

合同開催

第31回 生理学技術研究会  
第20回 生物学技術研究会

予稿集

日時：平成21年 2月19日(木)、20日(金)

会場：岡崎コンファレンスセンター

大学共同利用機関法人 自然科学研究機構

生理学研究所 技術課

基礎生物学研究所 技術課



# 第31回 生理学技術研究会

(同時開催：第5回 奨励研究採択課題技術シンポジウム)

# 第20回 生物学技術研究会

会期：平成21年2月19日(木)～20日(金)

会場：自然科学研究機構 岡崎コンファレンスセンター

主催：生理学研究所 技術課

〒444-8585 愛知県岡崎市明大寺町字西郷中38

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

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

基礎生物学研究所 技術課

〒444-8585 愛知県岡崎市明大寺町字西郷中38

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

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

## プログラム

### 2月19日(木) (1階 大会議室)

13:30	～	13:50	挨拶、事務連絡
13:50	～	14:50	研修講演(L1:自然科学研究機構 生理学研究所 生体膜研究部門 深田 正紀)
14:50	～	15:10	休憩・記念撮影
15:10	～	16:20	ポスター発表グループⅠ [P1、P3、P5、・・・:奇数番号]
16:20	～	17:30	ポスター発表グループⅡ [P2、P4、P6、・・・:偶数番号]
17:30	～	17:50	自由討論
18:00	～	20:00	懇親会(1階 中会議室)

### 2月20日(金) (1階 大会議室、1階 中会議室)

#### (口演会場1 1階 中会議室)

8:50	～	9:00	挨拶、事務連絡
9:00	～	10:20	口演発表(A1～4)
10:20	～	10:40	休憩
10:40	～	11:20	口演発表(A5～6)
11:20	～	12:00	話題提供(T1)
12:00	～	13:00	昼食(1階 中会議室)
13:00	～	14:20	口演発表(A7～10)
14:20	～	14:30	まとめ
14:30	～	14:45	休憩

#### (口演会場2 1階 大会議室)

8:50	～	9:00	挨拶、事務連絡
9:00	～	10:20	奨励研究採択課題技術シンポジウム(S1～4)
10:20	～	10:40	休憩
10:40	～	12:00	奨励研究採択課題技術シンポジウム(S5～8)
12:00	～	13:00	昼食(1階 中会議室)
13:00	～	14:20	奨励研究採択課題技術シンポジウム(S9～12)
14:20	～	14:30	まとめ
14:30	～	14:45	休憩

#### (1階 大会議室)

14:45	～	15:45	特別講演(SP1:自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 大庭 明生)
15:45	～	16:00	研究会のまとめ

# 目次

プログラム	1
参加者へのお願い	6
発表者へのお願い	7
研究会会場周辺地図	8
岡崎コンファレンスセンター案内図	9

## 研修講演（1階 大会議室）

- (L1) 細胞内の情報伝達メカニズムの解明へ向けて 生細胞イメージングとプロテオミクスを用いた解析  
深田 正紀（自然科学研究機構 生理学研究所 生体膜研究部門） 1 2

## 特別講演（1階 大会議室）

- (SP1) 大学共同利用機関・技術課はどこへ向かうのか  
大庭 明生（自然科学研究機構 生理学研究所 技術課） 1 4

## 第5回 奨励研究採択課題技術シンポジウム（1階 大会議室）

- (S1) リポソームの電子顕微鏡を用いたウラン染色に代わる染色条件の検討  
愛媛大学 総合科学研究支援センター 生物機能解析分野 首藤 政親 1 6
- (S2) 皮膚知覚特性を重視した情報通信機器の入力環境に関する基礎的検討  
東北大学 工学部・工学研究科 菊池 裕人 1 7
- (S3) 病理分野におけるマクロ写真を利用した3DCGの作製における基礎的検討  
東京大学 附属病院 病理部 金子 伸行 1 8
- (S4) トランスジェニックカタユウレイボヤ作製技術の導入と完全閉鎖系水槽飼育  
名古屋大学 理学研究科附属臨海実験所 福岡 雅史 1 9
- (S5) 非放射性（non-RI）試薬による糖・脂質代謝測定法の開発  
自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 斉藤 久美子 2 0
- (S6) ヒト培養細胞への遺伝子導入・発現阻害によるフィブリノゲン生成・分泌に及ぼす影響  
浜松医科大学 医学部附属病院 検査部 澤村 暢 2 1
- (S7) 動物実験施設内から分離した緑膿菌のDNA多型の検出と薬剤感受性についての検討  
熊本大学 生命資源研究・支援センター 病態遺伝分野 中村 直子 2 2
- (S8) 中枢機能に対する音楽の効果  
筑波大学 医学系技術室 秋山 佳代 2 3
- (S9) 生体表面の移動マーカ追跡システムの開発  
徳島大学 ソシオテクノサイエンス研究部 石田 富士雄 2 4
- (S10) 微弱電波の無線LANブリッジを利用した自動避難経路誘導システム  
岩手大学 総務企画部情報企画課 栗田 宏明 2 5
- (S11) レーザの保護メガネ —自然科学研究機構技術連携—  
核融合科学研究所 山内 健治、分子科学研究所 鈴木 光一、国立天文台 川島 進 2 6  
生理学研究所 大庭 明生、吉友 美樹、基礎生物学研究所 古川 和彦
- (S12) ホームケージ用摂水摂餌量連続計測装置の開発  
自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 佐治 俊幸 2 7

## 口演発表（1階 中会議室）

- (A1) 学生実験における酵母の孢子形成条件の検討  
筑波大学 生命環境科学等技術室 応用生物化学系 木澤 祥恵 3 0
- (A2) イムノブロッティングを用いたタンパク質の特異的検出  
自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 壁谷 幸子 3 1
- (A3) 学生実験を活用したタンパク質2次元マップの作成  
九州工業大学 情報工学部 楠本 朋一郎 3 2
- (A4) Peptide mass fingerprint 用サンプルの保存条件の検討  
自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 水谷 健 3 3
- (A5) MALDI-TOF MS で用いるマトリックスの選択等測定方法について  
奈良先端科学技術大学院大学 研究協力課 塚本 潤子 3 4
- (A6) LC/Q-TOF MS を用いた微量タンパク質の同定  
自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 森 友子 3 5
- (A7) 免疫組織化学および蛍光観察におけるピットホール  
高知大学 教育研究部 医療学系 医学部門 林 芳弘 3 6
- (A8) 小規模ミルクプラントでの Koch 法とスタンプ法による製造環境の微生物検査  
帯広畜産大学 畜産フィールド科学センター 村上 文朗 3 7
- (A9) 野生霊長類の薬用利用植物に関する化学的研究：*Trema orientalis* の抗寄生虫成分を例に  
京都大学 農学研究科 山口 加乃子 3 8
- (A10) 次世代DNA シークエンサーの運用における様々な問題点と解決に向けた試み  
自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 山口 勝司 3 9

## 話題提供（1階 中会議室）

- (T1) ライトシート型顕微鏡「DSLIM」による三次元ライブイメージング  
自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 小林 弘子 4 2

## ポスター発表（1階 大会議室、エントランスホール）

- (P1) fMRI 用刺激装置の製作・改造  
自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 伊藤 嘉邦 4 4
- (P2) Window Discriminator の製作  
自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 戸川 森雄 4 4
- (P3) MRI 計測用樹脂製マウス頭部固定装置の製作  
自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 小原 正裕 4 5
- (P4) LED を用いた小型蛍光光度計の開発  
徳島大学大学院 ヘルスバイオサイエンス研究部 先端医研 庄野 正行 4 5  
ソシオテクノサイエンス研究部 知能情報工学科 石田 富士雄
- (P5) AVR を用いたアンプチェッカー回路の製作  
自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 佐藤 茂基 4 6
- (P6) 実演用視覚刺激システムの開発  
自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 竹島 康行 4 6
- (P7) 液体ヘリウム急速凍結試料作製時の工夫  
岩手医科大学 共同研究部門 バイオイメージングセンター 花坂 智人 4 7
- (P8) 透過型電子顕微鏡用細線位相板による位相差観測  
自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 大河原 浩 4 7
- (P9) 電子顕微鏡観察の魅力発信の試み  
東北大学大学院 農学研究科 電子顕微鏡室 伊東 久美子 4 8
- (P10) バクテリオファージの TEM 観察  
東京工業大学 技術部 バイオ技術センター 山道 桂子 4 8
- (P11) Chamber と灌流システムの開発  
自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 高橋 直樹 4 9
- (P12) 超音波発生機器による迅速免疫染色装置の開発  
富山大学 医薬系技術部 病理診断学講座 八田 秀樹 4 9
- (P13) マウスの脳脊髄液の採取および脳室への急性投与実験  
自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 山本 友美 5 0
- (P14) DAB を用いたチトクローム c オキシダーゼ (CO) とバイオサイチンの二重染色  
自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 石原 博美 5 0
- (P15) GAD67-GFP ノックインマウスを用いた脊髄後角膠様質 GABA ニューロンの形態学的解析  
九州大学医学部 統合生理学分野 水口 洋子 5 1
- (P16) 逆行性トレーサーと ISH による三重蛍光染色法の検討  
自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 大澤 園子 5 1
- (P17) ショウジョウバエ神経回路形成において軸索の標的認識およびシナプス形成に関わる遺伝子の探索と機能解析  
国立遺伝学研究所 技術課 谷口 美佐子 5 2
- (P18) CT Scan による組織中微小石灰撮影と CT Scan が RT-PCR に及ぼす影響についての検討  
島根大学 <sup>1</sup>医学部 循環器・呼吸器外科、<sup>2</sup>医学部 解剖学講座 発生生物学  
<sup>3</sup>総合科学研究支援センター 生体情報 RI 実験分野、<sup>4</sup>医学部附属病院 病理部 5 2  
<sup>1</sup>梅 とも子、<sup>2</sup>宇田川 潤、<sup>3</sup>田邊 洋子、<sup>3</sup>松本 健一、<sup>4</sup>丸山 理留敬、<sup>1</sup>織田 禎二
- (P19) 衝撃波による植物細胞破壊現象の画像解析評価  
熊本大学 衝撃・極限環境研究センター 嶽本あゆみ 5 3
- (P20) 線虫 *C. elegans* の腸の色の解析  
国立遺伝学研究所 技術課 大石 あかね 5 3
- (P21) ゼブラフィッシュ凍結精子の解凍試験  
自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 内海 秀子 5 4

(P22)	アオハダトンボ成虫の未成熟個体と成熟個体における視物質発色団量と複眼構造の比較 浜松医科大学 医学部 総合人間科学講座 外山 美奈、弘中 満太郎、堀口 弘子、針山 孝彦	5 4
(P23)	シロイヌナズナのペルオキシソーム局在異常変異体における光環境適応についての検討 自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 難波 千富子	5 5
(P24)	キネシンの変異体の作製・大腸菌による発現と精製 東京大学理学系研究科 技術部 佐伯 喜美子	5 5
(P25)	新規酸受容チャネル複合体PKD1L3/PKD2L1の解析 自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 福田 直美	5 6
(P26)	接着細胞における細胞死の評価 浜松医科大学 実験実習機器センター 柴田 清	5 6
(P27)	質量分析計によるADP-リボシル化タンパク質の同定法の確立 島根大学 医学部 代謝生化学 長子 晴美	5 7
(P28)	質量分析装置を用いたタンパク質解析実習のための条件検討 自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 牧野 由美子、岡 早苗	5 7
(P29)	VBAを用いた顕微鏡画像解析用画像並べソフトウェアの作製 自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 前橋 寛	5 8
(P30)	次世代シーケンサーのデータ解析について 自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 西出 浩世	5 8
(P31)	耳鼻咽喉科検査部門システムの構築（インピーダンスオージオメトリーへの対応） 富山大学 医薬系技術部 耳鼻咽喉科 武田 精一	5 9
(P32)	MODxによる生物学技術研究会サイトの構築 自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 水谷 健	5 9
(P33)	携帯電話のブラウザ機能を利用した緊急時連絡システムの検討 東北大学 加齢医学研究所 小森 和樹	6 0
(P34)	会議室予約システムの構築 自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 中村 貴宣	6 0
(P35)	ネットワークサーバーとファイアウォールシステムの更新 自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 吉村 伸明、村田 安永	6 1
(P36)	基生研耐震改修工事に伴うネットワーク移設 自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 三輪 朋樹	6 1
(P37)	微弱な放射線をイメージングプレートで検出するための検討 自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 澤田 薫	6 2
(P38)	マイクロプレートを用いた放射能測定における留意点 自然科学研究機構 基礎生物学研究所 技術課 松田 淑美	6 2
(P39)	オープンキャンパスにおける参加者への放射線の啓蒙とRI実験室紹介 京都工芸繊維大学 高度技術支援センター 尾崎 誠	6 3
(P40)	生物資源部門におけるエネルギー削減の取り組み 福井大学 ライフサイエンス支援センター 生物資源部門 向川 市郎、糸崎 悦子、前田 秀之	6 3
(P41)	生理学研究所一般公開における研究紹介ビデオの制作 自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 森 将浩	6 4
(P42)	「技官（Gi-Kwan）」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
(P43)	実験動物教育研究センター施設紹介 中部大学 実験動物教育研究センター 長原 美樹	6 5
(P44)	CERN技術職海外派遣研修報告 高エネルギー加速器研究機構 加速器研究施設 加速器第三研究系 中島 啓光	6 5
(P45)	生理研における対外広報活動 自然科学研究機構 生理学研究所 技術課 永田 治	6 6
参加者名簿	.....	6 7



## 参加者へのお願い

### ■会場について

研究会会場は岡崎コンファレンスセンター(以下 OCC)です。会場については、研究会会場周辺地図および岡崎コンファレンスセンター案内図をご覧ください。

### ■受付について

受付は、一日目の13:00~13:30の間、OCC エントランスホールにて行いますので、名札と資料をお取りください。遅れる場合は事前に連絡をお願いします。研究会当日はOCC 事務室 (TEL: 0564-57-1870) までご連絡ください。

### ■旅費支給者の方へ

航空機利用の場合、航空チケットの半券と領収書をお持ちください。帰りの分は、後日郵送してください。

### ■手荷物について

研究会の間、手荷物はお預かりいたしません。大会議室後方に荷物置場を設置いたしますのでご利用ください。貴重品等については各自の責任でお願いします。

### ■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、参加記念帳を大会議室入り口付近に置きますので、都合を見てご記帳ください。

### ■記念撮影について

研究会開催中に全体での記念写真撮影を行います。日時等はプログラムをご覧ください。

### ■入構について

研究会受付にてお渡しする名札が入構許可証となります。受付以前に機構内に入られる方は、正門横の守衛室にて氏名・所属等を記載し、入構手続きを行ってください。

### ■駐車場について

研究所およびOCCには一般利用駐車場がありませんので、公共交通機関をご利用ください。

### ■宿泊について

ご自身で宿泊を確保される方は、研究会会場周辺地図をご覧ください。

### ■ロッジ宿泊者へ

ロッジ利用時間は午後3時からです。また、門限は午後10時です。門限に間に合わなかった場合は、貸与された各室の鍵で玄関の鍵を開けて入館し、その後鍵を掛けてください。退館(チェックアウト)に際して、必ず部屋の鍵を玄関の「鍵返却ポスト」に返却してください。なお、退館時間は午前9時30分までです。

### ■ご不明な点がございましたら

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



## 発表者へのお願い

### ■報告誌原稿の提出について

報告誌原稿は、本研究会で用意した「テンプレートファイル」を使用してください。本研究会ホームページ (<http://www.nips.ac.jp/giken/2009/>) の「原稿用テンプレート」よりダウンロードが可能です。

原稿は、平成21年 2月16日(月)までに、Word File と pdf File をメール添付で「[giken31@nips.ac.jp](mailto:giken31@nips.ac.jp)」まで送付してください。 pdf File はレイアウト等の確認のために必要です。

### ■発表について

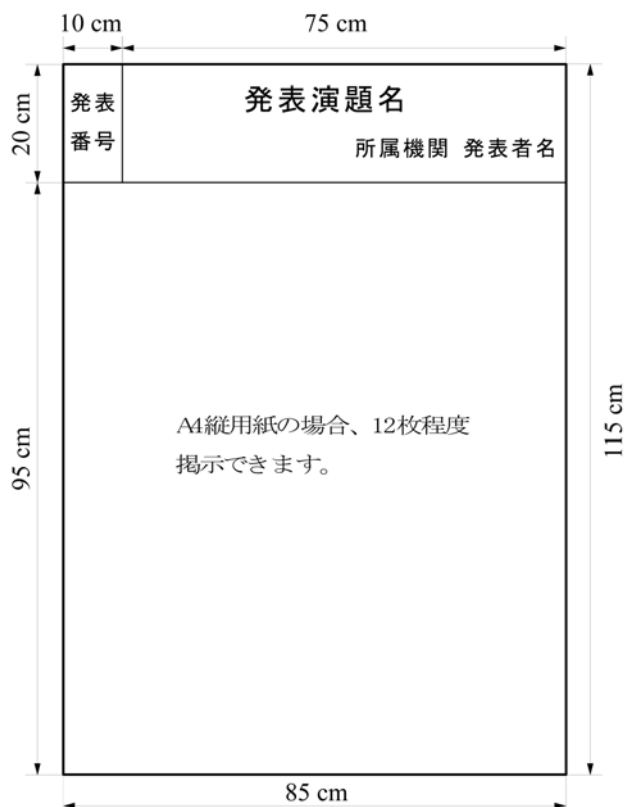
1. ポスター発表は、ポスター討論の前に画像ビューワーを用いて説明をしていただきます。説明用の画像は一人1枚で、発表時間は1分間を予定しています（画像は事前に指定の方法でご提出をお願いします）。発表は2グループに分けて行います。グループⅠのスライド説明とポスターの閲覧および討論を行った後、グループⅡを同様に行います。
2. 口演発表は20分（発表15分、質疑応答5分）、奨励研究採択課題技術シンポジウムは20分（発表15分、質疑応答5分）です。十分な質疑応答の時間が取れるよう、発表をまとめてください。
3. ポスター発表者は早めに受付を済ませ、13:30 までにポスターを展示してください。なおポスターは、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。

