

合同開催

第31回 生物学技術研究会

第42回 生理学技術研究会

## 予稿集

日時：令和2年 2月 20日(木)、21日(金)

会場：岡崎コンファレンスセンター

大学共同利用機関法人 自然科学研究機構

基礎生物学研究所 技術課

生理学研究所 技術課



# 第31回 生物学技術研究会 第42回 生理学技術研究会

(同時開催：第16回 奨励研究採択課題技術シンポジウム)

会期：2020年2月20日(木)～21日(金)

会場：自然科学研究機構 岡崎コンファレンスセンター

主催：基礎生物学研究所 技術課

〒444-8585 愛知県岡崎市明大寺町字西郷中38

<https://www.nibb.ac.jp/biogiken/>

TEL：(0564)55-7655, FAX：(0564)55-7657

生理学研究所 技術課

〒444-8585 愛知県岡崎市明大寺町字西郷中38

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

TEL：(0564)55-7702, FAX：(0564)52-7913

## プログラム

### 2月20日(木) (1階 大隅ホール)

- 13:30 ～ 13:50 挨拶、事務連絡
- 13:50 ～ 14:50 研修講演 (L1：基礎生物学研究所 進化発生研究部門 新美 輝幸 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21日(金)

#### 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 分科会 (CRISPR/Cas9 について)
- 10:20 ～ 10:40 休憩
- 10:40 ～ 12:00 一般口演 (A1～4)
- 12:00 ～ 13:00 昼食 (1階 中会議室・2階 小会議室)
- 13:00 ～ 14:00 一般口演 (A5～7)
- 14:00 ～ 14:10 まとめ
- 14:30 ～ 15:30 施設見学 (希望者のみ、各会場)

#### 口演会場2 (1階 大隅ホール)

- 8:50 ～ 9:00 挨拶、事務連絡
- 9:00 ～ 10:20 奨励研究採択課題技術シンポジウム (S1～4)
- 10:20 ～ 10:40 休憩
- 10:40 ～ 12:00 奨励研究採択課題技術シンポジウム (S5～8)
- 12:00 ～ 13:00 昼食 (1階 中会議室・2階 小会議室)
- 13:00 ～ 14:00 奨励研究採択課題技術シンポジウム (S9～11)
- 14:00 ～ 14:10 まとめ
- 14:30 ～ 15:30 施設見学 (希望者のみ、各会場)

# 目次

|                  |    |
|------------------|----|
| プログラム            | 1  |
| 参加者へのお願い         | 7  |
| 発表者へのお願い         | 8  |
| 研究会会場周辺地図        | 9  |
| 岡崎コンファレンスセンター案内図 | 10 |

## 研修講演（1階 大隅ホール）

- (L1) RNAi 法を用いた非モデル昆虫研究の新展開  
基礎生物学研究所 進化発生研究部門 新美 輝幸教授 12

## 一般口演（1階 中会議室）

- (A1) セロトニントランスポーター遺伝子多型におけるヘテロ二本鎖解析の検討  
鹿児島大学 遺伝子実験施設 西谷 篤、櫻井 芳生 14
- (A2) 高い親和性と機能阻害効果を有する2種類の IL-18 モノクローナル抗体の作製とその解析  
島根大学 医学部 病態生化学 成相 裕子 15
- (A3) 好熱菌 *Geobacillus stearothermophilus* のシトクロム *bd* オキシダーゼの精製条件検討  
九州工業大学 情報工学部 楠本 朋一郎 16
- (A4) マイクロ X 線 CT の共通機器としての運用に向けて  
基礎生物学研究所 技術課 斎田 美佐子 17
- (A5) 献体処置作業における感染症対策と一偽陽性症例の紹介  
浜松医科大学 器官組織解剖学講座<sup>1)</sup>、技術部<sup>2)</sup>、細胞分子解剖学講座<sup>3)</sup>  
佐々木 健<sup>1,2)</sup>、相羽 民人<sup>2,3)</sup>、蓑島 伸生<sup>2)</sup>、佐藤 康二<sup>1)</sup> 18
- (A6) 水田の（復古化）のためのキョウチクトウを利用したジャンボタニシ駆除の有効性解明  
鹿児島大学 教育学部 実習地 池田 充 19
- (A7) 技術職員による他大学との連携  
滋賀医科大学 実験実習支援センター 小山 由起子 20

## 奨励研究採択課題技術シンポジウム（1階 大隅ホール）

- (S1) VR 動画とヒヤリハット報告を用いた安全管理手法の構築  
久留米工業高等専門学校 教育研究支援センター<sup>1)</sup>、材料システム工学科<sup>2)</sup>  
吉利用之<sup>1)</sup>、屋並 陽仁<sup>1)</sup>、佐々木 大輔<sup>2)</sup> 22
- (S2) 「AI 時代に対応した人材育成・AI 技術の最適活用」を目的としたカメラアプリ教材の開発  
北海道大学 電子科学研究所 技術部 富樫 愛采 23
- (S3) 学生向けスマホアプリ教材の開発  
東京大学 工学部 工学系研究科 酒井 有沙 24
- (S4) サイバー攻撃を防げるか体験して学ぶ情報セキュリティ教育教材の開発  
小山工業高等専門学校 教育研究技術支援部 技術室 井手尾 光臣 25
- (S5) 医学生理学における体験的実験教材の開発  
生理学研究所 技術課 医用生体工学プロジェクト 永田 治、戸川 森雄、佐治 俊幸 26
- (S6) 簡単可愛い DNA 模型作製教材の開発  
一関工業高等専門学校 技術室 宇野 修子 27
- (S7) 脆弱な細胞の操作を可能とするマイクロハンドの開発  
山形大学 工学部 技術部 川口 敏史 28
- (S8) -196℃下で柔軟性を保つ多孔体マッシュマロゲルを利用した凍結ブロック作製法の検討  
名古屋大学 全学技術センター 牛田 かおり 29
- (S9) より良い電子顕微鏡測定データ取得のためのコンタミネーション抑制方法の検討  
北海道大学 大学院工学研究院 大多 亮 30
- (S10) 精子介在遺伝子伝達による遺伝子欠損モルモットの作製  
秋田大学 バイオサイエンス教育・研究サポートセンター 矢野 愛美 31
- (S11) FLEx “Cre-On”スイッチを利用してマウスゲノムへ点変異を条件的に導入する試み  
基礎生物学研究所 技術課 水口 洋子 32

## ポスター発表（1階 大隅ホール、ホワイエ）

- (P1) LC-MS による代謝物測定のリシビ  
基礎生物学研究所 技術課 森 友子 34
- (P2) LC-MS の溶出時間の違いによるタンパク質検出比較  
基礎生物学研究所 技術課 牧野 由美子 34
- (P3) フローサイトメトリーによる血球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 35
- (P4) マイクロ分光器を使った蛍光タンパク質のスペクトル測定  
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 35
- (P5) 細菌細胞内 pH モニタリングシステムの開発  
信州大学 工学部 技術部 白田 隆亮 36
- (P6)  $K^+$ イオンチャネルのエンドサイトーシスの定量化  
山形大学 医学部 医学科 野呂田 郁夫 36
- (P7) レーザーマイクロダイセクション法によるサンプル回収効率の検討  
兵庫医科大学 共同利用研究施設 春口 大樹 37
- (P8) 低温樹脂包埋法による電顕用凍結固定試料の調製  
浜松医科大学 先進機器共用推進部 超微形態解析<sup>1)</sup>、神戸大学 研究基盤センター<sup>2)</sup>  
徳永 雄平<sup>1)</sup>、太田 勲<sup>1)</sup>、朴 杓允<sup>2)</sup> 37
- (P9) X線CTによる内部微細構造観察の試み  
信州大学 繊維学部 技術部 武田 昌昭 38
- (P10) 透明化組織の超微形態学的評価  
東海大学 伊勢原研究推進部生命科学統合支援センター 鈴木 雄祐 38
- (P11) 蛍光顕微鏡を用いた簡易抗酸化力評価の検討  
徳島大学 技術支援部<sup>1)</sup>、医歯薬学研究部法医学分野<sup>2)</sup> 北池 秀次<sup>1)</sup>、庄野 正行<sup>2)</sup> 39
- (P12) ナノポアシーケンサーの現状 -ロングリードとハイスループット両立に向けた検討-  
基礎生物学研究所 技術課 山口 勝司 39
- (P13) GitHub 代替アプリによるコンテンツ管理基盤の構築  
生理学研究所 技術課 村田 安永 40
- (P14) メイニーコア CPU 時代のデータ解析用 PC  
生理学研究所 技術課 伊藤 嘉邦 40
- (P15) 慶應義塾大学における理系三学部共通の共用支援 Web システムの導入と運用  
慶應義塾大学医学部 共同利用研究室 中央機器管理部門 黒木 大海 41
- (P16) Deep Learning による脳神経細胞の自動セグメンテーションの試み  
生理学研究所 技術課 山口 登 41
- (P17) micro:bit を題材としたビジュアルプログラミング研修の報告  
神戸大学 工学研究科 松本 香、吉田 秀樹 42

|  |  |    |
|--|--|----|
| (P18) 音響解析を用いた音色の特徴量抽出                           | 浜松医科大学 技術部 村松 歩  | 42 |
| (P19) プレートリーダー用の光合成測定チェンバーの開発                    | 生理学研究所 技術課(機器研究試作室) 佐治 俊幸  | 43 |
| (P20) 報酬割り当て課題実験システムの開発                          | 生理学研究所 技術課 戸川 森雄   | 43 |
| (P21) GONAD 法によるラットでのノックイン効率向上に向けた試み             | 浜松医科大学 医用動物資源支援部 青島 拓也   | 44 |
| (P22) i-GONAD 法を用いた野生由来マウス系統におけるゲノム編集            | 国立遺伝学研究所 技術課 今井 悠二   | 44 |
| (P23) 遺伝子改変マウスの受精率向上について                         | 生理学研究所 技術課 山中 緑  | 45 |
| (P24) ヘリコバクターPCR 検査の試み                           | 生理学研究所 技術課 神谷 絵美   | 45 |
| (P25) 「遺伝研のサクラ」の見頃(満開)時期と気温の関係                   | 国立遺伝学研究所 技術課 矢野 弘之   | 46 |
| (P26) カメノコテントウの飼育と一般公開に向けた動画作成                   | 基礎生物学研究所 技術課 水谷 健  | 46 |
| (P27) 海洋深層水は魚肉の鮮度を延長させる                          | 富山大学 医薬系技術部(病理診断学) 八田 秀樹   | 47 |
| (P28) 水生食虫植物ムジナモの研究基盤技術の確立                       | 基礎生物学研究所 技術課 壁谷 幸子   | 47 |
| (P29) マシコヒゲムシ(環形動物門シボグリヌム科)を生物試料として活用した教育・研究の可能性 | 金沢大学 総合技術 環境安全 <sup>1)</sup> 、環日セ 臨海 <sup>2)</sup> 小木曾 正造 <sup>1)</sup> 、鈴木 信雄 <sup>2)</sup>   | 48 |
| (P30) 赤潮藻類(シャットネラ属)を曝露したマダいの微細形態学的解析             | 北里大学医学部解剖 <sup>1)</sup> 、瀬戸内水研 <sup>2)</sup><br>西槇 俊之 <sup>1)</sup> 、紫加田 知幸 <sup>2)</sup> 、北辻 さほ <sup>2)</sup> 、勝村 啓史 <sup>1)</sup> 、小川 元之 <sup>1)</sup> | 48 |
| (P31) 大学連携キャンパス講座「野外観察園の植物紹介-ホンモノに出会おう-」を開催      | 名古屋大学 全学技術センター(共通) <sup>1)</sup> 、博物館 <sup>2)</sup><br>吉野 奈津子 <sup>1)</sup> 、梅村 綾子 <sup>2)</sup> 、宇治原 妃美子 <sup>2)</sup> 、西田 佐知子 <sup>2)</sup>            | 49 |
| (P32) キャンパスに生育する希少種の保全活動                         | 広島大学 技術センター 塩路 恒生  | 49 |
| (P33) シーズアートを楽しもう                                | 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  | 50 |

|  |                     |    |
|--|---------------------|----|
| (P34) 東海・北陸地区国立大学法人等技術職員合同研修「電気・電子」コースのための<br>研修プログラム構築  | 豊橋技術科学大学 技術支援室 飛沢 健 | 50 |
| (P35) 教育研究支援及び技術継承を効率よく行うための技術の動画化<br>浜松医科大学 器官組織解剖学講座 <sup>1)</sup> 、技術部 <sup>2)</sup> 、学部学生 <sup>3)</sup><br>佐々木 健 <sup>1,2)</sup> 、堂下 ちひろ <sup>1,3)</sup> 、大山 晃生 <sup>1,3)</sup> 、山口 真央 <sup>1,3)</sup> 、長屋 美香 <sup>1,3)</sup> 、<br>寺谷 千穂 <sup>1,3)</sup> 、平田 紗也 <sup>1,3)</sup> 、佐藤 康二 <sup>1)</sup> |                     | 51 |
| (P36) Lancerns を利用した GITC ポスターの外部委託  | 基礎生物学研究所 技術課 杉浦 宏樹  | 51 |
| (P37) 国立遺伝学研究所 男女共同参画への取り組み  | 国立遺伝学研究所 技術課 山谷 宣子  | 52 |
| (P38) 本年度に改編した浜松医科大学技術部の新組織ならびに各業務の紹介<br>浜松医科大学 技術部 総合人間科学講座 外山 美奈   |                     | 52 |
| (P39) 他部局採用の新任広報系技術職員の育成に関わって<br>東北大学大学院医学系研究科・医学部 広報室 一條 肇  |                     | 53 |
| (P40) VUCA の時代における生物系技術職員のキャリアを考える。<br>国立遺伝学研究所 技術課 古海 弘康  |                     | 53 |
| (P41) 安全衛生巡視での iPad の活用<br>基礎生物学研究所 技術課 飯沼 秀子  |                     | 54 |
| (P42) CRISPR/Cas9 システムを用いた多重遺伝子欠損マウス系統の樹立と性状解析<br>生理学研究所 技術課 稲橋 宏樹   |                     | 54 |
| 分科会 ～CRISPR/Cas9 について～ .....   |                     | 55 |
| 参加者名簿.....   |                     | 56 |

