリジノリン、デオキシピリジノリン）と病的架橋（ペントシジン）を同時解析することで、より優れた軟骨の質の評価につながるのではないかと考えた。

【方法】

1. 標品のピリジノリン、デオキシピリジノリンおよびペントシジンを同時測定する系を検討する。
 - a. LC 分離のためのカラム選択と条件の最適化
 - b. MS/MS の条件最適化
2. 生体サンプルの前処理法を検討する。
 - a. 組織の可溶化法の最適化
 - b. タンパク質の酸加水分解法の最適化

【結果】

1. 三種の標品を同時測定する系を確立した。
2. 実験動物の関節軟骨を効率よく可溶化する方法を確立した。
3. 可溶化した液中のコラーゲンを効率よく酸加水分解する方法を確立した。
4. 標品で測定できても生体サンプルでは検出できない場合があることがわかった。

【考察】

生体サンプルには夾雑物が多く、LC での分離をうまくしないと、目的物質の測定に影響を与えることがあると思われる。さらに測定を重ねることで、今回対象とした三種類の架橋がコラーゲンの成熟・老化過程を推察する指標となる可能性をさぐりたい。

非放射性試薬によるナトリウム依存性グルコース輸送体 (SGLT) の活性測定法の開発—*in vivo* における測定

生理学研究所 技術課 齊藤 久美子

【目的】肥満・糖尿病の発症過程を調べるために各臓器の糖・脂質代謝変化を測定することは、肥満・糖尿病の発症メカニズム、治療法、治療薬の開発に重要である。現在、各臓器及び細胞における糖・脂質代謝速度の測定には、放射性化合物 (RI) が用いられている。その利用には、多くの制約がある。そこで我々は、この問題に対処するため、非 RI 試薬を用いた糖・脂質代謝測定法の開発に取り組んでいる。

これまでに、酵素法によるグルコースアナログ非 RI 標識 2-デオキシグルコースを用いたグルコース利用速度測定法を開発し (Analytical Biochemistry 412: 9-17, 2011)、特許を取得 (特許第 5044786 号) した。現在は、腎臓や消化管におけるグルコースの吸収および、再吸収を司るナトリウムイオン依存性グルコース輸送体 (SGLT) 活性を、非 RI 標識のグルコースアナログ α -methylglucoside (AMG) を用いた測定法の開発を進めている。2017 年に本法の特許を申請した。(特願 2017-093141 号)。

一昨年の本研究会で、本法を用いた *in vitro* 実験 (SGLT 強制発現細胞において非 RI 標識 AMG の取込みを測定) について報告した。本年は、AMG をマウス経口より投与し、消化管 SGLT を介した *in vivo* における AMG 取り込み活性と血中 AMG 量の変化を調べた。現在までの結果を報告する。

【方法】AMG は、SGLT を介して選択的に細胞内に取込まれる。そこで、消化管粘膜及び血液中の AMG 量を測定することで SGLT 活性を測る。非 RI 標識 AMG を酵素によりグルコースに変換し、我々が開発した非 RI 標識 2-デオキシグルコースを用いたグルコース利用速度測定法を用いて、生成したグルコースを定量することによって AMG を定量する。

マウス経口より AMG を投与し、一定時間後に、血液と消化管 (SGLT 発現臓器) を採取した。採取した血液は、希釈して AMG 量を測定した。消化管は、上部 (空腸)、下部 (空腸、回腸) に分けて採取し、腸管上皮細胞を回収し、細胞内の AMG を測定した。AMG 投与後の時間経過による小腸粘膜による AMG 取り込み量の変化、血液中の AMG 量の変化を調べた。

【結果】経口より投与した AMG は、マウス腸管上皮細胞における蓄積が一過性に増加したが時間経過とともに減少した。これに対して、血液中の AMG の量は増加した。血液中 AMG 濃度は、グルコースと異なり投与後 120 分では、ほとんど低下しなかった。

【考察】AMG は、他のグルコースアナログに比べて SGLT に選択的であり、且つ、細胞内で代謝されない。それ故、本研究結果は、腸管上皮細胞に取り込まれた AMG が、GLUT2 を介してそのまま血中に放出された結果を表すと考えられる。現在、血液及び各組織に取り込まれた AMG 量を時間毎に測定し、血中 AMG の動態を解析すると同時に、SGLT1・2 阻害薬の効果調べている。

口 演 発 表

(一 般 口 演)

crispant 作製における温度条件の検討

基礎生物学研究所 技術課 高木 知世

【目的】アフリカツメガエルでの loss of function 実験には Morpholino antisense oligo が利用されてきたが、近年、それに代わって CRISPR/Cas9 システムによるゲノム改変が利用されるようになってきた。CRISPR/Cas9 システムは、標的配列をもつ guide RNA (gRNA) が PAM 配列 (NGG) に続く 20 塩基を認識し、ゲノム DNA 切断酵素である Cas9 が DNA を切断する。切断箇所を修復する過程で塩基の欠損や挿入が起こりフレームシフトによる目的遺伝子の knockout が引き起こされる。アフリカツメガエルの実験系では gRNA の配列に関係なく crispant (Cas9:gRNA complex を顕微注入した胚) に原腸陥入異常胚が多く見られる傾向があり問題になっている。また、初期胚を解析するためには胚の発生を温度制御する必要があるが、crispant の飼育温度が変異導入効率に及ぼす影響はわかっていない。そこで、変異導入効率を高く維持したまま原腸陥入異常を引き起こさない crispant の飼育温度と飼育時間を検討したので報告する。

【方法】(実験 1) crispant の飼育温度と飼育時間が変異導入効率に与える影響
色素合成に関わる遺伝子であるチロシナーゼの gRNA を用いて crispant の飼育温度と飼育時間を以下の条件で検討した。変異導入効率は crispant の網膜色素の欠損割合で評価した。色素が 50% 以上残っている場合は Mild、色素が 50% 以下残っている場合を Moderate、色素がない場合を Severe として変異導入効率を調べた。

1. ①13℃、②22℃に 1 時間その後 13℃、③22℃に 5 時間その後 18℃
2. ①13℃、②22℃に 2 時間その後 13℃、③22℃に 5 時間その後 18℃
3. ①13℃、②22℃に 3 時間その後 13℃、③22℃に 5 時間その後 18℃

(実験 2) crispant の飼育温度が原腸陥入異常胚発生率に与える影響
3 種類 (A、B、C) の gRNA で検討した。室温 18℃で受精卵にそれぞれの Cas9:gRNA complex を顕微注入し 22℃で 5 時間飼育した後、22℃または 18℃で一晩飼育した。翌朝、原腸陥入異常胚の数を数え、原腸陥入異常胚数/総 crispant 数 (%) で評価した。同様の実験を 3 回行った。

【結果・考察】(実験 1) ①13℃で飼育した場合、crispant に Moderate が最も多かった。③22℃で 5 時間、その後 18℃で飼育した場合、crispant に Severe が最も多くみられた。一方、②22℃に 1 または 2 時間飼育後 13℃に入れた crispant では Moderate が最も多かった。しかし、22℃で 3 時間飼育した後 13℃で飼育した場合は③と同程度の割合で完全に色素欠損した Severe が得られた。この結果から、高い変異導入効率を維持するためには、受精卵に Cas9:gRNA complex を顕微注入した後、少なくとも 22℃で 3 時間 (32 細胞期まで) の飼育が必要であることがわかった。(実験 2) 3 回の実験とも crispant を 22℃よりも 18℃で一晩飼育した方が、原腸陥入異常胚の発生率が低かった。

唾液からの DNA 抽出と遺伝子解析の試み

鹿児島大学 遺伝子実験施設 西谷 篤, 櫻井 芳生, 田中 翔

【目的】本研究ではヒトの唾液から DNA を抽出し、PCR 及びダイレクトシーケンスを行い、セロトニントランスポーター遺伝子多型 (5-HTTLPR) の解析を行った。また、同じ DNA を用いてリアルタイム PCR を行い、オキシトシン受容体遺伝子一塩基多型 (rs53576) の解析も行った。唾液は侵襲性であるが、血液と同様に夾雑物が多く、DNA 抽出の際にいくつか問題が発生した。5-HTTLPR 解析ではヘテロ二本鎖の問題が発生し、その対応を報告する。この研究は科研費助成事業の一環で、パイロットスケール実験における試みになる。

【方法】①唾液 DNA 抽出 [i]Oragene・DNA 採取キットで DNA を抽出し、RNase の RNA 分解とエタノール沈殿を行った。[ii]唾液中の白血球細胞内の夾雑物が DNA と共沈殿すると考え、電気泳動で使用するブルーデキストランで DNA を着色し、共沈殿する前に着色された DNA をピックした。[iii]RNA 分解処理は手順を簡略化するため省略した。②5-HTTLPR 解析 [i]GCrich な配列であるため、TaKaRa LA Taq® with GC Buffer を使用して PCR を行った。電気泳動でバンドを確認し、独自のゲルピック法によって DNA 配列解析を行った。[ii]ヘテロ二本鎖解消のため、熱処理と急冷による処理を行った。[iii]電気泳動の分離能向上のため、縦長のゲルを作成して電気泳動を行った。③rs53576 解析 TaqMan® SNP Genotyping Assays を使用してリアルタイム PCR を行った。

【結果】①吸光度測定の数値から、[i]の方法ではタンパク質 (280nm) は除去できるものの 230nm 付近の夾雑物は除去できなかった。[ii]の方法によって、260nm/230nm の数値が 0.99 から 1.84 に改善した。[iii]260nm には DNA と RNA が含まれ正確な数値ではないが、両解析で問題はなかった。②[i]5-HTTLPR には SS 型・SL 型・LL 型の 3 種類があり、SS 型と LL 型は簡単に DNA 配列を決定できた。SL 型は片親からの S・L の DNA が共存するため、PCR で熱変性と乖離を繰り返すうちに輪状の高次構造を持つヘテロ二本鎖が生じ、DNA 配列解析で複合配列となった。[ii]及び[iii]については現在検討を行っている。③4 検体を解析し、ホモ型[G/G]1 検体・ヘテロ型[A/G]1 検体、ホモ型[A/A]2 検体に分類した。

【考察】①夾雑物は除去できたが、残液には DNA が含まれているため、質量分析で夾雑物の特定及び除去方法の確立を試みる。②[iii]は電気泳動に約 7 時間要するが、[ii]か[iii]のどちらかが成功すれば、クローニングによる遺伝子組換えが不要となる利点がある。③新たに一塩基多型(ドーパミン関連・アルコール依存症関連)を追加する予定である。

UPLC におけるキサントフィル成分の測定

基礎生物学研究所 技術課 野田 千代

【目的】

光合成をおこなう生物のみが生合成できる色素として、クロロフィル、カロテノイド、フィコビルリンがある。カロテノイド（鎖状の長い炭化水素）は、炭素原子と水素原子だけで構成されるカロテンと、それ以外の元素を含むキサントフィルに分けられる。

光合成において吸収した過剰な光エネルギーを散逸する機構として、キサントフィルサイクルと呼ばれる仕組みがある。この仕組みに関わる色素は、ビオラキサンチン、アンテラキサンチン、ゼアキサンチンである。これらの色素はエポキシダーゼ・デエポキシダーゼに触媒される反応により相互に変換可能であり、細胞内の条件によって量比が変化する。弱光条件ではビオラキサンチン、強光条件ではアンテラキサンチン、ゼアキサンチンが蓄積される。これは光エネルギーの供給と利用のバランスを反映するプラストキノンの酸化還元状態や水素イオンの濃度勾配をモニターすることによって、色素変換酵素の活性が調節されているためである。

従って、これらの色素を抽出し UPLC(液体クロマトグラフ)で同定・定量することは光合成機構の解析において重要な技術である。しかし、現在の方法ではビオラキサンチンとアンテラキサンチンのピークは保持時間が異なるため明確に分離できるが、ゼアキサンチンのピークは同じキサントフィル類のルテインとピークが近接しているだけでなく、ルテインと比べて含有量が非常に少ないためピークの分離が難しい。そこで、ゼアキサンチンの同定と定量をおこなうために最適な LC 分析条件を検討した。

【方法】

材料：*Chlamydomonas reinhardtii* (和名：コナミドリムシ)

抽出溶媒：Acetone:Methanol=1:1 細胞破碎：超音波

装置：ACQUITY UPLC®H-Class PDAsystem (Waters)