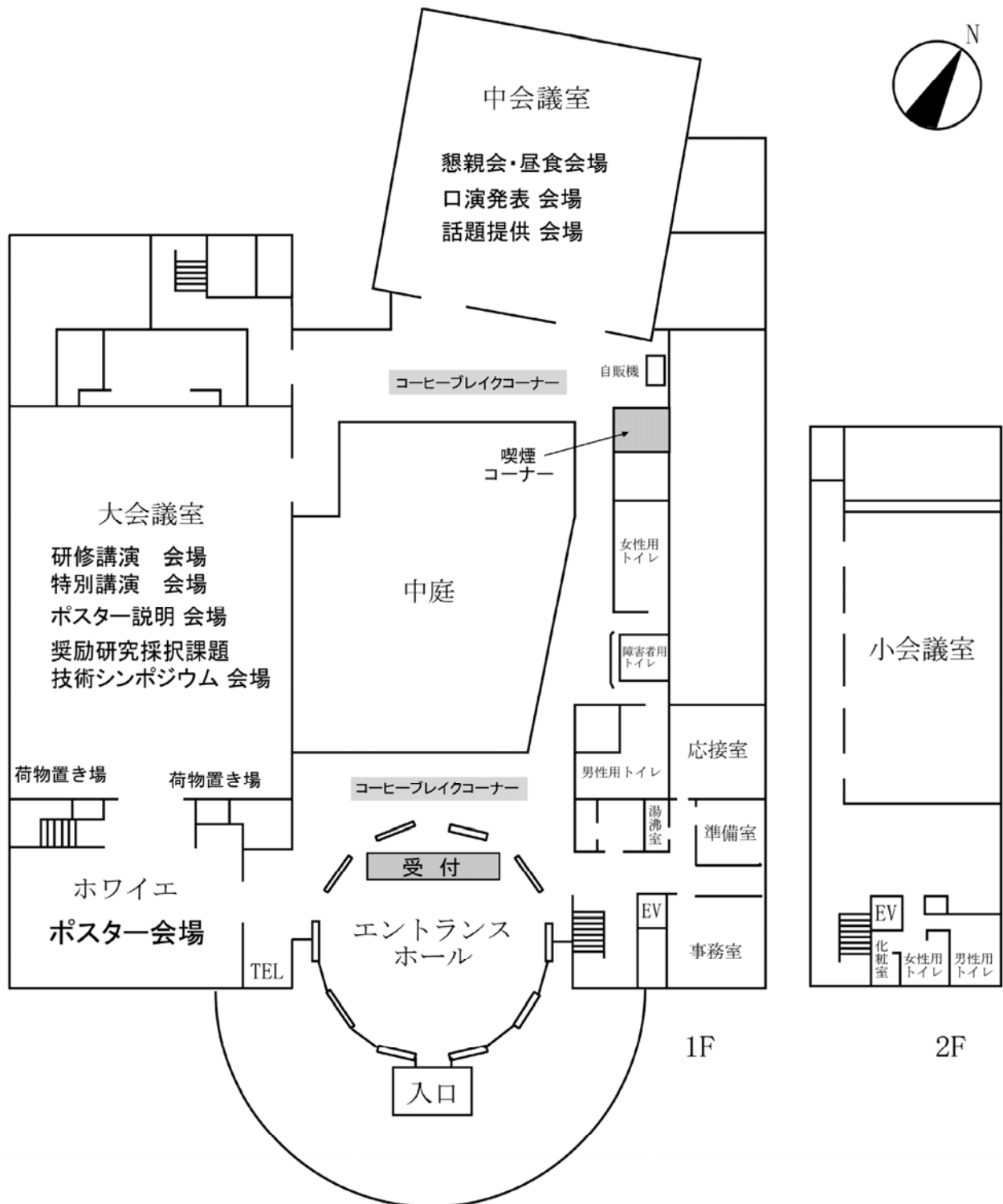
パネルの左上に発表番号が貼ってあります。所定のパネルにご展示ください。

■発表およびポスターに関し不明な点は、  
生理学研究所技術課 小原 正裕 または  
基礎生物学研究所技術課 大澤 園子まで  
お問い合わせください。





# 岡崎コンファレンスセンター案内図



岡崎コンファレンスセンター事務室  
 生理学研究所 技術課  
 基礎生物学研究所 技術課

TEL : 0564-57-1870  
 TEL : 0564-55-7702  
 TEL : 0564-55-7655



# 研 修 講 演

## 細胞内の情報伝達メカニズムの解明へ向けて 生細胞イメージングとプロテオミクスを用いた解析

自然科学研究機構／生理学研究所／細胞器官研究系／生体膜研究部門 深田 正紀

細胞は様々な外界シグナルを正確に受け取り、細胞内に情報を伝達し、その刺激に応じた生理機能を遂行する。例えば、皮膚に傷が生じた場合、皮膚の上皮細胞は創傷部位を埋める方向に向かって移動（遊走）し、傷が閉じた時点でその細胞移動は停止する。また、神経細胞間のシナプスでは、使用状況に応じて情報伝達効率に変化する。この柔軟な変化はシナプス可塑性とも呼ばれ、記憶や学習の分子基盤と考えられている。このようなダイナミックな細胞移動やシナプスの可塑的变化には、空間的位置情報と時間情報を正確に細胞内に伝達、統合し、細胞の主な構成成分である蛋白質を適切に再構築し、再配置することが必要不可欠である。

近年の顕微鏡システムの発展により、我々研究者は生きた細胞のみならず、細胞内の蛋白質の動態をより詳細に可視化できるようになってきた。また、質量分析計を用いることにより、微量な検体から精度よく細胞内の蛋白質の存在様式（複合体）を捉えることができるようになってきた。生体膜研究部門ではこれらの技術を生かして細胞内の蛋白質の動態解析、存在様式を明らかにし、生体内の巧妙な仕組み（とりわけ、シナプスにおける情報伝達制御機構）を明らかにしようとしている。本研修講演では、細胞のダイナミックな振る舞いを紹介するとともに、実際の実験現場での技術面でのニーズをお話ししたい。

### 参考文献

1. Tsutsumi R, Fukata Y, Noritake J, Iwanaga T, Perez F and Fukata M. Identification of G-protein · subunit palmitoylating enzyme. **Mol. Cell. Biol.** in press
2. Tsutsumi R, Fukata Y, Fukata M. Discovery of protein-palmitoylating enzymes. **Pflgers Arch-Eur. J. Physiol.** 456, 1199-1206 (2008)
3. Fukata Y, Adesnik H, Iwanaga T, Brecht DS, Nicoll RA, and Fukata M. Epilepsy-related ligand/receptor complex LGI1 and ADAM22 regulates synaptic transmission. **Science** 313, 1792-1795 (2006)

# 特別講演



## 大学共同利用機関・技術課はどこへ向かうのか

自然科学研究機構／生理学研究所／技術課 大庭 明生

大学共同利用機関技術課は、創設以来、30年余、『生理学技術研究会』の開催と『生理学技術研究会報告』の発行を通して、技術系職員の組織の確立と大学等の技術系職員の技術交流を大学共同利用機関技術課の使命として進めてきた。

こうした活動も大学の志のある一部の技術系職員の協力により進めてこられたが、2004年の大学の法人化とともに、大学は技術系職員の組織の確立とその活動を大学のテーマとして進めるに至っている。これまでのこうした技術課の活動も大学に引き継がれ、新しい展開を見せている。

こうしたなかで、技術課はどこへ向かうのか、の自問が必要となっている。この自答を、

第Ⅰ期（1977年－）の『課の立ち上げ』、

第Ⅱ期（1990年－）の『課の拡充』、

第Ⅲ期（1997年－）の『研究体制の新たな流れへの対応』、

第Ⅳ期（2004年－）の『法人化への対応』、

第Ⅴ期（2007年－）の『研究体制の変革への対応』

の経緯のなかに、探り、今、技術課はどこにいるのか、これからどこへ向かおうとしているのか を考えてみたい。

# 口 演 発 表

## (第5回 奨励研究採択課題技術シンポジウム)

本技術シンポジウムの一部は、成茂神経科学研究助成基金の助成基金により運営しています。

# リポソームの電子顕微鏡を用いたウラン染色に代わる 染色条件の検討

愛媛大学／総合科学研究支援センター／生物機能解析分野 首藤 政親

リポソームは、身体の特定位に医療を輸送する手段として癌治療薬、医療品、化粧品等、先端医療から日常生活まで多岐にわたり使用され、多数の研究者・技術者からの注目を集めている。従来、リポソームの内部構造の解析には、電子顕微鏡によるネガティブ染色法が用いられており、その際の染色液としては酢酸ウランが使用されていた。しかしながら、酢酸ウランは核燃料物質のため現在購入不可能となり、それに代わる染色液の必要性が急務となっている。

当方が、酢酸ウランに代わる染色液として検証を行ったのは、リンタングステン酸、モリブデン酸アンモニウム、ウーロン茶抽出物 (Oolong Tea Extract : OTE)、タンニン酸、塩化ハフニウム等である。実験における工夫は以下の点にある。

## ・支持膜について

親水性に優れたコロジオン支持膜、電子線に強いホルムバル支持膜を状況に応じ使い分け検証した。

## ・緩衝液について

通常使用されているリン酸緩衝液では、染色液の乾燥時に塩結晶による汚れが生じた。よって、反応産物が出来にくいカコジル酸緩衝液を使用した。

## ・染色液の濃度及び時間について

リポソームは親水性基と疎水性基の二重層内に内空を持ち、とりわけ内部構造であるラメラ構造の観察が不可欠となる。しかし、通常の高濃度染色液で短時間染色させる方法では、外部構造は鮮明に見えるが内部構造は不明瞭となる。そこで、低濃度の染色液を長時間染色する方法での内部構造の観察を試みた。

## ・試料を染色液になじませるための手法について

当初、400 メッシュグリッドの上に試料であるリポソーム混濁液を必要とされる量盛って行っていたが染色状態は不安定であった。これを解消するため、リポソーム混濁液を一度山盛りに盛った後に濾紙で1 mm付近まで吸い取る処理を行った。この処理で、染色状態が安定する率は高まった。

今回の実験から、リンタングステン酸、モリブデン酸アンモニウム、塩化ハフニウムは、試料固有の特性を認識し、適正濃度と染色時間等の条件を見誤らなければ、酢酸ウランに代わる染色液となることが確認できた。今後、より多くの症例実験を行い汎用性の高いモデルケース作成を目指したい。

## 皮膚知覚特性を重視した情報通信機器の 入力環境に関する基礎的検討

東北大学／工学部・工学研究科 菊池 裕人

【目的】現在、我々の生活基盤は様々な情報通信機器によって支えられている。その一方で、情報通信機器の利用に不安を抱える層（高齢者や障害を持つ人々）との格差は広がりを見せ、社会的な問題の一つとして認識されている。特に視覚に障害を持つ人々にとっては、操作（入力）と情報取得（出力）の両面において自力での対応が難しく何らかの支援が不可欠となる。一般に情報通信機器の入力は、（入力ボタン等の）オブジェクト自身が持つ意味情報、オブジェクトの空間的な位置情報という2種類の情報取得により達成される。視覚に障害を持つ人々の情報通信機器の利用を想定した時、後者の位置情報の取得は非常に困難なテーマである。このような問題に対し、本研究では位置情報を取得する手法として振動刺激によるオブジェクトへの入力誘導手法を提案し、その有効性について検討する。振動刺激に見られる認知心理学的な皮膚知覚特性に着目し、振動刺激を用いた空間的な位置情報の取得、および情報通信機器の入力位置誘導技術の確立を目的に行う。

【方法】本研究では、(1)振動刺激に対する皮膚知覚の弁別に関する実験、(2)非視覚環境での位置情報取得に関する実験、の2つの実験を行い、その後これらの成果を組み合わせ、提案する入力位置誘導技術のプロトタイプをタッチパネル・ディスプレイ上に実装する予定である。(1)は基準となる220Hzと比較し、周波数や波形を変更した時の違いが識別できるかを回答してもらう実験である。振動素子として磁歪素子を用い、周波数や波形の発振はフリーウエアのOSCILLATERを用いる。(2)は1辺が14cmの正方形の四隅とその中間地点4箇所(7cmの位置)、正方形の中心位置、の合計9箇所にマークした試験紙を提示し、目隠し状態で中心位置以外の8箇所のマーク位置を再現してもらう実験である。試験紙の提示は、視覚による提示および触覚による提示（目隠し状態）の2通りの方法で行う。

【結果】(1)は予備の実験として被験者数名を対象に、周波数や波形の変化による識別が可能かどうかの確認を行った段階である。のこぎり波とサイン波で、比較的容易に80~100Hzと220Hzの識別が可能であることを確認した。(2)は正方形の四隅にあたる箇所が内側に再現される傾向が見られた（全体的に、円形に近い形状に再現される傾向）。

【考察】(1)は実験の詳細な手続き等を決定して、今後本格的に実験を行う予定である。(2)はSandersや、Millarらの文献を参考にした詳細な結果解析が今後必要と考えられる。また、被験者数がまだ少なく、さらに被験者を募り実験データを収集する予定である。

### 【参考文献・資料】

- Sanders A. F. J, et al.: Haptically straight lines, Perception, 36, 1682-1697, 2007.
- Susanna Millar: Space and Sense, Psychology Press, 2008

## 病理分野におけるマクロ写真を利用した3DCGの作製 における基礎的検討

東京大学／附属病院／病理部 金子 伸行

【目的】CT検査におけるCT画像の3次元デジタル画像（以下3DCG）化が代表するように医学分野でも、3DCG画像は教育的側面だけでなく臨床的に非常に有益な情報であることは実証されている。しかし、病理診断分野では立体臓器を撮影する頻度が非常に高いにもかかわらず、今だ2次元写真のみを利用するに留まっている。病理写真も近年ではデジタル写真の利用が大半を占めているが、CTのような断層写真ではなく俗に言う肉眼写真のため、3DCGにするのが非常に困難であり高度な専門知識と高価なPCが必要であったためと考えられる。最近では、デジタルカメラの普及とともにデジタル画像を利用した一般向けの3DCG化ソフトが開発され、3DCGはウェブサイトなどでも日常的に見かけるようになってきている。本検討は一般向けのソフトを用いた病理診断の分野での3DCG作製の基礎的検討を行う。

### 【方法】

I：材料：手術、解剖によって得られた臓器を用いる。

II：ソフトの検討

STRATA FOTO 3D(STRATA社)と

iModeller 3D(UZR GmbH&Co KG)を用い、操作性の検討をおこなう

III：3DCGの作製

①撮影条件、作製機材の検討

②3DCG作製時間の測定

③3DCGの自己評価

④臓器種類による適正の検討

IV：それぞれの3DCGの臨床的有効性については認定病理医にアンケートを行い評価する

### 【結果】

STRATA FOTO 3Dについては画像の出来としてはまだ不十分な点多々あるが、撮影時間を含め約1時間で3DCGを作製することができ、臨床的に価値のあるものと考えられる。

iModeller 3Dは処理に要するメモリーが大きく、撮影した画像から直接処理できないため、処理画像数・画質の調整を行ない検討している段階である。

### 【考察】

撮影条件がその後の処理時間、画像の良悪を決定するため、臓器が撮影中に変形しない様臓器を固定するためのペDESTALを作製するのに非常に時間を要している。撮影時間の延長は臓器の乾燥をもたらす、診断に影響するため、ペDESTALに用いる素材をも含めた検討が必要である。

# トランスジェニックカタユウレイボヤ作製技術の導入と完全閉鎖系水槽飼育

名古屋大学／理学研究科附属臨海実験所 福岡 雅史

## 【目的】

カタユウレイボヤは、ゲノムのドラフト配列が決定されており、世界中で研究材料として利用されている優れた海洋モデル動物である。また、海産無脊椎動物のなかで、トランスポゾンベクターを利用したトランスジェニック個体の作成法が確立されている唯一のモデル動物でもある。ホヤ類は一般に雌雄同体であるが、本種は「自己の精子による受精は起こらない」いわゆる自家不和合性を示す生物である。我々は、本種を材料として、主に生殖と受精の分子機構に関する研究を進めている。本研究では、自家不和合性に関与する自己非自己識別遺伝子や、ライシンの候補遺伝子についてトランスジェニック個体の作出を行うことにより、その機能解析を行なうことを目的としている。遺伝子組換え動物は閉鎖系に隔離して飼育する必要があるので、まず実験室内の水槽で生殖可能な成熟個体までホヤを飼育、養成するシステムを確立することから本研究をスタートさせた。

## 【方法】

トランスジェニック個体の作出はカタユウレイボヤの受精卵に、TC1/*mariner* スーパーファミリーに属するトランスポゾンである *Minos* 由来のトランスポゾンベクターと転移酵素をコードするプラスミドをエレクトロポレーション法もしくはマイクロインジェクション法により共導入する。導入されたベクターは転移酵素の働きでゲノム中にランダムに組み込まれる。

カタユウレイボヤの飼育は実験所内に設置した閉鎖系水槽で行った。飼育海水はできる限り自然界の環境に近づけるために通常海水を用い、飼料には複数の人工飼料を混合して与えた。また、排水は過酸化水素処理により浄化滅菌し、遺伝子組換え動物の海洋への流出を防止した。