## 参加者へのお願い

### ■会場について

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

### ■受付について

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

### ■旅費支給者の方へ

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(半券がない場合には搭乗券)をお持ちください。帰りの分は後日郵送してください。

### ■手荷物について

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

### ■懇親会参加者へ

一日目の発表終了後、OCC中会議室で懇親会を開きます。

### ■記念記帳について

研究会の期間中、参加記念帳を大隅ホール入り口付近に置きますので、都合を見てご記帳ください。

### ■記念撮影について

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

### ■入構について

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

### ■駐車場について

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

### ■宿泊について

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は以下をご参照ください。

<https://www.nibb.ac.jp/about/hotel.html> [https://www.nips.ac.jp/profile/access\\_stay.html](https://www.nips.ac.jp/profile/access_stay.html)

### ■ロッジ宿泊者へ

鍵は研究会の受付にてお渡しします。13:00 から 18:00 までに間に合わないときは、OCC事務室までご連絡下さい。ロッジ利用時間は15:00 からです。門限は22:00 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09:30 です。

### ■ご不明な点がございましたら

基礎生物学研究所技術課 (TEL: 0564-55-7655, FAX: 0564-55-7657) または  
生理学研究所技術課 (TEL: 0564-55-7702, FAX: 0564-52-7913) までご連絡ください。  
研究会当日はOCC事務室 (TEL: 0564-57-1870) までご連絡ください。

## 発表者へのお願い

### ■報告誌原稿の提出について

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

原稿は、2020年2月17日(月)までに、Wordファイル及びPDFファイルを事前に指定された方法で提出をお願いいたします。PDFファイルはレイアウト等の確認のために必要です。

### ■発表について

1. ポスター発表は、ポスター討論の前に画像ビューワーを用いて説明をしていただきます。説明用画像は一人1枚で発表時間は1分間です(画像は事前に指定の方法でご提出をお願いします)。発表は2グループに分けて行います。グループIのスライド説明とポスターの閲覧および討論を行った後、グループIIを同様に行います。
2. 一般口演は20分(発表15分、質疑応答5分)、奨励研究採択課題技術シンポジウムは20分(発表15分、質疑応答5分)です。十分な質疑応答の時間が取れるよう、発表をまとめてください。
3. ポスター発表者は早めに受付を済ませ、13:30までにポスターを展示してください。なお、ポスターは研究会終了まで展示をお願いします。
4. 口演発表者のPC出力端子として、HDMI端子、アナログRGBミニD-sub 15ピンが使用できます。
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。

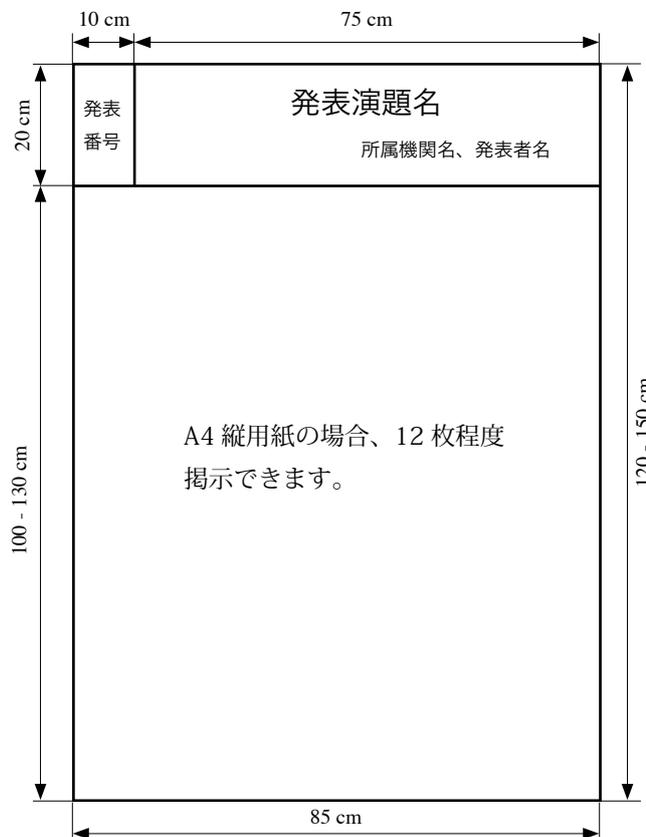
### ■ポスター作成について

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、発表者名を右図の様に記入してください。

パネルの左上に発表番号が貼ってあります。所定のパネルにご展示ください。

■ご不明な点がございましたら、以下へお問い合わせ下さい。

- ・基礎生物学研究所 技術課  
giken@nibb.ac.jp
- ・生理学研究所 技術課  
giken42@nips.ac.jp



# 研究会会場周辺地図



◆ 東岡崎駅から「岡崎コンファレンスセンター」までは徒歩で10～15分程です(ほとんど上り坂)  
タクシー乗り場とバス停は、ともに東岡崎駅の南側にあります。

バスは「竜美丘循環線、のりば 東岡崎駅 南口11番、おりば 岡崎高校前」

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

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

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

◆ タクシー会社 名鉄タクシー TEL 0564-51-1111 岡陸タクシー TEL 0564-53-5411

◆ 宿泊連絡先

三島ロッジ TEL:0564-53-4473(22～8時は不通)

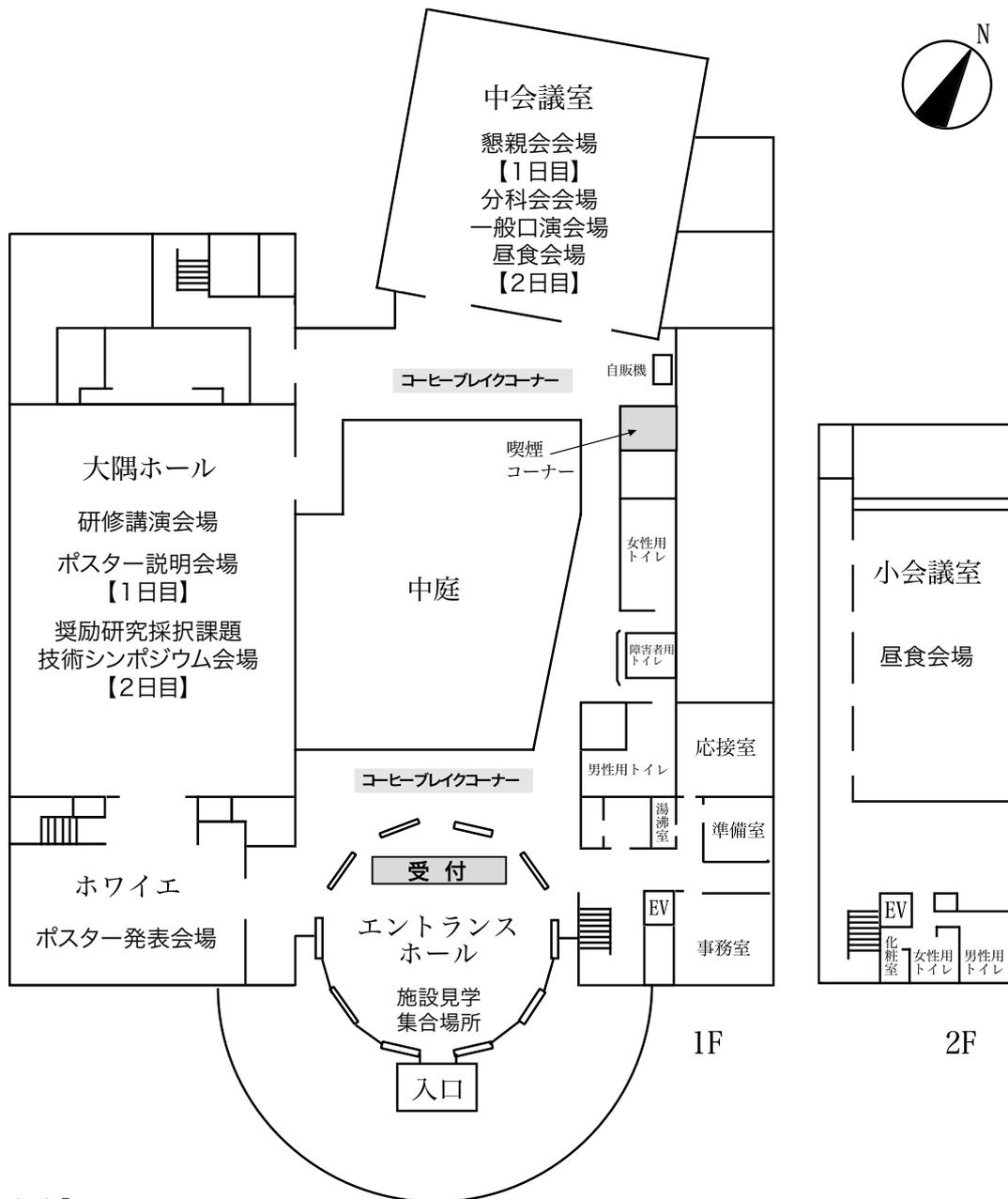
参考: 岡崎セントラルホテル TEL:0564-51-2830 スーパーホテル岡崎 TEL:0564-28-9000

グリーンホテル徳川園 TEL:0564-53-3151 岡崎第一ホテル TEL:0564-26-3111

◆ 会場連絡先

岡崎コンファレンスセンター TEL:0564-57-1870

# 岡崎コンファレンスセンター案内図



## 【会場案内】

### 1日目

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

### 2日目

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

昼食会場  
 施設見学(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

## RNAi 法を用いた非モデル昆虫研究の新展開

基礎生物学研究所 進化発生研究部門 新美 輝幸

昆虫は同定された種数が約 100 万種にも上ることから、この地球上で最も繁栄した生物群であると考えられています。昆虫の繁栄をもたらした多様性に着目し、当研究室では昆虫に特異的な適応形質の発生と進化に関する研究を行っています。具体的には、昆虫翅の起源と多様性、テントウムシの翅の模様、カブトムシの角などの研究です。これらの研究テーマは、助手として着任したときから、誰も行っていない全く新しいことを分子レベルで解き明かすことを目指して取り組んでいます。主な研究材料は、興味深い生命現象を有するもののこれまであまり研究されることのなかった非モデル昆虫です。そのため、非モデル昆虫において遺伝子機能解析系を確立することが必要不可欠でした。いろいろな方法に取り組みましたが、ブレークスルーとなったのは RNA 干渉 (RNAi) 法でした。この画期的な方法によって、非モデル昆虫の遺伝子機能解析が大いに進展し、テントウムシの斑紋多型の原因遺伝子やカブトムシの角形成遺伝子の同定に成功しました。また、RNAi 法は基礎研究だけでなく、応用研究への可能性を秘めています。農学の分野において、RNAi 法を利用した新規の害虫防除法の開発にも取り組んでいます。一つ目は、捕食性の天敵昆虫であるナミテントウを RNAi 法で機能改変し、付加価値の高い新規生物農薬として利用する方法です。二つ目は、生存に必須の遺伝子の二本鎖 RNA を摂食させることで RNAi を誘導して害虫に迅速な食害停止と早期の致死をもたらす方法です。本講演では、これまで行ってきた研究を振り返り、非モデル昆虫を用いた研究の醍醐味をお伝えできたら幸いです。

### 【参考文献】

新美輝幸 (2018) 第 1 章&第 2 章『昆虫たちの不思議な性の世界』(大場裕一 編), 一色出版, 東京. P27-79, P85-130.

畠山正統・千頭康彦・新美輝幸 (2017) ハチ目(膜翅目)とコウチュウ目(鞘翅目)におけるゲノム編集研究. *蚕糸・昆虫バイオテック*, **86**, 115-124.

[https://doi.org/10.11416/konchubiotec.86.2\\_115](https://doi.org/10.11416/konchubiotec.86.2_115)

新美輝幸・桑山久史・原喜実子・柳沼利信 (2006) ナミテントウの遺伝子機能解析システムの現状と将来. *蚕糸・昆虫バイオテック*, **75**, 175-182.

[https://doi.org/10.11416/konchubiotec.75.3\\_175](https://doi.org/10.11416/konchubiotec.75.3_175)

新美輝幸・柳沼利信 (2006) ナミテントウの larval RNAi 法. *日本比較内分泌学会ニュース*, **121**, 32-37.