カラム：ACQUITY UPLC®HSS C18, 1.7μm, 2.0×150mm

移動相：Water, Acetonitrile, 2-Propanol

【結果】

他の成分測定への影響を考慮して、カラムや移動相を変更せずに、装置メソッドのグラジエント勾配を緩くすることで分離を改善できた。また、サンプルに含まれるゼアキサンチンの量が大変少ないという問題を解決するために、抽出に用いる細胞の量を 5 倍にして成分濃度を上げ、一方装置へのサンプル注入量を減らすことにより、明確に分離した成分ピークを検出できた。

顕微蛍光セルマニピュレーターを用いた 微生物の1細胞分離培養法確立の試み

九州大学 農学研究院研究教育支援センター 奥川 友紀

【目的】 センターで運用管理している顕微蛍光セルマニピュレーターを用いた新たな実験手法の確立を目的とした。微生物学分野において、環境中に存在するいまだ未分離の微生物を分離培養するため、また、複合微生物試料中の主要細菌や、発酵過程において鍵となる役割を担う微生物等を選択的に分離するため、マニピュレーターによる1細胞分離法の確立を試みた。操作性（作業効率の向上）、正確性（雑菌混入の防止）、実用性（1細胞分取培養後の増殖率の向上）等を考慮しつつ改良を行い、本法の有用性を検証した。

【方法】 ガラスボトムチャンバーに、分離源試料となる微生物培養液と滅菌済み培地のドロップレットをそれぞれ作成し、上からオイルをかぶせた。顕微蛍光セルマニピュレーター（OLYMPUS, IX73 & Eppendorf, NK2-vario & ASTEC, AIM-160）を用い、試料ドロップレットからマイクロキャピラリーで1細胞を吸引後、培地ドロップレットに吐き出した。その後、チャンバーごと培養を行い、再び顕微鏡観察により増殖を確認した。試薬や器具、ドロップレットの種類や配置、生細胞選択的分取法の導入（CFDA-AM でエステラーゼ活性を示す細胞を蛍光染色する方法、増殖能を有する細胞を細胞分裂阻害剤添加で伸長させる Direct Viable Count (DVC) 法等の検討を行った。手法確立後、実際に環境試料（し尿処理場の自家発熱型高温好気発酵槽）からの主要菌分離を行った。

【結果】 試薬や器具、操作法の最適化の後、本手法を『ドロップレット液系分離法』として確立した。*E. coli* JM109 純粋培養系において、1細胞分取・培養後の増殖率は86.7%と高く、本法の有用性が示された。CFDA-AM 染色と DVC-CFDA-AM 染色を用いた選択的分取後の増殖率は、それぞれ57.1%、19.0%であり、環境試料への応用が期待される結果となった。環境試料からの分離では、従来の分離法（固体培地でのコロニー形成による純粋分離法）で分離できなかった微生物を分離できた。

【考察】 *E. coli* JM109 分離後に高い増殖率が得られたことから、チャンバー培養条件が生育条件と合致している微生物においては、分離源試料内のターゲット占有率を予め増加させておくことで本法を用いた分離成功率を高めることが可能であると考えられる。

【参考文献・資料】

Ashida, N. et.al., 2010, Isolation of functional single cells from environments using a micromanipulator: application to study denitrifying bacteria. *Appl Microbiol Biotechnol.*, 85:1211-1217.

東北大学農学部コンピュータ演習室の紹介

東北大学 大学院農学研究科・農学部 技術部 小森 和樹

【目的】東北大学大学院農学研究科・農学部（以下、農学部）では、学部3年生を対象にコンピュータを用いた統計、論文検索、解析などを教育するためにコンピュータ演習室を設置している。端末の台数は36台で、windows 端末である。この端末だが、windows update の対応や、ウィルス対策ソフトのアップデートといった管理作業や、コンピュータウィルスに感染してしまった場合の対応など、必要な作業量が多く、負担になっていた。この問題を解決するために、新規システムを導入し、端末を更新したので、報告する。

【方法】

- (1) 集中管理を行うためシンクライアント端末を導入した。
- (2) 管理作業に特別な技能が不要となるよう、1台の環境からOSイメージを作成できる製品（株式会社ワッセイ・ソフトウェア・テクノロジー Phantosys）を選定した。
- (3) コンピュータウィルス対策として、端末の電源停止時に、くわえた変更を初期化するシステムを導入した。

【結果】

特別な技能を不要とするシンクライアント端末を導入したことで、農学部で授業を行う際のソフトウェアに制限を加えることなく、運用の手間を軽減することができた。

端末の電源停止時にシステムを初期化することと、ネットワークセキュリティを組み合わせることで、原則としてウィルス感染の被害を心配する必要がなくなった。

【考察】

近年、コンピュータの発達により農学部でも学生に対して、コンピュータを活用した統計、論文検索、解析などを教育する必要性が高まっているが、コンピュータ演習室の維持・管理コストが非常に大きくなり負担となっている。今回導入したシステムは従来のシンクライアントシステムと比較して、管理・運用が非常に簡便であり、様々なソフトウェアに対応しているため、農学部におけるコンピュータ演習室の端末に導入する製品として非常に適していると考えられる。

【参考文献・資料】

- ・株式会社ワッセイ・ソフトウェア・テクノロジー
シンクライアント OS Phantosys
<https://www.wasay.co.jp/product/phantosys10/>

3D プリンターを用いたシトクロム *bd* オキシダーゼの 基質結合部位造形と考察

九州工業大学 情報工学部 楠本 朋一郎

【目的】 3D プリンターは近年目覚ましく普及してきており、本学でも共用可能な 3D プリンターが学内デザイン工房内に設置されている。ただし、著者らが所属する生化学分野での活用は必ずしも十分とは言えなかった。2016 年に筆者らはドイツのマックスプランク研究所との共同研究で、シトクロム *bd* オキシダーゼの結晶構造を世界で初めて明らかにした (Schara S. et al Science, 2016; 352(6285): 583-586)。そこで今回、3D プリンターを用いてその全体構造及び基質結合部位と目される部位を造形し、基質や阻害剤も併せて作成することにより、基質や阻害剤の結合様式を手にとって理解できるツールの作製を試みたので報告する。

【方法】 大学学習教育センター所属デザイン工房設置の 3D プリンター ZORTRAX 社製 M200、フィラメントは ABS を使用した。*Geobacillus thermodenitrificans* cytochrome *bd* oxidase の結晶構造データは PDB ID: 5DOQ を用い、結晶構造の表示は Chimera (ver. 1.12) にて行い、surface 形式で表示させたものを STL ファイル (Layer thickness: 0.19mm, Quality: normal, Infill: Low, Support: ON) で保存した。これを Z-code ファイルに変換後、M200 に転送して造形した。また、*bd* オキシダーゼのホモロジーモデリングは富士通九州システムズ社製 Molecular Operating Environment (MOE) を使用し、所属研究室の麻生氏にやって頂いた。

【結果】 *G. thermodenitrificans* cyt. *bd* oxidase を造形することで、CydA、CydB、CydS の特徴的な形状を直接手にとって直感的に構造を観察できるようになった。なお、初回の造形では活性中心であるシトクロムは抜いた状態で造形した。サポート材を剥離していくことでタンパク質の形状を良く認識できた。造形には時間がかかり、すべての構造を一度に造形させようとするとうまく 24 時間近くを要した。デザイン工房は原則 10:00-18:00 までしか使用できないという制約があったので CydA、CydB、CydS 別々に造形を行った。また、*G. thermodenitrificans* の *bd* の構造データを元にホモロジーモデリングを行い、他の生物の *bd* oxidase の構造も造形した。配列相同性は高くはないため正確な構造を反映しているとは言いが、基質が結合すると予想している部位周辺に多様性があることを確認した。

更に所属教員より活性中心のシトクロムと外側のタンパク質を別々に造形し、外から活性中心が見えるようにしてほしいという依頼を受けて、部品ごとに造形してつなぎ合わせようと試みたがうまく行かなかった。活性中心と考えているシトクロムとその周辺の CydA タンパクの構造データを切り出して 2 倍に拡大して造形を行い、基質や阻害剤も同サイズで造形した。その結果、基質や阻害剤と活性中心の相互作用を手にとって考えることが可能なツールが出来た。

【考察】 今回使用した 3D プリンターは様々な色を造形と同時に塗布できるタイプではなく、プラスの極性残基、マイナスの極性残基、疎水的な残基などの対応付けができない。このため、基質や阻害剤と基質結合部位と目される部分との深い考察は難しかった。更に高機能な 3D プリンターであれば可能であると考えるので、発表当日に情報を収集したいと考える。

ナノポアシーケンサーMinIONによる、 がんの構造変異検出

広島大学 自然科学研究支援開発センター
生命科学実験部門 生命科学機器分析部 木村 真吾

【目的】Break-apart FISH 法によりゲノム上の特定箇所での転座が検出された腫瘍サンプルについて、転座が起きた位置を特定するためにナノポアシーケンサーMinION で全ゲノムシーケンスを行った。

【方法】第三世代シーケンサーと位置づけられるナノポアシーケンサーMinION は、装置が手のひらサイズで初期費用がほぼ 0 である。エラー率は 10%程だが、得られる塩基配列の長さ（リード長）が長い。今回のような構造変異検出の用途には適していると考えられたため用いられた。ライブラリ作成は SQK-LSK109、フローセルは R9.4.1 FLO-MIN106 を 1 枚用いた。ベースコールおよび構造変異検出の解析環境構築には Docker を使い、解析パイプラインには nextSV[1]を利用した。

【結果】フローセル 1 枚で約 5Gb（5 億塩基）の出力を得た。平均リード長は約 8kb、最も長いリードは 312kb であった。リードをヒトゲノム hg19 にアライメントした結果、平均カバレッジは約 1.5x であった。NGMLR+Sniffles の結果から、目的の転座が同染色体上の離れた位置で検出された。その後、ゲノム PCR とサンガーシーケンスにより転座がこの腫瘍特異的に生じていることが確認された。

【考察】今回のサンプルについては運良くフローセル 1 枚の費用（約 15 万円ほど）で目的の転座位置を特定できたが、腫瘍細胞の含量や確率に左右されるため、より多くの費用を要していたかもしれない。しかし、MinION ならではの迅速性と長鎖リードという利点は活かされたと考えられる。この方法を応用すればゲノム編集の on target、off target の検出、外来遺伝子の検出などにも適用できると考えられる。一方解析については、シーケンサー同様解析ツールも発展途上であり、各ツールに合わせて解析環境を構築し、最適なツールを選択していくのには労力が伴うため、効率的な環境構築が求められる。

【参考文献・資料】

・[1] L. Fang, J. Hu, D. Wang, K. Wang. NextSV: a meta-caller for structural variants from low-coverage long-read sequencing data. BMC Bioinformatics, 19 (2018), p. 180

環状ゲノムのフィニッシング ～効率化を目指して～

基礎生物学研究所 技術課 尾納 隆大

【はじめに】バクテリアゲノムにおいては Pacific Biosciences 社および Oxford Nanopore Technologies 社のシーケンサーから得られるロングリード、それらロングリードを用いて行うゲノムアセンブル¹およびエラー補正により高精度な完全長配列を構築することが可能である。一般にコンティグ配列の末端はエラー補正が十分にいきわたらず精度が低下しやすい。バクテリア等の原核生物のゲノムは環状構造をしていることが知られており、環状ゲノムの場合にはコンティグ配列を適切に環状処理した後、再度エラー補正を行うことにより、全長にわたって高精度な完全長配列を得ることが可能である。これをフィニッシング解析と呼ぶ。

【目的】従来、私は以下の手順でフィニッシング解析を行っていた。

- ① Gepard というツールを用いてコンティグ配列の両末端の配列が重なるかどうかを「目視で」確認する。
- ② コンティグ配列の両末端の配列が重なることが分かった場合、コンティグを中央付近で「手動で」切断する。
- ③ Minimus2 というツールを用いて切断前のコンティグ配列の両末端を接続する。
- ④ 最後に開始位置の調整とエラー補正を行う。

この方法を用いることで全長にわたって高精度な完全長配列を得ることができていたが、幾分繁雑さを感じていた。現在、基礎生物学研究所の統合ゲノミクス共同利用研究の課題でバクテリア 22 株のゲノムアセンブルに取り組んでいるため、この機会に環状ゲノムのフィニッシングの効率化を目指した。