## 【結果・考察】

カタユウレイボヤの自家不和合性に関わる自己非自己識別遺伝子（テミス遺伝子）は最近我々の研究グループによって単離、同定された。この遺伝子は非常に多型に富んでおり、遺伝子導入を行う際のレシピエントとなる個体については、識別遺伝子の遺伝子型が概知の個体を用いる必要があった。そこでトランスジェニック実験のレシピエントとなる近交系統を作出し飼育・維持することを行った。現在、近交系統の飼育ホヤは3世代目に達している。しかし、水槽飼育のホヤは自然界の個体と比較して、保持する配偶子量が少なく、実験系への安定供給が難しい。飼育環境の更なる改良が今後も必要である。



## 非放射性（non-RI）試薬による 糖・脂質代謝測定法の開発

自然科学研究機構／生理学研究所／技術課 齊藤 久美子

【目的】 今日、肥満・糖尿病は大きな社会問題であり、その対策が急務である。肥満・糖尿病の原因として糖・脂質代謝異常があげられる。そこで、肥満・糖尿病の発症過程において各臓器の糖・脂質代謝変化を測定することは、肥満・糖尿病の発症メカニズム、治療法の開発に重要である。現在、培養細胞及び各臓器の代謝変化は、放射性化合物（RI）を用いた方法で解析されており、特別な実験施設を必要とする。そこで、この問題に対処するため、非放射性（non-RI）試薬による糖・脂質代謝測定法の開発を行っている。

本研究会では、グルコース・アナログである non-RI 2-デオキシグルコース（2DG）を用いたグルコース利用速度測定法を中心に、酵素法による糖・脂質代謝測定法の開発経過について紹介する。

### 【グルコース利用速度測定の方法】

2DG は、グルコースと同じように細胞内に取り込まれ、2-デオキシグルコース 6 リン酸（2DG-6-P）となり、その後は代謝されず細胞内に蓄積される。それゆえ細胞内 2DG-6-P の蓄積量を測定することでグルコース利用速度を算出することができる。2DG ならびにその代謝産物である 2-DG-6-P 量を glucose-6-phosphate dehydrogenase の酵素濃度を変化させることで選択的に代謝し、生成される NADPH を新規に開発した酵素サイクリング法で比例増幅させ比色定量により測定する。

### 【結果】

各酵素反応の基質濃度、酵素量、反応時間の検討により、96 穴プレートを用いた測定が可能になった。本法にて、マウス組織における *in vivo* グルコース利用速度定数（ $K_i$ ）の測定及び 3T3-L1 adipocyte におけるインスリン刺激によるグルコース取込み量を測定した。

### 【考察】

現在は、糖代謝測定とともに、脂肪酸酸化調節因子として重要であるマロニル CoA の測定法を開発している。グルコース利用速度測定法と同様に、いくつかの酵素反応によりマロニル CoA を NADPH に変換後、酵素サイクリング法によって比例増幅させ比色定量する方法を検討している。

これらの方法は、肥満・糖尿病研究における治療薬のスクリーニングに有用である。



## ヒト培養細胞への遺伝子導入・発現阻害による フィブリノゲン生成・分泌に及ぼす影響

浜松医科大学／医学部附属病院／検査部 澤村 暢

### 【はじめに】

フィブリノゲンの先天性な欠損症には2タイプあり、主にアミノ酸置換によるフィブリノゲン蛋白はあるが活性が低下している質的な異常症と、蛋白そのものが産生されない量的な異常症がある。質的な異常症では易出血や易血栓形成、傷の治りが悪いなどの症状を呈する事があるが無症状の場合もある。一方、量的な欠損症では出血症状がみられる他、妊娠継続が困難などの症状がある。しかし、病態との因果関係は完全には解明されていない。今回、後者に属する無フィブリノゲン血症の一患者を経験し、その解析から *FGA* 遺伝子の 1238bp の欠落を見出したが、同時にウェスタンブロット法により、*FGA*, *FGB*, *FGG* 遺伝子の産物である  $A\alpha$ 、 $B\beta$ 、 $\gamma$  ポリペプチドが血漿中には存在しないことを確認した。肝臓におけるこれらポリペプチドの生合成課程は既に明らかにされているが、先天性フィブリノゲン欠損症において、3種類のポリペプチド鎖のうちいずれかのポリペプチド鎖が生成されない時の動態については未だ研究が行われていない。

フィブリノゲン欠損症において *FGA* 上で起こるナンセンス突然変異や、欠失、挿入の報告がなされている事から、本研究では3種類のポリペプチド鎖のうち  $A\alpha$  鎖の欠失をヒト肝臓由来培養細胞で擬似的に再現し、その動態について研究を行った。

### 【方法と結果】

フィブリノゲン産生ヒト肝臓由来の培養細胞 Hep-G2 を用い、shRNA 発現ベクターを遺伝子導入し、RNAi を行い  $A\alpha$  鎖の生成をノックダウンさせる。ネオマイシンにより薬剤選択を行い得られた細胞中、培養液中の  $A\alpha$ 、 $B\beta$ 、 $\gamma$  の3種類のポリペプチド鎖の生成状態を SDS-PAGE、ウェスタンブロッティングにて検出し解析を行う。

通常培養を行う際に用いるウシ胎児血清中には、本研究で使用している抗ヒトフィブリノゲン抗体と反応するタンパクが含まれているため無血清培地を用い培養を行っている。

現在上記のような実験系で解析を進めている。

## 動物実験施設内から分離した緑膿菌の DNA 多型の検出 と薬剤感受性についての検討

熊本大学／生命資源研究・支援センター／病態遺伝分野 中村 直子

【目的】動物実験施設（施設）では、精度の高い動物実験成績を得るために様々な微生物を対象にした実験動物の品質管理や品質検査がおこなわれている。その中で、緑膿菌（*P. a*）は、幼弱動物や免疫不全動物など様々な理由で免疫力の低下した状態にある動物に実験処置を施した際に発症する日和見感染症の原因として非常に問題となっている。我々は過去に施設内の各種実験動物、環境、飼育者等から分離された *P. a* の血清群別をおこなったが、同じ群に片寄って分類されたため伝播経路などについて詳細な解析が出来なかった。今回は、伝播経路解明のための方法として薬剤耐性パターンや DNA 多型による解析も試みることで、以前は解析が不可能であった施設内への *P. a* の進入経路や施設内での分布を詳細に明らかにし、最終的には、施設内における *P. a* の感染拡大防止のための方法を見いだすことに繋げることを目的とする。

【方法】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において飼育されているマウスの新鮮糞便を NAC ブロスで 48 時間増菌した後、1 白金耳を NAC 寒天培地へ接種して 24 時間培養し *P. a* を分離する。分離した *P. a* は、各種解析まで半流動ハートインフュージョン寒天培地に接種し、保存する。被検菌を純培養し、緑膿菌群別用免疫血清にて緑膿菌の O 型血清群を確認する。また、Clinical and Laboratory Standards Institute 標準法（旧 NCCLS 標準法）に従って感受性ディスク法により薬剤感受性試験を実施し、ノギスを用いて中間発育阻止部位の阻止直径を計測して、判定基準表から感受性、中間、耐性を判定し、薬剤感受性による型別を試みる。さらに、被検菌から DNA を抽出し、Mahenthiralingam らの方法に準じて Random amplified polymorphic DNA (RAPD) 法による分離 *P. a* の型別を試みる。血清群別、薬剤感受性、RAPD による型別の結果より *P. a* の進入経路や施設内での分布の解析を試みる。

【結果】施設内の一般飼育室および特殊飼育室で飼育されているマウスから分離された *P. a* を対象に各種型別を試みた。血清群別では、分離された *P. a* 株の大部分が B 群に分類され、一部は I 群や G 群等に分類された。薬剤感受性試験もおこなっているが、現在のところ、B 群の株全てが感受性試験を試みた全ての抗菌薬に対して感受性であり、他の血清群の数株が一部の抗菌薬に中等度耐性であるという結果が得られている。現在、さらに薬剤感受性の検討および RAPD 法による型別を進めているところであり、それらの結果も交えて発表する。

## 中枢機能に対する音楽の効果

筑波大学／医学系技術室 秋山 佳代

【目的】免疫組織化学染色は、組織内に分布する化学物質を正確かつ微細に識別することができる。私共は、蛍光免疫組織化学的に染色した脳切片の全領域の蛍光強度分布を細胞レベルで定量し画像化する Brain Mapping Analyzer を開発した<sup>1)</sup>。この装置を用いて、脳内ドーパミンの合成を調節するメカニズムを解明し、各種疾病の発症機序や、様々な環境下での中枢機能の変化を明らかにした。今回この方法を用いて、音楽の微弱な刺激によって誘導される脳内の情報伝達系の変化を捉えることに成功したので報告する。

【方法】(1) Brain Mapping Analyzer：本装置は、落射蛍光顕微鏡の光路にピンホールを挿入し、切片の微小な領域のみを照射し、そこから発せられる光を光電子増倍管で計測するものである。切片を載せた電動ステージをコンピューターの制御下で移動し、切片全面をスキャンしながら蛍光強度分布を分析することができる。(2) ドーパミン分析：自然発症高血圧ラット (SHR) に、モーツァルトの曲 (K. 205、平均音量 65dB) を 2 時間聴かせ、脳内の免疫組織化学的ドーパミン分布の変化を Brain Mapping Analyzer によって解析した。(3) その他の分析：血液中のカルシウム及び血圧に対する音楽の効果調べた。

【結果】SHR に音楽を 15 分～2 時間聴かせると、血清カルシウムレベルが有意に増加し、引き続き線条体外側領域のドーパミンレベルが 18% ( $P<0.01$ ) 増加した。さらに、音楽開始後 30 分から収縮期圧が有意に低下し、音楽終了後 2 時間まで降圧作用が持続した。血圧を低下させる音楽の効果は、カルシウム依存性のドーパミン合成経路を薬物で遮断することにより消失した。

【考察】音楽によって血液中のカルシウムレベルが増加し、その一部が脳に移行してドーパミンの合成能を亢進し、様々な中枢機能を調節することが示唆される。その一つとして、増加したドーパミンは、末梢の交感神経系を抑制して血圧を低下させると考えられる<sup>2, 3)</sup>。この分析法は、音楽のような微弱な刺激によって誘導される脳内の変化でも詳細に捉えることが可能で、様々な環境下での情報伝達系を分析する上で有効な手法であると考えられる。

### 【参考文献・資料】

- 1) Sutoo, D., Akiyama, K. and Yabe, K. (1998) Quantitative mapping analyzer for determining the distribution of neurochemicals in the human brain. *J. Neurosci. Methods* 85: 161-173.
- 2) Sutoo, D. and Akiyama, K. (2004) Music improves dopaminergic neurotransmission: demonstration based on the effect of music on blood pressure regulation. *Brain Res.* 1016: 255-262.
- 3) 須藤伝悦 (2008) モーツァルトが求め続けた「脳内物質」。講談社。

## 生体表面の移動マーカ追従システムの開発

徳島大学／ソシオテクノサイエンス研究部 石田 富士雄

### 【目的】

本研究は、生体表面のマーカに追従するシステムを開発したものである。最近の医学においては、主要な病気の原因はほぼ解明され、優れた経口薬などにより病気の改善がなされている。しかし、癌などでは、ピンポイントの投薬や照射（レーザー、放射線）などによる治療を要する。ところが患者自身の呼吸やその他の生理現象により体が動くと、治療が中断したり、効果が得られなかったりする。そうした場合でも、治療が可能な、患者が自然体で治療が受けられる装置の開発を目的とした。

### 【方法】

この追従システムは①マーカを抽出する画像処理、②追従コントローラ、③2軸の駆動装置からなる。画像処理では、カメラから送られてくる20フレーム/秒の画像に対して、タイマイイベントを発生させて、パターンマッチングを行いマーカの座標を得る。追従コントローラは、画像処理で得られた座標と、現在の2軸アクチュエータ座標から変位データを生成し、パソコンのシリアルポートよりそのデータを出力する。駆動装置は、パソコンからのデータをマイコンで受信後処理し、2軸をコントロールする制御データを生成する。

### 【結果】

12月末現在において画像のパターンマッチングは未解決である。従って、パソコン上において仮想のマーカ座標を用いて実験を進めている。仮想のマーカ座標は配列に入れて、タイマイイベントが発生するたびに、逐次データを更新するようにした。タイマイイベントは、カメラ画像が20f/secであるので、逆数を取り50msec毎とした。タイマイイベント発生時に、座標の変位計算を行い、データをシリアルポートに出力させた。このデータは、シリアルケーブルで接続したマイコン側において、割り込み処理による受信が確認できた。また、受信したデータから2軸アクチュエータの制御信号を生成し、モータに信号を出力したところ、タイマイイベント発生のタイミングで、変位座標に追従するのが確認できた。

### 【考察】

仮想の座標データを使用したリアルタイム制御において、パソコンからマイコンへのデータ転送やマイコンでのデータ処理、2軸アクチュエータの動作速度はともに、人体の動きに対応する結果が得られた。今後の課題は、画像処理によるマーカ座標の抽出である。

### 【参考文献・資料】

H8/3069F ハードウェアマニュアル (株) 日立製作所 .  
Microsoft Visual Studio 2005 ドキュメント .

# 微弱電波の無線 LAN ブリッジを利用した 自動避難経路誘導システム

岩手大学／総務企画部／情報企画課 栗田 宏明

【目的】大都市の家屋の密集地や、東京駅にあるような広大な地下街などにおいて、地震など大規模な災害に見舞われたとき、建物の倒壊や火災などの災害が発生すると考えられる。そのような場所で被災した場合、命を守るためには一刻も早く安全な場所に避難しなければならない。本研究では、微弱な電波を使用した無線 LAN 同士をブリッジ接続してネットワークを作り、分散設置することを考える。もし災害が発生し、建物の倒壊や火災が発生した場合、点在している無線 LAN の一部が破壊されると、そこを通るネットワークが途切れるので、被災場所や被災規模の特定と同時に、その避難経路は危険であると判断できる。無線 LAN は自動的にその情報を収集し、安全な避難経路情報を発信する。被災者はその情報を端末で受信し、情報に沿って移動すれば、迅速に避難することができる。

【方法】無線 LAN モジュールの LANTRONIX 社製「WiPort 評価キット」数台をブリッジ接続して実験を行った。ネットワークの状態を自動収集するプログラムを JAVA アプレットで開発し、WiPort に実装する。取得した情報は WiPort 自身が WEB で情報を発信する。

(1) LANTRONIX 社の「WiPort」を使用した理由

- 自作した JAVA アプレットのプログラムを搭載できる。
- WiPort 内部から情報発信できる WEB サーバ機能を持っている。
- ブリッジ接続ができる。

(2) 開発の過程で苦労した点

プログラムは JAVA アプレットで作成したが、WiPort に搭載できるプログラム容量に制限があるので、アルゴリズムの軽量化が必要であった。

【結果】隣接している WiPort 間で TCP/IP 接続することができた。また、双方間の通信が途絶えたときに、自動的に WiPort 自らアラートを発信させる実験と、避難経路を指示する実験に成功した。

【考察】ネットワーク全体の情報収集アルゴリズムについて現在検討している。



## レーザーの保護メガネ —自然科学研究機構技術連携—

核融合科学研究所 山内 健治、分子科学研究所 鈴木 光一、国立天文台 川島 進  
生理学研究所 大庭 明生、吉友 美樹、基礎生物学研究所 古川 和彦

**目的：**自然科学研究機構内の技術組織の代表者が集まり、組織の問題や技術について定期的に会議をおこなっている。自然科学研究機構技術研究会の開催も、その会議で決められたことである。その会議で機構内では、研究にレーザーを用いることが多くなっており、高出力のレーザーを試料の加工やエネルギー伝達手段として使う実験が行われている。高出力レーザーは人間の目にとって非常に危険であるが、光軸調整などで目視しなければならない場合がある。機構内の研究所の実験にも高出力レーザーが使用されており、核融合研ではトムソン散乱計測やレーザー・ブローで生理研では脳内血栓の人工生成に分子研ではレーザー研究施設で、また基礎生物研ではスペクトル施設で高出力レーザーが使われている。そのために保護メガネを共同して開発することにした。

**方法：1、ビーム・パターンの可視化と改良** 今回、YAGレーザーの波長1.06ミクロンの赤外線にも感度のある小型CCDカメラと小型液晶ファインダとを組み合わせて直接ビームを見なくて済む保護メガネを試作した。しかし実際にこの保護メガネを使用してビーム調整を行った研究者から視野が狭く作業を行うには不安があると指摘を受けた。試作した保護メガネは、小型液晶ファインダが両眼を覆うゴーグル型のものでCCDカメラからの映像しか見ることができない。CCDカメラの視角は約60度で肉眼の視角約120度に比べて狭い範囲しか見ることができない。レーザー・ビームの調整のためには狭い場所や高所での作業を伴うために、視野が狭いことは安全面で問題があることが分かった。また生理学研究所生体恒常機能発達機構研究部門においては、マウスの脳血管にレーザーを照射する実験で顕微鏡下で照射した箇所を見ながら作業するためにレーザーの散乱光を見てしまう危険があり、これを改良した。

**改良した保護メガネ** この点を改善するために片目のみ装着できる小型液晶ファインダを購入し、従来から使われている光吸収型保護メガネの片眼に取り付け他方は裸眼で作業ができるようにし、視野の確保をはかりながら片眼でレーザー・ビームが見える保護メガネを試作した。最近リモコンで液晶ファインダが収納されるものをみつけて使用している。顕微鏡の接眼レンズにCCDカメラを取り付けて、液晶ファインダで観察し、直接散乱光を見なくて済む装置も製作した

また暗い場所での使用を考えて映像信号の増幅回路をつくっている。0.0003ルクスという星明り程度で働く高感度CCDカメラからの映像信号をビデオ増幅ICを2段に接続して4倍程度増幅度を上げて暗い場所でも、観察できるシステムを製作し、試してもらっている。