[https://doi.org/10.5983/nl2001jsce.2006.121\\_32](https://doi.org/10.5983/nl2001jsce.2006.121_32)

口 演 発 表  
( 一 般 口 演 )

## セロトントランスポーター遺伝子多型における ヘテロ二本鎖解析の検討

鹿児島大学 遺伝子実験施設 西谷 篤、櫻井 芳生

【目的】本研究ではヒトの唾液から DNA を抽出し、セロトントランスポーター遺伝子多型 (5-HHTLPR) の解析を行った。5-HHTLPR 解析ではヘテロ二本鎖の問題が発生し、その対応と解消方法を報告する。この研究は科研費助成事業の一環で行った。

【方法】Oragene・DNA 採取キットで唾液から抽出した DNA で PCR を行い、E-Gel プレキャストアガロース電気泳動システムを用いて電気泳動を行った。まず、SizeSelect 2%ゲルで電気泳動を行い、ホモ型 (SS・LL) とヘテロ型 (SL) のタイプ分けを行った。ホモ型はそのまま DNA 抽出を経てサイクルシーケンスを行い、DNA 配列を決定した。ヘテロ型は再度 PCR を行った後、EX 4%ゲルで電気泳動を行い、ゲル切り出しを経てゲルピック法によるサイクルシーケンスを行い、DNA 配列を決定した。以下にノウハウ・問題点等を挙げる。

① 該当領域は GCrich な配列で、PCR には AmpliTaq Gold 360 DNA Polymerase を使用した。他社製品より増幅効率が優れ、結果が安定した。② 10 個のプライマーセットを試験し、最も増幅が良いものを選択した。③ 前述の SizeSelect 2%ゲルは DNA を直接抽出でき、カラム精製と比較してロスが全くなく、濃度調整ができることが利点である。EX 4%ゲルを使用し、SL 型の S (644bp) と L (687bp) の分離ができた。④ 「GCrich」かつ「S と L はほぼ同じ配列で一部に挿入配列がある構造」であるため、PCR の温度上下を繰り返す中でヘテロ二本鎖と呼ばれる高次構造の複合体が生じた。⑤ 短い配列ほど形成されやすいため、L 型のバンドが薄くなる傾向があり、カラム精製を経ずに、ゲル片を直接サイクルシーケンス混合液に入れて反応を行った。バンド濃さとゲル片の大きさの調整に慣れが必要。

【結果】EX 4%ゲルで分離したバンドをゲルピック法でサイクルシーケンスした結果、上流のバンドが複合配列となり、ヘテロ二本鎖と判明した。真ん中のバンドが L 型、下流のバンドが S 型であった。

【考察】中村氏の報告によると、5-HHTLPR は 20-23bp を単位とする反復配列で、14・15・16・19・20・22 の繰り返し配列があり、このため、DNA 配列の決定が必須であった。ヘテロ二本鎖の問題は解消できたので、今後は本解析を行い、上記タイプ分けを行う。

【参考文献・資料】 The human serotonin transporter gene linked polymorphism (5-HTTLPR) shows ten novel allelic variants (M Nakamura, S Ueno, A Sano and H Tanabe Molecular Psychiatry (2000) 5, 32-38)

## 高い親和性と機能阻害効果を有する 2種類の IL-18 モノクローナル抗体の作製とその解析

島根大学 医学部 病態生化学 成相 裕子

【目的】 IL-18 は、IL-1 $\beta$  ファミリーの炎症性サイトカインであり、主としてマクロファージに発現しているが、他にも樹状細胞、上皮細胞、ケラチノサイトなど様々な細胞で発現している。また、IL-18 受容体はNK 細胞、NKT 細胞、CD4T 細胞の他、B 細胞、好中球、マクロファージ、血管内皮細胞、平滑筋細胞など様々な細胞で発現している。IL-18 発現細胞、受容体発現細胞の多様性は、IL-18 の機能の多様性を示しており、種々の免疫系に関与していることが知られている。

IL-18 は、mRNA レベルでの産生調節を受けず、活性のない前駆体（プロ IL-18）として細胞内に豊富に存在すると報告されている。プロ IL-18 は、カスパーゼ 1 によって前駆体が切断されることで、活性型となり細胞外に放出される。したがって、mRNA 発現量や、細胞内の前駆体タンパク質の測定を行っても、IL-18 の活性を測定することにはならず、IL-18 の機能解析を行うためには、活性型 IL-18 を解析することが必須である。そこでウェスタンブロット法によりプロ IL-18 と活性型を分子サイズで峻別することのできるモノクローナル抗体の作製を目的とした。

【方法】 IL-18 タンパク質を大腸菌で発現精製し、常法に従いマウスに免疫し、ハイブリドーマを樹立した。その中からさらにマウス IL-18 タンパク質を免疫沈降できるモノクローナル抗体を選択した。また、切断された活性型 IL-18 の新しい N 末端に対応するペプチドを用いて活性型のみを特異的に認識する抗 IL-18 ネオエピトープ抗体も作製し、その機能解析を行った。

【結果】 IL-18 に対して特異性が高く、IL-18 の機能解析を行ううえで重要であるウェスタンブロットティング、免疫沈降、免疫染色を行うことができる抗体を樹立した。さらに、研究用の試薬としてだけでなく、IL-18 の機能を阻害し、治療にも応用できる抗体であることが機能解析によりわかった。

【考察】 これらのモノクローナル抗体は、IL-18 およびインフラマソームの生物学、ならびに炎症性疾患の診断および治療戦略に非常に有用となる。

### 【参考文献・資料】

Nariai Y. et.al. Generation and characterization of antagonistic anti-human interleukin (IL)-18 monoclonal antibodies with high affinity: Two types of monoclonal antibodies against full-length IL-18 and the neoepitope of inflammatory caspase-cleaved active IL-18. Archives of Biochemistry and Biophysics 663 2019

## 好熱菌 *Geobacillus stearothermophilus* のシトクロム *bd* オキシダーゼの精製条件検討

九州工業大学 情報工学部 楠本 朋一郎

【目的】近年、タグ付きタンパク質の精製が全盛であり、20世紀に脈々と培われてきたイオン交換クロマトグラフィーなどの技術が失われようとしていると感じる。今回、過剰発現プラスミドで形質転換した好熱菌から、シトクロム *bd* オキシダーゼを精製する条件を検討することで主に研究室の学生に精製ノウハウを伝達することを目的とした。

【方法】*Geobacillus thermodenitrificans* K1041 株を 10 もしくは 30%PEG6000 で処理後、エレクトロポレーション法にて pSTE-G:th *bd* プラスミドを形質転換した。2×LB 寒天培地に展開後、50℃で 1.5 日培養し、生じたコロニーを 2 μg/ml TC, 2×LB 培地中で、試験管中 5 ml, 140 rpm, 50℃, 17 時間、振盪培養後、1L 爪付きフラスコ中 500 ml, 100-160 rpm, 50℃で 22-41 時間巡回培養した後集菌、膜標品を調製した。膜標品は 1M NaCl, 10 mM NaPi (pH 7.4), 2%Na-cholate 中で洗浄し 2%MEGA9+10 等量混合物, 0.1 M NaCl, 10 mM NaPi (pH 7.4), 0.1 mM PMSF で可溶化した。これを Hydroxyapatite カラム、脱塩のための透析または限外濾過濃縮後に DEAE-Toyopearl カラムにて精製した。

【結果】 cyt. *bd* oxidase の収量を上げるために培養条件の検討を行った。従来は本培養で 100 rpm, 41 時間であったが、120 rpm, 22, 28, 41 時間、140 rpm, 23 時間、160 rpm, 22 時間と振盪速度、時間を変えて検討した。その結果、100 rpm より 120 rpm の方が菌の成長スピードも速く、また培養時間が長いほど細胞膜へのシトクロム *bd* の蓄積も大きいことが分かった。また、クロマト条件を模索した。第 1 段階のクロマトの Hydroxyapatite カラムで、従来の溶離条件ではシトクロム *bd* オキシダーゼの至適 pH である 6.0 を採用していたが、pH を 7.4, 8.0, 8.5 と変えた。その結果、Hydroxyapatite カラムでは pH7.4 においてシトクロム *d* の広範囲の NaPi 濃度画分への分散が抑制され、500 mM NaPi 画分にまとめて溶出することが分かった。また、2 段階目の DEAE-Toyopearl カラムでは pH を上げるほど全体的にタンパク質の保持力が強くなり、pH6.0 では混入していた SDH 等の夾雑物質を pH8.5 ではほぼ除去することができることが分かった。

【考察】従来、100 rpm, 41 時間で毎回培養を行った菌体を用いてシトクロム *bd* オキシダーゼの精製を行ってきた。しかし、それまで使用してきたグリセロールストック菌体が生えなくなり、また野生株へのプラスミドの形質転換も出来なくなったために、PEG6000 で処理した菌体を用いて形質転換を行っている。従来の精製法でうまく行かなくなったのはこの PEG 処理により菌体に何らかの性状変化が起こったものと思われる。

## マイクロ X 線 CT の共通機器としての運用に向けて

基礎生物学研究所 技術課 齋田 美佐子

### 【目的】

配属先の光学解析室では共通機器の顕微鏡類の管理運用及び利用者支援を行っているが、今年度から新たにマイクロ X 線 CT (以下  $\mu$ -CT) を管理することになった。 $\mu$ -CT は光学顕微鏡とは原理や取り扱いが異なり、自分自身、知識や使用経験が無く、十分な支援が出来ていなかった。そこで、CT の原理や装置の使用方法をマスターするために、メダカを用いた撮影を行ったのでその結果について報告する。

### 【方法】

- ・試料：メダカ (*Oryzias latipes*) の野生型と変異体 (*wy* 及び *fused*) の成魚, *Oryzias sarasinorum* の成魚
- ・サンプル調製方法 (1 回目) : Davidson 氏固定液\*で、4°C で 1 日緩やかに振盪固定した後、試料保存のためにアルコール系列で脱水した。  
(\*Davidson 氏固定液の組成 : 95%エタノール 33ml + 市販のホルマリン原液 22ml + 酢酸 11.5ml + 蒸留水 33.5ml)
- ・サンプル調製方法 (2 回目) : 固定は 4%パラホルムアルデヒド (以下 PFA) または Davidson 氏固定液、染色は 0.1%ルゴール/70%エタノール溶液または 0.3%リンタングステン (以下 PTA) /70%エタノール溶液で行った。固定の条件はすべて 4°C で 5 日間、染色はすべて室温で 3 日間行った。
- ・ $\mu$ -CT 装置 : 小型実験動物用 3D マイクロ X 線 CT R\_mCT2 FX (株式会社リガク)
- ・画像解析 : 医療用デジタルイメージの画像処理ソフトである OsiriX を使用した。

### 【結果】

1 回目の方法では骨が綺麗に可視化できた。2 回目の方法では、PFA 固定+PTA 染色が最も高コントラストで内部組織を可視化できた。

### 【考察】

試料作製から撮影、解析までを行うことにより、一通りの使い方をマスターすることができた。本機種は最新の物に比べると分解能が劣るが、目的によっては十分活用できるので、今回の結果を施設のホームページ等に掲載して機器の利用促進に繋げたい。

### 【参考文献・資料】

Weinhardt V. et al. (2018) *Scientific Reports*

## 献体処置作業における感染症対策と一偽陽性症例の紹介

浜松医科大学 器官組織解剖学講座<sup>1)</sup>、技術部<sup>2)</sup>、細胞分子解剖学講座<sup>3)</sup>  
佐々木 健<sup>1,2)</sup>、相羽 民人<sup>2,3)</sup>、蓑島 伸生<sup>2)</sup>、佐藤 康二<sup>1)</sup>

【目的】人体を用いた肉眼解剖実習は、主に医・歯学部で行われる専門基礎の実習科目であり、国内外を問わず必須の履修科目となっている。また、この実習に用いられるほぼ全ての人体が献体事業により成り立っている。このような大学には、この献体の保存・管理業務に従事する専門の技術職員(一部教員)が配置されており、死後数時間～数日の献体を防腐処置、脳摘出、アルコール等による保存などの一連の実務を担っている。

献体として大学に引き取られるご遺体は、死亡診断書により個々の死因や死因に関連する原因(疾病)は分かるものの、過去の病歴等、特に感染症については不明のまま大学に搬入される場合が多い。このため献体の実務に従事する職員はご遺体からの感染症の危険に常にさらされているといっても過言ではない。以上のような背景から、今回はこの献体の実務を担当する職員の感染症対策と、過去に経験したご遺体からのB型肝炎ウイルス(HBV)感染の偽陽性症例一例について紹介する。

【献体搬入から保存までの作業】献体として委託業者により搬入されたご遺体を棺から遺体用のトレイに移し替え、靴下以外の衣類等は全て脱衣させる。そして身長・体重を測定すると同時に全身にアルコール消毒液を噴霧する。その後、大腿動脈または橈骨動脈を剖出し、カニューレを挿入して防腐液(10%ホルマリン)を約7L注入する。

翌日(休日の場合は休日明け)に頭部を切開して全脳を摘出し、脳は専用タッパー内で浸漬後固定(10%ホルマリン)を兼ねながら脳実習まで約3年間保存する。脳摘出後のご遺体は頭部を縫合し、そのまま約70%アルコールの保存槽にて約3年間保存する。なお、これら一連の作業は手袋、活性炭マスク、メガネ、使い捨てガウン、防水エプロン、安全長靴等を装着して行っている。

【感染症キットによる簡易検査】現在本学では、搬入したご遺体から採取した血液によるHBVの抗原、抗体、エイズウイルスの抗体に関する簡易検査を、上述の保存作業に先立って行っている。

【HBV感染の偽陽性症例一例】本業務に従事する技術職員1名がH25-27年の健康診断において、AST、ALTの高値が認められ、またHBVの抗体価も高値であったためHBVの感染が疑われた。しかし、この時の抗原値は基準内であり、さらにその後の検査で陽性は認められなかったため、これは偽陽性であると判定された。

【考察】医歯学分野における解剖関連業務は、新鮮な献体を扱う医療従事者と同様に感染症には細心の注意を払う必要がある。一方、今回の偽陽性症例の原因は不明ではあるが、当該職員の前日の運動による可能性が疑われた。

## 水田の(復古化)のためのキョウチクトウを利用した ジャンボタニシ駆除の有効性解明

鹿児島大学 教育学部 実習地 池田 充

### 【目的】

ジャンボタニシ(スクミリンゴガイ)は水田の稲を食い荒らす有害生物である、産卵から孵化までのサイクルが約 2~3 週間と長いため短期的な駆除では効率的な駆除には至らない。そこで現行の農薬では不可能な持続性の長い薬効を求めてさまざまな植物由来成分を利用して水槽内で予備試験を行った結果、キョウチクトウの乾燥葉がタニシを死亡させることを発見した、しかも同時に飼育していたオタマジャクシやミジンコは生存し続けている個体もあった。しかし、より自然環境下に近い状態でタニシの増殖を抑制できるかは確認できていない。またより重要となるキョウチクトウの毒性の稲への残留も確認できていない。本研究では、キョウチクトウによるタニシの持続的な防除効果の実証と有毒成分の残留性を検証し、有害害虫の生息しない昔の水田環境に戻すための実験を行った。

### 【方法】

キョウチクトウの 1 cm 各乾燥葉を 1 g 区・2.5 g 区・5 g 区・10 g 区の添加区を設けバケツ稲に投入し栽培を 5 反復で行った。収穫後に米にキョウチクトウ残留毒(オレアンドリン)の残留濃度を依頼分析する。キョウチクトウ乾燥葉 1 cm 各の添加材処理区を、同上区と対象区を設け 150 容器に水 2 l を入れジャンボタニシとオタマジャクシを各 5 匹ずつ同時に飼育し添加材を加え致死率の調査を行った、同じくジャンボタニシとメダカの試験区でも同様の添加処理区も設け死滅率の調査を行った。