【方法】ロングリードを用いてコンティグ配列の環状化を自動で行う Circlator というツールを用いた。Circlator は入力データとして、コンティグ配列のデータと補正されたロングリードのデータを用いることで、コンティグ配列が環状構造を持っていた場合、「自動で」環状処理、さらには開始位置の調整まで行うことが可能である。

【結果と考察】Circlator を使用することで、バクテリア 22 株のうち 20 株は効率良くフィニッシング解析を行うことができた。しかし、残りの 2 株は Circlator の標準設定では環状化ができなかった。このようなサンプルに関しては Circlator の設定値を変更する、もしくは従来の方法を試す必要がある。今後はさらに Circlator の把握に務め、ロングリードを用いてバクテリアのゲノム解読を行う際には、Circlator を積極的に使用していきたい。

¹ アセンブル：シーケンスで得られたリードをつなぎ合わせ、より長い配列を構築すること。この配列のことをコンティグ配列と呼ぶ。

炭焼きの「見える化」で初心者でもできる 技術開発と教材化への検討

鹿児島大学 教育学部 実習地 池田 充

【目的】炭焼きの成功には、外部に出現する煙の色や排煙温度を頼りに判断しなければならない。この判断に熟練を要するため、未だ製炭率が安定しない状況にある。その原因として最も考えられるのが、炭窯の吸排気口の閉鎖のタイミングである。窯の中全体が炭化した時期を未熟者でも把握できる方法、すなわち「見える化」の技術を開発し閉鎖時期を判断できれば、初心者にもわかりやすく、その技術を多くの関係者に広めることができ、環境教育の教材化への道筋を学生や教員に推奨できる。

【方法】炭焼きの伝統技術を具体的に臭気・音という簡単で誰でも分かりやすい方法で学部圃場内に内径75cm窯壁高65cmを用い窯底にゴム・髪の毛・生竹等を置きゴム・髪の毛から発生する異臭の値を臭気センサーで測定すること、また生竹の破裂による音を騒音計で測定すること、また排煙と窯底内部温度も同時に熱電対で測定し4つの指標により、窯底に高熱が到達したことを想定し閉鎖時期の判断の代替とする。

【結果】第1回目(ゴム)の炭焼きでは燃焼開始から排煙温度 80℃で仮閉鎖を行い5時間後には目標の窯内温度が 700℃に達した。第2回目(髪の毛)の炭焼きでは燃焼開始時間から4時間で仮閉鎖を行い、窯内温度が 700℃上昇後に急激に排煙が減少したのち完全閉鎖を行ったがいずれも臭気センサーでの測定値を検出するに至らなかった。また3回目(音)の炭焼き実験では3時間後に仮閉鎖を行いその後6時間後に完全封鎖を行った。3回目では竹の破裂音による騒音計での値も検出することが出来なかった。また製炭率も 7%前後と低かった。そのためそれ以外の方法を追加で行った。アルミ缶に煙玉を入れ4回目の炭焼き実験を行った。これはアルミ缶の溶点 が 660℃のためにその時点で必ず煙の色の変化が起こるだろうと仮定した。しかし開始から 10 時間後に溶解温度に達したが排煙色の変化を確認することは出来なかった。

【考察】以上のことから臭気や音での完全閉鎖のタイミングを測定することが出来なかった。この原因として考えられるのが仮閉鎖時で窯内部の温度が想定していた温度より高温であったために予定時までには臭気発生は終わっていた可能性が高いと思われる。また人による臭気でも体感できなかった。次に音での実験でも同様に窯内部が高温であったことで初期の段階で破裂した可能性が高く、また破裂音を騒音計でも計れず、人でも感じることも出来なかった。これまでの実験から予定していた結果が得られず、いずれも失敗に終わった。そのためアルミ缶を用いた方法を新たに試すこととした。しかしその方法でも排煙色の変化を確認できなかった。つまりこれらの方法では完全閉鎖の時期を把握することはできないとの結果が得られた。しかし今まで測定できなかった窯内部の温度を測定できたことは大きな結果であり排煙温度と窯内温度で閉鎖の時期を把握できると確信した。

技術部(技術職員)による学内セミナー開催のノウハウ ～低負担で高集客を目指そう！～

浜松医科大学 器官組織解剖学講座¹⁾ 技術部²⁾
佐々木 健^{1,2)}, 宮田 学²⁾, 蓑島 伸生²⁾, 佐藤 康二¹⁾

【目的】浜松医科大学には技術部が存在し、そこには約 30 名の技術職員が所属している。またそれらの技術職員のうち、在職年数が比較的高いスタッフを中心に、広報、会計、学内・学外研修などの部内業務を受け持ち、日々の学内支援業務と並行してこれらの担当をこなしている。この中で、学内研修担当は学内の技術職員のみならず教職員や院生といった研究者に対する研究技術に関する情報提供を「技術部セミナー」という形で行っている。さらに、このようなセミナーに主体的に関わる(主催する)ことが、その技術部や職員自身の評価につながっている可能性があるが、それ以上に技術部や技術職員の学内認知度を上げる効果も少なからずあると思われる。一方、大学をはじめとする研究機関には多くの研究者が在籍し様々な研究を行っているが、研究者は的確かつ効率的に研究を進めるための手法やツール(機器・試薬等)を常に求めている。これと同時に、これらのツールを開発し販売する業者は、販売戦略の一環として研究者向けにこれらを広く紹介するような場を求めている。しかしながら、こういったツールの営業活動は往々にして研究室単位や研究者単位になってしまい、研究者側、業者側の双方にとっても効率性が良いとは言えない。

以上のような背景から、浜松医科大学技術部は研究者と業者の間を取り持つ形でセミナー(業者による機器・試薬説明会)を年数回開催し、効率よく新しい最適な技術を研究者に提供して学内の研究推進に貢献できるような取り組みを行っているのでそれを紹介する。

【セミナー開催の流れ】担当者は日頃から学内の研究者・研究室がどのような研究をどういう手法で行っているかについての情報収集に努め、同時に研究者が興味を引きそうなツールが無いか販売業者からの情報収集も行う。これらの情報を総合的に勘案しセミナーの内容を絞る(1 回のセミナーで 1～2 演題、1 演題あたり 25～45 分程度)。内容決定後の業者(演者)側と打ち合わせでは、発表内容は試薬や機器の説明だけでなく、基本原理や対象となる生命現象等の基礎的・一般的な話も入れて聴講者の勉強にもなるよう依頼する。セミナーを告知するポスター(チラシ)を作成し各講座に配布し学内掲示も行い、さらに学内一斉メールによる告知(セミナー当日のリマインダーメール)も行う。セミナー当日は会場のセッティングを行い、司会や座長は技術部のスタッフが行う。

【ポイント】業者に講演(演者)を依頼することにより、内容は無尽蔵で講演料は 0 円。内容は広く一般的なものにし、基本的な部分まで話してもらうと人が集まりやすい。また告知は入念に行う。試薬キットなどは担当技術職員が試用し、その結果も併せて発表すると良い。セミナー聴講者名簿を記録することにより、誰が何に興味があるか分かる。

富山大学薬学部附属薬用植物園における 展示植物ラベルの工夫

富山大学 医薬系技術部 高尾 泰昌

【目的】富山大学薬学部附属薬用植物園は、1923 年（大正 12 年）富山薬学専門学校薬草園から始まり、これまで旧富山大学薬学部薬草園、富山医科薬科大学薬学部附属薬用植物園を経て、現在の富山大学薬学部附属薬用植物園となっており、大変歴史のある薬用植物園となっている。また保有植物に関しても約 2000 種と全国の薬用植物園と比較してもトップクラスの保有数である。当園は薬用植物を栽培し薬学関連の学術研究及び学生の教育や地域貢献活動を積極的に行っており、年間約 500～1000 名程度の方が来園する。来園者は主に標本見本園に設置してある Aboc 社の展示植物ラベルを見ながら植物に対する理解を深めるのであるが、近年その展示植物ラベルが長年の使用による劣化、破損、情報の不備などが目立ってきた。既に写真のラベルに関しては当園に在籍していた技術職員が自作で作成していたが、今回は更に改良を加え、既存の展示植物ラベルに変わる独自の自作ラベルの作成を開始したので報告する。

【方法】展示ラベルのサイズは既に使用しているラベルと同じ A5 サイズで作成することとした。構図に関しては左半分を植物の学名、科名、薬用部位、生薬名、処方名、成分名を記載し、さらに当該植物の簡単な説明文も掲載した。右半分には基本的には「花」と「薬用部位」の写真を掲載することとした。新たな試みとして当園が平成 21 年度富山大学学長裁量経費地域等連携経費を獲得し、作成した当園独自の「薬用植物データベース」とリンクさせるための「QR コード」を作成し掲載することとした。QR コードはネット上にある「QR コード作成サービス」で作成、MicrosoftPowerPoint2016 でラベルを作成し、インクジェットプリンターで印刷後ラミネートして完成とした。

【結果】今年度、一般公開の時期に合わせ試験的に局方収載植物を中心に 50 枚作成し設置した。来園者に意見を聞くと、「いろいろな写真が見れて良い」、「写真が大きく見れて良い」など、概ね好評であった。

【考察】来園者から概ね好評であったので、今後もこの自作ラベルの作成を進めていく予定である。改善点として植物の説明文が多くなってしまう傾向があるので、もう少し簡潔な文にし、文字を大きく読み易くするよう心がける。今後の目標として植物園でタブレット型 PC を導入し、職員が来園者を案内する際には各職員がタブレット型 PC を持ちながら必要に応じて植物の「花」、「特徴的な部位」、「薬用部位」の画像を見せることが出来るようにして、これまでよりも多くの情報を提供できるようにしたい。

大型スペクトログラフ ランプ室結露対策 2

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。昨年度はランプハウス内に結露が発生したため、様々な対策を講じ技術研究会でも発表した。その際にもらった意見を参考に、業者とも相談してさらに対策を模索したので報告する。

【方法】

空冷装置はランプ電源と並んで機械室に設置されている。ランプ電源を ON にすると、ランプ電源装置内の空気がダクトで強制排気され、その分の給気は電源装置側面から吸う構造になっている。その結果機械室内が陰圧になり、通気口から外気が入ることが判明した。外気侵入によるランプハウス内の湿度上昇を防ぐため、以下の方法を試みた。

- (1) 空冷装置外装板のパッキング交換
- (2) 機械室に入る空気を光源操作室から供給
- (3) ランプ電源 OFF 後機械室扉開放

【結果】

- (1) 機械室に外気が侵入しても空冷装置内に入らなくなることを期待したが、効果はなかった。
- (2) 機械室の通気口を塞ぎ機械室扉を開放して、機械室に入る空気を光源操作室から供給するようにした。その結果、点灯・消灯後の湿度上昇がなくなったが、点灯時に光源操作室が強い陰圧になった。建物全体に影響するため、この案は断念した。
- (3) 通気口は塞がず、ランプ電源 ON の間は機械室扉を閉めてドライエリアから給気し、ランプ電源 OFF 後に機械室扉を開放するようにした。電源 OFF 直後はまだランプハウスの温度が高いので、ランプハウス温度低下時に吸い込む機械室の空気を、温度制御・除湿された光源操作室と同じにするのが目的。その結果、点灯・消灯後の湿度上昇が抑えられた。

【考察】

当面の対策としては電源 OFF 後機械室扉開放で対応する。来年度の空冷装置更新時には、ランプ電源と通気口をダクトで繋ぐオプションを付けて見積依頼中である。

話 題 提 供

私のライフワークとその探究

北里大学 医学部 解剖学研究室 西槇 俊之

メダカ (*Oryzias latipes*) は、観賞用から小学校の理科の教育教材などに使用されているなど日本人にとって馴染み深い魚です。更に、遺伝学や発生学などにおいて脊椎動物の比較的簡便なモデル生物として研究にも盛んに使用されています。2012 年 10 月バイコヌール宇宙基地より野口聡一宇宙飛行士と一緒に飛び立ったメダカは、約 2 ヶ月間国際宇宙ステーション (International Space Station; ISS) の実験棟「きぼう」にも滞在し、骨代謝や遺伝的影響の研究に用いられました。