## ホームケージ用摂水摂餌量連続計測装置の開発

自然科学研究機構／生理学研究所／技術課 佐治 俊幸

### 【目的】

実験動物の飲水量を計測することは、動物実験において一般状態観察における基本事項の一つであり、通常は代謝ケージを用いて計測されている。しかし、代謝ケージでは、多数の動物を用いたスクリーニングや行動解析実験に使用するには煩雑すぎ、単位時間当たりの摂水摂餌量を長期間にわたって連続的に測定出来ない。そこで、昨年度の本技術研究会で、摂水量連続計測装置の試作報告\*<sup>1</sup>を行った。本年度は、この装置を発展させ、摂水量および摂餌量の同時連続測定を可能にした装置を試作したので報告する。なお、この装置は、マウスの行動解析に用いられるホームケージ内活動量&社会的行動測定システム\*<sup>2</sup>に組み込むことを目的としている。

### 【方法】

試作した装置は、ケージの左側面から hidroパック\*<sup>3</sup>により給水を行い、右側面から給餌を行う。給水器および給餌器は、ケージ等に接することなく設置されており、その重量は電子天秤により連続的に計測が可能である。なお、hidroパックを用いることにより、摂水時の飲みこぼしはほとんど発生せず\*<sup>4</sup>、給餌器からの食べこぼしは、電子天秤上に落下するため、計測への影響は少ない。電子天秤の計測データは、RS232C→USB と変換され、計算機へ取り込まれる。取り込みは、昨年度の摂水量連続計測装置用に製作した Windows 上で動作する ACCESS と VBA を用いたプログラムで制御している。VBA のみでは、通信ポートの制御が困難であるため、EasyComm\*<sup>5</sup>をインポートして使用した。

### 【結果・考察】

試作直後であるため実験データは少ないが、4週間にわたる連続計測が行え、十分な性能であることが判った。その間のデータの欠落も発生しなかった。床敷きおよび糞の掻き出しがあり、計測に誤差が生じる箇所が発生したが、給餌口の形状を変更することで対処する予定である。また、摂水摂餌量の計測と同時に24時間連続のビデオ撮影も行えたことから、ホームケージ内活動量&社会的行動測定システムと併せて使用可能と思われる。

\*<sup>1</sup> 第30回生理学技術研究会 「マウス、ラット用飲水量連続計測装置の開発」

\*<sup>2</sup> 小原医科産業株式会社

\*<sup>3</sup> Lab Products 製 参照 HP: <http://www.labproductsinc.com>

\*<sup>4</sup> 第41回日本実験動物技術者協会総会 「マウス飲水量連続測定ケージの試作」

\*<sup>5</sup> 木下隆氏作成 参照 HP: <http://www.activecell.jp/>





# 口 演 発 表

## (一般口演)

## 学生実験における酵母の孢子形成条件の検討

筑波大学／生命環境科学等技術室／応用生物化学系 木澤 祥恵

【目的】微生物実験で酵母の供試菌 (*Saccharomyces cerevisiae*, *Hansenula anomala*, *Candida utilis*, *Schizosaccharomyces pombe*) の同定を行う際、生菌を光学顕微鏡で観察して出芽、分裂などの様子を観察するほかに、孢子形成の状態を顕微鏡で観察している。孢子の形成にはスポア形成培地で栄養増殖を抑えながら、なおかつ菌が生育できる条件を作り出す必要があり、現在、応用生物学実験Ⅱ（生物情報学類2年生対象）ではKleyn培地を用いている。しかし、植菌量を多めにして生菌量を調節するなど、初めて微生物を扱う場合には取り扱いが難しく、培地成分の塩類溶液の調製などにも手間がかかり、実際に観察できるプレパラートを作成することが大変難しい。そのため、より扱いやすく、確実に孢子形成を観察できる培地条件を調べる必要があると考えた。

【方法】応用生物化学実験Ⅱで実際に供試菌として使用している4種類の酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*, *Hansenula anomala*, *Candida utilis*, *Schizosaccharomyces pombe*) を用い、*Saccharomyces* 属の孢子形成培地として知られるSPO培地、*Schizosaccharomyces* 属の孢子形成培地として知られるME培地の2種類の平板培地に植菌し、30℃で培養を行った。培養3日後、4日後、5日後にサンプリングを行い、マラカイトグリーンで孢子を、サフラニンで栄養細胞の対比染色を行って顕微鏡で観察した。

【結果及び考察】Kleyn培地では7日以上培養しても受講生20名前後のうち孢子を確認できるプレパラートを作成できた例が1~2人であったが、今回の実験では3日ないし4日で孢子が確認でき、それぞれの孢子の特性を確認することができた。培地組成もKleyn培地より単純で、新たな試薬を購入する必要もなく、今後の実験でも導入しやすいと考えられる。しかし、今回の染色法では、核や生育していない菌などが余分に染色されて孢子かどうか確認しづらいこと、スライドグラス上で染色液を加熱するなどプレパラートの破損や染色液の突沸など安全面での問題もあることなどからまだ改善できる点が多く、今後検討する必要があると考えている。

### 【参考文献・資料】

筑波大学 生物学類 応用生物化学実験Ⅱ

「微生物の取り扱い・基礎実験・応用酵素の検索」2008年度テキスト  
実験農芸化学（下）第3版 東京大学農学部農芸化学教室編 朝倉書店  
スポア実験マニュアル 技報堂出版  
酵母のすべて 系統、細胞から分子まで シュプリンガー・ジャパン

# イムノブロッティングを用いたタンパク質の特異的検出

自然科学研究機構／基礎生物学研究所／技術課 壁谷 幸子

## 【目的】

タンパク質を特異的に検出する手法は数多く報告されているが、中でもイムノブロッティングは、安全かつ簡便に標的タンパク質の定量や存在様式などの解析を行うことができる。

今回、イムノブロッティングにおける時間の短縮化、検出の高感度化などの技術的検討を行ったのでここに報告する。

## 【方法】

イムノブロッティングは、細胞の溶解物中のタンパク質を SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) により分離後、メンブレンに転写し、抗体を用いて標的タンパク質を特異的に検出する方法である。

所属研究室では、酵母を用いた研究が行われているため、酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) を材料に用い、検出対象としては力価の高い抗体 A と低い抗体 B を用いて検討した。

- 1) 短縮化 ; 免疫検出をより迅速に行うために、吸引システムの導入により、抗体反応時間および洗浄時間を大幅に短縮することが出来るといわれている SNAPid システム (Millipore) の検討を行った。
- 2) 高感度化 ; 力価の低い抗体 B の S/N (Signal/ Noise) 比を高めるため、イムノブロッティングを利用した抗体精製法を検討した。

## 【結果】

- 1) 短縮化 ; 従来イムノブロッティングには 4.5 時間かかっていたが、SNAPid システムを用いることにより約半分の 2 時間に短縮することができた。
- 2) 高感度化 ; 抗体 B を精製したところ、非特異的バンドが減少し S/N 比をあげることができ、標的タンパク質を感度よく検出することができた。

## 【考察】

- 1) 短縮化 ; 力価の高い抗体 A を用いた場合には有効であったが、力価の低い抗体 B では難しいことから、抗体に応じた至適濃度の検討が必要であることが分かった。
- 2) 高感度化 ; イムノブロッティングを用いた抗体精製法が有効であることが分かった。ただし、用いる抗体の性質により検出感度が異なるため、感度の上昇幅は一定ではないようだった。また、精製した抗体 B を用いて短縮化を試みたが、感度を維持したまま検出することは難しかった。

総合的にイムノブロッティングにおいて、標的タンパク質の性質およびその特異的な抗体に応じた検出条件の検討が非常に重要であると考えられた。

## 学生実験を活用したタンパク質 2次元マップの作成

九州工業大学／情報工学部 楠本 朋一郎

【目的】学生実験は、研究活動や他の業務を抱える技術職員にとってかなりの負荷のかかる業務であり、この時間を有効に使いたいと考えている技術職員は多いと考える。今回、研究材料として使用している *Corynebacterium glutamicum* の細胞質画分を 2次元展開したものを、学生実験でペプチドマスフィンガープリンティング法によりタンパク質の同定を行い 2次元マップの作成が可能か見極めることを目的とした。

また、2次元電気泳動予想プログラムと現行の 2次元展開法との比較を行い、2次元電気泳動法が抱える問題点を検証した。

【方法】 *Corynebacterium glutamicum* の細胞質画分 100  $\mu$ g を等電点電気泳動膨潤液（7M Urea, 2M Thiourea, 4% CHAPS, 1% Triton, 0.5% IPG Buffer (pH4-7)）に溶解し DE-Steark Reagent を加えた上で IPG ストリップ（13cm）に膨潤させ等電点電気泳動後、SDS-PAGE にて 2次元展開した。泳動後のゲルを CBB 染色し、タンパク質のバンドを切り出した上で、脱染色、システインのカルボキシメチル化処理、トリプシン消化（37℃、1 晩）を行い、TOF-MS にて消化断片の分子量を測定した。また、同時に BSA、cytochrome *c* などの既知のタンパク質も同様の処理を行い、タンパク質の同定は MASCOT 若しくは自前で作成したタンパク質同定プログラム<sup>1)</sup>にて行った。

【結果・考察】学生実験ではゲルの切り出し以降の処理を行った。当初は、未知のタンパク質の同定がほとんど上手くいかなかったが、後半は改善された。MASCOT で同定できなかった場合は、自作のタンパク質同定プログラムで候補を絞り、アミノ酸配列から MS-DIGEST でペプチド断片の分子量を予想させ、観察された分子量セットと見比べ合致するか否か調べさせた。未知タンパク質を同定した場合は、そのタンパク質の性質を調べさせた。

また、2次元電気泳動結果予想プログラム<sup>1)</sup>のタンパク質展開予想図と実際の 2次元展開像を比較すると、塩基性領域のタンパク質がほとんど観察できておらず、等電点電気泳動/SDS-PAGE の 2次元展開法では解析が困難のようであった。

### 【参考文献・資料】

1) 楠本朋一郎、坂本順司 2008. 「生物情報データベースを利用したプロテオーム解析支援ソフトの作成」生物学・生理学技研報 p26-29

## Peptide mass fingerprint 用サンプルの保存条件の検討

自然科学研究機構／基礎生物学研究所／技術課 水谷 健

【目的】 Peptide Mass Fingerprint は、比較的多サンプルの処理が可能ではあるが、手動では Zip-Tip C18 (Millipore) での脱塩処理過程等がボトルネックとなり、一度に処理できるサンプル数に限度がある。切り出したスポット（バンド）をある程度保管できれば、処理日をずらして1枚のゲルからより多くのスポットの解析が可能となる。この為 BSA を用いて SDS-PAGE を行い、バンドを切り出した後のサンプル保管条件について検討した。

【方法】 本検討を行う以前に、2D-E のゲルから打ち抜いたスポットをアルキル還元化・脱水・冷凍保存の後、trypsin 消化を行ったことがあったが、結果は芳しくなかった。この為ゲルでの保管と酵素消化物での保管の、2通りの保管条件で検討を行った。サンプルの BSA は各レーン 40ng を SDS-PAGE ゲルにアプライした。染色は SYPRO Ruby (Invitrogen) を用いた。質量分析は、MALDI-TOF/MASS (REFLEX III / Bruker Daltonics) で行い、解析は M/Z (Proteometrics) を用いた。得られたデータのうち、800 - 2500 m/z のピークで MASCOT (MatrixScience) による検索を行った。

### 【結果】

- ・ゲルでの保管の検討： 2週まではある程度同定が可能であるが、全般的にスコアが低く確実性が低い傾向が見られた。さらに3週ではスコアと確実性が落ち、4週では同定不能となった。
- ・酵素消化物での保管の検討： 濃縮された液体状態では同定が不確実となる場合もあった。完全に乾燥させたものでは、バラツキはあるものの、より良いスコアが出てほぼ確実に同定出来た。

【考察】 今回の検討は実験の流れの中で予備的に行った為、サンプル数も少なく大まかな傾向を読みとることができるだけである。しかし酵素消化物を乾燥させることで、ある程度安定してサンプルを保管する事が出来ることがわかった。吸着等の問題を考えると、量的に少ないサンプルでは難しいが、量のあるサンプルではこの保存でも適用可能であろう。2D-E ゲルから打ち抜いたスポットの中で、量の少ないサンプルは連続的に処理・解析を行い、多いサンプルやポジティブコントロールは酵素消化物で保管して、後日解析といった使い分けでより多サンプルへの対応が可能となるだろう。今後はゲルで乾燥させた場合の検討（アルキル還元化前など）を行い、より確実性の高い保管条件が無いか検討を行う予定である。

# MALDI-TOF MS で用いるマトリックスの選択等測定方法について

奈良先端科学技術大学院大学／研究協力課 塚本 潤子

## 【目的】

現在、マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析計(MALDI-TOF MS)を用いて依頼分析業務を行っている。業務を行う上での課題としてタンパク質の測定における精度の向上、ペプチドの測定での感度の向上が挙げられ、さらに常に一定のサービスを提供するために再現性の高い、簡便な方法の確立も必要となっている。

このためにはマトリックスの選択、サンプル調製方法の検討が重要である。これまでこの検討はマニュアルを基本とし、情報収集、工夫等により適宜改良を行ってきた。

より良いサービスの提供を目指して従来方法を改めて比較検討した。また、これをもとに簡便に精度・感度良く測定するためのマニュアル作成を試みた。

## 【方法】

### 1. ペプチドの測定に使用するマトリックスの検討

マトリックスに $\alpha$ -シアノ-4-ヒドロキシケイ皮酸( $\alpha$ -CHCA), 2,5-ジヒドロキシ安息香酸(2,5-DHB)を用いてサンプル調製後測定し、感度、精度、結晶形状を比較検討した。

### 2. サンプル調整方法の検討

精度よく測定するために均一な結晶の作成方法を検討した。サンプルをマトリックスと混合し結晶化、薄膜結晶化マトリックス上でサンプルを結晶化、薄膜結晶化マトリックス上でマトリックスと混合したサンプルを結晶化する方法で標品サンプルを調整後、結晶を観察し感度・精度への影響を比較検討した。またマニュアル作成のため、結晶の様子を文章化、イラスト化することを試みた。

## 【結果・考察】

$\alpha$ -CHCA を用いた場合、2,5-DHB の場合と比較すると測定感度がよく、結晶が均一であるため測定精度もよくなる。一方 $\alpha$ -CHCA ではイオン化により修飾等が切断されたスペクトルがより強く観測される。このため修飾が予想される場合にはリニアとリフレクタの二つのモードで測定をするか、両方のマトリックスでサンプル調製を行うことが望ましい。

マトリックスにシナピン酸を使用した場合、薄膜結晶化マトリックス上でマトリックスと混合したサンプルを結晶化する方法が均一な結晶が得られ精度よく測定できた。

サービス向上のためには、自らの技術の向上とともに、依頼者の要望を聞くことが重要となる。このため今後は依頼者への意見調査も行いたい。



## LC/Q-TOF MS を用いた微量タンパク質の同定

自然科学研究機構／基礎生物学研究所／技術課 森 友子

【目的】所属する分析室ではおよそ 60 種類の分析機器を維持管理しており、特にタンパク質の解析については、種々の装置を用いての依頼分析として技術提供をしている。その中でも質量分析は、生体内の微量タンパク質の同定や一次構造解析及び、特定の器官に存在するタンパク質の網羅的な解析において、必須の分析手法の一つである。

今回は、2年前に分析室に導入した、液体クロマトグラフ／四重極-飛行時間ハイブリッド型質量分析装置 (LC/Q-TOF MS)の概要と、それを用いた微量タンパク質の分析に関する注意点などについて報告する。

【方法】LC/Q-TOF MSを用いたタンパク質の同定は、LCから溶出してくる消化ペプチドの質量(MS)を判別して自動的に測定モードを切り替えて、ペプチドを断片化したMS/MSスペクトルを取得する DDA (Data Directed Analysis) 法で行った。これはタンパク質を高感度かつ確実に同定ができる優れた手法であると言われている。

試料としては市販の標準タンパク質(エノラーゼ)のトリプシン消化物を用い、量(25fmol, 50fmol, 100fmol, 500fmol, 1pmol)を変えて測定した。サンプル量によるピーク強度の違いと、そこから得られる同定結果を比較検討した。

【結果と考察】標準タンパク質 (エノラーゼ) の測定結果、50fmol でも同定はできたが、十分な信頼性のある同定には 100fmol は必要であった。このことから未知試料の測定を行う際には、依頼者が準備するサンプルとして最低 100fmol は必要であると思われる。しかし、未知試料はタンパク量を見積もる事が難しく、予想に反して純度が低い場合や量が少ない事があるので、注意が必要である。

タンパク質の同定は測定したデータの質量精度に影響される。サンプル量が充分にある場合は質量精度が低い (誤差数十 ppm) データでもタンパクの同定を行うことができる場合がある。しかし、サンプルの量が少ないとタンパク質の同定は極端に困難となる。これを質量誤差が 10ppm 以下になるように装置をキャリブレーションし、再測定を行うと予想の結果を得ることができた。このことから特にサンプル量が限られた未知試料の同定には特に質量精度の厳密さが要求されることが判った。

また、逆にサンプル量が多すぎても良好な同定結果を得ることが出来ない場合がある。サンプル量が必要以上に多いと LC から長時間同じペプチドが溶出されるので、質量分析装置は同じペプチドの MS を何度もとらえて MS/MS 測定を行うことになる。そのため能率のよい分析が出来ないばかりでなく、量の多い成分の陰に隠れて、微量なペプチドのデータを取り逃がす危険がある。適切なサンプル量と高い質量精度をもって測定することが必要である。