### 【結果】

キョウチクトウ乾燥葉を投入したバケツ稲から収穫した米を 10g 区・2.5g 区の残留毒(オレアンドリン)を分析した結果、残留毒性は検出されなかった。キョウチクトウの致死率調査においては 10g 区と 5 g 区ではジャンボタニシとオタマジャクシは 2 日目にすべて死滅した、またメダカにおいても同様の結果だった。2.5g 区ではメダカが 2 日目に死滅し 3 日目には 1g 区でもすべて死滅した、ジャンボタニシは 2.5g 区では 2 日目に 1 匹 3 日目に 1 匹 4 日目にすべて死滅した、1g 区では 3 日目までは生存していたが 4 日目に 4 匹死滅したその後 8 日目まで生きつづけた個体もあった。

### 【考察】

以上のことからキョウチクトウの乾燥葉はジャンボタニシを完全に死滅させる毒性の強い植物であることがわかった。また同時にメダカやオタマジャクシにも影響があることも確認できた、またキョウチクトウの添加量の調整で致死率を変えることが可能ではないかと示唆される。最も重要である米への残留毒性が検出されなかったのは大きい結果である、しかも添加量が 10g 区から検出されなかったことは、今後の駆除に大きな期待ができる。

## 技術職員による他大学との連携

滋賀医科大学 実験実習支援センター 小山 由起子

【目的】近年、大学では予算や人員が削減されている状況の下、他大学との連携が益々重要になっており、運営、教育、研究面で教員や事務職員による連携がなされている。技術職員においても他大学の研究者や技術職員との緊密な連携が必須になると予想され、筆者はその方法を模索し実践してきた。今後の展開のため、これまでの連携の効果や、技術職員の連携に対する要望などを把握し、より良い内容を目指す手がかりとする。

【方法】筆者がこれまでに取組んだ技術支援と得られた成果を国立大学法人生命科学研究機器施設協議会で発表し、意見交換を行った。本協議会は、医学系の共同利用施設が集まる場であり、筆者の所属機関と同様の施設における立場や状況の近い人からの意見を得やすいと考えた。以下に筆者の取組んだ技術支援の内容を示す。

(1) 機器の外部利用： 他大学より、旧型の DNA シーケンサーを糖鎖解析用として使用したい要望が寄せられ、対応した。古い機器が良い状態で保管され使いこなせる施設は限られるため、需要があるとわかった。

(2) 故障機器の有効活用： 故障したプロテインシーケンサーの部品を、同機種を保有する他大学へ譲渡し、今後の本学の利用希望者への対応について協力を要請した。大学間での機器の融通は、機器更新や維持が難しくなっている今日、有益な手段と思われる。

(3) 講習会への技術的支援： 他大学 RI 研究施設の新任技術職員のために、放射線教育訓練の講義を一部担当するなどサポートした。前任者からの引き継ぎを期待できない場合、大学を越えたフォローの必要性を痛感した。

【結果】協議会参加者との対話から、学内の古い機器の処置に困っていること、それらの活用を望む声が予想以上に多いこと、機器の処分や譲渡については大学ごとに事情が異なること、技術の引き継ぎに大学の垣根を越えた協力を求めていることなどがわかった。

【考察】筆者が実施してきた古い機械の活用や部品の融通、技術の継承など、技術職員による連携や情報共有は大いに期待されている。しかし、技術職員が他大学の職員とのつながりを持つ機会は限られ、研究者のような研究を通じたコミュニティの形成をしづらい。研修会の実施や連絡網の設定といった技術職員間のネットワークの構築を意識的に行う必要がある。また、大学によって異なるルールへの対応、経費の手続き、学内の業務との両立など、環境の整備も求められるであろう。

# 口 演 発 表

( 奨 励 研 究 採 択 課 題 技 術 シ ン ポ ジ ウ ム )

## VR 動画とヒヤリハット報告を用いた 安全教育管理手法の構築

久留米工業高等専門学校 教育研究支援センター 吉利用之、屋並 陽仁  
久留米工業高等専門学校 材料システム工学科 佐々木 大輔

【目的】近年、派遣社員・外国人労働者の増加に伴い、全労働災害において、未熟練労働者の割合が高くなっている。未熟練労働者が作業に慣れておらず、また危険に対する感受性も低いことが原因とされている<sup>1)</sup>。しかし、労力・資金・時間の負担が大きいこと、短期的・長期的な教育効果の定量評価が十分になされていないことが安全教育の取り入れ、安全衛生管理体制と安全衛生教育を構築する際の問題となっている。管理体制と衛生教育を十分に構築できないため、安全教育による教育効果・経済効果を有意に感じる事が難しくなっている。結果、安全教育自体がルーチンワークに陥りがちである。

そこで本研究では、VR 動画とヒヤリハット報告を用いた安全教育管理手法を構築する。

【方法】労働災害事例より、学生実験における事故は、巻き込まれ・挟まれ・火傷が多い。この結果に基づき、事例に対応した VR 動画作成を行った。VR 動画の安全教育前後に、被験者学生にアンケートに回答をしてもらった。アンケートの集計・ヒヤリハット報告は、QR コードと Microsoft forms を用いた WEB 入力とした。

【結果】教育前に安全教育の内容を半分程度以上覚えている学生数は計 17 名であった。一方で、VR 動画を用いた安全教育の場合、半分程度以上覚えている学生数は計 31 名であった。この結果は、通常的安全教育と VR 動画を用いた安全教育を比べると VR 動画を用いた安全教育の方がより教育内容を記憶できることを示す。

【考察】本研究では、VR 動画とヒヤリハット報告を用いた安全教育管理手法を構築し、以下の知見が得られた。1) VR 動画の安全教育は、疑似的に危険体感教育を経験できる。2) 視覚・聴覚の安全教育から触覚（体感）を追加することで没入感が増加する。没入感が増加すると、作りだされた世界に入り込んでいるような感覚となる。疑似的な感覚によって、事故を体験できる。よって VR 動画の安全教育は教育効果が高いと考えられる。3) VR 動画は、通常的安全教育より教育内容を記憶できることが示された。今後の課題は、安全に対する認識の分析、ヒヤリハット報告の数の長期的な推移を明らかにすることである。

### 【参考文献・資料】

1) 松岡 武史、佐々木 大輔、藤岡 潤、泉野 浩嗣、加藤 亨：高専における少人数影響を利用したヒヤリハット活動教育とその評価

## 「AI 時代に対応した人材育成・AI 技術の最適活用」を 目的としたカメラアプリ教材の開発

北海道大学 電子科学研究所 技術部 富樫 愛采

【目的】近年、様々な場面で使用される「AI」、「画像処理」技術は多くの人々が日常的に利用している技術である。しかし、利用者としてこれらの技術に触れる機会が圧倒的に多い。ソースは基本的に未公開のため、技術的な難易度を知ることができない。

また、技術の実態に触れようと思っても、「AI」、「画像処理」という概念的な言葉だけが先行し、高度な印象を受けやすい技術であるゆえに学ぶことを避けてしまう傾向にある。結果として、今後増加していくこれらの技術の需要に対し、技術を使える人材が不足し、供給とのバランスが取れなくなる可能性がある。この問題を解決し、「AI 時代に対応した人材育成・AI 技術の最適活用」を実現することを目的として、教材を開発する。

### 【開発教材の概要】

- 学生をはじめとした若年層が特に興味と親しみを持ちやすい「カメラアプリ」を題材とする。
- 一般的に普及しているカメラアプリとは異なり、Deep Learning による識別機能を搭載する。また、ライブラリには Keras を利用する。
- OpenCV で画像処理を行い、アプリ使用者の手を検出して、手遊びの「犬」、「蟹」のいずれに該当するか判断する。
- 検出した手に「犬」、「蟹」いずれかのアイコンを合成して検出結果を表示する。

【結果】令和元年 11 月に開催された「第 8 回アライアンス技術支援シンポジウム」で本アプリを実演した。この実演を通して、指を少し曲げてしまうと、犬、蟹いずれの判定精度が低下することが分かった。

【考察】今後は、実演時に判明した課題の対策として、学習させる画像を増やして汎化性能の高い学習モデル作成を予定する。また、学習モデルを簡単に体験できるユーザーインターフェースを構築するなど、機械学習の一連の流れを学べるアプリの開発も計画している。

### 【参考文献・資料】

- ・ [1] Keras: Python の深層学習ライブラリ <https://keras.io/ja/>
- ・ [2] Opencv <https://opencv.org/>

【謝辞】本研究は JSPS 科研費 JP19H00178 の助成を受けたものです。

## 学生向けスマホアプリ教材の開発

東京大学 工学部 工学系研究科 酒井 有沙

【目的】スマホアプリは、誰でも気軽に使用できるツールであり、特に大学生を始め若い世代には親しみやすい媒体である。今回、スマホアプリを媒体とした学習教材を2つ開発した。

1つ目は「初心者向けガラス細工アプリ」である。筆者は九州大学で約2年間、ガラス器具の作製や修理の業務に従事しており、初心者がガラス細工に挑戦するための情報が極めて少ないことに気づき、このアプリを作成した。イラストや動画を多用し、文章だけでは伝わりづらいコツを詳細に説明している。

2つ目は「化学実験を始める人向けの安全衛生アプリ」である。大学2,3年生の学生実習の補助に入った際、事故に繋がりそうな実験作業をしている学生を多数目撃し、手軽に正しい実験操作が学べるツールの必要性を感じ、現在開発中である。日常の実験に潜む危険予知テストや一目で薬品の危険性が分かるSDSのピクトグラム表示機能などを実装する予定である。

### 【方法】

#### 1. 初心者向けガラス細工アプリ

Adobe Illustrator を用いて各種ガラス器具の作り方を技法ごとに段階的にイラストで表現し、説明文を作成した。また、動画を説明に盛り込むことで、操作のタイミングや力加減など、感覚的に理解できるよう工夫した。アプリはXcodeで作成し、アクションの設定や端末ごとの表示を微調節し、App storeで配信した。

#### 2. 化学実験を始める人向けの安全衛生アプリ

大学で使われる代表的な薬品の危険性と緊急時の対策が、瞬時に判断できるようイラストと危険度色別表示機能を導入している。例えば、「眼刺激性」の場合は充血した目のイラストで表現し、さらに危険性を色別で五段階評価している。

また、危険予知テスト機能を設けた。実験中の風景のイラストから危険な点を予測しタッチすると、危険性と正しい実験方法がイラストで表示される。使用者が飽きずに最後まで受けられるテスト内容になるようイラストの表現を工夫している。

【結果】初心者向けガラス細工アプリはiOS アプリ名: LearninGlassでApp storeで配信している。アプリ宣伝および使用方法説明用の専用のホームページも公開している。

HP URL: <https://itoapp.jp/glass/promotion.html>

【考察】化学実験を始める人向けの安全衛生アプリは現在開発中である。専用のホームページを作成し、App storeの審査に通り次第配信予定である。

【参考文献・資料】バーナーワーク 酸素バーナーを使った耐熱ガラス工房 家庭ガラス工房 松村潔【著】販売会社/発売会社: ほるぷ出版 発売年月日: 2007/12/25

## サイバー攻撃を防げるか体験して学ぶ 情報セキュリティ教育教材の開発

小山工業高等専門学校 教育研究技術支援部 技術室 井手尾 光臣

【目的】 インターネットの普及により，誰でも簡単にソフトウェアを入手して利用できるが，ソフトウェアの種類によっては使い方を誤るとシステムやネットワークに影響を与えることがある。例えば，ネットワークツールを学生が興味本位や故意に第三者の管理するサーバに対して使用するとサイバー攻撃になる危険性がある。そこで，サイバー攻撃の加害者になるような危険性について実験を通して学生に体験させることを目的として，情報セキュリティ教育教材の開発を行った。

【方法】 教材開発は，校内ネットワークから独立した実験ネットワークを構築した。実験ネットワークは，ネットワークサーバ，クライアント PC，ハードウェア型ファイアウォール，管理・設定用ノート PC で構成する。ネットワークサーバ及びクライアント PC は，小型かつ安価なシングルボードコンピュータの Raspberry Pi を用いて構築した。OS は Raspberry Pi で動作し，様々なネットワークツールがインストールされている Kali Linux を採用した。ファイアウォールは，小中規模ネットワーク向けの安価なモデルを使用し，ルータモードとして動作させた。ファイアウォールの LAN ポートにクライアント PC，WAN ポートにネットワークサーバを接続し，ルーティング等に問題はなく通信が行える。通信の監視及びセキュリティ機能等の設定は，管理・設定用ノート PC のブラウザから簡単に行うことができる。この構築した実験ネットワークを用いてネットワークツールの誤った使い方がサイバー攻撃になる危険性を体験させる学生実験を計画した。実験では，LAN のクライアント PC からネットワークツールを実行し，ファイアウォールを通過させて WAN のサーバにアクセスする。この時の通信を不正アクセスの検知やトラフィック情報等の監視により，どのような攻撃になるのか，攻撃を防ぐことができるのかを確認する。実験に使用するネットワークツールは，ネットワーク管理やサーバ構築等に利用する Web サイト負荷テストツール，ポートスキャンツール，パスワードクラックツール等から選定した。

【結果】 ネットワークツールを使用したサーバアクセスは，DoS 攻撃，ポートスキャン攻撃，ブルートフォース攻撃になることを確認できた。また，ファイアウォールを用いて大量の packets や不正な packets を送信する攻撃は防げること，ブルートフォース攻撃のような通常の通信と似ている攻撃は防げないことを確認できた。

【考察】 今回使用したネットワークツールは，実際のサイバー攻撃に使用できることから，ネットワークにおいて利用する際は注意する必要がある。今後，実験テキストの作成を行い，学生実験の導入に向けて準備する予定である。