私とメダカとの出会いは、当時 JAXA の研究員を兼任していた尾田正二先生 (現東京大学大学院新領域創成科学) にメダカ体内を網羅的に観察できる全身組織切片の作製を依頼された時から始まります。宇宙飛行士のモデルとしてメダカを採用するためには、メダカとヒトに共通する部分に着目するだけでなく、メダカとヒトで異なる部分についての網羅的な理解が必要となります。更には、メダカにおいてヒト疾患と同様もしくは類似の疾患を探索し、その発症メカニズムを明らかにすることによってヒト疾患の治療のための基礎研究にも繋がります。私が所属する研究室では、尾田正二先生や小賀厚徳先生 (山口大学大学院分子病理学) 方との共同研究によりメダカ全身連続組織切片からのバーチャルスライド化について整備しています。また、この作製技術を生かして、国内の研究施設と協力し、メダカ以外にもシロサケ稚魚、マダイ幼魚や貝類などの全身組織切片を作製し、その組織解析を行っています。このような仕事の中で日々楽しい時間を過ごさせて頂いております。これぞまさしく、私にとってのライフワークだと思います。ヒトによっては、「たかが切片切り」と思う方もいるかと思いますが、「されど切片切り」と私は自負しています。なぜならば、組織学は、技術者の手腕が大きく活かせると同時にその手腕に大きく左右される分野だからです。質の高い組織標本作製することにより、研究に大きく貢献できると信じています。ライフワークを続けていく中で私自信の探究心も芽生えていきました。私は、以前より科研費 (奨励研究) について興味があり、応募申請をお願いしましたが中々許可をもらえませんでした。最後のチャンスと思い応募申請を強くお願いしたところ、平成 29 年度にようやく医学部の教育系技術職員の応募申請の許可が下りました。これを機に応募申請をさせていただき、運良く 2 年連続で研究課題が採択されました。私は 本年の 3 月で定年を迎えます。定年を前にして楽しいと思える仕事に巡り合えたことは最高の幸せだと実感しています。定年後もまだまだやりたいことが山積み状態です。日々精進しながら今しばらくは嘱託職員として研究のサポートや科研費 (奨励研究) の申請などにも挑戦して行きたいと思っています。

最後になりますが、このような「ライフワークとその探究」について常日頃よりご理解とご指導をいただいております医学部解剖学の小川元之教授並びに太田博樹准教授にこの場をお借りして厚くお礼を申し上げます。

ポスター発表

細胞分裂直前の観察条件の確立

基礎生物学研究所 技術課 壁谷 幸子

【目的】植物において、細胞は細胞壁が存在して動くことができない。そのため、細胞がどの方向に分裂するかによって、最終的な組織の形が決定する。しかし、その分裂面制御機構はほとんど分かっていない。これまでの知見から、細胞核を通して外周が最も短くなるように分裂面ができるという仮説を立てた。今回は、固定した組織を用いて細胞分裂直前の細胞核の位置と分裂面を観察するための条件検討を行ったので報告する。

【方法】コケ植物ヒメツリガネゴケの胞子体様構造を 4%パラホルムアルデヒドで固定し、ClearSee による透明化を行った。細胞壁はカルコフロアホワイト、細胞分裂時期は蛍光標識した微小管、核は SiR-DNA によってそれぞれ標識し、顕微鏡にて観察した。

【結果および考察】細胞分裂が盛んにおこる培養条件、細胞分裂観察条件について検討した結果、分裂直前の細胞壁と微小管を観察する条件を確立できた。しかし、細胞核染色条件についてはまだ確立できていない。今後、固定時のホルムアルデヒドの低濃度化や ClearSee に代わる透明化試薬を試していきたい。

超薄切切片作製の技術向上

兵庫医科大学 共同利用研究施設 篠崎 亮太

【目的】現在、本学の共同利用研究施設において顕微鏡を取り扱うエリア（微細形態エリア）を担当しており、TEM も設置されている。超薄切切片の作製技術習得を目的に切片作製から観察を今まで行ってきたが、何度作製しても良好な切片を作製することができない部分があり、観察時に視野が限られてしまう。今回、この問題を解決し良好な切片作製を行えるようになることで、今後の超薄切切片作製における研究支援を目的とする。

【方法】エポキシ樹脂に包埋したマウスの肝臓を用いて約 90nm の超薄切切片を作製し、酢酸ウラニル溶液と鉛染色液で染色を行い TEM で観察した。切片作製時において、切片作製の条件や使用する道具を変更することで、良好な超薄切切片の作製を目指した。

【結果】超薄切切片作製後、染色なしで観察しても同じように良好に観察出来ない部分が多かった。また違う組織を樹脂包埋したブロックで切片作製したところ、問題としていた部分は見られなかったことから、組織自体に問題があったと考えられる。

【考察】どのような問題が組織にあり、良好に切片作製できなかった原因を検討する。

P3

ハーフバスケット（+専用バット）と、 ミニバスケットを用いた鍍銀染色と PAS 染色

浜松医科大学 腫瘍病理学講座 加茂 隆春

【目的】完成したハーフバスケット(+専用バット)と、ミニバスケットを用いて特殊染色の、鍍銀染色(保護コロイド法: 東邦大方式)と PAS 染色に使用したので報告する。

【方法】ハーフバスケット(+専用バット)の使用は、鍍銀染色で、ヒト肝臓(4枚 / 5 μ m)を染色する。染色手順の鍍銀液、還元液、塩化金液などの金属類を避けて施す。ミニバスケットの使用は、PAS 染色で、ヒト腎臓(4枚 / 2, 3, 4, 5 μ m)を染色する。

【結果】鍍銀染色は、4枚とも均一したコントラストの染色像を得ることができた。鍍銀液に入れる前の鉄ミョウバン液は、ハーフバスケットを用いたことで4枚同時に1分以内に浸漬できる有用な方法だった。PAS 染色は、4枚の厚さが異なり、同一条件で一度に染色したので染色像も厚くなるほど濃くなった。2 μ mの厚さがシャープな染色像を示した。

【考察】鍍銀染色は、金属類の使用を避けることが一般的である。鍍銀液から還元液と塩化金液など数カ所のステップにはガラスバットを用いたが、それ以外はハーフバスケット(+専用バット)を用いたことで効率的で良好な染色法ができたと考えられる。PAS 染色は、ミニバスケットと溝付5枚立を用いたことで染色手順がしやすく溶液も削減できた。

P4

新規睡眠制御因子のイメージング技術を用いた解析

筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構 山田 智子

【目的】睡眠は日常的な生理現象であるが、その役割は代謝や脳機能、さらには生命の維持にまで及ぶ。しかし近年、この睡眠リズムの乱れが大きな社会問題になっている。本研究では睡眠制御の技術開発を目指し、睡眠圧と関連するキナーゼである salt-inducible kinase 3 (SIK3)の活性調節を蛍光イメージングする系の立ち上げを行なった。

【方法】SIK3の基質の一部の配列を組み込み、それがリン酸化されると蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)が起こる蛍光プローブ Eevee-SIK を使用した。ライブイメージングは小型インキュベータ付きのレーザー顕微鏡を用いて行なった。Eevee-SIKと SIK3を共に HEK293T細胞へ導入して、様々な試薬の投与を行い、その効果の有無から SIK3 活性の調節機構を追求した。

【結果】条件検討の末、安定した Eevee-SIK 発現とライブイメージングが可能になった。また、いくつかの薬理的操作により Eevee-SIK の FRET 効率が変化した。

【考察】SIK3はそのシグナル伝達経路すら未解明であるが、その一端を明らかにできた。今後ニューロンでの解明を試みる。

P5

共同利用機器 HPLC/MS における TLC 法の活用

徳島大学 技術支援部 蔵本技術部門 北池 秀次

【目的】共同利用機器を運用する機器室では分析の要求が絶えず変化しており、多岐にわたる研究分野から実験によっては試料情報を簡便に入手したい要望が高まっている。当機器室において共同利用機器の運用範囲を多方面へ広く拡大することを目的に、HPLC の前検討などに昔から使用される薄層クロマトグラフィー (TLC) を質量分析法 (MS) に組み合わせて分析技法の多様化構成を行ったので事例報告する。

【方法】HPLC/MS に TLC-MS を接続および設置後、成分表示が紛失した 2 種類の市販医薬品について TLC 法を活用してアセトアミノフェン成分を推定し、MS 法で同定した。

【結果】TLC 法で対象成分の分析を行った結果、医薬品成分をスクリーニング的に検出することができた。続いて TLC スポットを MS 検出器に導入し、イオン化条件を検討しつつデータを確認したところ、該当成分のマスペクトルを得た。

【考察】TLC 法を活用することによって、簡便な実験操作で混合物試料を分離し、質量スペクトル測定ができることを検証した。TLC 法は、定量性、分離、検出の感度など他の手法に劣るが、TLC 上で効率的に捉えることが可能であった。

P6

新規開発した簡便ゴニオメーターを用いた 生体骨の X 線観察支援

大阪大学 工学研究科 大瀬 昌明

【目的】X 線を用いて生体骨試料の測定を行うには複雑な試料の位置や角度を調整し、解析部位にピンポイントに X 線を照射することが必要である。その調整に研究室では多大な労力が費やされていた。そこで試料全体を簡便に傾斜回転できるゴニオの作製を試みた。

【方法】ゴニオは身の回りで入手が容易かつ安価なもので作製した。回転および傾斜に相当する部位に着目し、ボールジョイント構造を採用した。ボールジョイントは X 線を透過しやすいプラスチック製と、剛性が高く耐久性に優れる金属製の両方を用意し、それぞれサイズの異なるものを複数購入した。単純な構造とすることで汎用性を持たせた。

【結果】作製したゴニオを種々の X 線回折装置、X 線 CT 装置に搭載し、生体骨の測定を行ったところ試料の回転や傾斜が容易になった。ナノ X 線 CT での測定では試料スペースの制限や金属の膨張などにより、ゴニオの小型化だけでは十分な効果が得られなかった。

【考察】開発したゴニオについては更なる利便性の向上のために、改良を行っていく。ナノ X 線 CT での試料のハンドリングや位置情報の確定には別の方法が必要と考えている。

P7

組織型が異なる 2 種類の肺癌検体を用いた組織透明化技術による三次元再構成と今後の課題

秋田大学大学院 医学系研究科 器官病態学講座 工藤-浅部 幸紹

【目的】組織型の異なる 2 種類の肺癌検体を、既存装置のみを用いた組織透明化法で透明にし、蛍光免疫染色およびレーザー共焦点顕微鏡で観察することで構造の違いを確認することを目的とした。

【方法】基本的なプロトコルは文献の方法を参考にした。電気泳動は一般的な電気泳動装置 (Mupid-2plus) を用いた。蛍光免疫染色は当研究室で使われているプロトコルを使用した。

【結果・考察】電気泳動を用いた組織透明化法では腫瘍部は透明化されなかったので、別の方法も検討していきたい。2 種類の肺癌の構造の違いを観察することが出来た。

【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)

P8

フローサイトメトリーによる細胞内自家蛍光物質の解析

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から細胞内の自家蛍光物質は、死細胞において減少することが確認された。この現象は、355nm のレーザーによって励起され、450nm で発光することに起因した。しかしながら、355nm のレーザーは、一般に普及するまでに至っていない。そこで 488nm のレーザーを利用して自家蛍光物質の解析を試みた。

【方法】材料は、K562 細胞を使用した。(1) 対数増殖期を終えコンフルエント後に放置した細胞を測定した。(2) 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) で解析した。自家蛍光物質の励起波長は 355nm、蛍光波長 450nm で測定した。同時に励起波長 488nm により蛍光波長 525nm で測定した。

【結果と考察】355nm 励起による自家蛍光物質の蛍光は、(1)、(2) の細胞傷害に伴い減少し、死細胞では最低のピークに達した。488nm 励起の場合は、355nm 励起とは、逆のパターンを示し、傷害に応じて蛍光強度は増加し死細胞では、最大のピークを示した。この結果から、細胞内自家蛍光物質は、355nm 励起と同様に 488nm 励起によっても細胞の生死判定に利用できることが確認された。

FM0 (Fluorescence Minus One)による 蛍光漏れ込みの原因特定

高知大学 設備サポート戦略室 片岡 佐誉

【目的】フローサイトメーター利用者からルーチンワークとして行っているヒトの血球細胞表面マーカーフェノタイプの解析において、ある時期より PerCP-Cy5.5 vs PE-Cy7 の解析において PE-Cy7 の蛍光が PerCP-Cy5.5 の検出器に大きく漏れこんでいるパターンとなった原因解明の依頼があり、蛍光漏れ込み原因の特定を目的として対応した。