## 免疫組織化学および蛍光観察におけるピットホール

高知大学／教育研究部／医療学系／医学部門 林 芳弘

【目的】免疫組織化学法は、ヒトや実験動物の組織や細胞に存在するタンパク質、糖鎖、ホルモンなどを酵素反応物や蛍光物質として検出するものである。今日では、フナコシなどのウェブサイトや分厚いカタログで検索すると大部分の抗体は、商業的に入手することが可能であるが、特異的抗体を使用しても、陽性像の間違った解釈をしている著明雑誌の論文も見受けられる。また、免疫組織化学的な手法を用いた研究を始めて間もない研究者は、偽陽性を陽性と誤認識することも多い。今回、免疫組織化学およびその蛍光観察における注意点と EGFP など蛍光物質発現トランスジェニックマウスや蛍光ラベルした細胞の移植実験などで慎重な判定を必要とした実際例について示す。

### 【方法】

ヒトおよびマウス、ラットの組織を実験に用いた。

#### ①組織標本の免疫組織化学による偽陽性と固定法・検出法による差

- 1) 内因性物質の影響（ペルオキシダーゼ, ビオチン, アルカリフォスファターゼ）など
- 2) 固定液による影響（ホルマリン液・Zinc Fixative solution; BD biosciences）など

#### ②初代培養細胞を用いた *in vitro* 蛍光免疫細胞化学

ラット胎齢 13.5 日より分離した肝芽細胞を培養し、化学固定後免疫蛍光染色を施行

#### ③蛍光標識を利用した動物実験例

- 1) EGFP 発現トランスジェニックマウス肝障害モデル
- 2) 骨髄細胞の蛍光標識細胞の移植

#### ④蛍光免疫組織標本の長期保存後の蛍光観察に使用可能な封入剤の検討

- 1) Vectashield (Vector Lab)
- 2) Fluorescent Mounting Medium (Dako)
- 3) CC/Mount (Diagnostic BioSystems) など

### 【結果】

免疫組織化学の観察において、内因性物質による偽陽性や固定液・固定法の間違った使用方法による陽性像の陰性化が起こることがあった。また、蛍光免疫組織化学およびその蛍光観察においても、自家蛍光や非特異的な反応による偽陽性像が観察された。一方、EGFP 発現トランスジェニックマウスの肝障害モデルの蛍光観察では、偽発現蛍光像が観察された。蛍光免疫組織化学後の封入剤の検討では、封入剤や蛍光標識物質により、陽性蛍光強度に与える影響に差が認められた。

### 【考察】

蛍光免疫組織化学的手法や EGFP など蛍光物質を用いた実験系で得られた結果を正しく判断するためには、基礎的な知識を身につけることが必要不可欠である。

## 小規模ミルクプラントでの Koch 法とスタンプ法による 製造環境の微生物検査

帯広畜産大学／畜産フィールド科学センター 村上 文朗

【目的】帯広畜産大学乳製品工場においてはパック牛乳製造工程の衛生管理を HACCP に準拠して実施している。HACCP は一般的衛生管理（PP）の徹底が基本で、その一つに環境衛生管理がある。特に製造環境の落下微生物数については厚生労働省が設定した衛生規範にその基準値が示されている。当工場は施設の老朽化に伴い 2008 年 2～3 月に HEPA フィルターを取り入れた換気システムの導入や床材の更新による排水性の改善などの施設改修を行った。それに伴い製造工程の作業動線も改善した。そこで今回、改修前後における施設改修の効果を検証することを目的として Koch 法とスタンプ法による環境微生物の調査を実施したので報告する。

【方法】試験期間は施設改修前の 2007 年 10～12 月と改修後の 2008 年 10～11 月の 2 期間とし、以下の項目について比較した。パック牛乳製造工程を衛生管理水準により汚染作業区（受入室）、準清潔作業区（殺菌室）、清潔作業区（充填室）に区分し、これら 3 区画において製品製造時に Koch 法による落下細菌を公定法により 3 回、開放時間を延長して 2 回測定した。衛生規範に従い 3 区画の落下細菌数（標準寒天培地）と、特に清潔作業区については落下真菌数（CP 加ポテトデキストロース寒天培地：栄研化学株式会社）も測定した。また、製造開始前の床面の衛生状態については、前日の製造後に床洗浄を実施して、当日まで乾燥状態にした床面を、スタンプ法（ペタンチェック 25：栄研化学株式会社）により一般細菌数と大腸菌群数について 2 回測定した。

【結果】衛生規範の評価基準により落下細菌と真菌数を評価した。両試験期間共に、3 区画全てにおいて基準内であった。特に清潔作業区については開放時間を延長した結果において、改修前後の落下細菌数が寒天培地あたり平均  $4.63 \pm 2.34$ CFU から  $0.50 \pm 0.71$ CFU、真菌数が寒天培地あたり平均  $2.00 \pm 1.00$ CFU から  $0.75 \pm 1.09$ CFU へ有意 ( $P < 0.05$ ) に減少した。床面の衛生状態については、一般細菌数の発育レベルの 6 段階（0～5）評価において、改修前後で汚染作業区は平均 2.75 から 1.13、準清潔作業区は平均 3.38 から 1.13、清潔作業区は平均 1.5 から 0.5 と 3 区画全てにおいて有意 ( $P < 0.05$ ) に減少した。なお、大腸菌群については改修前の準清潔作業区において 1 コロニー確認されたが、改修後には確認されなかった。

【考察】施設改修と作業動線の改善により環境微生物が明らかに減少し、改修の効果が確認された。

### 【参考文献・資料】

- 1) 栄研グループ：イーズ No. 013, 014 栄研化学（1999）

## 野生霊長類の薬用利用植物に関する化学的研究 ： *Trema orientalis* の抗寄生虫成分を例に

京都大学／農学研究科 山口 加乃子

### 【目的】

新しい天然薬剤を開発する一つのアプローチとして、熱帯アフリカに棲む野生チンパンジーが薬用的あるいは非栄養的に利用している植物に注目した。これら植物の中には、人の健康の維持や生体機能調節、さらには各種疾病予防に有効である成分が頻度高く見つかってきている。そこで活性物質を有する植物から有効成分を精製単離し、*in vivo* における試験をおこない有効性をみる。

### 【方法】

(1) 使用した材料や手法（試薬、機器など）を選択した理由

精製・単離方法は、ほぼ定法に則って有機溶媒を使用し、単離した化合物は NMR, MS, IR 等を用いて化合物の同定をした。

(2) 実験・測定や作製の過程において苦勞・工夫した点

単離した物質を *in vivo* 試験をおこなうため、大量に合成しなければならない。(ため、をとる) 最初はより緩和な反応をする酵素反応を試みたが、反応が進まず時間的制約もあり断念した。その後反応を化学合成に切り替え目的物を得た。

### 【結果】

得られた化合物を、住血吸虫を感染させたマウスに腹腔内投与したところ、1 回投与したものより 3 回投与したもののほうが、明らかに住血吸虫の産卵抑制効果があった。

### 【考察】

投与方法、常用的にこの化合物を摂取した場合はどのような効果が期待できるか。

## 次世代 DNA シークエンサーの運用における 様々な問題点と解決に向けた試み

自然科学研究機構／基礎生物学研究所／技術課 山口 勝司

【目的】基生研分析室に、次世代 DNA シークエンサーが設置されるに至った。次世代 DNA シークエンサーはこれまでの DNA シークエンサーとは方式を全く異にするものであり、そのハイスループットな解析量が大きな特徴であり魅力となっている。その応用法は多岐に渡り、単なる DNA シークエンサーではなく、むしろゲノムアナライザーと捉えるべきものと言える。しかし、まだ最先端的な機器であるため、いずれの場所においても十分な運用実績がなく、多くの課題を抱えている。今回の発表では、次世代 DNA シークエンサーのシステムと応用法を説明し、次世代 DNA シークエンサーを運用していく上で、現状と問題点、その解決に向けた試みを紹介したい。

【方法】次世代 DNA シークエンサーの解析の手順として、①シークエンスライブラリーの作成 ②次世代 DNA シークエンサー本体の運用 ③得られた結果の解析が挙げられる。各手順に様々な課題が山積みの現状であるが、ここでは主にシークエンスライブラリー作成の課題を挙げる。次世代 DNA シークエンサーの解析には、一定量以上の DNA ライブラリーが必要であり、多くの場合は PCR 増幅が必要になる。しかし PCR 増幅は配列によるバイアスの宝庫になりうる懸念があり、そのバイアスを如何に抑え、効率良く定量的に増幅するかが課題である。そこでまず定量 PCR を用い、各段階のサンプル量を定量し、その定量値を参考にしながら実験を進めるようにした。

【結果・考察】市販の定量 PCR 機を用いることにより、各ステップのサンプル量を正確に見積もり、その量に応じて増幅サイクル数や、次のステップへの持ち込み量を決定することが可能であった。また、さらにこの方法は各操作段階の回収効率を知り、個々のステップのさらなる改善策を講じていく上でも有効であると考えられた。発表ではこれ以外の次世代シークエンサー運用に関する問題点と、解決に向けた方策を含めて紹介したい。

### 【参考文献・資料】

特集「超高速シークエンスが開く次世代の生命科学」, 実験医学, 2009年1月号  
ゲノムサイエンスを支えるシークエンステクノロジー -DNA シークエンシングの新展開を臨む-, 山口勝司, 生物学技術研究会報告 第19号 p.46-55, 2008



# 話 題 提 供



## ライトシート型顕微鏡「DSLIM」による 三次元ライブイメージング

自然科学研究機構／基礎生物学研究所／技術課 小林 弘子

近年の様々な顕微鏡、及び蛍光プローブ等の開発により、生物試料を生きたままで、細胞の挙動や、遺伝子・蛋白質の発現を追跡することが可能になった。欧州分子生物学研究所 (EMBL) の Ernst Stelzer 博士らが 2004 年に開発した、ライトシート型顕微鏡「SPIM」 (Selective plane illumination microscope) は、生体試料を傷つけずに深部まで観察できる新しい顕微鏡である。所属する研究室では、自然科学研究機構と EMBL との間の共同研究協定に基づき、SPIM の改良型であるライトシート型顕微鏡「DSLIM」 (Digital scanned laser light sheet fluorescence microscope) を導入し、運用を開始している。

ライトシート型顕微鏡では、非常に薄いシート状の励起光を試料に照射し、その光路と直角に配置した観察用対物レンズを通して、CCD カメラで照射層からの蛍光画像を検出する。励起光は観察用対物レンズの焦点面だけに照射され、一枚の平面画像 (XY 画像) が得られる。立体画像 (XYZ 画像) を取得するには、試料をライトシートに対して移動させて撮影した各照射層からの蛍光画像を統合する。SPIM ではシリンドリカルレンズを用いてシート状の励起光を作成しているが、DSLIM ではガルバノミラーを用いた高速スキャンによって擬似的にシート状の光を作成することで、より均一な強度の照射光が得られる。

観察試料は、蛍光標識された胚や組織等の生物試料をそのまま、あるいは固定後、直径数 mm の円筒形のアガロースゲルに包埋して調製する。試料の入ったゲルは生理的緩衝液に浸されているので、生きたままでの観察が可能になる。また、試料を回転することが可能で、同一試料について多方向から立体画像 (XYZ 画像) を取得し、それらを重ね合わせることで比較的大きな生体試料 (数 mm 程度) についても、その全体像を構築できる。

ライトシート型顕微鏡では、焦点以外の部分に光が当たらないため弱い光で試料の深部まで観察が可能になり、褪色や照射光による細胞へのダメージ (光毒性) を最小限に抑えられ、胚の発生過程の追跡などの長時間のライブイメージングが可能になる。また、短い露光時間で十分なシグナルを得ることができるので、速いタイムラプス測定も可能である。このように DSLIM は、三次元ライブイメージングにおいて、従来の共焦点顕微鏡にみられる弱点を解決できる顕微鏡である。

現在までに、メダカ、ゼブラフィッシュの胚及び稚魚、固定したマウス初期胚等について観察を行っている。今回は、DSLIM によるライブイメージングについて、その現状と今後の課題について紹介する。

参考文献: Huisken J, *et al.*, Science 305 (2004) 1007-1009

Keller P J, *et al.*, Science 322 (2008) 1065-1069

# ポスター発表

## P1

# fMRI 用刺激装置の製作・改造

自然科学研究機構／生理学研究所／技術課 伊藤 嘉邦

【目的】 出向先の心理生理学研究部門では、Windows PC 上で動作する Neurobehavioral Systems 社の Presentation を fMRI 実験の刺激提示用ソフトウェアとして使用している。Presentation は fMRI 装置を用いた脳機能イメージング研究などにおいて、刺激提示の制御に用いられるソフトウェアである。画像や音を刺激に用いる心理学的な実験では、この Presentation だけで実験を行うことができる。しかし、画像以外の光刺激や電氣的な刺激を行いたい場合には、別に刺激装置を必要とするため製作を行っている。

【方法】 Presentation は、PC のプリンタポートからデジタル出力を行うことができる。この出力を使って刺激を行うことができるように、これまでに 3 台の刺激装置の製作および改造を行った。①LED と光ファイバーを使った光刺激装置 ②窒素ボンベと電磁弁を使ったエアープフ式刺激装置 ③PIC と DA コンバーターを使った電気刺激装置

【参考文献・資料】 HOW TO USE Presentation – fMRI 実験刺激提示用ソフトウェア  
「Presentation」入門 – ATR 脳活動イメージングセンター

## P2

# Window Discriminator の製作

自然科学研究機構／生理学研究所／技術課 戸川 森雄

【目的】 中脳上丘による視覚情報認知機構を解明するためラットに様々な視覚刺激を提示し、それに対する細胞応答を上丘から細胞外記録する。ここで検出した神経細胞の活動電位（スパイク）をコンピュータに取り込む際にウィンドウディスクリミネータが必要となる。この装置は、神経細胞の活動電位をパルス出力としてコンピュータに出力する装置である。今回は、システムを簡便に安価に構成する目的から実験に適したスパイク弁別を可能にするウィンドウディスクリミネータの製作を行ったので報告する。

【方法】 スパイク弁別方法は、波形の振幅と時間基準を基に分類し、それに対応して 5V のパルスを出力する。振幅レベル、時間軸のウィンドウ幅は 10 回転のポテンショメータを用いて調整を行い、モニタ出力により信号波形、振幅レベルライン、ウィンドウ、出力パルスを同時表示し、その状態を監視することができる。

【結果】 動作確認をオシレーターの信号を使いオシロスコープで出力波形を確認した。その結果、出力パルス及びモニタ用出力も正常であることが確認された。

## P3

### MRI 計測用樹脂製マウス頭固定装置の製作

自然科学研究機構／生理研研究所／技術課 小原 正裕

【目的】高アンモニア血症により発症させたマウスの脳浮腫を、MRI により継時的に観察するために樹脂製の頭部固定装置を製作した。

【方法】MRI 装置で使用するには非磁性材料で作製しなければならない。そこで本体と各パーツは軽量で加工性が良く、耐水・耐薬品製性に優れ、90℃以上の温度に耐えるデルリンを使用した。ネジは素材的に柔軟でねじれや曲がりにも強いポリカーボネイトを使用した。基本的な形状は、市販の頭部固定装置を参考に、マウス用として全体の大きさ、イヤバーの高さ等を決定した。信号検出用コイルは専門メーカーに設計と製作を依頼した。

【結果】本装置製作前に簡易的に撮影したマウス頭部の MRI 画像と本装置で撮影した画像を比較した結果、今回製作した樹脂製頭部固定装置と新規に購入したコイルにより鮮明な画像が得られた。今後は最適な撮影条件と計算アルゴリズムを割り出すことにより、マウス脳に誘発させた脳浮腫の観察に活用していく予定である。

## P4

### LED を用いた小型蛍光光度計の開発

徳島大学大学院／ヘルスバイオサイエンス研究部／先端医研 庄野 正行

ソシオテクノサイエンス研究部／知能情報工学科 石田 富士雄

【目的】近年 LED の発展は世界的に広がっており、その用途は各種様々である。今回我々は、UV-LED を用いて小型軽量の蛍光光度計を開発し、携帯できる便利な蛍光光度計を開発した。

【方法】UV-LED を光源とし、新しい光学システム（試料の周囲から受光する）を考案した。受光素子は安価で安定性のよい CdS を採用した。電源は 9V 乾電池を使用し、マイコンによる LED 光源起動時のノイズ除去処理を行い蛍光強度はリアルタイムでデータを USB 接続でコンピュータへ送信することを可能にした。

【結果】LED を用いることで、小型化と省エネルギーに成功した。また、新しい光学システムを開発したことで、動く微生物の安定した蛍光測定が可能になった。

【考察】小型軽量のため奥地へ持参できるため水質調査が可能であり、また酵母や麹菌の活性を調べることで食品の品質管理に貢献できることを期待できる。

P5

## AVR を用いたアンプチェッカー回路の製作

自然科学研究機構／生理学研究所／技術課 佐藤 茂基

【目的】脳波など微弱信号を扱うとき、信号増幅器（アンプ）やフィルタ回路などの装置を使用し、多くの場合その中には OP アンプ回路が使用されている。所属する部門でも脳の機能解明を目的として脳波を約 100 カ所から同時に計測し実験を行っている。しかし、多数のアンプ回路がある為、回路故障などのトラブル発生率は高くなる。そこで多チャンネルアンプの動作チェックをし易くする為の回路を製作したので報告する。

【方法】信号不調を見つけやすくするには、複数のチャンネルに同時に検査信号を与えるのではなく、各チャンネルを切り替えてチャンネル毎に検査信号を与えた方が良い。そこで検査信号を各チャンネルに切り替えながら送り出力を確認する方式にした。チャンネル切り替え制御にワンチップマイコンである ATMEL 社の AVR (ATTiny2313) を用い製作した。

【結果及び課題】実際に使用した結果、信号不調場所を容易に見出すことが出来た。ソフト側でボタンのチャタリングを回避しているが、まれにチャタリングと思われる飛び現象が発生しているので、今後修正する予定である。