【参考文献】 三輪賢一，プロのための図解ネットワーク機器入門，技術評論社，2013 年，pp. 284-362

## 医学生理学における体験的実験教材の開発

生理学研究所 技術課 医用生体工学プロジェクト  
永田 治、戸川 森雄、佐治 俊幸

理科第2分野における医学・生理学的な授業は、その対象が人体であることから体験的な実験を含めた授業を行うことは安全面や倫理面から困難である。そのため利用できる教材も図表や人体模型のような抽象的な教材が中心となるが、座学を中心とした授業内容では興味を引き出すことが難しい。さらに教職員は職務が多忙で、有効な教材を開発する時間的余裕がなく、すぐに活用できる具体的な体験型の実験教材の提供を要望する声が多い。

本報告は、研究をサポートする技術系の現場で蓄積された情報を基礎とし、体験的な実験教材を組み込んだ理科実験教材を開発することで、アウトリーチ機材として提供することを目的として2010年度に開始された“技術課医用生体工学プロジェクト”活動の最終報告である。

基本構成は、中学校理科教科書における“行動のしくみ”の各単元に沿って、それぞれに体験的な実験教材を作製し、実験環境を構築している。

体を動かしているのはおもに神経によって伝搬される電気信号であり、脳からの情報はこの電気信号によって伝わっていくが、実験の主題としてこの電気信号に着目した。

情報伝達の基本的な仕組みを、体験的な実験を通して理解してもらうために、乾電池を主電源として動作し、生徒のみの使用においても、極めて安全かつ容易に操作できる簡易筋電位計および反応速度計等を開発した。これらの機器は生体信号を具体的な数値または音や光で可視化することで、その動きを体感的に学ぶことができる。

これらの技術は、生体信号を利用して義手や、介護などの作業を行う補助具を開発するための最先端研究である BMI（ブレイン・マシン・インターフェイス）の基礎につながるもので、筋電位を制御信号として利用して、多軸の教材用ロボットハンドを制御し、簡易的な BMI 実験を体験することができるので、小・中・高等学校などの出前授業、各地の科学館などにおける生理学・医学分野のデモ実験展示などにおいても多くの実績がある。さらに、USB インターフェイスを介して PC に入力し、あらかじめ各自が作成した簡易的なプログラムを介して筋電位によりグラフィックのキャラクターや外部モーター教材の動きをコントロールすることで、簡易的なプログラミングも同時に学習できるので、日本科学未来館実験教室ではプログラミングの基礎学習としても利用されている。

## 簡単可愛い DNA 模型作製教材の開発

一関工業高等専門学校 技術室 宇野 修子

### 【目的】

現在、理系の進路を目指す女子中学生の確保は高専において課題になっている。また、中学受験等もある今、小学生のうちから高専を選択してもらうためのアピールも同様に重要となっている。そのため、高専に多くある理系科目に親しみを持ってもらう必要があるが、理系科目である化学には女子受けの良い「可愛い」イメージがほとんどない。そこで、化学に可愛いイメージを持ってもらうために簡単で可愛い DNA 模型作製教材の開発と、分かりやすい DNA 模型の開発を目指した。

### 【方法】

(1)使用した手法である DNA 模型の作り方は、静岡県の大場俊二先生が考案されたものです。20号の太さ(太さ約3mm)の紐で約1,000万倍のサイズのDNA模型を作ることができる。しかし太い紙紐を利用するため小さい子が綺麗に作る事は困難であったし、単色のためDNAの構造が分かりにくい欠点があった。そこで異なる素材を用いてDNA模型を開発する事とした。約1,000万倍のDNAモデル用の材料としては、同じ太さのクレモナロープを使用する事で解決した。紙紐に比べ柔らかく、小学校低学年でも工作する事ができた。また、サイズにこだわらないDNA模型としてはスエード調の皮紐や、光沢のある紐、毛糸を使用して作成できるようにした。DNA構造を分かりやすくするには、太さ4mmのストローを使用した。ATの組み合わせを赤(Aを赤、Tを黄で表現したものでも可)、CGの組み合わせを青(Cを青、Gを白で表現したものでも可)を差し込む事でDNA構造を表現した。より可愛いDNA模型製作用にはクレモナロープの代わりに毛糸を使い、ふわふわもこもこなDNA模型の作成を可能にした。柔らかい素材でDNA模型を作る時には、ダブルクリップを用いた編み機を使う事で、誰でも簡単に模型を作る事ができるようにした。

(2)新しい手法としてはストローを入れて塩基を表現する事が可能なので、コドンを利用した文字列の挿入を行った。既存のコドン表だと一般の方には分かりにくかったので、アルファベット対応のコドン表(例えばシステインのCならばTGT, TGCで表現できる等)を作成し、DNA模型にコドンで文字を入れる事ができるようにもした。

(3)分かりやすいDNA模型はマジックテープと磁石、スポンジを利用し作成した。

### 【結果】

本校のオープンキャンパス(中学生対象)と文化祭にて工作教室を行い好評を得た。オープンキャンパス時は見学に来た中学生だけでなく、一緒に来ていた保護者や下の弟妹達も楽しく工作し、本研究課題目的が達成できていることを実感した。

### 【まとめ】

可愛いDNA模型が女子だけではなく、男子にも好評だったのがうれしい誤算だった。

## 脆弱な細胞の操作を可能とするマイクロハンドの開発

山形大学 工学部 技術部 川口 敏史

【目的】生命工学において、マイクロスケールでの精密な操作が行えるマニピュレーション技術が求められている。しかし、操作対象の多様性に比べ、単一のマニピュレーション装置で扱える対象の範囲は狭い。単一装置で操作可能な対象が増えれば、コストや手間の削減だけでなく、特性やサイズの異なる物体を同時に扱うことができ、新しい実験系作成も期待できる。所属研究室では、2本の硬いガラス棒で微小物体を把持・移動・回転ができるマイクロハンドを開発しており、100ミクロン程度の物体の操作が可能となっている。硬いガラス棒は、大きな力でも壊れない物体の操作は容易だが、脆弱な物体の取り扱いが困難である。

本研究では、2本のガラス棒の物体との接触部に柔軟性を持たせることで、脆弱性のある微小物体の操作も可能にするマイクロハンドの開発を目的とする。

### 【方法】

(1)物体との接触部に柔軟性を持たせれば、物体に加える力を軽減できるだけでなく、マイクロハンドの位置決め誤差や、物体の形状認識誤差を吸収でき、脆弱性のある物体の把持が可能になる。

(2)接触部に柔軟性を持たせるために、細長く加工したガラス棒を使用した。プーラー、マイクロフォージを用いれば、ガラス棒先端を容易に加工でき、細長さを変えることで柔軟性が調整できる。

(3)操作の安定性を上げるため、顕微鏡画像からガラス棒の変形量を検出し、2本のガラス棒の間隔を自動調整する手法を開発した。間隔を自動調整しながら2本のガラス棒を同時に動かすことで、物体を移動・回転できる。

(4)脆弱性のある物体として、珪藻を用いた。珪藻は生物資源として注目されており、マニピュレーションが可能となるメリットは大きい。

(5)先端の細長い領域の長さが異なるガラス棒を作成し、接触部周辺のしなり易さと、珪藻の把持・運搬の成功率の関係を比較し、柔軟性を持たせる手法の有効性を検証した。

【結果】柔軟なガラス棒を用いることで、珪藻の運搬の成功率上昇が確認でき、柔軟性を持たせる手法の有効性が確認できた。また、把持間隔を自動調整することで、珪藻に加える力が一定範囲内となるよう制御することが可能となり、珪藻を破壊することなく操作できた。

【考察】本研究では、接触部に柔軟性を持たせるために、ガラス棒自体を細長くした。物体を挟んだとき、2本のガラス棒が互いに反発する方向に変形すれば問題ないが、物体の形状によっては、予期せぬ方向に変形して物体を取り落とす危険性がある。今後は、柔軟性を持たせる別の手法も検討し、より汎用性の高いマイクロハンドの開発を目指す。

## -196℃下で柔軟性を保つ多孔体マッシュマロゲルを利用した凍結ブロック作製法の検討

名古屋大学 全学技術センター 牛田 かおり

【目的】病院で行われる手術中の迅速病理診断や研究における免疫染色において、組織の凍結標本作製法は広く利用されている。良質な標本作製には、凍結時の氷晶形成による組織損傷を防ぐためには急速凍結が必要で、温度の点からは-196℃の超低温を供する液体窒素が最も優れているが、ライデンフロスト現象による気泡形成が熱伝導を阻害するため冷却効率が悪く、液体窒素の利点である超低温性が十分に生かされていない。今回の研究では、液体窒素の保持が可能な柔軟多孔性ゲル（マッシュマロゲル）を用いて、液体窒素の気泡形成が抑えられ、ライデンフロスト現象を回避し迅速な組織凍結が可能となる凍結ブロック作製法と簡易的な凍結ブロック作製ツールを提案することを目的とした。

【方法】 $C_4H_{12}O_3Si$ 、 $C_4H_{12}O_2Si$ 、CTAC、尿素、酢酸を材料として自作したマッシュマロゲル<sup>※1</sup>に液体窒素を吸着させて凍結ブロックを作製し、作製時の操作性・凍結標本の出来栄を現行の凍結ブロック作製法と比較した。

【結果】マッシュマロゲルの多孔構造が液体窒素気化で発生した気泡の成長を抑え込むことでライデンフロスト現象が回避され、-196℃の液体窒素の超低温性を最大限に利用した理想的な凍結が実現できた。また、マッシュマロゲルは液体窒素を抱え込んでも柔軟性を保つことから、金属製モールドを沈みこませて密着させることにより、底面からだけでなく側面からも一気に-196℃に冷却できた。更に、他種のスポンジ・ゲルも試したが、液体窒素の保持性などが不可能であったことから、マッシュマロゲルの独自の有用性が示唆された。

【考察】液体窒素を用いたブロック凍結は中心部の冷却不足による氷晶形成などのアーチファクトが起きやすく経験を要する工程であるが、今回提案する方法は、速やかな熱伝導を妨げる空気の層を形成することなく、金属製モールドを使用するため確実に良質な凍結ブロックの作製が可能であった。液体窒素を浸み込ませたマッシュマロゲルはデュワー瓶などに詰めてこぼさず持ち運べることから、既にドライシッパーとしての活用の報告<sup>※2</sup>もあり、今後さらに用途が広がることを期待している。

### 【参考文献】

※1 Gen Hayase, *et al.* “New flexible aerogels and xerogels derived from methyltrimethoxy silane/dimethyldimethoxysilane co-precursors”, *J. Mater. Chem.*, **21**, 17077-17079 (2011). DOI:10.1039/C1JM13664J

※2 Gen Hayase, Yasutaka Ohya, “Marshmallow-like silicone gels as flexible thermal insulators and liquid nitrogen retention materials and their application in containers for cryopreserved embryos”, *Applied Materials Today*, **9**, 560-565 (2017). DOI:10.1016/j.apmt.2017.10.004 (Preprint: ChemRxiv)

## より良い電子顕微鏡測定データ取得のための コンタミネーション抑制方法の検討

北海道大学 大学院工学研究院 大多 亮

### 【目的】

電子顕微鏡は収差補正技術の発展とともにサブナノオーダー領域において、ナノ粒子・ナノクラスター・単原子分析等益々微小領域からの情報取得のための強力なツールとなっている。しかしながら、走査透過型電子顕微鏡における測定中にカーボンコンタミネーションが付着し、測定に支障をきたす場合が散見されており、微小領域の分析に耐えうる試料の作成が難しい現状がある。電子顕微鏡内に試料を挿入する前処理として、アルゴンと酸素のミックスガスによるプラズマクリーニングを行うことで、アルゴンイオンによるスパッタや酸素イオンと hidrocarbon 等の不純物が反応し二酸化炭素や水分子として排出しコンタミネーション抑制を行っている。また、真空雰囲気において試料温度を上げることで、表面のガス分子や水分子の離脱を促すことができることはよく知られている。そこで、本研究では電子顕微鏡測定中に試料由来のコンタミネーションの付着堆積低減を目的とし、プラズマクリーニングの化学的反応による hidrocarbon 除去と試料加熱によるガス・水分子除去を組み合わせた清浄な試料前処理方法の検討を行う。

### 【方法】

Fischione 社製のプラズマクリーナー (Model1020) をベースに、プラズマ発生部で使用可能な TEM 試料加熱ユニットの設計製作を行い、加熱・プラズマ同時処理によるコンタミネーション低減の効果を検証する。使用する試料はエラスチックカーボン膜グリッドを使用し、プラズマ処理を一定の出力、加熱温度は 100 °C とした。コンタミネーションの堆積した厚み比較を行うため、①加熱 (20 分間) のみの場合、②プラズマ処理 (10 秒間) のみの場合、③加熱 (20 分間) + プラズマ処理 (10 秒間) を行った場合の初期状態と処理後の試料それぞれにおいて、10nm 角のエリアを 5 分間スキャン後に、EF-TEM により相対厚み Map を測定しコンタミネーション付着の減少率の比較を行う。

### 【結果・考察】

EF-TEM 相対厚み Map より、コンタミネーション付着部分と試料膜のみの部分の差をコンタミネーション付着量とし、処理前後におけるコンタミネーション付着量の減少率を比較した。その結果、①加熱のみの場合に 32% 減、②プラズマ処理のみの場合に 29% 減、③加熱プラズマ処理を同時に行った場合に 50% 減であった。真空雰囲気での加熱プラズマ同時処理の条件においてコンタミネーション減少の効果が得られた。

### 【謝辞】

本研究は JSPS 科研費 JP19H00280 の助成を受け実施した。

## 精子介在遺伝子伝達による遺伝子欠損モルモットの作製

秋田大学 バイオサイエンス教育・研究サポートセンター 矢野 愛美

【目的】近年登場した CRISPR/Cas9 システムは簡単・迅速かつ高い効果で遺伝子のノックアウト、あるいはノックインすることが可能なゲノム編集技術である。この技術によりマウス以外の動物種でも容易に遺伝子改変動物が作製できるようになった。