【方法】マルチカラー染色パネルから1色を抜いた FMO の実施と単染色サンプルでの各マーカーの陽性率の確認および PE 蛍光標識抗体のタイトレーションを行った。

【結果】FMO の実施により、予測していた PE-Cy7 の漏れ込みではなく、PE 蛍光が PerCP-Cy5.5 検出器に漏れ込んでいることが判明した。また同じクローンであってもロットの違いにより抗体の力価に大きな差があった。

【考察】フローサイトメトリーで多くの蛍光色素を使用するマルチカラー解析では蛍光補正が重要である。今回の問題は PE 抗体のロット違いによって力価が変化し蛍光の漏れ込みが発生したことに原因があった。FMO の実施による蛍光漏れ込み原因特定の有用性と、適切な抗体濃度の決定および正確な蛍光補正值設定の重要性を改めて認識した。

SDS-PAGE ゲルからのタンパク質(ペプチド) 抽出における特殊例

広島大学 技術センター 山口 信雄

【目的】SDS-PAGE で分離したタンパク質をゲルから抽出して質量分析によって解析することは、近年では一般的な手法となっている。本発表ではゲルから酵素消化したペプチドあるいはタンパク質を抽出した際に生じた特殊な例と、その対応策について紹介する。

【方法】SDS-PAGE ゲルからトリプシン消化したカゼイン α 及び β 由来ペプチドを抽出して質量分析すると、検出されるピークが極めて低い。また、4 量体を形成するトランスサイレチンタンパク質は、モノマーやダイマーのみをゲルから切り出しても様々なポリマーの混合物として抽出される。本発表ではこれらの原因と対策法について述べる。

【結果】高濃度アクリルアミドゲル使用によりカゼインペプチド収量が増加し、トランスサイレチンの解離・会合は、染色及び有機溶媒の使用を回避することで防ぐことができた。

【考察】カゼインはアセトニトリルを用いた洗浄工程で未消化の状態でもゲルから著しく溶出していると推測された。トランスサイレチンの解離・会合は染色液に含まれる有機溶媒や酸、安定化剤によって促進されていると考えられる。

P11

フォトダイオードによる蛍光測定を試み

東京大学 理学系研究科 理学部 技術部 佐伯 喜美子, 八幡 和志

【目的】生物物理学生実験において、緑色蛍光タンパク質 (GFP) の酸変性とリフォールディングにおける蛍光測定を行っている。今回は、それぞれの蛍光の経時測定を試みた。

【方法】GFP 溶液をスターラーで攪拌させながら、酸を加えて変性させ、次にアルカリを加えてリフォールディングさせ、蛍光を測定した。GFP の蛍光は、フォトダイオード (S7686) で受光し、オペアンプ (LF411) のトランスインピーダンス回路と反転増幅回路で増幅し (帯域 32 kHz @ -3 dB)、USB 接続型測定器を ADC としてリアルタイムに PC に取り込んだ。

【結果】GFP の蛍光をフォトダイオードで受光し、酸変性とリフォールディング過程における蛍光の時間変化を測定することができた。酸変性とリフォールディングの時定数は、予備的な結果として、それぞれ約 0.3 s と約 100 s であった。

【考察】今後は、S/N 比を改善することや、フォトダイオードやオペアンプの種類の検討、時間分解能を上げることなど、最適な条件を探していく予定である。

P12

簡便・迅速・安価な新規 RAD-Seq 法の開発

基礎生物学研究所 技術課 山口 勝司

【目的】RAD-Seq は DNA の制限酵素部位を集中的にシーケンスする手法である。近年、次世代シーケンサーのシーケンスコストが下がったとは言え、多検体を対象の全ゲノムシーケンスはコストがかかり過ぎる。RAD-Seq はシーケンス部位を限定できるため、より安価に多検体を対象にでき、集団ジェノタイプング解析が有効な様々な研究課題に利用できる。

演者は既存の RAD-Seq 法の欠点を解消し、より簡便・迅速・安価な新規 RAD-Seq 法「flexible ddRAD-Seq」の開発を進めてきた。本手法の紹介と共に、解析例、今後の更なる手法改善を述べたい。

【方法・結果】本手法の要点は様々な制限酵素種に対応できる、カスタムな配列を forked 構造にしたシーケンスアダプターを用いることにある。これにより安価に制限酵素種を広く選択でき、制限酵素認識サイト直後から高精度な配列を得られた。PCR 不要のためシーケンスの偏りも軽減でき、制限酵素選択によって、ゲノムサイズや多型頻度等、サンプル状況や研究目的に応じて、シーケンス密度を自在に変えられる大きな利点がある。

【参考文献】Nature Communications volume 9, Article number: 3843 (2018)

P13

マイクロアレイと次世代シーケンサーRNAseqの クオリティ検証と比較

広島大学 技術センター 森原 なぎさ

【目的】当施設で依頼測定を行っているマイクロアレイ(Thermo Fisher 社, GeneChip)と次世代シーケンサー(Illumina 社, HiSeq)の RNAseq について、どちらを使用すべきか相談を受けることがある。今回同じサンプルを測定した際の各機器のデータを比較し、当施設の条件で測定した場合の傾向を提案できるようにすることを目的とする。

【方法】同じ症例の患者から採取した 66 サンプル分のデータについて、各機器でのクオリティを解析し、そのうちランダムに抽出した患者について両機種間での結果を比較した。

【結果】各機器のデータクオリティに対して影響を与える要素とそうでないものが分かった。また今回のサンプルについてはマイクロアレイでは FoldChange(発現量が何倍差かという値)の幅が RNAseq より小さいが、発現量に差があった遺伝子数は多かった。

【考察】通常 RNAseq では検出遺伝子がマイクロアレイより多くなるが、今回の結果では発現差があった遺伝子数が少なかったこと、また PCRduplicate も想定より多かったことから、マイクロアレイと同等の結果を得るにはリード数をさらに多めにとる必要がある。

P14

ゲンジボタルの集団による明滅リズムの形成

徳島大学 技術支援部 辻 明典

【目的】ホタルの集団明滅は、神経細胞の周期発火や心筋細胞の拍動等の同期現象の一つとして知られている。本研究の目的は、ホタルの集団による明滅リズムの形成を詳細に調べることである。

【方法】自然のゲンジボタルが同時明滅する過程を超高感度カメラで記録し、その映像を画像処理してホタルの個体数の時間変化を時系列データとして抽出を行う。得られた時系列データに対して2種類の周波数解析を適用する。フーリエ変換により時系列データ全体の周波数特性を調べ、時間一周波数解析(スペクトログラム)により、集団の個体数の時間変化における周波数の遷移を調べる。

【結果】これまでの研究では、1分程度の短い時間スケールで、ゲンジボタル雌雄の組が同期発光する過程を詳細に調べてきた。本研究では、10分~20分程度の長い時間スケールでホタルの集団全体の明滅リズムの時間変化を計測した。計測結果に周波数解析を適用することによって、飛翔するホタルの各々の明滅周期にばらつきがあるものの、集団全体としては一定の規則正しい周期で明滅リズムが形成されることが明らかとなった。

コモンマーモセットを育てる ～授乳、離乳、そして元の社会への6ヶ月～

岡山大学 自然生命科学研究支援センター 橋本 春菜

コモンマーモセットの子育ては母親と父親がそれぞれ1匹ずつの仔を背負いながら行われる。そのためふつうは一度の出産で2匹しか育たない。しかし産仔が3匹のこともあり、その場合1匹は死亡してしまうことが多い。

2018年7月中旬、演者らの所属施設で飼育しているコモンマーモセットが3匹の仔を出産した。幸い発見が出産直後であったため、そのうちの1匹を初めて人工哺育することになった。文献を参考に生後2日齢から1日4回、交代で授乳を行い、生死を分ける下痢に何度も悩まされつつ11月にはようやく離乳を迎え、6カ月齢(2019年1月)となった「ポッケ」。次の課題は、演者らヒトに育てられた6か月から、元の社会にどのようにして帰してやるのかということだ。また「ポッケ」と同時期にシングルマザーのもとに産まれた3匹のうちの2匹、「ポッキー」と「プリッツ」にも人工哺育を試みたが、この2匹のきょうだいは残念ながら生後4日目に相次いで死亡した。6か月間の育児日記を通して、コモンマーモセットの人工哺育に初めて挑戦した経験と今後の課題について報告する。

母乳中免疫成分と子のアレルギー疾患発症との関連

静岡大学 技術部 阿部 紗織

【目的】母乳中免疫成分と新生児の免疫との関連を調査している先生がおられ、先行研究で新生児の免疫発達への関与が示唆されている母乳中A含有量と新生児のアトピー性皮膚炎(AD)発症との関連について多変量解析を用いて検討を行うことになった。

【方法】多変量解析を行う前に、母乳中A含有量と新生児のAD発症との関連を検討した先行研究が全くなかったため、まずは単変量解析を用いて両者の関連を明らかにする必要がある。t検定で検討したところ、関連は認められなかった。しかし、正規分布図を描いてみたところ、A含有量には外れ値が存在した。マウスとは異なり、ヒトは個人差が大きく出やすいため、外れ値を除外することはあまり好ましくない。そこで、外れ値の影響が少ない、Wilcoxonの符号付順位検定を採用した。

【結果】上記の解析法により、常乳中A含有量とAD発症の間に関連が認められた。

【考察】A含有量以外のADに影響を与えうる要因も含めた多変量解析では、帝王切開がAD発症に最も大きな影響を与えることが示された。帝王切開はADとの関連が明らかになっていないため、多変量解析の際に調整因子として加えるべきかどうか今後検討を行う。

ゲノム編集技術の効率化

生理学研究所 技術課 三寶 誠

【目的】CRISPR/Cas9 を用いた遺伝子組換えマウス作製法の効率化を目的として、(1)ゲノム編集ツール導入胚の凍結による、ゲノム編集効率への影響を確認する。(2)異なるゲノム編集ツールを2段階で導入(前核期受精卵、2細胞期胚で導入)することによる、出生率への影響、ゲノム編集効率の確認を行う。

【方法】(1)前核期受精卵へのゲノム編集ツール導入後、1) 一日培養した2細胞期胚を移植する、2) 一日培養した2細胞期胚を凍結融解後、移植し個体を得る。それぞれの方法で得られた個体を解析して、ゲノム編集効率を比較検討する。(2)前核期受精卵の前核にゲノム編集ツールを導入後、2細胞期胚の核に別のゲノム編集ツールを導入して、同一染色体上の2箇所同時にゲノム編集を行う。

【結果・考察】(1)ゲノム編集ツール導入凍結胚から得られた個体のゲノム編集効率は、凍結融解を介さない場合と比較して、ゲノム編集効率が低下することはなかった。(2)ゲノム編集ツールを2段階で導入することにより、1段階のみで導入した場合と比較して、出生率は低下した。ゲノム編集効率に関しては、現在解析中である。

ラットの生体モニタリング ～安楽死処置から確実な死に至るまで～

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】マウスやラットなど小動物の安楽死の際、呼吸停止やチアノーゼの発現などを目視で確認し、死亡と判断する場合が多い。しかし、それは確実な死亡確認といえるだろうか。死亡確認が不十分なまま死体として処理することは、予期せぬ場所での蘇生により動物自身に無用の苦痛を与えるのみならず、遺伝子組換え動物の逸走といった重大な事故を引き起こす可能性もある。そこで、安楽死処置から死に至るまでの生体モニタリングを行うことによって、確実な死亡確認の方法を模索しようとするのが本研究の目的である。

【方法・結果・考察】観血的血圧測定用のカニューレをラットの頸動脈に留置し、安楽死薬(ペントバルビタール、ペントバルビタール+メデトミジン)を投与した。投与後、心停止に至るまでの血圧、脈波、心電図、呼吸数及び血中酸素飽和度について測定した。測定データの記録と解析はPowerLabシステム(ADInstruments社)を用いて行った。個体差はあるが、目視では安楽死状態と判断される時点においても心臓の規則的な収縮が記録された。どの時点を安楽死と見なすか、その基準について見直していく必要があると考える。

P19

学内の研究者向け動物実験手技映像教材の制作

岡山大学 自然生命科学研究支援センター 石原 すみれ

動物実験手技の映像教材は、これまでも数多く制作されている。しかし、本学では、こうした教材が利用されている形跡が認められない。動物実験手技は、研究グループ毎に口伝的な形で受け継がれているというのが実態である。そこで、動物実験手技の標準化とともに、特に、初めて実験動物に触れる大学院生や留学生等に正しい動物実験手技を身に付けてもらうために映像教材の制作を行った。