P6

## 実演用視覚刺激システムの開発

自然科学研究機構／生理学研究所／技術課 竹島 康行

今年度開催された生理学研究所一般公開のイベントとして感覚運動調節部門(柿木教授)では、前回(平成 17 年度)と同様に「嘘発見機」の実演をおこなった。これは、頭部(前頭部:Fz、中心部:Cz、頭頂部:Pz)に脳波電極を付けた被験者に数種類の刺激を与えて、ある特定の刺激に対してのみ識別をおこなうと、その刺激に対しては約 300 ミリ秒のところに P300 と呼ばれる陽性の反応が現れる現象を用いている。実演では被験者に予め識別用の画像を 1 つ覚えてもらい合計 4 つの画像を提示する。装置の構成は脳波をリアルタイムで加算平均ができる脳波計(日本光電社製)と被験者に画像を提示するパソコン(以下、視覚刺激装置とする)を用いる。開発した視覚刺激装置は、4 種類の画像(絵や写真)をモニターに繰り返しランダムに表示して、画像の表示に合わせて脳波計にトリガ信号(データを記録するタイミングを示す信号)を出力する。今までに一般公開の他にも何度か実演をおこなっており、その度にユーザインタフェースなどに改良を施してきた。今回、視覚刺激装置と一般公開用に付け加えた機能について報告する。

P7

## 液体ヘリウム急速凍結試料作製時の工夫

岩手医科大学／共同研究部門／バイオイメーjingセンター 花坂 智人

【目的】私達は液体ヘリウム温度での金属圧着法による急速凍結を実施している。この際銀製の試料台を使用するため凍結置換・試料作製の過程で試料台からの剥離が必要である。しかし、試料と試料台が密着しているためこれらを剥離することが難しく、作業中に試料が砕けることがしばしばである。そこで、これを防ぐため急速凍結の際に試料と試料台の間に金箔を挟む試みを行ったのでその結果を報告する。

【方法】あらかじめ試料台と同程度の大きさにカットした金箔を試料台に Tissue-Tek を用いて固定し、その上に試料を載せ、急速凍結を行った。その後、オスミウム・アセトン系により凍結置換を行った。重合した試料をトリミング後、超薄切し、二重染色を施し、電顕観察した。

【結果】金箔を使用することで、今までより短時間で剥離することが可能となり、また試料への損傷も抑えることができた。

【考察】液体ヘリウム温度での金属圧着法による急速凍結をする際には、試料と試料台の間に金箔を挟むと確実な試料回収が可能となり、作業効率が向上する。

P8

## 透過型電子顕微鏡用細線位相板による位相差観測

自然科学研究機構／生理学研究所／技術課 大河原 浩

【目的】現在使用されている透過型電子顕微鏡用位相板は炭素薄膜で構成されているため、薄膜を通過する際の電子線の損失が問題となっている。そこで、統合バイオサイエンスセンター 永山國昭教授は損失の少ない細線位相板を提案している。今回、製作した細線位相板により位相差を観測できたので、その観測法と結果について報告する。

【方法】細線位相板は磁性体でできているため、無磁場に近い環境の位相差電子顕微鏡トランスファーレンズ内に取り付ける。このとき、位相板がトランスファーレンズ内で後焦点面上に来るように調整する。後焦点面において細線位相板を集束透過電子線に近付け、標準試料を観察し、そのフーリエ変換像から位相差を観測する。細線位相板は集束イオンビーム装置を用いて極細線加工したニッケル磁性体であり、白金で強度を上げている。

【結果と考察】上記の方法により位相差を観測できた。また、ニッケルがなく高温条件下では位相差が観測されなかった。しかし、位相の変化が一定にならないものもあり、帯電原因物質が位相板に付着していることが考えられた。



## 電子顕微鏡観察の魅力発信の試み

東北大学大学院／農学研究科／電子顕微鏡室 伊東 久美子

電子顕微鏡を利用したことのない研究者にとって、電子顕微鏡観察とは、試料作製が面倒で、作製にお金がかかり、うまく見えるかどうかもわからない、というネガティブなイメージが先行し、電子顕微鏡室の敷居は高くなってしまっているようである。研究科共通施設である電子顕微鏡室は、特殊実験室ばかりが並び、常駐職員が他にいない、研究棟一階の薄暗い所に設置されている。物理的にも足が遠のくのである。

論文作成をしなければならない学生・教職員の場合は、結果が出るかどうかわからない観察をしているため、学生実験（結果が出るのが前提となっている）で電顕室を利用した学部3年生にアンケートを行い、「電子顕微鏡観察の前後でどのような感想を持ったか」を調査してみた。その結果、観察前は「難しい・楽しみ」という印象の学生が多く、観察後は「思ったより簡単・面白かった」という感想を持つ学生が多かった。来年度からは、より興味関心を持ってもらえるよう、担当教員の先生と相談しながら、学生実験資料も提供したいと考えている。

電子顕微鏡で素晴らしい写真を撮影するのは確かに難しい。しかし、まずは電子顕微鏡室に足を運んでもらえるよう、電子顕微鏡観察の魅力を発信するために、廊下へ掲示板を設置し、電子顕微鏡のしくみや電顕写真の公開などの試みを行っている。

## バクテリオファージの TEM 観察

東京工業大学／技術部／バイオ技術センター 山道 桂子

【目的】技術部バイオ技術センターとして、学内提供サービス拡張のために、電子顕微鏡観察技術の修得を目指している。電子顕微鏡について初歩的な取扱いから、サンプル調製に係る周辺装置使用、サンプル調製等を学び、学内の様々な研究室からの電子顕微鏡観察依頼を受けられる体制にすることが最終目標である。

【方法】透過型電子顕微鏡(TEM)の基本的取扱い等については、メーカーの講習会や学内関係者より学んだ。また、研究室より下水から採取したバクテリオファージのサンプル提供を受け、TEM 観察を行った。サンプル調製法としては、グリッドの親水化処理の後に、ネガティブ染色を行った。

【結果】親水化処理について種々の検討を行い、サンプルの TEM 観察に適した最適条件を決定した。観察結果より、サンプルは伸縮性の尾部を持つことがわかった。

【考察】今後は、TEM 観察技術の向上とともに、他の生物種も観察できるよう、様々な前処理技術を学んでいくことが必要である。



P11

## Chamber と灌流システムの開発

自然科学研究機構／生理学研究所／技術課 高橋 直樹

【目的】所属する部門では興奮性シナプス伝達を制御する分泌蛋白質 LIG1 や BDNF の分泌制御機構の解析を行っている。これら一連の研究において、初代培養神経細胞を長時間に渡り蛍光顕微鏡下で観察し、自由自在に 1) 電気刺激を与える、2) 薬剤を添加（灌流）することができる培養マイクロチャンバーの開発は必要不可欠である。しかし、既存の製品では実際の実験用途には耐えるものはない。そこで、今回これらの要件を満たすマイクロチャンバーの作成に取り組んだので紹介する。

【方法】Chamber は蓋部と底部に分かれており、底部に Coverslip を置き、その上に O リングを重ねて蓋部を上から被せてネジで固定する。実験は Coverslip で培養したラットの海馬神経細胞に電気や薬剤で刺激を与えながら共焦点顕微鏡で蛍光イメージングして記録する。電気刺激はプラチナ線を通して、薬剤による刺激は灌流システムで行う。

【結果】Chamber、灌流については改良を重ねて徐々に実用に耐えるものが出来ているが、現時点では試行段階である。

P12

## 超音波発生機器による迅速免疫染色装置の開発

富山大学／医薬系技術部／病理診断学講座 八田 秀樹

【目的】病理診断においては免疫染色法が補助的診断法として定着している。種々の特異抗体を用いて抗原の発現を可視化する方法であり、従来の形態学的情報に加えて機能的情報も得られるため、診断確定には大きな武器となる。しかしながら、免疫染色は通常 1 時間以上を要するため、診断のスピードが要求される術中迅速診断への応用は現状では容易ではない。我々は予備検討で、市販の治療用超音波装置を応用し、免疫染色の所要時間を 10 分以内にまで短縮することに成功し、平成 18 年度生理学技術研究会で報告した<sup>1)</sup>。今回、一度に複数のサンプルを同時に検討できる免疫染色専用の特殊な超音波装置を開発し、術中迅速診断用の免疫染色システムの確立を試みた。

### 【参考文献・資料】

1) 八田秀樹；術中迅速病理診断をサポートする新技術 - US による超迅速免疫染色法の開発と臨床応用 - 生理学技術研究会報告 2007 (29) : 31-34

本研究は、平成 19 年度新商品・新事業創出公募事業（富山県新世紀産業機構／第 2 グループ：バイオ分野）の助成金により実施した。

## P13

### マウスの脳脊髄液の採取および脳室への急性投与実験

自然科学研究機構／生理学研究所／技術課 山本 友美

【目的】Prprt3 は、同一遺伝子からスプライシングの多様性により、代謝型受容体と考えられる膜蛋白とその細胞外領域のみからなる分泌蛋白がつくられる興味深い分子であるが、その機能は全く未知である。これまでに、特異抗体を用いた組織化学的解析により、受容体型 Prprt3 蛋白が小脳、膵臓、精巣、心臓等に存在し、分泌型 Prprt3 蛋白が、脳室の脈絡膜上皮細胞でつくられることを示唆する予備的データを得た。そこで、今回、脳脊髄液や脈絡膜を採取して、分泌型 Prprt3 の脈絡膜や脳脊髄液における発現を解析し、また、その機能解明に向けて、脳室への過剰量蛋白や抗体の急性投与実験を行った。

【方法】ジエチルエーテル麻酔下で、マウス脳室に針を刺入し、(1)脳脊髄液の採取、(2)脳室内への分泌型 Prprt3 蛋白もしくは抗分泌型 Prprt3 抗体の投与、(3)採取した脈絡膜を用いた初代培養と免疫染色を行った。

【結果】(1)分泌型 Prprt3 蛋白が脳脊髄液中に分泌されていること、また、(2)初代培養下でも、脈絡膜でつくられ分泌されていることが確認された。しかし、(3)蛋白の過剰投与、および抗体の投与のいずれによってもマウスの行動に明瞭な変化はみられず、分泌型 Prprt3 の機能の解明には至らなかった。

## P14

### DAB を用いたチトクローム c オキシダーゼ (CO) と バイオサイチンの二重染色

自然科学研究機構／生理学研究所／技術課 石原 博美

【目的】神経細胞の微細な構造を知る為に、バイオサイチン染色が用いられるが、背景を CO 染色する事で神経核等の詳細な構造が明瞭になり、細胞の局在の識別も可能になる。二重染色は、Yabuta and Callaway (1998) の論文を参考にし、プロトコールを試したが、CO 染色のバックグラウンドが高くなり、バイオサイチンを入れた細胞が見にくくなる等の問題点も残っていた。そこで、CO とバイオサイチンの二重染色についてさらにプロトコールの改良を行った。

【方法】マウス脳スライスは、バイオサイチンを神経細胞に導入した後、4% PFA に 1 晩 (4°C) 浸漬させた。翌日、0.1M PB でスライスに残った固定液を約 1 日かけて十分に洗浄し、後日、Yabuta and Callaway (1998) のプロトコールを参考に二重染色を行った。今回、二重染色の改良の為、内因性ペルオキシダーゼ活性の阻害および ABC 反応について条件検討を行った。

【結果】Pre incubation (0.75% Triton X-100 in 0.05M PBS) 1hr + ×1 ABC 1hr で、比較的バックが低く細胞の樹状突起までコントラスト良く見える染色像が得られた。

【参考文献】Yabuta NH, Callaway EM (1998) Visual Neuroscience 15,1007-1027.

P15

## GAD67-GFP ノックインマウスを用いた脊髄後角膠様質 GABA ニューロンの形態学的解析

九州大学医学部／統合生理学分野 水口 洋子

【目的】脊髄後角膠様質細胞は形態的に大きく4種類に分類され、興奮性及び抑制性介在ニューロンから構成される。多様なニューロンから構成される膠様質において、GABA産生（抑制性）ニューロンがどのような形態学的特徴を持つか明らかにした。

【方法】GAD67-GFP ノックインマウス脊髄から作製したスライス標本を用い、単一ニューロンにパッチ電極から neurobiotin tracer を注入し、ABC法で検出を行った。

【結果】Neurobiotin tracer を streptavidin-Texas red で検出して形態学的な同定を行った。形態学的に分類された全4タイプのニューロンのうち2タイプにおいて、GFP陽性のGABA産生ニューロンが観察された。

【考察】パッチクランプ法により電気生理学的特徴を解析し、抑制性介在ニューロンの形態を同定することが可能となった。今後、機能との相関をより明確にするために、細胞の微細構造を数値化し、電気生理学的データと合わせてデータベース化する必要がある。

P16

## 逆行性トレーサーとISHによる三重蛍光染色法の検討

自然科学研究機構／基礎生物学研究所／技術課 大澤 園子

【目的】大脳皮質の神経細胞は様々な種類の細胞から構成されている。これらの神経細胞を分類するために、投射タイプと遺伝子発現を指標に実験を試みている。

今回は、逆行性蛍光トレーサー(Fluoro Gold)と、2種類のプローブを用いたISH(in situ ハイブリダイゼーション)の合計3色で染め分けることを目的とする。

【方法】トレーサーとISHの二重染色プロトコール、および二重蛍光ISHのプロトコールは既に確立しているので、この2つを組み合わせる。使用する抗体の動物種が同一であるため交叉反応が起こる可能性があること、検出する蛍光の色が重なっていることなどの問題を解決するため、いくつかの方法を比較した。

①トレーサーの写真を取り込み、その後二重蛍光ISHをする、②動物種が重なっている抗体を使用せずに反応系を変更する、③抗体を使用する前に血清でブロックする。

【結果および考察】③の方法を用いることで、抗体の交叉反応も起こらず、3種類のシグナルを検出することができた。検出条件や反応時間など、さらに改良を進めたい。

P17

## ショウジョウバエ神経回路形成において軸索の標的認識 およびシナプス形成に関わる遺伝子の探索と機能解析

国立遺伝学研究所／技術課 谷口 美佐子

【目的】ショウジョウバエ神経回路の形成過程において軸索の標的認識またはシナプス形成の過程に関わる遺伝子を探索する。

【方法】ショウジョウバエゲノムの中から解析可能であった410の細胞表面タンパク質をそれぞれ体壁筋のすべてで発現させ、運動神経の投射パターンおよびシナプスの形態を観察する。

【結果】30のタンパク質が強度の投射異常を誘発し、68のタンパク質が高頻度でシナプス形態の異常を誘発した。現在興味深い表現型を示した遺伝子の変異体の作製と解析を行っているのでその方法と進行状況を報告する。

P18

## CT Scan による組織中微小石灰撮影と CT Scan が RT-PCR に及ぼす影響についての検討

島根大学／<sup>1</sup>医学部／循環器・呼吸器外科、<sup>2</sup>医学部／解剖学講座／発生生物学  
<sup>3</sup>総合科学研究支援センター／生体情報／RI 実験分野、<sup>4</sup>医学部附属病院／病理部  
<sup>1</sup>梅 とも子、<sup>2</sup>宇田川 潤、<sup>3</sup>田邊 洋子、<sup>3</sup>松本 健一、<sup>4</sup>丸山 理留敬、<sup>1</sup>織田 禎二

【目的】手術中採取組織中微小石灰の存在の有無を確認するためにCT Scanを行い、その組織中遺伝子発現解析の可否を検討した。【方法】RNA安定化試薬浸漬をした組織中の石灰化を確認するために卓上型マイクロCTスキャナによる撮影を施行した。その組織からRNA抽出、RT-PCR、PCR (GAPDH)を行った。【結果】1)組織中微小石灰はCT Scan 8分短時間照射でも画像上で確認可能であった。2)CT Scan60分長時間照射後組織でも抽出RNA濃度、純度とGAPDH PCR産物の電気泳動バンドはCT未照射組織のものと比較して大差はなかった。

【考察】今後は複数標的遺伝子でのPCRを試行し、さらに検討をすすめていく。CT照射後組織が標的遺伝子発現解析に使用できれば、組織石灰化研究の一助となる。

P19

## 衝撃波による植物細胞破壊現象の画像解析評価

熊本大学／衝撃・極限環境研究センター 嶽本 あゆみ

【目的】衝撃波は伝播媒体に密度変化が存在すると、伝播の過程で衝撃波である透過波と膨張波である反射派とに分かれる。反射波による引っ張り力が引き起こす高速破壊現象はスポーリング破壊と呼ばれる。この現象は、植物の細胞壁や組織を破壊する。本研究の目的は、水中衝撃波を負荷した植物細胞の走査型電子顕微鏡(SEM)観察とその画像解析によって、衝撃波圧力に対する植物細胞の選択的破壊効果を評価することにある。これを明らかにし、撃波負荷技術を利用した植物細胞内有用成分の抽出などの、新規技術の基礎データとなることが期待される。

【方法】ひも状爆薬である導爆線を用いて、樹木、種子、根、葉など、植物の様々な器官に水中衝撃波を負荷し、その前後で撮影したSEM写真を比較し、スポーリング破壊の痕跡を観察した。

【結果】スポーリング破壊痕跡が各器官ことの特徴を伴い、確認された。

【考察】今後は抽出などの期待される効果に最適な衝撃波負荷条件を求める必要がある。

P20

## 線虫 *C.elegans* の腸の色の解析

国立遺伝学研究所／技術課 大石 あかね

【目的】線虫 *C. elegans* の *flr* 変異体において、腸に関する新たな表現型をみつけるために、腸の色の解析を行った。

【方法】観察する線虫(野生型及び *flr-1*、*flr-2*、*flr-2; flr-1* 変異体の4齢幼虫)は、50mM の sodium azide で麻酔し、アガーパッド上に置いた。実体顕微鏡(オリンパス SZH-131 及びライカ MZFLIII) で観察、デジタルカメラで撮影した。画像は、ソフトウェア Image J を用いて腸の全長をプロットし、色の黒さを解析した。体がやせている *flr-1* 変異体は、厚みがなくて白く見えるかもしれないため、胴体の直径を測り、補正を行った。