モルモットは免疫系や皮膚の生理機構がヒトに類似していること、ヒトと同様に体内でビタミンCを合成できないことなどから長く実験動物として利用されてきた。しかし、マウスと異なり、遺伝子改変モルモット作製に関する報告は見当たらない。モルモットは性成熟までの期間・妊娠期間が長く、雌の性周期が完全周期性であり、さらに産仔数が少ない、と生産効率が悪い。その上、効率的な過排卵誘起法も確立されていないことが原因と考えられる。そこで本研究では、胚操作を介さず、精子介在遺伝子伝達により遺伝子欠損モルモットを作製する方法を開発する。

【方法】欠損により無毛（ヘアレス）を発現することが知られている Hr 遺伝子を標的とした RNA 及び Cas9 を発現させるための DNA コンストラクトを作成し、モルモット精子が効率的に DNA コンストラクトを取り込む最適な条件を検討し RT-PCR で DNA 取り込み効率を測定した。

また、雌モルモットは完全性周期であり発情期を見極めて複数の雌に同時に人工授精を行うことは困難なため、性周期同期化処置を行い、人工授精を行う方法を検討した。

【結果】雌モルモットの人工授精は精子を膈内投与、腹腔内投与にて投与することで産仔を得た。また、魚類、鳥類、マウス、ブタの精子は能動的に DNA を取り込むことが知られているが、モルモット精子でも RT-PCR にて能動的な DNA の取り込みを確認した。さらに高効率の DNA コンストラクト導入精子の作製のため精子と DNA コンストラクトの懸濁液にエレクトロポレーションを行い DNA コンストラクトの取り込みを確認した。

【考察】多くの産仔数を得られないモルモットであるが、性周期同期化と人工授精を組み合わせることで生産効率の向上が期待される。なお、現在 DNA コンストラクト導入精子を用いた人工授精に取り組んでいるが本研究会までに出産には至らない見込みである。

また、本研究では DNA コンストラクトの取り込みについて RT-PCR での評価を行ったが、今後は他の評価方法も検討したい。

## FLEx “Cre-On”スイッチを利用して マウスゲノムへ点変異を条件的に導入する試み

基礎生物学研究所 技術課 水口 洋子

【目的】配属先の生殖細胞研究部門では、マウス精巣を用いて、精子を生み出す源となる「精子幹細胞」の長期にわたる挙動解析を行っている。薬剤（タモキシフェン）誘導型 Cre リコンビナーゼ（Cre-ER）を幹細胞特異的に発現すると共に、レポーター遺伝子（蛍光タンパク質）を持つ遺伝子組換えマウスに低濃度タモキシフェンを投与することで、ごく少数の幹細胞を不可逆的に蛍光タンパク質で標識することができる。標識された幹細胞が維持され分化細胞（精子）を供給し続けると、標識を持つ子孫細胞の集団が精巣内に形成される。一方で、幹細胞が消滅（分化或いは細胞死）した場合、子孫細胞集団は時間経過に伴い消失する。このように、幹細胞の運命を追跡することが可能である。

私は、この実験系を応用して、特定の点突然変異が生じた幹細胞が維持されるのか、或いは除去されるのかを調べるために、その運命を追跡する実験系を計画した。そのために、タモキシフェン投与により、蛍光標識と同時に幹細胞ゲノムに変異を挿入できる Cre リコンビナーゼ依存的なシステムを構築し、遺伝子組換えマウスを作出することにした。

【方法】Cre リコンビナーゼは loxP 配列と呼ばれる 34bp の塩基配列を認識し、2つの loxP 間で相同組換えを起こす。このとき、2つの loxP 配列が同じ方向であれば loxP 配列間の塩基配列が切り出され、逆方向であれば loxP 間の塩基配列は反転する。この Cre リコンビナーゼによる塩基配列の逆転・切り出しを利用し、エクソフリップによって変異を導入する FLEx (flip-excision)法が開発されている。この系を用いて、多数のエクソンを持つ遺伝子の単一エクソンに点突然変異を導入できる遺伝子改変法をデザインした。まず、デザインどおりに FLEx 法が働くかどうかを、minigene を構築して in vitro で検証した。具体的には、線維芽細胞に Cre リコンビナーゼ発現ベクタと共遺伝子導入し、FLEx が生じているかどうか検証した。

【結果】導入 minigene からの転写・翻訳を確認した後、全 RNA を調製し RT-PCR 産物を解析した。その結果、minigene の FLEx カセットで Cre リコンビナーゼによる組換えが起こり、期待どおりの転写産物が得られていることが示された。

【考察】デザインに基づき、遺伝子組換えマウスを作製している途中である。

【参考文献・資料】 F.Schnütgen et al., Nature Biotechnology 21: 562-565, 2003

# ポスター発表

## LC-MS による代謝物測定のリシピ

基礎生物学研究所 技術課 森 友子

### 【目的】

所属する施設では、LC/MS を用いて代謝物の定量測定を行っている。生体内の代謝物は疎水性のものもあれば親水性のものもあり、更にはその極性も様々である。そのために、それぞれに応じた LC のカラム選択や MS の適切な測定条件設定が必要である。代謝物毎に測定条件検討を行い、当施設で採用している測定条件をまとめて報告したい。

### 【方法】

次の装置を使用した。LC:Micro200 (Eksigent) 又は ACQUITY UPLC H-Class PLUS (Waters)、MS:Triple TOF 5600 (Sciex)。各目的の代謝物の標準品について、LC のカラム、移動相及び流速の最適化に加えて質量分析装置の測定パラメーターを最適化した。

### 【結果】

各代謝物について測定条件を確定し、依頼分析に対応している。詳細な条件はポスターにて紹介する。(1) TCA 回路 (アミノ酸、有機酸) (2) 水溶性ビタミン (3) 脂溶性ビタミン (4) ヌクレオチド (5) ヌクレオシド (6) 糖

## LC-MS の溶出時間の違いによるタンパク質検出比較

基礎生物学研究所 技術課 牧野 由美子

【目的】LC-MS を用いたタンパク質同定・定量解析等の依頼分析を Orbitrap 質量分析装置 (ThermoFisher Scientific) を用いて行っている。以前より、溶出時間は主に 20 分で行っていた。現在は、長異様出時間の測定に対応し、20、40、60、90、120 分で行っている。各溶出時間におけるタンパク質同定の詳細、定量等の傾向を把握し、サンプルにより適切な溶出時間を選択する必要がある。このため、各溶出時間のタンパク質同定や定量について結果を比較した。

【方法】次の 2 つのサンプルについて 20、40、60、90 分測定を各 3 回行った。

(1) エノラーゼ 10fmol (2) エノラーゼ 10fmol in ゼノパス胚精製タンパク質

同定を行う Mascot 検索のエノラーゼのスコア値、アミノ酸配列カバー率 (ペプチド検出数)、配列推定された MS/MS スペクトル数の平均を求めた。また、ラベルフリー定量解析を行い、タンパク質存在量比とそのばらつきである変動係数を求めた。

【結果】(1) と (2) で異なる傾向が見られた。また、同定結果と定量解析結果は必ずしも同じ傾向ではないようであった。

## フローサイトメトリーによる血球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】前回、前々回とフローサイトメトリーの実験から 355nm のレーザー照射により細胞（培養細胞）内自家蛍光物質（UVAFL）の解析をおこなってきた。これらの実験から UVAFL がミトコンドリアの補酵素である NADH に強く関与していることが示唆された。今回、これらのことを踏まえて、血液中の血球（リンパ球、好中球、単球など）が持つ UVAFL にどのような特徴がみられるのか検討した。

【方法】試料は、ヒト血液細胞と培養細胞（K562）を使用した。血液は、中指から採血用穿刺具（TERUMO）を使い 10  $\mu$ l 採血し RPMI 溶液で希釈し実験に供した。希釈血液をそのまま FACS Aria (BD) にて励起波長 355nm, 蛍光波長 450nm で解析した。また、ミトコンドリアの膜電位は、Rhodamine123 で染色し、Ex488nm, Em525nm で測定した。

【結果と考察】ヒト血液中の血球の UVAFL 値は、次のような順位で有意差が認められた。全血、溶血群共にリンパ球 < 好中球 < 単球 < 好酸球 < k562 細胞であった。Rhodamine123 の測定は、単球のみが高値であった。この両者が一致しないことから、ミトコンドリアのエネルギー合成系について今後も詳細な検討が必要であると考えられる。

## マイクロ分光器を使った蛍光タンパク質のスペクトル測定

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】緑色蛍光タンパク質 (GFP) の変性過程における蛍光の時間変化測定を行っている。今回は、蛍光スペクトルの時間変化測定を試みた。

【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、蛍光スペクトルの時間変化を測定した。蛍光スペクトルは、光ファイバーを接続したコネクタ付マイクロ分光器 (C12880MA-10) で分光し、デジタイズして PC にデータを取り込み、時間変化を測定した。

【結果】マイクロ分光器を使って、GFP の天然状態および変性状態の定常状態の蛍光スペクトルを波長分解能 15 nm で測定できた。また、GFP の変性過程における蛍光スペクトルの時間変化をサンプリング周波数 13 Hz で測定できた。この時の蛍光スペクトルのピークは指数関数的に減衰し、時定数は約 0.5 s (相関係数  $|r| = 0.998$ ) であった。

【課題】今後は、スペクトル測定 of 最適な条件および解析手法の検討を予定している。

## 細菌細胞内 pH モニタリングシステムの開発

信州大学 工学部 技術部 白田 隆亮

【目的】本研究では、pH感受性の GFP 誘導体である Ratiometric phluorin2 (RP2)<sup>1)</sup>を用いた細菌用 pH センサーの開発と細菌細胞内 pH のダイナミクスの観察を目的とする。

【方法】RP2 は 395nm と 475nm の 2 つの励起波長ピークを有し、509nm の蛍光を発する。pH によって異なる両励起波長に対する蛍光強度を比較することによって pH を類推できる。まず RP2 を大腸菌で発現させ、蛍光分光光度計を用いて励起スペクトルを測定し、蛍光強度比を算出した。続いて、細胞外 pH を細胞内 pH の値に当てはめるために、細胞膜に細孔を形成することで、細胞内を任意の pH に置換し指標を作製した。

【結果】作製した指標を元に対数増殖期から定常期前半までの大腸菌細胞内の pH 変化を測定した。また、急激な外部 pH 変化に対する細胞内 pH の変化を描写した。

【考察】Na<sup>+</sup> 饑餓培地と K<sup>+</sup> 饑餓培地で生育したときに外環境 pH 変化に対する細胞内 pH 変化を観察していきたい。また、好アルカリ菌などの細胞内 pH 恒常性を描写したい。

【参考文献・資料】<sup>1)</sup>pHluorin2: an enhanced, ratiometric, pH-sensitive green fluorescent protein. Adv Biosci Biotechnol . 2011 June ; 2(3): 132-137.

## K<sup>+</sup>イオンチャネルのエンドサイトーシスの定量化

山形大学 医学部 医学科 野呂田 郁夫

【目的】本研究室では、細胞外領域に HaloTag を融合させた K<sup>+</sup>イオンチャネル (HT-KCNQ1) を発現させた生細胞を用いて、エンドサイトーシス (EC) に伴った蛍光シグナルの細胞内移行を観察している。この観察画像を客観的に評価するために定量的な解析を試みた。

【方法】ガラスボトムシャーレに HT-KCNQ1 のみ、もしくは  $\alpha_{1A}$  アドレナリン受容体 ( $\alpha$ AR) と共に発現させた HEK293 細胞を培養し、37°C, 5% CO<sub>2</sub>, 高湿下において、細胞膜非透過性 HaloTag リガンド処置後、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。 $\alpha$ AR 作動薬 60 分処置により EC を生じさせた画像と、トリパンプルー (TB) 処置により細胞の外側を消光させた画像を取得した。ImageJ により細胞の蛍光強度値を求め、TB 処置前と処置後の比の値を得た。

【結果】HT-KCNQ1 のみ発現する細胞は明らかな EC を伴わず、0.15 (n=8) 程度であった。一方、HT-KCNQ1 と  $\alpha$ AR を共発現させた細胞では顕著な EC が観察され、約 0.6 (n=10, p<0.0001) と有意に増加していた。この評価法は統計解析に十分に対応しうると思われる。

【考察】蛍光強度値を求める際の関心領域の設定に人為的要因が含まれるが、解析の細胞の数や実験数を重ねることで低減されると考えられる。

## レーザーマイクロダイセクション法による サンプル回収効率の検討

兵庫医科大学 共同利用研究施設 春口 大樹

【目的】現在、本学の共同利用研究施設に設置されているレーザーマイクロダイセクションシステムは、2019年3月に更新された機器である。以前に設置されていた機器とはサンプル回収方法が異なるため、操作方法の習得や条件検討を実施する必要性が生じた。そこで、今後機器を利用する研究者の支援につなげるためにも、本課題に取り組んだ。

【方法】新しく設置された機器(ライカ社 LMD6)は、落下方式によってサンプルを回収する仕様である。この方式は、静電気の大小など外部環境の影響を受けるとされているため、静電気除去装置などを用いて条件検討を実施した。サンプルは凍結組織切片を使用し、回収したサンプルからDNAを抽出することで回収効率を評価した。

【結果】機器の操作方法を習得し、サンプルの回収に適した機器設定や環境、回収量などの情報を得ることができた。

【考察】効率的に作業ができる設定のほか、落下方式のメリットとデメリットが明確になったため、施設利用者に対し情報提供することで、機器の利用が促進できると考えられる。

## 低温樹脂包埋法による電顕用凍結固定試料の調製

浜松医科大学 先進機器共用推進部 超微形態解析<sup>1</sup>、神戸大学 研究基盤センター<sup>2</sup>  
徳永 雄平<sup>1</sup>、太田 勲<sup>1</sup>、朴 杓允<sup>2</sup>