教材には、マウス・ラット取り扱いの基本的な手技、各種薬物投与方法、安楽死の方法と還流固定の方法を収録した。更に飼育管理に関しては、本学の動物実験施設において取り扱いに注意してもらいたい項目とよく質問を受ける項目についても解説した。

本学では、動物実験の教育訓練を必須の座学による講義と希望者が有料で受講する実技講習会の二本立てとしている。この映像教材は、現在、実技講習に先立つ導入教材としても使用している。さらに、研究者や飼育管理担当者の予習・復習にも使えるようにネットワーク経由でいつでも見られるように全学公開する予定となっている。本発表では、この映像教材の内容とその活用方法について紹介する。

P20

国立遺伝学研究所 ゲノム変異マウス開発支援部門 紹介

国立遺伝学研究所 技術課 木曾 誠

【目的】次世代ゲノム時代においてマウスをモデルとした遺伝子機能解析実験の需要は高まっています。特に、近年、CRISPR/Cas9 法を用いた遺伝子編集技術が導入され、比較的簡単に遺伝子ノックアウトマウスの作製が可能になってきました。しかし、マウスの作製と維持には遺伝子組換え実験の認可がおりた動物実験施設と高度な動物作製技術が必要です。大学共同利用機関である国立遺伝学研究所では、ゲノム変異マウス開発支援部門が研究所内においてマウス研究の支援を行ってきました。この度トランスジェニックマウス及びノックアウトマウスの作製技術を生かし、大学等の公的研究機関からの依頼を共同研究として受け入れることになりましたので、紹介したいと思います。

【備考】まだまだ少人数の小さな組織です。しかし、小さな組織であるからこそ出来る他では頼めないような事柄にも数々対応しております。
現段階ではオープンに出来ないような事例をポスター発表では少しだけお見せします。

P21

FileMaker と iPad を用いた SPF 動物管理システム

生理学研究所 技術課 山口 登

【目的】所属する研究部門では、動物実験センターの SPF 管理区域において数百匹の遺伝子組換えマウスを飼育し、系統維持や実験への供給を行っている。計画的に安定した繁殖を行うためには、各個体の情報、交配の情報、仔の情報等の多くの情報を適切に管理し、その情報を管理区域内と共有しながら飼育作業を進める必要がある。しかし、管理区域内への物品等の持ち込みには制限があり、管理情報を共有することは容易ではなかった。そこで、実験室と管理区域との間で効率よく情報共有ができる管理システムを作成した。

【方法】情報管理ソフトにはデータベースソフト：FileMaker を用い、実験室のパソコン上に管理情報のデータベースを構築し、管理区域内には透明カバーに入れ、滅菌した iPad を設置した。FileMaker は、iPad との連携に強化されたソフトであり、専用アプリ：FileMaker GO を iPad にインストールすることで、データベースとネットワーク接続でき、管理情報の共有が可能となる。

【結果】FileMaker の優れた機能（スクリプト等）により、効率的な情報共有が可能となり、さらに離乳処理等の自動化や個体識別情報（耳パンチ等）の管理も可能となった。

P22

自然科学研究機構 動物実験施設の改修・増築工事に向けての準備について

生理学研究所 技術課 窪田 美津子， 廣江 猛

昭和 55 年に竣工した明大寺動物実験センター（動物棟 1）の老朽化に対応するため、改修及び増築工事を行うこととなった。従来は全ての動物が微生物学的品質レベルの低い CV 施設で飼育されていたが、改修・増築工事後は齧歯類とその他の大型動物とに動線を分離し、齧歯類は微生物学的品質レベルの高い SPF 施設で飼育する計画とした。

【閉鎖前】これまでに動物の移動、飼育ラック等の移転、大型機器類の廃棄が終了し、撤収がほぼ完了した。工事中の齧歯類の飼育は、動物棟 1 と渡り廊下でつながる動物棟 2 にスペースを確保した。まず、動物棟 1 において飼育ラック及び齧歯類入りケージの全てを梱包用のビニールシートで巻き付けて外側を噴霧消毒し、動物棟 2 に移動後にシートを外して飼育を再開した。【閉鎖後】大型オートクレーブ 2 台、自動ケージ洗浄機 1 台は解体廃棄した。中型オートクレーブ 1 台は再利用のため撤去後保管した。工事中のケージ洗浄は簡易型ブラシ洗浄機を購入して行う予定だが、購入前はインナーケージを代用した。

【現在】施設は閉鎖して基本設計が終了し、工事業者決定後に実施設計へ移行する。

P23

動物施設改修後の運営について

北海道大学 大学院 獣医学研究院 技術室 板 宗克

【目的】北海道大学獣医学研究院では、獣医学の教育や研究のために多数の実験動物を動物施設で管理している。昨年度（平成29年度）、動物施設の改修工事が完了した。本年度（平成30年度）、実際に動物を搬入し運営を行った。動物施設技術職員の役割は、準備から運営まで滞りなく進めることである。本発表の目的は改修後の施設運営について整理し、今後に活かすことである。また、施設改修される方にご参考頂ければ幸いである。

【方法】運用開始に伴う準備、運用開始後の問題点を時系列でまとめた。特に重要管理点として、空調温度管理システムが挙げられる。工事完了後の四季を通した1年間を監視することで、気温差による主な初期トラブルを洗い出し、トラブル対応を整理した。

【結果】動物施設運用開始に伴う必要事項が整理出来た。また想定外の問題点（追加工事、瑕疵補修など）を解決することにより、初期トラブルの傾向を掴むことが出来た。

【考察】動物施設ではシステムトラブルが、飼育動物の生死に直接関係する。加えて補修するにも衛生上の問題を考慮しなくてはならず、解決に困難を要する。初期トラブルを比較整理し、問題解決能力を養うことで、今後の動物施設運営に役立てたい。

P24

東京大学三崎臨海実験所で行っている 生物採集方法の事例紹介

東京大学大学院 理学系研究科 附属臨海実験所
幸塚 久典，川端 美千代，伊藤 那津子，関藤 守

東京大学大学院理学系研究科附属臨海実験所は1886年に我が国最初の臨海実験所として発足された施設である。現在、年間延べ人数は1万人以上の利用者があり、様々な海洋生物を使った研究や教育活動が実施されている。しかし、体が極端に脆いもの、底質に埋れ外観からは見えないもの、岩の割れ目に潜むものなど、生物によっては採集が困難な種も多数存在する。

我々、臨海実験所の技術職員は、研究や教育活動が円滑に進むよう、様々な海洋生物の採集・収集も重要な業務の一つである。これらの生物を如何に無傷で採集するか、効率的に採集できるのかを毎時考えながら業務を遂行している。本発表では当実験所で行っている海洋生物の採集事例について、工夫点や実際の採集の様子などについて報告する。

キャンパス内での里山植物観察講座 ～観察会を通じて考える自然環境保全～

広島大学 技術センター 塩路 恒生

広島大学総合博物館の企画として、2017 年、2018 年にキャンパス内の自然環境をフィールドとした里山植物観察講座を実施しました。この講座は全 4 回で、学内外の方を対象に季節の草本や樹木について見分け方や楽しみ方を学ぶ初心者向けの連続講座です。

広島大学東広島キャンパスには、日本有数の敷地面積の中に昔ながらの里山的な自然環境が残されており、多様な植物が生育しています。里山は本来、人が利用することにより維持されてきたものですから、キャンパス内で人が利用しなくなった里山環境を維持していくことは容易なことではありません。今回、連続講座を実施するに当たり、年間を通して植物の生育に順応した里山管理に取り組みました。キャンパス内において、本来の農業を目的とした里山ではなく、研究・教育を目指した里山環境を確立することが出来れば、生きた教材として非常に価値のあるものになるのではないかと考えます。今後は、多方面の専門家を交えて管理方法をさらに検討し、自然環境の効果的な保全活用について取り組んでいければと思います。

遺伝研の一般公開において見頃となる桜

国立遺伝学研究所 技術課 矢野 弘之

【目的】 遺伝研では毎年 4 月に一般公開が行われ、研究の展示や講演会と共に構内に咲く桜が多くの方に楽しまれている。当日は技術職員も案内、巡回などの業務を行なっている。その際、見頃を迎えた桜についての質問を受けたことがあったが、年によって見頃を迎えている桜の品種は異なり、十分な返答ができないことがあった。そこで、桜の品種ごとの開花状況を記録し、一般公開時期に見頃を迎える桜を把握することで、来所者への対応に役立てることにした。

【方法】 2014 年から 2018 年の 2 月から 4 月にかけて桜の開花状況を写真撮影して記録した。その写真より見頃（満開）時期を推測した。

【結果】

見頃時期を推測できた約 60 品種のうち、シンボルツリー的な山桜枝垂など約 20 品種が一般公開が行われる 4 月 1 日から 7 日ころに見頃を迎えていた。

【資料】

- ・「遺伝研のさくら」財団法人遺伝学普及会（2011 年）

富山大学薬学部附属薬用植物園の 施設紹介と地域貢献活動

富山大学 医薬系技術部（附属薬用植物園）
村上 芳哉，高尾 泰昌，辰尾 良秋

富山大学薬学部附属薬用植物園（以下当園）は、前身が富山薬学専門学校薬草園であり、1923年に設置された。その後何度か改組が行われ、2005年より現在の名称となる。現在の植物保有種数は約2000種である。当園に技術職員は3名所属し、その職務は、1) 保有植物と園の維持管理、2) 標本見本園の展示、3) 教育支援、4) 研究支援、5) 研究、6) 地域貢献の6つの活動に大別される。このうち、地域貢献活動に関しては、一般公開を開催し、園内の案内ツアーや様々なイベントを企画・実施している。また、公開講座を開講し、薬用植物を用いて取り木や挿し木等の植物の殖やし方の実習を行っている。さらに、県内外の団体に向けて薬用植物に関する講師も務めている。現在、新たな試みとして、精油（アロマ）を用いた公開講座を企画検討中である。また、精油は重要な薬効成分であるため、「香りの展示」も同様に検討中である。本発表では、全国的に数が少ない薬用植物園の施設紹介を行うとともに、地域貢献活動について主に紹介する。

野外観察園における業務支援室との園内作業の試み

名古屋大学 全学技術センター（共通）¹⁾，業務支援室²⁾
吉野 奈津子¹⁾，金子 千晴²⁾

【目的】名古屋大学には障害者雇用を推進する目的で設立された業務支援室があり、AED点検、清掃、図書整理等学内の様々な軽作業を請負っている。野外観察園でも軽作業の依頼をしているが、その仕事内容は業務支援室の通常業務とは異なる部分が多い。作業の紹介と、作業員が野外観察園でよりよく作業できるための方法を検討した。

【方法】野外観察園で行っている作業についてのアンケート調査を行い、他で請負っている作業との違い、作業員が快適に働くことができる作業環境について検討した。

【結果】同じ作業でも使用する道具の違いによって作業に好き嫌いが出ていることが分かった。野外観察園では植物が大きく、昆虫の発生が多いため注意を多く払わないといけない。これが他部局の同一作業よりも敬遠される要因であることも明らかになった。また単調でつまらないだろうと思われた作業が意外にも好評であった。こまめに作業に対しての感想を聞き、作業しやすい環境を提供することが長く野外観察園業務を続けてもらうための鍵と考えている。

P29

加速度センサを用いた運動能力向上システムの開発 ～データ収集・分析手法の検討～

浜松医科大学 技術部 村松 歩

【目的】本研究は、歩行場所の違いのデータをスマートフォンの加速度センサで収集し、そのデータを用いて認識可能か検討を行った。

【方法】実験は、被験者のズボンの右ポケットにスマートフォンを入れ、歩行時と階段昇降時の2パターンとした。データ収集には、スマートフォンアプリ「加速度ロガー」を利用し、サンプリング周波数 10Hz にて測定を行った。データ解析には matlab にて独自に開発したプログラムを用い、解析ポイントは 40point とし、実験開始後 4 秒間におけるパワースペクトル値を高速フーリエ変換にて求めた。