【結果】使用した2種類の顕微鏡では腸の見え方が異なり、オリンパスでは野生型と *flr* 変異体の間で黒さに差が見られたが、ライカでは見られなかった。野生型と *flr-2* 変異体は、肉眼では腸の黒さは区別できないが、解析により *flr-2* 変異体の方が黒いことがわかった。また、*flr-1* 変異体は野生型よりも色が白いが、補正を行った後も有意に差が見られた。



P21

## ゼブラフィッシュ凍結精子の解凍試験

自然科学研究機構／基礎生物学研究所／技術課 内海 秀子

【目的】ゼブラフィッシュは脊椎動物のモデル実験動物として広く医学・生物学研究に利用され、多数の遺伝子改変系統が作製されている。作製した系統の保存は研究上必須の技術であり、私はその手法として精子の凍結方法の改良を 2005 年の技術研究会で報告した。今回は凍結精子の長期保存について検討した。

【方法】精子はオス 1 匹から 1 回に採取できる精子を 1 チューブとして凍結している。液体窒素中に 2～4.5 年保存したチューブ 4 本を解凍して人工受精した。また成魚まで育て生殖能を調べた。

【結果】液体窒素保存した精子の受精率は 85, 68, 71, 63% で、凍結直後に解凍した時の受精率 (40～85%) と比較して良好であった。雌雄両方の成魚が得られ、その子孫も得られた。また変異体の凍結精子からは凍結前の表現型を再現する子孫が得られた。

【考察】凍結精子は液体窒素中で良好に長期保存できることが確認できた。

【参考文献】生物学技術研究会報告集第 16 号 (2005 年)

P22

## アオハダトンボ成虫の未成熟個体と成熟個体における 視物質発色団量と複眼構造の比較

浜松医科大学／医学部／総合人間科学講座

外山 美奈、弘中 満太郎、堀口 弘子、針山 孝彦

【目的】アオハダトンボは成虫脱皮後、未成熟期を経て交尾行動可能な成熟期となる。雄のみが多層膜干渉に基づく構造色を翅脈にもち翅全体が青色の金属光沢に輝く。これまでその構造色が性的なシグナルに利用されていることを明らかにしてきたが、視覚に基づく行動の違いが観察されたので、今回は複眼の視細胞の違いに注目し、視物質発色団量と複眼の構造を調べた。

【方法】未成熟および成熟個体の複眼の構造を観察し、視物質発色団量を測定した。構造観察には光学顕微鏡および電子顕微鏡を用い、各複眼の同一の場所で比較できるように工夫した。視物質発色団の定量には高速液体クロマトグラフィーを用い定量性をあげる工夫をした。

【結果】すべての時期で複眼外形の形態的差はなかった。一方、未成熟個体に比べ成熟個体では、個眼内の視細胞が約 2 倍大きく、視物質発色団の 3-hydroxyretinal の量も約 2 倍増加していた。

【考察】上記結果より、未成熟個体に比べ成熟個体の視覚情報取得精度が上昇しているのではないかと考えられる。今後は視細胞の機能について解析し、行動様式の変化との関連に迫りたい。

## P23

# シロイヌナズナのペルオキシソーム局在異常変異体 における光環境適応についての検討

自然科学研究機構／基礎生物学研究所／技術課 難波 千営子

【目的】ペルオキシソームは光呼吸の代謝に関与する細胞内小器官である。基生研の共通施設である人工気象室の恒温器を用いて、ペルオキシソーム局在異常変異体（peroxisome unusual positioning mutant: *peup* 変異体）における光環境適応の検討を行った。処理に使用した恒温器の機種や処理条件などについて報告する。

【方法】光呼吸系の変異体は光障害をおこすことが知られているため、*peup* 変異体も同様の表現型を示すと考えた。恒温器（サンヨーMIR150）の照明強度を 50、100、200  $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$  に調節し、それぞれ 7 日間栽培を行ったところ、光傷害以外に乾燥が原因と思われる生理障害が出てしまった。そこで処理条件を再検討し、より強光処理ができる機種（光環境シミュレーター）を用い、照明強度を 800  $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$  にして 2 日間の処理を行った。

【結果】*peup* 変異体は野生株と比較して、光傷害の程度に顕著な差を示した。

【考察】今後は光合成活性測定などを行い、個体レベルで光障害の確定を行いたい。

## P24

# キネシンの変異体の作製・大腸菌による発現と精製

東京大学理学系研究科／技術部 佐伯 喜美子

【目的】モータータンパク質であるキネシンに蛍光ラベルを導入するため、キネシンのシステイン変異体を作製した。

【方法】キネシン遺伝子に部位特異的突然変異を導入し、反応性があるシステインを他のアミノ酸に置換した変異体（Cys lite）を作製した。作製したキネシン変異体の大腸菌での発現条件（温度、IPTG 濃度、培養時間）を検討した。また、キネシン変異体にはヒスタグを付けてあるので、Ni カラムにより精製を行った。

【結果】キネシン変異体は大腸菌で発現するが、そのほとんどが大腸菌の超音波破碎後の遠心で沈殿になってしまい、活性のあるキネシンは少量しか得られなかった。

IPTG 濃度は 0.1 mM と 0.4 mM とで差が見られなかった。また、IPTG を加えてからの培養温度は 16°C、22°C、30°C で、ほとんど変わらなかった。少量の培養では変異体がほとんど得られなかったが、培養する量を増やすことにより、キネシンの運度活性を測定するのに必要な量を得ることができた。



## P25

### 新規酸受容チャネル複合体 PKD1L3/PKD2L1 の解析

自然科学研究機構／生理学研究所／技術課 福田 直美

【目的】新規酸味受容体分子の候補である PKD1L3/PKD2L1 複合体の酸受容メカニズム解明のため、PKD1L3 のミュータントを作製した。【方法】ミュータントの作製には、PCR を利用したワンデイミュータージェネシスを基本とした。この方法では欠失部位の両端に primer を設計、ベクターごと増幅した PCR 産物を ligation により環状にしたものを直接大腸菌に導入することで目的産物を得られる。【結果・考察】PKD1L3 の細胞外領域のうち、proline-rich domain(499aa)の欠失により、PKD1L3/PKD2L1 複合体の酸応答消失を確認した。PKD1L3/pDisplay は約 11.7kbp と小さくはないが、正確性が高く増幅効率のよいポリメラーゼを選択することで目的のミュータントが得られた。この方法は簡便であり、適当な制限酵素サイトがない場合には特に有用である。今後は新規 PCR 酵素や Primer 条件の検討などを行い、他の変異体作製にも応用していく予定である。

【参考文献・資料】\* Inada H. et al. EMBO Rep, 9: 690-7, 2008.

\* 今井嘉紀 ワンデイミュータージェネシス 実験医学別冊クローズアップ実験法 2002

## P26

### 接着細胞における細胞死の評価

浜松医科大学／実験実習機器センター 柴田 清

【目的】接着細胞による細胞死の機能解析は、タイムラプス顕微鏡、フローサイトメータなどにより行われている。それぞれに特徴ある機械であるが、細胞死の解析において欠点も見受けられる。特に、フローサイトメータ解析による接着細胞はシャーレなどから剥がして測定するため、細胞への傷害が危惧される。前回細胞を剥がす際の溶液（トリプシン EDTA）について検討したが、今回は、コラーゲン処理の有無によって細胞死の過程に違いがあるのか解析したので報告する。【方法】細胞は対数増殖期にある HeLa を使用した。シャーレの種類は、プラスチックとカバーガラスを使用した。また、それぞれのシャーレにコラーゲン処理を施して実験を行った。アポトーシスを誘発するために、カンプトテシンと TNF- $\alpha$  を加えてタイムラプス顕微鏡 (Nikon, Olympus) により観察を行った。またフローサイトメータは、6～24 時間後にアポトーシスのマーカーである PS (AnnexinV)、SubG1 期を Propidium Iodide (PI) にて染色後測定した。【結論】コラーゲン処理群は、プラスチック、カバーガラスシャーレの無処理群と比較してアポトーシスの進行が遅れた。

P27

## 質量分析計による ADP-リボシル化タンパク質の同定法の確立

島根大学／医学部／代謝生化学 長子 晴美

【目的】翻訳後修飾の1つであるアルギニン特異的 ADP-リボシル化の標的タンパク質を同定する手段として、質量分析計による解析を試みた。

【方法】リン酸化や糖鎖付加ペプチドの解析を例に、理論的に同じ手法を適応できると考えて一連の実験を行った。アルギニン残基を ADP-リボシル化したモデルペプチドを作成し、質量分析計を用いてその修飾に由来する特異的なプロダクトイオンを選択した。それをマーカーイオンとしてプリカーサーイオンスキャンによる修飾ペプチドを同定する条件を検討し、さらに修飾ペプチドのアミノ酸配列を決定する手法についても検討した。

【結果・考察】プリカーサーイオンスキャンで特異的に修飾ペプチドが選択された。そのまま MS/MS 解析しても、修飾ペプチドのアミノ酸配列を決定することは難しいことがわかったので、Pseudo-MS<sup>3</sup>を行い修飾部のアミノ酸配列を決定することに成功した。MS<sup>3</sup>ができる装置を使えばもっと簡便にアミノ酸配列を決定できると予想される。実際の生体サンプルへのこの手法への適用について検討を進めたい。

P28

## 質量分析装置を用いた タンパク質解析実習のための条件検討

自然科学研究機構／基礎生物学研究所／技術課 牧野 由美子、岡 早苗

【目的】平成 20 年度東海・北陸地区国立大学等技術職員合同研修（物理・化学コース）が岡崎 3 機関で実施され、我々の所属する分析室では実習の 1 コースを担当した。「質量分析計を用いたタンパク質の解析」というテーマで、標品タンパク質の酵素消化、脱塩、質量分析、及びデータベース検索によるタンパク質同定を行った。実習を行うためには、一連の操作を 1 日で完了する実験計画を立て、実験の状況にかかわらず、シンプルに画一化された操作で確実に結果が出るような条件の検討を行う必要がある。

【方法】安定した結果を得るために、タンパク質の種類・量、消化酵素量、反応時間などの条件検討を行った。また、当日のトラブルに備えて別の質量分析装置とその測定条件、データなどを準備した。

【結果】受講生は、全てタンパク質を同定することができ、概ね成功に終わった。実習を行う側にとっても有意義な研修であり、今後のタンパク質解析に役立つであろう。

## P29

# VBAを用いた顕微鏡画像解析用画像並べソフトウェアの作製

自然科学研究機構／生理学研究所／技術課 前橋 寛

【目的】連続した顕微鏡画像を効率よく解析する場合、モニター上で動画として解析する以外に、連続した画像を並べてモニター上で解析するないし、プリント出力する場合がある。それを簡易化する為、VBA(Visual Basic for Applications)を作成したので報告する。

【方法】Microsoft社のOffice 2000、2003のWord、Excel、PowerPointのVBAで作成した。Visual Basic Editorでフォームを作成し、フォルダー選択、縦横枚数、画像間隔を設定できるようにした。最初にWordから作成した。InlineShapesオブジェクト(文字として)で画像を配置しShapesオブジェクトとして変換して、指定座標に配置した。それではOffice 2000では動いたがOffice 2003ではページをまたがるとShapesオブジェクトに変換ができなくなって、エラーが生じた。これを回避するため最初に必要だけ改ページし、Selectionを先頭に移動し画像を配置した。

## P30

# 次世代シーケンサーのデータ解析について

自然科学研究機構／基礎生物学研究所／技術課 西出 浩世

【目的】現在、数種の次世代シーケンサーが発表されているが、これらは短い塩基配列をきわめて速く読むことができ、1台あたり1日に約3億塩基の配列を決めることができる。このシーケンサーにより得られる大量の塩基配列データを扱うことを目的とする。

【方法】(1)ゲノムへのマッピング (2)マッピング結果のピークをWeb表示 (3)ピークの大きさを測定 (4)UCSCゲノムブラウザに結果を貼付け という手順をとった。

(1)マッピングにはSOAP(Short Oligonucleotide Alignment Program)を用いた。(2)Web表示は自作のスクリプトで行った。(3)(4)はFindPeaksを用いた。

【結果・考察】ソフトのインストール等ドキュメントが少なく手間がかかった。マッピング結果は、2箇所以上にマッチしたデータ、ギャップが必要なデータは排除した。(2)(4)の結果はポスターに表示する。データ量が非常に多くどちらの表示も速度に問題がある。

【参考文献・資料】SOAP：<http://soap.genomics.org.cn/>

FindPeaks：<http://www.bcgsc.ca/platform/bioinfo/software/findpeaks>

P31

## 耳鼻咽喉科検査部門システムの構築 (インピーダンスオージメトリーへの対応)

富山大学／医薬系技術部／耳鼻咽喉科 武田 精一

【目的】我々は本学附属病院電子カルテシステム向けに耳鼻咽喉科部門システムの構築を数年前より行っており、今回はインピーダンスオージメトリー（鼓膜で反射された音響を調べることで鼓膜のインピーダンスを測定して行う検査でチンパノメトリーと耳小骨筋反射検査の二つがある。）への対応について報告する。

【方法】検査機器（インピーダンスオージメーター）から出力された検査用紙をイメージスキャナで読み取り後、画像データをサーバに登録し、電子カルテ端末から Web 参照できるようにした。サーバーには MySQL、Apache、スクリプトは PHP で記述した。スキャン画像は画像処理ソフトのマクロにて登録前処理を迅速化した。

【結果】本検査が他検査と共に一元的に管理できると同時に閲覧が可能となった。

【考察】イメージスキャンは非効率であり、検査機器とのオンライン転送の実現が課題。

P32

## MODx による生物学技術研究会サイトの構築

自然科学研究機構／基礎生物学研究所／技術課 水谷 健

【目的】従来、生物学技術研究会に関する Web での情報提供はオープンソース CMS である XOOOPS を用いた、基生研技術課 Web サイト (TechDivWeb: techdiv.nibb.ac.jp) を通じて行ってきた。しかしこの運用では無関係な情報も多く、十分な宣伝効果が得られていなかった。この為生物学技術研究会のサイトを独立運用しサイトへの到達性向上を目指した。

【方法】新たにより小規模サイト向けのオープンソース CMS MODx を導入し、サイト構築を行った。MODx はデザイン上の自由度が極めて高い為、CSS 着せ替えプロジェクトに極力準拠し、将来のデザイン変更にも柔軟に対応できるものとした。また RSS とサーチエンジン向けサイトマップの自動生成、問い合わせ用フォームフォームメール等を実装した。アクセス状況の解析には、Google analytics、ウェブマスターツールを用いた。

【結果・考察】サイト公開から期間が少ないこともあり、まだサーチエンジン最適化が充分ではない。MODx は操作性が良くファイルによるサイト構築経験のある者には馴染みやすく、将来的な担当者の引き継ぎにも充分対応可能と考えられる。

## 携帯電話のブラウザ機能を利用した 緊急時連絡システムの検討

東北大学／加齢医学研究所 小森 和樹

【目的】火災や地震災害などの緊急時には担当者が相互に情報を共有し、迅速に対応することが求められる。携帯電話を利用することによる情報共有の効率化を検討する。

【方法】Web サーバ（HP DL360, CentOS, apache2）上にて CGI/Perl を使用して情報共有するためのシステムを試作した。

【結果】開発したシステムは次の手順で、担当者の招集と対応のための情報共有を行う。  
(1) 異常発見者が携帯電話のブラウザ機能を利用して、緊急時連絡システムにアクセスする。  
(2) システムは「(1)のアクセス」をトリガーとして、あらかじめ登録された担当者の携帯アドレスに緊急事態が発生した旨のメールを送信する。(3) メールを受け取った担当者はそのままシステムを利用して情報を共有しつつ、事態に対応する。

【考察】固定電話を利用した場合と比較して連絡にかかる手間を非常に短縮できた。

## 会議室予約システムの構築

自然科学研究機構／基礎生物学研究所／技術課 中村 貴宣

【目的】研究所の耐震改修工事を機に、タッチパネル式の掲示ディスプレイを設置した。これは既存のデータベースを利用して、その情報を受け取って加工したデータを表示するという方法を取っている。これと同様の方法を使い、今回は会議室の予約をPC上でできるようなシステムの構築を依頼された。

【方法】会議室予約システムを作成するにあたって、データベースを管理運用するシステムを選ばなくてはならない。今回はMySQLを採用した。理由は基生研ホームページで使用されているものと同じであり、運用が楽になると考えたからである。データベースの編集自体はphpMyAdminを使用した。それらを準備したうえで、データベースの内容と、それを閲覧するためにブラウザから呼び出されるphpプログラムを作成した。

【考察】現状で出来上がっている予約システムにおいての様々な問題と、その対策を述べる。

## ネットワークサーバーと ファイアウォールシステムの更新

自然科学研究機構／生理学研究所／技術課 吉村 伸明、村田 安永

自然科学研究機構岡崎3機関のネットワークは2002年に導入したもので、老朽化が進んでいる。このため、メーカーサポートが打ち切られる機器より順次更新作業を行い、ネットワークを維持している。2008年3月にネットワークサーバーシステムの更新を、同年9月にファイアウォールシステムの更新を行った。

いずれのシステムも想定外のハードウェアが落札となり、更新後にはネットワーク不通などのトラブルが頻発した。安定稼働するまでに月単位の時間を要し、研究遂行にも大きな影響を与えた。ポスターでは個々の原因究明とその対策の過程について、詳しく報告したい。

## 基生研耐震改修工事に伴うネットワーク移設

自然科学研究機構／基礎生物学研究所／技術課 三輪 朋樹

【目的】基礎生物学研究所では平成19年から平成21年2月にかけて耐震改修工事が行われた。特に工事対象区域には、ネットワーク基幹部が集中する電子計算機ノード室が含まれており、ネットワークの停止を最小限に抑えるかたちで、基幹部と所内全域に絡むネットワークの構成変更が必要となった。