【目的】凍結固定法(急速凍結法)は、生体に近い状態の細胞の微細構造を観察することが可能な技法である。我々の電顕室には急速凍結法の1種である高圧凍結装置と凍結置換装置が設置されており学内外の利用者の試料調製(マウスやラットなど)を行っているが、最近では動物組織以外の試料調製依頼も多く異種試料の基礎的な観察データの蓄積が必須であると考えられた。そこで、今回は浮遊細胞を用いて凍結技法における形態的な観察データの取得を試みた。【方法】試料は大腸菌を用いた。氷晶防止剤としてDEX(デキストラン)などを使用し高圧凍結・凍結置換法にて凍結固定後、ケトール812樹脂に包埋し化学固定した試料と形態の比較検討を行った。工夫した点として低温樹脂包埋法を利用した。【結果・考察】凍結固定は、膜構造と細胞質間の保存が良好であった。DEXを使用することで氷晶形成による細胞の損傷、浸透圧による細胞収縮がなかった。DEXを用いると試料への樹脂浸透が悪くなるが低温樹脂包埋法を用いることでかなり改善された。低温で樹脂置換しながら浸透時間を確保することで樹脂浸透を促進することができたためと推察された。

## X線CTによる内部微細構造観察の試み

信州大学 繊維学部 技術部 武田 昌昭

【目的】 X線CT (X-ray Computed Tomography) = コンピュータ断層撮影は、現在マイクロトモグラフィの一般的な定義にもある分解能が  $50\mu\text{m}$  以下が主流になり、産業・科学研究用には  $0.1\sim 10\mu\text{m}$  まで分解能が上がっている。現在管理している X線CT はマイクロ・ナノファイバーの構造解析に用いられている。しかし生物の動きを観察し応用するバイオデザインなどの研究も盛んであり、X線CT による in-vivo 観察などが予想されるがその知見が乏しい。そこで今回は in-vivo 観察に必要なサンプルの前処理と観察条件を模索するため、2種類の試料観察を試みた。

【試料】 カイコの生きた蛹とカルノア固定したカイコの休眠卵

【結果】 蛹は、動きが鈍いこともありモーションアーティファクトの少ない内部構造の造影を取得することができた。休眠卵の全体像は撮れたが、胚などの内部構造の造影は出来なかった。

【考察】 試料の造影と 3D 画像構築はできたが、機器の利用時間が短く高精細な造影を取得する時間がなかった。また条件設定など上手く調整できず、蛹の各組織のコントラストが低い（画像が薄い）など課題が残った。今回 in-vivo 観察対象としては動きの鈍いカイコ蛹であったが、次は生きたカイコ幼虫を撮影するための固定方法や条件設定を探索したい。

## 透明化組織の超微形態学的評価

東海大学 伊勢原研究推進部生命科学統合支援センター 鈴木 雄祐

【目的】 近年、様々な組織透明化手法が開発され、共焦点レーザー顕微鏡等を用いて臓器を立体的に観察することが可能となった。最近では当施設の利用者から透明化処理を行った臓器の深部観察や電子顕微鏡での超微形態も含めた標本観察の相談を受けることが多く、適切な技術支援を行うためには透明化処理後検体の組織学的特性を把握しておく必要がある。そこで今回は当施設で観察依頼の多いマウスの腎臓を用いて、代表的な4種類の組織透明化手法 (CUBIC、Scale、SeeDB、CLARITY) を実施し、各種透明化処理が超微形態に与える影響を確認することにした。【方法】 GFP 発現マウスの腎臓で、CUBIC と Scale は市販品を用いて添付書に従い、SeeDB は柯ら (2014) の方法に、CLARITY は Lee ら (2016) に従って透明化処理を行った。立体的構造観察は共焦点レーザー顕微鏡を用いて、超微形態観察は走査型電子顕微鏡と透過型電子顕微鏡を用いて行った。【結果・考察】 手法ごとに透明度は異なり、組織の膨張がみられた。また電子顕微鏡観察では全ての手法で細胞の剥離または膜構造の破壊が認められたが、SeeDB は比較的構造を維持していた。透明度と形態維持度合は各手法により異なる為、研究の目的に合わせた透明化手法を選択する必要がある。

## 蛍光顕微鏡を用いた簡易抗酸化力評価の検討

徳島大学 技術支援部<sup>1</sup>、医歯薬学研究部法医学分野<sup>2</sup> 北池 秀次<sup>1</sup>、庄野 正行<sup>2</sup>

【目的】近年、活性酸素やフリーラジカルによって様々な疾患や老化現象を引き起こされることが明らかになっており、多くの研究が行われてきた。生体中にはビタミンA・CおよびEや、ユビキノンなどの抗酸化物質(antioxidative substances)が存在し、生体外では食品中の抗酸化物質を摂取して抗酸化能を補うことが注目されている。抗酸化力の程度については、様々な分析法によって評価されているが、高価な複数試薬の調達と煩雑な工程のため、蛍光顕微鏡を用いて簡易的な抗酸化力の評価手法を検討したので報告する。

【方法】ニワトリ肝臓内赤血球（有核細胞）の標本を作製し、DAPIによる核染色後、各種蛍光減衰防止剤を用いて封入した。蛍光画像撮影を行い、各測定試料の赤血球核相対蛍光強度を算出した。

【結果】簡易抗酸化力の効果について蛍光減衰曲線を比較した結果、抗酸化力測定の標準曲線が得られた。

【考察】検討した評価手法は、試料が少ない量の上に安価で入手しやすく、簡易に評価が出来る可能性であることが示唆された。

## ナノポアシーケンサーの現状 -ロングリードと ハイスループット両立に向けた検討-

基礎生物学研究所 技術課 山口 勝司

【目的】ナノポアシーケンサーが上市してから、しばし時間が経過した。技術的には十分利用できる状況になっている。今回は他の様々なシーケンス機器、技術の中でナノポアシーケンサーが得意とする状況をまとめ、検討課題を報告する。

【方法】ある生物種の全ゲノムシーケンスを行っている。ゲノムサイズは11G baseと非常に大きく、Pacbio等、従来のロングリードシーケンサーが読める長さでは、リード長より長い繰り返し配列の部分でアセンブルが途絶え、長いアセンブルを達成出来ない。ナノポアシーケンサーはPacbioよりさらに長いシーケンスリードが得られるので、より長く読むことに特化した検討を進めた。同時にスループットも確保できる方策等を検討した。

【結果・考察】ゲノムDNA単離抽出の際、DNAの精製度を低下させる不純物を除去するため、核を壊さない抽出bufで先に溶出する「二段階抽出」を行うことで、ナノポアのつまりが軽減され、スループットが向上した。また検討状況はGridIONで確認し、良好なものをより大規模なPromethIONでシーケンスするのがコスト的に効率的であった。

## GitHub 代替アプリによるコンテンツ管理基盤の構築

生理学研究所 技術課 村田 安永

【目的】生理学実験技術データベース (<https://www.nips.ac.jp/tech/ipr/>) のコンテンツを複数人でバージョン管理できる環境を構築するのが目標の一つであるが、コンテンツには非公開情報が含まれているため、オープンソース開発での利用率が高い GitHub などの外部サイトは安易に利用できない。そこで、GitHub 代替アプリによるコンテンツ管理基盤を構築することにした。

【方法】GitHub 代替アプリは GitLab、Gitea、GitBucket の 3 種類、これらを稼働させる OS は CentOS、Ubuntu の 2 種類の動作検証を行った。Git の学習については複数の書籍やインターネット上の情報を参考にして行った。

【結果】現時点では、Git Bash + GitLab + Ubuntu の組み合わせが学習コスト、運用コストの両面で最も良好な結果を得ている。

【考察】バージョン管理以外に課題管理や CI/CD などの機能も活用したいので、今後はこれらの動作検証を行う。なお、GitLab より Gitea と GitBucket の方が軽快に動作したので、いくつかの問題点を解消できれば、今後乗り換える可能性もある。

## メインコア CPU 時代のデータ解析用 PC

生理学研究所 技術課 伊藤 嘉邦

最近の PC は、8 コア以上のメインコア CPU が当たり前となり、16 コア CPU も手軽に利用できるようになった。こうした時代に、どういう機能に注目して解析用 PC の仕様を決めればいいのか、2018 年以降に実際に製作した 3 種類の解析用 PC を例に考えてみたい。

ポスターでは、研究室で構築したクラスタ PC を中心とした MRI データ解析システムについて紹介する。そして、解析システムの補助として 2018 年、2019 年、2020 年にメインコア CPU で製作した 3 種類の解析用 PC のそれぞれの仕様について紹介する。

その上で、3 年前に 600 万円で構築した PC クラスタ・システムと今年 60 万円程で製作したメインコア CPU-PC の 2020 年モデルの解析性能が拮抗する、あるいは凌駕する可能性について解説する。(この 2020 年モデルは販売を予定しているので、高性能な PC を安価に購入したいと考えている方は話を聞いて欲しい。)

連絡先 : itoh@nips.ac.jp

## 慶應義塾大学における理系三学部共通の共用支援 Web システムの導入と運用

慶應義塾大学医学部 共同利用研究室 中央機器管理部門 黒木 大海

【目的】 共用機器の運用効率化と共同利用に関わるすべての人々の利便性の向上。

【方法】 慶應義塾大学で医学部・理工学部・薬学部の理系三学部で共通の共用支援 Web システムの導入を 2018 年度から開始した。本共用支援 Web システムは、柔軟な設計思想により各学部での異なる運用実態に対応できる。慶應義塾大学に所属する学生や教職員はユーザーアカウントを登録することができ、同一のアカウントで各学部の共用施設の利用申請を可能とした。医学部では利用者の所属する研究室に「管理ユーザー」を設定し、管理ユーザーはユーザーアカウントの登録から利用料の支払いまでの業務支援機能を利用する。

【結果】 共用支援 Web システムの導入によって理系三学部で「機器の見える化」が進み、機器の共用化の推進力となった。同システムの業務支援機能により各施設の機器管理業務や事務処理が一元化され業務を効率化した。今後は他機関とのシステムレベルでの相互接続や学外利用手続きの簡素化、技術サポートなどの機能追加を実施し、さらなる利便性の向上を目指す。

## Deep Learning による 脳神経細胞の自動セグメンテーションの試み

生理学研究所 技術課 山口 登

【目的】 電子顕微鏡で撮影された超薄連続切片像から目的の樹状突起、軸索等の 3 次元形態解析を行うためには、細胞膜を境界に他の構造と分離し、三次元再構築を行う。この分離処理をセグメンテーションと呼ぶ。この処理は切片像毎に手作業で行われ、多くの時間を必要とする。近年、この処理を Deep Learning を用いて自動で行うソフトウェアの開発が行われている。そこで今回、このソフトによるセグメンテーションの自動化を試みた。

【方法】 ソフトには Flood-filling networks: FFNs(Google AI 社)を用いた。Deep Learning の「学習」プロセスには膨大な演算処理が必要であり、そのため、処理には演算能力に優れた GPU が用いられる。そこで、演算用 GPU を組み込んだ PC を構築し、FFNs の動作確認を行った。また、さらに学習を高速化するため、分子科学研究所計算科学研究センターに設置されている GPGPU 演算サーバを利用し、複数台の GPU を用いた並列分散処理を試みた。

【結果】 FFNs を正常に動作させることができ、自動セグメンテーションの結果を得ることができた。また、並列化する GPU 数に応じた高速化が可能であることを確認できた。

## micro:bit を題材とした ビジュアルプログラミング研修の報告

神戸大学 工学研究科 松本 香、吉田 秀樹

【目的】近年、プログラミング学習の重要性が高まっている。プログラミングスキルを利用することによって、自分の仕事の効率を上げることが期待されている。そこで今回は、コンピュータやプログラミングの概念にもとづいた思考（プログラミング的思考）を学ぶことを目的とする。

【方法】学内で初学者向けに実施したビジュアルプログラミングを題材とした研修を行った。今回はイギリスの公共放送局である BBC が中心となって開発した教育用の小型コンピューターボードである BBC micro:bit を教材として用いた。

【結果】micro:bit はプログラミングを感覚的に学ぶことのできる教材であり、初学者でも容易にプログラムの基本構成を学ぶことができた。

### 【参考文献・資料】

・スイッチエデュケーション編集部, 「micro:bit ではじめるプログラミング 第2版 —親子で学べるプログラミングとエレクトロニクス」, オライリージャパン, 2019年

## 音響解析を用いた音色の特徴量抽出

浜松医科大学 技術部 村松 歩

昨年より、生体の運動能力向上システムの開発を行っている。先の研究では、加速度センサを用いた生体情報収集を行った。今回はシステムのフィードバック側として、音響効果に着目した。近年、2000KHz 以上となる可聴域を超える高周波数成分を豊富に含まれた非定常な音（ハイパーソニック・サウンド）が、人間の脳幹や視床に影響を与えることが報告されている。本研究では、その高周波成分を検出することが出来るプログラムを開発し、音成分の周波数解析を行うことを目的とした。使用した楽器は、中国の民族楽器である二胡及びバイオリン、さらに日本の素材を用いて製作された二胡（楽器名：和胡）の3種類とした。二胡及び和胡は RODE NTK、PRESONUS audiobok22vs1 を用いてサンプリング 96000、音源から 15cm 程離れた所で録音を行った。バイオリンは ICD-TX50 を用いてサンプリング 44100、音源から 15cm 程離れた所で録音を行った。プログラムは matlab2019 による高速フーリエ変換を用いて解析を行った。本プログラムを実行した結果、二胡・和胡では-30~-40dB 付近の音を、バイオリンでは-30dB 付近の音を検出することが出来た。

## プレートリーダー用の光合成活性測定チャンバーの開発

生理学研究所 技術課(機器研究試作室) 佐治 俊幸

【目的】植物の光合成活性の測定には、幾種類かの方法があり、その中で、一定量の炭酸ガスを与えた後に光合成を行わせ、発生した酸素の濃度を元に光合成活性を計測することが行われてきた。しかし、従来の方法では、1回で1サンプルしか計測ができず、光合成活性を測定するのに多大な時間を要していた。そこで、複数のサンプルに対して同時に光合成活性の測定が行えるチャンバーを試作した。

【方法】測定には温度が一定であり、測定中はサンプルを密閉空間に封じ込める必要がある。また、封じ込めの前に、一定濃度の炭酸ガスを密閉空間に充満させる必要もある。酸素濃度の測定には、プレートリーダーが使用されるが、温度コントロールを行いつつ雰囲気ガスをコントロール出来るものがなかったため、このチャンバーの開発を行った。この恒温ガスチャンバーの開発後には、多サンプルからの同時測定が容易に行え、実験に利用されている。