【結果】パワースペクトルのピーク値は、歩行時には 3Hz 前後を示し、階段昇降時には 1.5Hz 前後を示した。

【考察】身近なデバイスを用いることで、歩行状態を認識することが出来る可能性が示唆された。

P30

生物情報解析システム Ver. 5 の導入

基礎生物学研究所 技術課 西出 浩世

【目的】生物情報解析システムは、1999 年に基礎生物学研究所における情報解析を支える基盤設備として導入され、主に所内プロジェクトにおけるデータ解析やデータベース構築などで成果を上げてきた。2013 年に導入された Ver. 4 のレンタル期間満了に伴い、新システムへのリプレイスを行ったので報告する。

【方法】一年以上前より仕様策定委員会を設置し、導入方針を検討した。全体の構成は、1. 共有メモリ型計算サーバ、2. 分散処理計算機クラスター、3. 大容量ストレージ の 3 本柱から成り、前バージョンから大きく変更はしないものとした。Ver. 4 では 4 年だったレンタル期間を、システム全体のボリュームを上げるために 5 年とした。毎回リプレイス前にはストレージ残量が逼迫することを鑑み、ストレージ容量増大に力を入れた。旧ストレージからのデータ移設には、移設専用のサーバを 4 台設置して約 300TB 分のコピーを約 10 日で行った。

【結果】2018 年 6 月より運用を開始している。利用者説明会の開催や、運用面での変更点等についてポスターで紹介する。

P31

静的サイトジェネレーターHugo を活用した データベース型サイトの再構築

生理学研究所 技術課 村田 安永

【目的】2016 年度より生理学実験技術データベース (<http://www.nips.ac.jp/tech/ipr/>) の維持・管理を前任者より引き継いだが、古い HTML 規格で作成されていたので作り直すことにした。当初は WordPress を活用する計画を立て、その稼働基盤となる CentOS7 等の学習も進めてきたが、最新のウェブブラウザでの閲覧に不具合が生じていることが判明したので、静的サイトジェネレーターを使ってサイトの再構築を早めることにした。

【方法・結果】静的サイトジェネレーターは Hugo を採用した。ページ生成速度が極めて速く、インストールが簡単であったのが主な理由である。(1) リストページの自動生成、(2) パンくずリストの自動追加、(3) メニューボタンの状態を可視化する class 属性の自動追加、(4) データ件数等の自動集計、(5) 所内限定情報を追加した Staff Only ページの生成、等を Hugo で実現し、2018 年 12 月にサイトの再構築を完了した。

【考察】Hugo による運用コストは WordPress より圧倒的に低く、学習コストも低かったので、他のサイト構築にも活用していきたい。

P32

モジュール構造を取り入れた心理学実験装置の開発

生理学研究所 技術課 伊藤 嘉邦

研究室や fMRI 実験で使用する心理学実験装置の開発にモジュール構造を取り入れることで、開発期間の短縮や研究者の実験技術の向上に役立つことができた。

(用語の説明：Wiki より抜粋)

- ・モジュールとは、装置やシステムを構成するまとまりのある機能を持った部品のこと
- ・入出力を標準化することで、システム開発を「モジュールの組み合わせ」で行える
- ・代表的なのは PC の製作で、規格に合った部品を集め、組み立てれば動作する。

その他にも、装置をモジュール化することで、高機能な実験装置開発への応用や、スクラップ&ビルドにより実験装置を安価に製作できる等の、長所が考えられる。

P33

アルミフレームを用いた実験動物用チェアの製作

生理学研究所 技術課 佐藤 茂基

【目的】研究室では実験動物の神経活動を電気信号として記録することにより、脳、特に大脳基底核の機能と病態に関する研究を行っている。そのため、実験動物を実験用チェアに座らせ脳図譜に基づいて任意の部位に脳定位的に電極を設置する必要がある。今回、外部の研究機関で大脳基底核から神経活動を記録することになった。その為に実験セットを用意する事になり、可搬可能な実験動物用チェアを製作したので報告する。

【方法】比較的容易に分解・組み立てが可能で軽量であること、また実験動物の動きに耐える剛性が必要なことから、アルミフレームを用いて実験動物用チェアの基本構造にした。塩化ビニール板で実験動物を前後左右から可動式で囲えるようにし、実験動物の体格に合わせる構造とした。

【結果】神経活動を記録することにより大脳基底核の上肢領域を同定することができ目的を達成することが出来た。アルミフレームで作ることにより、実験動物の大きさが異なっても自在に合わせて実験することが可能であった。

P34

電気回路工作関連の業務依頼について

神戸大学 工学研究科 電気電子工学専攻 松本 香

【内容】神戸大学工学研究科技術室では、業務依頼制を実施している。本発表では、電気回路工作関連で依頼された業務依頼の内容について報告する。今回は短期業務として依頼を受けた2つの業務依頼について報告する。1つ目は、はんだ付けについての業務依頼について、2つ目はプリント基板の作成についての業務依頼についてである。

【結果】特に電気電子以外の学科では、はんだ付けをできない学生や教員も多く、はんだ付けの依頼される機会がある。簡単なものから、細かい作業のものまで修理を行った。

基板加工について、回路基板を製作する際には、基板のデータをCADで製作する必要がある。データ作成の注意点を指導し、5種類の回路基板の加工を行った。

【まとめ】はんだ付けは様々な測定装置等の内部で使用されている。経験者には簡単な作業でも、業者に修理を依頼すると多大なコストと時間がかかるため、電気系の技術職員としてはんだ付けの依頼が受けられることは必須であると考えた。

基板加工について、基板加工機を持っていない研究室が多い。回路工作では、プリント回路基板の加工機を使用する際に、サポートできることは大事であると感じた。

レーザー加工機 (JV440) での加工例

生理学研究所 技術課 佐治 俊幸

昨年、小型レーザー加工機を導入した。このレーザー加工機は、出力 50W の炭酸ガスレーザー加工機であり、40cm 四方の厚さ 10mm までのアクリル樹脂板が加工できる。二次元 C A D で作図したデータで加工が可能であるため、二次元 C A D で描ける形状であれば、どのような切断でも可能である。加工可能素材としては、アクリル樹脂以外に、P E T 樹脂、スチロール樹脂、P O M、シリコンゴム、紙等が使用できる。パワーが弱いため、金属の加工は行えず、塩化ビニール樹脂は、加工時に塩素が発生し、加工機に錆が発生するために使用できない。また、A B S 樹脂やポリカーボネイト樹脂は、素材が焦げるために切断面が黒く炭化する。

導入より 1 年が経過し、数多くの依頼加工に使用できた。加工時に、0.2mm 程度の加工誤差が発生するが、この誤差を許容するのであれば、有用な加工機と言える。また、レーザー加工機を導入したことにより、以前とは異なる加工方法を取ることが出来るようになり、迅速に依頼加工を処理できるようになった。そこで、一年間に依頼制作を行った加工例の一部を紹介する。

マイクロフォーカス X 線 CT 装置による Multi-step Scan 法の有効性

国立遺伝学研究所 技術課 前野 哲輝

【目的】マイクロフォーカス X 線 CT 装置（以下マイクロ CT）の撮影視野の広さは検出器の仕様により制限される。この問題を解決する 1 つの方法として、標本を部位ごとに複数回に分けて撮影し最終的に結合する Multi-step Scan（以下 MS）法がある。これにより小さな検出器でも広い範囲の撮影が可能となり当研究所でも欠かせない撮影手法となっている。そこで装置のさらなる有効活用を目指し、過去 2 年間に MS 法で取得したデータを改めて見直し、その有効性や問題点を検討した。【方法】ホルマリン等で固定した標本（マウス成体および胎児、無脊椎動物）を軟組織染色し、マイクロ CT（ScanXmate-E090S105：コムスキャンテクノ社）で MS を実施、段差の有無や判別可能な臓器を検討した。【結果】標本全体を視野に入れつつ臓器の判別も十分可能な高解像度データを取得することができた。しかしながら、小さな標本を高い拡大率で撮影した場合に解像度不足や、データ結合部の段差なども認められ、本装置の限界も把握することができた。【考察】今回、明らかになった装置の特徴をうまく活かしながら、今後の研究支援に役立てていきたいと考えている。

3D プリンタ出力サービスの紹介

分子科学研究所 技術課 水谷 文保

【目的】複雑な 3 次元構造物の製作が可能である 3D プリンタを活用し、「模型出力」「依頼出力」などのサービスを開始した。特に前者に力点を置き、技術開発を行った。

【方法】現在常時稼働状態な機器は 3 種 7 台である。FDM 法が 5 台、バインダージェッティング(以下 BJ と略す)法が 1 台、光造形法が 1 台である。FDM 法では 2 head の機器があり、水溶性フィラメントをサポートに用いた出力条件を確立し、タンパク質のリボンモデル出力後の作業時間が短縮できた。BJ 法では作製物の重量が問題であったが、中空化することで問題を克服し、同時にコスト削減も実現した。また複数種の 3D プリンタを有する特長を生かし、複数素材を組み合わせた模型作成も行った。抗体(IgG)では、サーフェスモデルを基本に、ヒンジ部を稼働させたい、という要望を実現させるため、ヒンジ部以外は BJ 法で出力し、ヒンジ部は FDM 法のゴムライクフィラメントで出力した。GFP では、全体を光造形法で出力し、発光団を FDM 法のルミシスフィラメントで出力した。

【結果】依頼者の要望に応えると同時に、コスト削減や作業効率の向上が行えた。

【考察】3D プリンタ出力後の仕上げ処理に時間が必要な点を改善したい。

医工連携事業から超音波発生機器を 医療現場に導入させる

富山大学 医薬系技術部（病理診断学） 八田 秀樹

【概要】病理組織標本作成における各工程での超音波応用については、その有効性の報告が散見される。しかしながら、固定・脱脂・脱灰の工程に超音波を併用した迅速処理装置の商品開発も見受けられるが、普及には至っていない。組織標本がとりわけ繊細で脆弱なために、超音波処理中の組織への損傷や処理ムラが避けられないことがその理由である。また、染色工程に使用できる超音波関連商品の開発は皆無となっている。

今回、医工連携事業（平成 29 年度産学官連携推進事業：（公）富山県新世紀産業機構）の助成を受けた共同研究において、最も繊細で脆弱な特異抗体（タンパク試薬）を用いた免疫染色への応用を可能にする、至適超音波照射条件と染色プロトコールを見出したので報告する。また追加検証として、実用性が高く安価な振動子（検証では 50mm×25mm サイズを使用）を試作して、さらに今回得られた至適照射条件にマッチした独自のリング発振回路を設計・策定して、安価な専用超音波発生機器の商品開発の可能性についても触れる。

マグネットに植物の種子をデコレーション

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】薬用植物園で採種した種子を使い，子どもや大人に楽しく工作をしてもらう。

【方法】およそ1万平方メートルある薬用植物園には約800種類の植物を栽培している。その中からユニークな形状の種子を，1年前より採種や乾燥等をして10種類準備した。マグネットは，いろいろな形状や大きさのものを試験製作してコスト等に見合うものを選んだ。工作過程ではスタッフがマグネットに接着剤を付けてから，子どもたちが種子にデコレーションをしてもらうスタイルにした。

【結果】種子を使った工作は，子どもだけでなく引率者の大人にも大好評で，準備していたマグネットが不足する事態となり追加購入して対応した。

【考察】今回275人の体験者があり，引率者がいない児童が接着剤を手につけるトラブルが発生した。準備していた濡れティッシュで女性スタッフが対応したが，お湯等の準備や，より扱いやすい接着方法を検討する必要があると感じた。

東北大学総合技術部情報ネットワーク職群研修の開催 4

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、4年目の研修開催が決まる。そこで、昨年の「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」報告時に頂戴した意見・指摘等を取り入れた初の応用編としての研修を企画した。前回よりも参加人数を制限し、複数講師で担当する体制としたが、動画制作に関わる内容・作業を一貫して行えるような講義・実技研修とし、一日のスケジュール内に実現可能な範囲で詰め込むことを試みた。

【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てみたが、リピーターの参加が多く見られた。フィールドワークや技術的な内容を数多く取り入れた一方で、企画・構成台本の作成なども扱った。「難易度は高かったが、動画制作に関して最後まで取り組めたことが大変勉強になった」という意見も見られる。

広報・知財管理グループとしての研修は、今回で終了と考えているが、今後も同様の研修内容での開催も期待されたので、広報部会と相談し、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できるように取り組んでいければと思う。