【方法】構成変更については、ネットワークの基幹系と支線系、計算機サーバ系が対象となり、1. 電氣的に稼働する工事区域内の機器は全て移設（光ケーブル終端ラックのみ移設不可）、2. 二次幹線をシングルモードファイバーに変更、3. ネットワーク系機器は別棟にあるネットワーク管理室に機能を移設、4. 研究用計算サーバを同棟工事区域外に移設し竣工後に戻す、という手順で行っている。

【結果】日程や構成変更案の策定にあたり調整しきれない、また予想外の停止など、様々な問題が発生したが、概ね予定通り移行作業は完了した。



## P37

### 微弱な放射線をイメージングプレートで検出するための検討

自然科学研究機構／基礎生物学研究所／技術課 澤田 薫

【目的】微弱な放射線をイメージングプレートで検出するには長期間の露光が必要である。長期間露光する場合は自然放射線によるバックグラウンドの上昇を抑えるための遮へい方法が重要となる。そこで遮へい材の厚さ・材質について検討したので報告する。また、イメージングプレートの種類による違いや、イメージングアナライザ(富士フイルム社, BAS5000)を使用するときの注意点などもあわせて報告する。

【方法】サンプルとイメージングプレートをかセットに入れて様々な厚さ・材質の遮へい材で覆い4週間露光した後、イメージングアナライザで測定し、比較した。

植物からは主に<sup>40</sup>Kに由来する微弱な放射線が出ていることから、今回は植物の葉をサンプルに用いた。

【結果】一般的な自然放射線の遮へいは鉛1cmで十分であった。しかし、鉛から放射線が出ているため、その放射線を遮へいするためにサンプルと鉛の間に遮へい材(アクリル板など)を入れる必要がある。

## P38

### マイクロプレートを用いた放射能測定における留意点

自然科学研究機構／基礎生物学研究所／技術課 松田 淑美

【目的】昨年度末、放射能測定が可能なマイクロプレートリーダー(HIDEX社、Plate Chameleon V)を導入した。この装置では、多数の試料を効率的に取り扱えるため省力化が期待できる。そこで、高い計数効率を得るための測定条件を検討した。

【方法】計数効率を左右するものとして、(1)試料の容量 (2)放射能 (3)液体シンチレーターの含水率の3点について検討した。使用核種は<sup>32</sup>Pで、チェレンコフ光測定と液体シンチレーター測定との2種類の測定を行った。

【結果】<sup>32</sup>Pの計数効率は、チェレンコフ光測定で10%前後、液体シンチレーター測定で90%前後であった。(1)容量が多いほど計数効率は良くなる傾向があった。(2)放射能による計数効率の変化はほとんど無かった。(3)液体シンチレーターの含水率5%~60%において、計数効率の変化はほとんど無かった。

【考察】計数効率に容量依存性があるので、測定時には容量を常に同じにする必要がある。今後は、低エネルギーβ線核種である<sup>3</sup>H・<sup>14</sup>Cについても検討したい。



## P39

# オープンキャンパスにおける参加者への放射線の啓蒙と RI 実験室紹介

京都工芸繊維大学／高度技術支援センター 尾崎 誠

【目的】オープンキャンパスにおいて、来場者に対して「放射線」についてウィルソンの霧箱を利用しながら基礎的な事項について理解してもらおうとする企画し実行した。

【方法】想定される来客層は高校2年生より低学年が主になると思われ、原子核物理の基礎的な事柄も未学習な可能性が高く、あまり専門的な言葉を用い無い等可能な限り簡単かつ簡便に説明を試みた。材料は透明アクリルパイプ 1m 長物を 5cm 長にカット、アクリル板は 10cm 角にカットした物を使用した。隙間スポンジ、マチ針、 $\alpha$ 線源は市中のホームセンターにて購入し製作コストの低減をはかった。霧箱内に充満させる気体には純エタノール蒸気を、寒剤にはドライアイスを用いることにより来客への安全面にて配慮を行った。

【結果】半日開催でかつ雨天であったため来場者数が極めて少ない状況であったが来場者の評判も良く十分な手ごたえを感じ取れた。

【考察】次年度にはスタッフを増員し前期、後期の両方の開催を予定している。

## P40

# 生物資源部門におけるエネルギー削減の取り組み

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

本学の生物資源部門では、平成 15 年度に法人化されるまでは水道光熱費は年間の運営経費に含まれずに大学の中央経費として処理されていた。しかし、法人化後は運営交付金の形で配分される運営経費の中に含まれることになった。それらは、生物資源部門の運営経費における割合の中でその多くを占めるため、水道光熱費の削減を迫られた。そこで、水道光熱費を減らすために何が出来るか具体的な案を出し、最初は経費をかけないで出来ること、例えば流水式飼育架台の流水間隔を長くすることや飼育室前室など飼育管理に直接関係しない部屋の電灯を頻繁に消すなど一般的に言われている節約方法から行い、それを職員全員に周知徹底することで効果を上げることにした。翌年度には削減努力が数値で現れるようになり運営経費で施設の改良や作業手順の見直しを行うこと等により、一層の効果が得られるようになったのでここに報告する。

## P41

# 生理学研究所一般公開における研究紹介ビデオの制作

自然科学研究機構／生理学研究所／技術課 森 将浩

【目的】岡崎3機関（生理研、基生研、分子研）では毎年秋に持ち回りで一般公開を行っており、今年度は生理学研究所の担当であった。公開にあたり各部門・施設で行われている研究内容を総合的に展示するコーナーが作られることになり、その担当を任された。

【方法】展示を行う各部門・施設から研究内容をまとめたパワーポイントファイル（2枚以内／1部門・施設）と、30秒程度のナレーション用原稿を提出してもらい → それらをまとめてひとつのファイルにする → ナレーションの挿入 → アニメーションとナレーションのタイミング調整 → 可能であればビデオデータに変換、という行程で作業を行った。

【結果及び考察】一般公開当日はできあがった映像（30分程度）をパワーポイントによるスライドショーとしてアドレスでスクリーン映写することにより、来訪者に研究内容をわかりやすく伝えることができたと思われる。しかしアニメーションとナレーションのタイミング調整に思いの外手間取り、公開当日までにビデオデータへの変換を実現することができなかった。

## P42

# 「技官（Gi-Kwan）」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】昨今、ライフサイエンス業界人対象のキャリアセミナーが頻繁に行われ、ポストドクなどのキャリアパスへの関心も持たれつつある。産業カウンセラーの資格を持つ私は、研究者のキャリアに対する悩みを聴くことも少なくない。一方、われわれ「技官（Gi-Kwan）」はといえば、定員削減の流れにより定年退職者の補充もままならない。「技官」という職責はそのまま自然消滅してしまうのだろうか？われわれ「技官」がレッドゾーンをいかにキャリアパスしていくか？この問題について皆様のご意見を聴く機会を持ちたい。方向付けと「思い込み（?）」次第で、「技官」ほど味わい深い職業はないと思うが如何だろうか？

### 【方法】

- 1) キーワードを提示することで、問題提起を行う。  
「雇用形態」、「類似他職種との異同」、「職業的使命感」など。
- 2) 心理テストによる自己理解。

【参考文献】「産業カウンセリング」：(社) 日本産業カウンセラー協会編

## 実験動物教育研究センター施設紹介

中部大学／実験動物教育研究センター 長原 美樹

【はじめに】中部大学 実験動物教育研究センターは、平成 18 年 4 月に完成した、実験動物を用いた教育および研究のための共通施設である。現在、センターを立ち上げて約 3 年が経過した。

【センター概要】地上 4 階建て、延床面積約 2150 m<sup>2</sup>。飼育室数はマウス用が 21 部屋あり、施設のほとんどを占めている。飼育動物種は主にマウスで、遺伝子組換え動物が多く飼育されている。飼育方法は主に床敷きケージおよび自動給水を用いている。

【運営】汚染事故が起きないように、クリーンエリアへの入室は専用着衣を義務付け、また、ヒトとモノの動線を原則一方向性とし、センター職員と利用者双方で清浄度の維持に努めている。

## CERN 技術職海外派遣研修報告

高エネルギー加速器研究機構／加速器研究施設／加速器第三研究系 中島 啓光

【目的】CERN（欧州原子核研究機構）には、多くのプロジェクトが存在し、その中のひとつに CLIC（Compact Linear Collider）がある。現在、CERN では、そのテストファシリティーである CTF3 の建設が進められており、そのコンポーネントのひとつに非常に立ち上がりの速いキッカーマグネットがある。KEK の技術職員を対象とした CERN 技術職海外派遣研修で、2007 年 10 月より 1 年間 CERN に滞在し、そのキッカーマグネット用のパルス電源の開発に関わってきた。

【方法】いくつか検討されていたパルス電源の方式の中で、PFN（Pulse Forming Network）と Behlke 社の半導体スイッチ HTS-80-20UF を使用したものが選択され、主に、そのドライバー回路等の開発に関わってきた。

【結果】ドライバー回路、出力電流の積分回路を製作し、パルス電源全体としての動作を確認した。ドライバー回路では、当初ノイズの問題があったが、ノイズ対策を行うことで問題は解消された。

【考察】CTF3 にインストールした際に、新たにノイズ等の問題が表れないかが心配される。

## 生理研における対外広報活動

自然科学研究機構／生理学研究所／技術課 永田 治

【概略】生理研では、2007年10月に広報展開推進室を設置し、対外的な広報拠点を整備した。研究機関における重点的な広報活動対象は、企業等と同じく一般市民であるが、大きく異なる点は同時に文部科学省に向けた報告目標を伴う点にある。おもな数値目標としては新聞メディアにおける成果の反映度向上（これは定量的に報道件数といった数値データとして表わされる）と一般に向けた研究成果報告義務（生理研の認知度といった目に見えない評価）が問われることになる。現在、その主たるものは以下のとおりである。

- 1) 研究成果のメディア提供：おもに新聞各社に対するプレスリリース
- 2) 市民講座やサイエンスカフェに類するような公共会場での相互情報交換
- 3) 小中高校に対する情報提供をはじめとした理科教育サポート

【考察】広域的な広報活動としては、比較的順調に推移している。さらに2008年度において、小中学校や一般を対象として研究内容を紹介するための広報展示室が所内に整備されて、ホームページから予約制で受け入れを行っており今後順次拡充の予定である。

## 参加者名簿

氏名	所属
村上 文朗	帯畜大 畜産フィールド科学センター
千葉 伸一	旭川医大 機器センター
栗田 宏明	岩手大 総務企画部
花坂 智人	岩手医大 共同研究部門
鶴田 誠逸	天文台 RISE月探査プロジェクト
小森 和樹	東北大 加齢医学研究所
西村 順子	東北大院 農学研究科
岡田 夏美	東北大 農学研究科
伊東 久美子	東北大 農学研究科
菊池 裕人	東北大 工学部・工学研究科
秋山 佳代	筑波大 医学系技術室
木澤 祥恵	筑波大 生命環境科学等技術室
中島 啓光	高エネ研 加速器研究施設
徳本 修一	高エネ研 加速器研究施設
金子 伸行	東大 医学部附属病院
佐伯 喜美子	東大 理学系研究科
岡田 則夫	天文台 先端技術センター
川島 進	天文台 先端技術センター
山道 桂子	東工大 技術部
八田 秀樹	富山大 医薬系技術部
武田 精一	富山大 医薬系技術部
山内 健治	核融合研 技術部
加藤 洋介	岐阜大 生命科学総合研究支援センター
宮田 学	浜松医大 実験実習機器センター
加茂 隆春	浜松医大 第一病理学
鴨藤 江利子	浜松医大 総合人間科学講座
柴田 清	浜松医大 実験実習機器センター
外山 美奈	浜松医大 医学部
澤村 暢	浜松医大 医学部附属病院
深見 正	浜松ホトニクス(株) 中央研究所
古海 弘康	遺伝研 技術課
谷口 美佐子	遺伝研 技術課
谷田 勝教	遺伝研 技術課

大石 あかね	遺伝研 技術課
大川 敏生	名大 全学技術センター
藤澤 郁英	豊技大 物質工学系
長原 美樹	中部大 実験動物教育研究センター
河村 則子	愛知県コロニー 発達障害研究所
黒澤 俊人	三重大 生命科学研究支援センター
福岡 雅史	名大 全学技術センター (臨海実験所)
尾崎 誠	京工繊大 高度技術支援センター
山口 加乃子	京大 農学研究科
山田 裕子	阪大 研究支援課
向川 市郎	福井大 ライフサイエンスイノベーション推進機構
小宮山 千代	神戸大院 海事科学研究科
塚本 潤子	奈良先端大 教育研究支援部
長子 晴美	島根大 医学部
梅 とも子	島根大 医学部
庄野 正行	徳島大院 ヘルスバイオサイエンス研究部
石田 富士雄	徳島大院 ソシオテクノサイエンス研究部
清井 武志	愛媛大 総合科学研究支援センター
首藤 政親	愛媛大 総合科学研究支援センター
林 芳弘	高知大 教育研究部
水口 洋子	九大 医学部
安河内 緑	福岡大 医学部
伊藤 康子	九工大院 生命体工学研究科
楠本 朋一郎	九工大 情報工学部
嶽本 あゆみ	熊大 衝撃・極限環境研究センター
中村 直子	熊大 生命資源研究・支援センター

## 生理学研究所 技術課

氏名	所属
大庭 明生	技術課長
市川 修	技術班長 (細胞器官研究系 機能協同研究部門、 行動・代謝分子解析センター 行動様式解析室)
大河原 浩	技術班長 (分子生理研究系 ナノ形態生理研究部門 (岡崎統合バイオサイエンスセンター 戦略的方法論研究領域 兼務))
山本 友美	分子生理研究系 神経機能素子研究部門
小池 崇子	分子生理研究系 分子神経生理研究部門
高橋 直樹	細胞器官研究系 生体膜研究部門
福田 直美	細胞器官研究系 細胞生理研究部門 (岡崎統合バイオサイエンスセンター 生命環境研究領域 兼務)
石原 博美	生体情報研究系 神経シグナル研究部門
森 将浩	生体情報研究系 神経分化研究部門 (岡崎統合バイオサイエンスセンター 時系列生命現象研究領域 兼務)
竹島 康行	統合生理研究系 感覚運動調節研究部門
小原 正裕	統合生理研究系 生体システム研究部門
木瀬 環	大脳皮質機能研究系 脳形態解析研究部門
山口 登	大脳皮質機能研究系 大脳神経回路論研究部門
伊藤 嘉邦	大脳皮質機能研究系 心理生理学研究部門
戸川 森雄	発達生理学研究系 認知行動発達機構研究部門
吉友 美樹	発達生理学研究系 生体恒常機能発達機構研究部門
斉藤 久美子	発達生理学研究系 生殖・内分泌系発達機構研究部門
三寶 誠	行動・代謝分子解析センター 遺伝子改変動物作製室
加藤 勝己	脳機能計測・支援センター 形態情報解析室
佐藤 茂基	脳機能計測・支援センター 生体機能情報解析室
前橋 寛	脳機能計測・支援センター 多光子顕微鏡室
山田 元	脳機能計測・支援センター 電子顕微鏡室
佐治 俊幸	脳機能計測・支援センター 機器研究試作室
永田 治	情報処理・発信センター 広報展開推進室
吉村 伸明	情報処理・発信センター ネットワーク管理室
村田 安永	情報処理・発信センター ネットワーク管理室
伊藤 昭光	動物実験センター
廣江 猛	動物実験センター
窪田 美津子	動物実験センター



## 基礎生物学研究所 技術課

氏名	所属
古川 和彦	技術課長
小林 弘子	技術班長 (イメージングサイエンス研究領域 時空間制御研究室)
三輪 朋樹	技術班長 (培養育成研究施設 電子計算機室)
近藤 真紀	細胞生物学領域 高次細胞機構研究部門
壁谷 幸子	細胞生物学領域 分子細胞生物学研究部門
高木 知世	発生生物学領域 形態形成研究部門
野田 千代	発生生物学研究領域 発生遺伝学研究部門 (統合バイオサイエンスセンター 時系列生命現象研究領域 発生遺伝)
内海 秀子	発生生物学研究領域 分子発生学研究部門 (統合バイオサイエンスセンター 時系列生命現象研究領域 分子発生)
大澤 園子	神経生物学領域 脳生物学研究部門
竹内 靖	神経生物学領域 統合神経生物学研究部門
田中 幸子	進化多様性生物学領域 分子遺伝学研究部門
諸岡 直樹	進化多様性生物学領域 ゲノム動態研究部門
水谷 健	環境生物学領域 分子環境生物学研究部門 (統合バイオサイエンスセンター 生命環境研究領域 生命環境)
東 正一	培養育成研究施設 大型スペクトログラフ室
難波 千宮子	培養育成研究施設 人工気象室、実験圃場
西出 浩世	培養育成研究施設 電子計算機室
中村 貴宣	培養育成研究施設 電子計算機室
林 晃司	形質転換生物研究施設
野口 裕司	形質転換生物研究施設
森 友子	分析室
牧野 由美子	分析室
山口 勝司	分析室
高見 重美	分析室
岡 早苗	分析室
松田 淑美	アイソトープ実験センター
澤田 薫	アイソトープ実験センター
飯沼 秀子	アイソトープ実験センター

☆☆☆☆☆☆☆☆ 編 集 ☆☆☆☆☆☆☆☆

●生理学研究所 技術課 技術研究会委員会

小原 正裕、山口 登、戸川 森雄、山本 友美、村田 安永

●基礎生物学研究所 技術課 技術研究会実行委員会

大澤 園子、小林 弘子、三輪 朋樹、森 友子、  
壁谷 幸子、林 晃司、水谷 健、山口 勝司