P41

プレーイングマネージャーとして、 生物系技術職員のキャリアを考える

国立遺伝学研究所 技術課 古海 弘康

【目的】 ちょうど 10 年前の第 20 回生物学技術研究会において、「技官のキャリアを考える」というテーマで発表した。当時に比べ、キャリアについて考えることの社会的要請も強まり、自身の職責（課長）上においても新たな視点で再考することが切実となってきた。今回、技術職員の役割（キャリアのコア）モデルを提案し、生物系技術職員のキャリアについてみなさまと一緒に考える機会を持ちたい。

【方法】 3 点に分けて論じたい。①社会的要請：技術職員の「やりがい」とは？②マネージャー（課長）として：技術職員の「存在価値」とは？③プレーヤー（遺伝学技術者）として：技術職員の「役割」とは？

【結果】技術職員の「役割」とは、[技術＝臨床「知」を科学知識につなげること]であり、3 つの実践課題として、「研究ニーズの把握」、「臨床力の向上」、「事例報告」を提案する。

【参考文献】・古海弘康（2009）「技官（Gi-Kwan）」のキャリアを考える．生物学技術研究会報告 第 20 号：178-179

P42

タンパク質の分離における遠心機と桐山ロートの比較

同志社大学 生命医科学部 医情報学科 太田 太恵子

【目的】卵白からタンパク質を抽出し、SDS-PAGE で分析同定する学生実験を行っている。硫酸分画によってタンパク質を抽出する過程で、現在は、最終飽和度 40%は遠心分離、70%は桐山ロートによるろ取という二つの手法を用いて抽出している。実験構築の参考書では、すべて遠心分離機を使用するとの記載があったので、桐山ロートによるろ取は、明瞭に分かれないのではないかと推測していた。確認実験が出来ていなかったので今回行った。

【方法】卵白からタンパク質を抽出する際、最終飽和度 40%と 70%を分取する方法として、すべて、遠心分離機を使用したサンプルと全て桐山ロートによりろ取したサンプル、双方を用いたサンプルの SDS-PAGE を行い、比較検討した。

【結果】遠心分離も桐山ロートによるろ取も 40%と 70%の差の明瞭さはあまり変わらなかった。桐山ロートを用いたろ取も学生実験においては、有効な方法であった。

【考察】結果の差が明瞭でない原因は、硫酸の加え方や、温度管理などに起因している可能性もあるので、そちらも検討してみたい。

P43

東京大学理学部生物学科 3 年向け学生実習での取り組み ～マイクロピペットから電子顕微鏡まで～

東京大学 理学部 生物学科 渡辺 綾子

発表者は理学部生物学科 3 年生（定員 25 名）の必修科目「生物科学共通実習」において、3 つの実習を担当している。これらの実習には 8 年前に開始した新カリキュラム立ち上げ当初から携わっており、実習内容の考案、準備、当日の指導を自ら行っている。

- ① 基本操作実習：生物学科に進学して間もない 4 月に行う最初の実験実習。マクロピペット、pH メーター、電子天秤、オートクレーブなどの使い方を学ぶ。
- ② 大腸菌実習：分子生物学の基礎として、大腸菌を用いた遺伝子組換えの手法を学ぶ。コンピテントセルの作製、DNA 断片の ligation、プラスミドの形質転換、大腸菌からのプラスミド DNA の精製、制限酵素処理、電気泳動といった一連の作業を行う。
- ③ 走査型電子顕微鏡（SEM）実習：虫媒花（植物）と訪花昆虫（動物）の体の構造を SEM で観察し、花粉や蜜を介した関係性について考察する。

本発表ではその実習内容を紹介するとともに、これらの実習を担当するにあたって工夫している点や抱えている問題点を提示したい。

P44

1 年次生物学実習におけるスケッチの指導方法の紹介 ー浜松医科大学医学科ー

浜松医科大学 医学部 総合人間科学講座 外山 美奈

私は医学科 1 年次の必修科目である生物学実習に指導スタッフとして携わっている。生物学実習では、カエルの解剖、顕微鏡観察（細胞、生理、発生）、タンパク質精製法、ダンゴムシの交互転向反応、等の様々な実習課題を通し、学生の観察眼を養うこと、科学的に記載する能力を養うこと、等に力を入れた教育を行っている。本実習では提出物としてレポートよりもスケッチを多く課している。生物学実習でスケッチを重要視する理由は、スケッチの過程を通じて、観察した対象から抽出した科学的情報を紙の上に表現する能力を養うだけでなく、それまで漫然と見逃していた生物の特徴の発見にも繋がり、高い教育的効果が期待できるからである。しかし、学生の中にはスケッチが苦手な者も多い。例年は、実習の中盤に、スケッチが苦手な者に対してスケッチ指導を行い、また最終的な成績不良者に対するスケッチ指導を行っていたが、本年度はこれらに加え、最初のガイダンス時に全員に対してのスケッチ指導を行ったところ、大幅な改善が見られたので報告する。

P45

遺伝研技術課における衛生管理業務への取り組み

国立遺伝学研究所 技術課 大石 あかね，矢野 弘之，坂 季美子
坂本 佐知子，谷田 勝教，古海 弘康

当研究所では、2015 年に技術課の制度改革が行われ業務内容が見直された。それ以降、技術職員は配属先の業務に加えて、研究所全体に貢献する業務にも関わることとなった。

以前から行っていた衛生管理者としての仕事や作業環境測定のほか、特化則・有機則の一部適用除外申請、薬品管理システム及び研究用微生物管理なども担当しているので、これらの衛生管理業務への取り組みを紹介する。

また、今年度より衛生管理関係の各業務間で、情報を共有し連携を図るためのグループ活動が始まった。定期的にミーティングを行っているほか、遺伝研で今年度から実施することになった化学物質のリスクアセスメントにも携わったので報告する。

衛生管理は近年重要視されるようになり業務負担は増えているが、これらをはじめとする研究所全体に関わる業務への取り組みは、技術課の認知度を上げるのに役立ち、事務職員や教員との協力関係ができたというよい点もあった。

P46

解剖実習室(実習中)における大量のカビの発生とその対策

浜松医科大学 器官組織解剖学講座¹⁾ 技術部²⁾ 学部学生³⁾
佐々木 健^{1,2)}，平田 紗也³⁾，山本 麻綺³⁾，大山 晃生³⁾，中村 将人³⁾，佐藤 康二¹⁾

【背景】医・歯学部における解剖実習室でのカビ発生は当事者間ではよく知られており、特に実習期間中のカビ発生は大きな問題となっている。浜松医科大学は 2016 年度まで 2 年生時の解剖実習が 10～12 月でありカビ発生は殆ど無かったが、2017 年度のカリキュラム変更で 4～7 月になったため、初年度の実習中に大量のカビが発生し実習に支障が出るほどであった。このため 2018 年度はカビの発生を抑える様々な工夫をし、一定の効果が得られたので報告する。

【方法・結果】他大学の技術職員との情報交換(解剖組織技術研究会)を参考に、1)実習室の温度管理、2)7月期の実習回数減、3)防カビ液にアジ化ナトリウムやデヒドロ酢酸ナトリウムを添加、4)カビを発見した時点での隔離やアルコールによる殺菌というような対応を取った。この結果、カビの発生は実習後半の数日間に抑えられ、発生件数も数件と激減した。しかしながら、2018 年 6 月～7 月前半は比較的低温であったことや複数の対処を同時に行ったことから、カビ抑制に何が奏効したかは不明となってしまった。

P47

記録的猛暑の 2018 年夏、衛生管理者はどう動いたか ～動物実験施設での熱中症対策の取り組み～

岡山大学 自然生命科学研究支援センター 矢田 範夫

昨夏の「殺人的」猛暑は記憶に新しい。動物実験施設は実験動物の適正な飼養保管のためにひとまず空調が作動する環境下であり、熱中症の心配とは無縁と思われがちである。だが高圧蒸気を用いたケージ洗浄や滅菌作業の現場は非常に過酷な状況に置かれていた。

ところで岡山大学では 2015 年より、全学的に衛生管理者を養成するための講習会の開催や受験費用の負担などに力を入れてきた。そしてこれにより大学全体で 84 名、演者の所属職場でも 6 名の衛生管理者が新たに誕生した。ところが資格は取得させてもらったものの、それを日常業務の中で十分に生かすことができているとは到底言えないのが現状であった。

演者ら 6 名の衛生管理者は、昨夏の記録的猛暑の中で経口補水液や塩タブレットすら「飲料水」「食品」として購入に複雑な手続きを要する現実と、その中での洗浄・滅菌業務担当の職員の訴えを受けて、熱中症対策の取り組みの必要性を衛生管理者として大学全体に問題提起した。そしてこれを通じて全学的に衛生管理者を養成し配置することの意味を、日常の実践の中から示すことができた。これら一連の経過と今後の展望について報告する。

P48

代替キシレンに伴う組織標本作製時の 作業工程と作業環境の整備（まとめ）

北里大学 医学部形態系 中丸 尚美，梅澤 敦子，安井 美江

【目的】北里大学医学部形態系では代替キシレンを各研究室の環境やニーズに合わせて利用している。広範囲な特殊染色にも対応可能であるかを探り、安定して適した作業工程を確立する。また奨励研究の採択を受け、溶剤の交換時期や臭気対策を中心とした安全な作業環境を整備するとともに代替キシレンはキシレンと比べ高価で経費負担増となることから再生・再利用も併せて検討し、コスト削減・廃液の減量を目指していることを報告する。

【方法】組織染色についてはさらに染色種類を増やし比較検討。リサイクルシステム機器（プロサイクラープラス 9700 型）によって代替キシレンのみならず使用済みアルコールについても再生処理を試みた。

【結果・考察】染色は一部長期保存で退色を経験したが、ほぼ問題なく対応可能であった。再生回収率は各種代替キシレンが 60～80%、アルコールは 90%以上で、密閉式自動固定包埋装置にて再利用している。最適な再生条件の確立のため回収時より細かな分類に努め、再利用についてはさらに広く模索したい。

酢酸ウラン廃棄物の取扱について

東北大学 農学研究科・農学部 技術部（電子顕微鏡室）
伊東 久美子，三浦 利彦，成田 寛幸

透過電子顕微鏡観察に使用される酢酸ウランは核燃料物質であるがために、廃棄物は全て使用施設で永久保管しなければならない。しかし、どのように保管することが正しいのか、細部についての明確な規定がなく、非常に苦労している。

当電子顕微鏡室では、保管スペースが厳しい状態であること、代替染色剤が登場してきたことなどから、平成 23 年度から酢酸ウランの使用は停止している。しかし、近年ナノオーダーの観察を希望される東北大学の研究者から「酢酸ウランを使用したい」との声が出始め、使用再開に向けて検討を始めたところである。

厳しくなる一方の K 施設での核燃料物質の管理体制を法律に矛盾することのない範囲で、より使用しやすく、かつ管理しやすいものにするため、全国の計量管理担当者（責任者）が情報交換できる場を設けたいと考えている。

実験で生じる有害な廃棄物の処分委託のための情報提供

基礎生物学研究所 技術課 松田 淑美

【目的】基生研・廃棄物処理室では、基生研及び生理研の実験で生じる有害な廃棄物を、年に一度回収して産廃業者に処分委託している。今年度、産廃業者に提供する廃棄物の情報を環境省が配布している「廃棄物情報の提供に関するガイドライン(WDS ガイドライン)」に沿った内容にするため、回収に際して研究所内で行う廃棄物の調査方法を変更した。

【方法】WDS ガイドラインで廃棄処分委託に必要な情報を確認し、産廃業者とすり合わせを行った。これに基づいて各研究室に配付する廃棄物の調査の内容を変更し、集計した情報を産廃業者に提供した。

【結果】WDS ガイドラインに基づいた情報提供を行い、処分委託することができた。なお、情報提供の際、廃棄物の種類が当初想定していた廃棄物処理法の種類以外にもあることがわかり、廃棄物処理室で訂正後、最終的に産廃業者に確認を依頼した。

【考察】今後は、産廃業者から廃棄物の種類に関する詳細な情報を得て、委託する側である廃棄物処理室から適切な分類を提示できるようにしたい。

☆☆☆☆☆☆☆☆ 編 集 ☆☆☆☆☆☆☆☆

発行日：2019年2月4日

●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，高木 正浩，山田 元，高橋 直樹，
窪田 美津子，山口 登

●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，
野口 裕司，中村 貴宣，水口 洋子