H29 ALCA「光合成活性機能を増強させる新奇遺伝子の探求及びその利用」  
特許出願中：特願 2019-026320

## 報酬割り当て課題実験システムの開発

生理学研究所 技術課 戸川 森雄

【目的】我々の研究室では、社会的認知機能の脳内メカニズムを解明するため霊長類動物を用いた実験パラダイムの開発に取り組んでいる。これは互いに相手の行動情報をモニタし、それを利用して意思決定を行っている2頭のサルにより神経活動を記録・解析する方法で行うものである。今回、ボタン押し実験課題に加え報酬操作に着目した実験システムの開発を行ったので報告する。

【方法】2個体のサルを対面させ中央に報酬の水を供給する長さ40cm程のノズルパイプを備えた報酬供給システムを配置し、通常はノズルが上方を向いた状態にセットする。これを操作側のサルが色識別でボタンSWを押すことにより、報酬用ノズルが自分側、相手側、そのどちらでもない3方向に倒れるようにセットする。これにより操作側のサルは、自分の意志で報酬を操作できることになる。

【結果】製作した実験システムは、実験で問題なく使用されているがトライアル数が多くなると誤動作を生じるなどまだ改善の余地がある。今後実験装置の安定動作と色々な課題に対応できるようにさらに改良していくつもりである。

## GONAD 法によるラットでのノックイン効率向上に向けた 試み

浜松医科大学 医用動物資源支援部 青島 拓也

【目的】「Genome-editing via Oviductal Nucleic Acids Delivery (GONAD) 法」は、卵管内の受精卵に直接ゲノム編集を施す、画期的なゲノム編集技術である。胚操作を必要としないため、簡便かつ迅速にゲノム編集を行うことが可能であるが、ラットにおけるノックイン (KI) 効率はやや低く、改善により KI 効率を向上させる必要があった。そこで本研究では、ラットにおける KI 効率の向上を目指し、市販されている種々の効率改善試薬を用いて GONAD 法を行い、その効果について検討した。

【方法】Slc:SD (SD) ラットを用いて、c. 896G を持つ一本鎖オリゴ DNA を Tyr 遺伝子内に導入する KI 実験を行った。市販されている Scr7、L755 等の 8 種の効率改善試薬を使用して GONAD 法を行い、胎仔の眼球の色素沈着を指標に、それぞれ KI 効率を算出した。また、ゲノム DNA を鋳型とする PCR 産物のシーケンスから塩基配列を決定した。

【結果及び考察】使用した効率改善試薬の内、4 種の試薬で KI 効率の向上が認められたが、その程度は軽微であり、添加濃度や他の試薬の検討など、更なる検討が必要と考えられた。

## i-GONAD 法を用いた野生由来マウス系統における ゲノム編集

国立遺伝学研究所 技術課 今井 悠二

【目的】実験用マウス系統に比べ、野生由来マウス系統はゲノム編集個体作製において問題点(過排卵誘起、IVF 及び胚移植の効率が悪い)があり、それらを回避するために「i-GONAD 法(improved Genome-editing via Oviductal Nucleic Acids Delivery)」を用いて、野生由来系統マウスのゲノム編集を行った。

【方法】i-GONAD 法は受精卵を持つ雌マウスの卵管にゲノム編集導入試薬(Cas9 タンパク、核酸)を注入後、卵管にエレクトロポレーションを行うことで新生児に変異を導入することができる。3つの作業(IVF、マイクロインジェクション、胚移植)を行う必要がないため、簡単かつ短時間で作業を終えることができる。

【結果】いくつかの野生由来マウス系統でゲノム編集個体(KO、KI)を得ることができた。

【考察】産仔数の少なさや食殺等の問題があるため仮親を準備し、より多くの系統で実験を進める。

【参考文献・資料】Ohtsuka et al. Genome Biology (2018) 19:25

## 遺伝子改変マウスの受精率向上について

生理学研究所 技術課 山中 緑

【目的】動物資源共同利用研究センターでは、マウスのクリーン化やバックアップのため体外受精（IVF）を実施し、胚の凍結保存を進めている。雌雄とも遺伝子改変動物遺伝子型 homo 個体で体外受精を行ったところ、精子の運動性に問題は無く、卵子の採卵数や見た目の形状にも問題は無かったが、受精率 4.3%となり十分な凍結胚数が得られなかった。そこで、受精率の向上が期待できる市販の培地 FERTIUP と CARDMEDIUM を使用した体外受精を行い、知見を得た。また 2018 年から最近までの使用結果も合わせて報告する。

【方法】遺伝子改変マウス遺伝子型 homo 個体 12 週以上の雄マウスと 11~21 週齢の雌マウスの体外受精を市販の培地 FERTIUP と CARDMEDIUM で実施し、受精率を比較した。

【結果】市販の培地 FERTIUP と CARDMEDIUM を使用したところ、受精率 46.1%となり十分な凍結胚数が得ることができた。

【考察】今後、受精率が低い系統や雌雄とも遺伝子改変動物を用いる際、採卵数や受精率が低いことが予測される場合は、FERTIUP と CARDMEDIUM を受精率改善のために使用し、3R の reduction を実践していきたい。

## ヘリコバクターPCR 検査の試み

生理学研究所 技術課 神谷 絵美

【目的】*Helicobacter hepaticus* (*H. hepaticus*)、*Helicobacter bilis* (*H. bilis*) の微生物カテゴリーは「C:致死させることはないが発病あるいは不顕性感染を起こす微生物」であり、マウスに肝炎や大腸炎を引き起こす。自然科学研究機構 動物資源共同利用研究センター（以下センター）では現在定期検査項目としていないが、国内で *H. hepaticus* は 2% 程、*H. bilis* では 0.1%程の感染がみられ、他研究機関では導入検査項目として取り入れている機関も多い。共同利用研究機関として、動物の授受の際、今後検査対象とすることに備え、技術導入を行うこととした。

【方法】定期微生物検査のモニターマウス直腸より採取した糞便からゲノム DNA を抽出し、*H. hepaticus*、*H. bilis* それぞれに特異的なプライマーを用いて PCR 検査を行った。

【結果・考察】明大寺地区・山手地区のセンター飼育室合計 16 飼育室中、明大寺地区コンベンショナル飼育室の 4 飼育室から *H. hepaticus* 陽性コントロール cDNA と同じサイズのバンドが検出された。陽性検体について、外注にて確認検査を依頼した。またシーケンス解析の検討中である。

## 「遺伝研のサクラ」の見頃（満開）時期と気温の関係

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、開花した多数の品種のサクラが楽しまれている。当日は技術職員も案内や巡回などの業務に携わるが、来訪者から開花状況に関する質問を受けることがあり、その返答のために2014年より見頃（満開）時期を記録している。この記録によると、年によって見頃（満開）時期は多少変動しているが、特に2017年は1週間から10日ほど例年より遅れていた。サクラの開花には気温が大きく関与していると言われていることから、見頃（満開）時期と気温との関係を探ることとした。

【方法】 2014年から2019年の遺伝研におけるソメイヨシノ以外のサクラの見頃（満開）時期と、気象庁三島観測所の気温データを比較した。

【結果】 2017年は3月の平均気温が低く、その影響で見頃（満開）時期が遅くなったと考えられた。

【参考文献・資料】

・「遺伝研のさくら」財団法人遺伝学普及会（2011年）

## カメノコテントウの飼育と一般公開に向けた動画作成

基礎生物学研究所 技術課 水谷 健

【目的】 カメノコテントウは成虫で休眠越冬し、休眠から覚醒後交尾し産卵する。先行研究において、羽化後鞘翅がピンク色のカメノコテントウに数ヶ月間の長期低温処理を行うことにより、エサの摂食とは無関係に、鞘翅が濃赤色に変化する現象を発見した。この現象を解析するためにカメノコテントウの人工飼育を試みた。また今年度の研究所一般公開の展示として、孵化、蛹化、羽化の撮影を行った。【方法】 カメノコテントウは、人工飼料（雄蜂児粉末）により成虫まで生育が可能であるが、成虫の体サイズは野生個体より小さくなり繁殖も困難であった。そこで本来のエサであるハムシの幼虫について飼育の検討を行った。一般公開に向けた動画の撮影は、孵化を実体顕微鏡（Leica EZ4W）、蛹化、羽化についてはiPad Pro（Apple）の内蔵カメラを使用し、編集にはiMovie（Apple）を用いた。

【結果】 主たるエサであるクルミハムシ幼虫は、採集できる時期が限られるため、安定的にエサとして供給することは困難であった。そこで、ヤナギルリハムシの利用について検討したところ、幼虫の採集と飼育を併用することで、安定したエサの供給が可能となった。動画は長時間となったため、4倍から最大200倍速に時間短縮して上映を行った。

## 海洋深層水は魚肉の鮮度を延長させる

富山大学 医薬系技術部（病理診断学） 八田 秀樹

【概要】魚介類の生食を嗜好する我が国においては、その保存技術や調理技術について古くから研究が積み重ねられている。なかでも凍結技術の進歩は画期的であり、長期保存や国内外への流通に大きく貢献している。しかし、現代の瞬間凍結技術をもってしても、氷が結晶化する際に魚肉の細胞や組織を破壊することは避けられず、旨味成分等の流失に繋がっている。また、解凍時に破壊された細胞や組織内の体液・血液の流失（ドリップ）を如何にして防ぐかが品質保持への課題となっている。そこで今回、富山湾海洋深層水の組織・細胞恒常性維持能（ホメオスタシス維持能）が及ぼす魚肉の鮮度保持効果について検証した。本検証では、ドリップの原因となる凍結・解凍なしで魚肉の長期保存法について、形態学的な検証と ATP 関連化合物の成分分析により魚肉の鮮度を評価した。新規の魚肉保存法の確立は、高額（数百万～数千万円）な専用の急速凍結装置等が不要なため、安価な鮮度保存法としての商品化や事業化が期待できる。

【本研究は、令和元年度富山県委託研究（産学連携等研究費：受託研究「富山県知事」）の助成を受けて実施した】

## 水生食虫植物ムジナモの研究基盤技術の確立

基礎生物学研究所 技術課 壁谷 幸子

【目的】水生食虫植物ムジナモは、姉妹群であるハエトリソウに似て捕虫葉の表面にある感覚毛がある。小型の虫などがこの感覚毛に触れると、植物界最速 0.02 秒で捕虫葉が閉じる。この速い運動を可能にする分子機構解明において形質転換技術は必須である。そこで、(1) 所内における無菌培養条件の確立、(2) 形質転換に必要な多芽体形成条件の検討を行った。

【材料および方法】共同研究者（東海大・星良和教授）よりいただいたムジナモ (*Aldrovanda vesiculosa*) を、液体培地（1/2 Gamborg B5、Gamborg B5 ビタミン、2.5% ショ糖）を使用して、(1) 所内の設備で培養可能な照度、容器、振とう条件、および、(2) 多芽体形成に必要な植物ホルモンの種類とその濃度を検討した。

【結果および考察】(1) 照度 40  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ 、プラスチックシャーレを用いた静置培養において安定した無菌培養が可能となった。(2) 植物ホルモンとして 2 種類のサイトカイニン、BAP とゼアチンをそれぞれ試した結果、ゼアチン添加により多芽体様の組織を誘導することができた。今後は、より効率のよい多芽体形成の条件を見つけ出し、ムジナモにおける形質転換法の確立を図っていきたい。

## マシコヒゲムシ（環形動物門シボグリヌム科）を 生物試料として活用した教育・研究の可能性

金沢大学 総合技術 環境安全 小木曾 正造、金沢大学 環日セ 臨海 鈴木 信雄

【目的】ヒゲムシ類は、通常深海底に生息しており、教育や研究に用いることは難しい。一方、マシコヒゲムシは能登半島の浅海に生息しているため、生物試料として活用できる可能性がある。そこで本研究では生息地での生態学的な調査と陸上での飼育実験を行った。

【方法】潜水調査によりアクセスしやすい浅い生息地を探索し、生息範囲と生息密度を調べ、効率的な採集方法を検討した。定期的に採集して繁殖期を調べ、採集した個体と受精卵から育成した個体を用いて陸上水槽で飼育を行った。

【結果】金沢大学臨海実験施設のすぐ前に水深 10m 前後の生息地を発見した。その生息範囲は広く、生息密度は大きなばらつきがあった。スクーバダイビングを用いた採集により、約 20 個体/回を比較的良い状態で採集でき、本種は秋に繁殖することが判明した。さらに、採集した個体と受精卵から育成した個体を 3 年以上にわたり飼育することに成功した。

【考察】臨海実験施設のすぐ近くに浅い生息地があり、安定的な採集と飼育が可能なことから、本種は教育と研究において生物試料として活用できる可能性が示された。

## 赤潮藻類（シャットネラ属）を曝露したマダイの 微細形態学的解析

北里大学医学部解剖<sup>1</sup>、瀬戸内水研<sup>2</sup> 西楨 俊之<sup>1</sup>、紫加田 知幸<sup>2</sup>、北辻 さほ<sup>2</sup>、  
勝村 啓史<sup>1</sup>、小川 元之<sup>1</sup>

【目的】近年、西日本などでは赤潮プランクトンによる甚大な漁業被害が頻発している。しかしながら、赤潮による魚介類のへい死機構などは未だ詳細が不明である。本発表では、赤潮藻類（シャットネラ属）に曝露させたマダイのへい死について、光学および電子顕微鏡による鰓組織の病理について微細形態学的な解析を試みたので報告する。

【方法】マダイは、瀬戸内海区水産研究所より提供されたものを使用した。氷麻酔後に、Davidson 液に 30 日間固定後、パラフィン包埋処理を行い、滑走式マイクロトームで厚さ 5 μm の連続した全身組織切片を作製した。更に電子顕微鏡を使用して微細構造の観察をした。

【結果】曝露させたマダイにおいて、光学および電子顕微鏡（SEM, TEM）にて二次鰓弁上皮細胞に剥離などの損傷が詳細に観察できた。更に HE 染色、アルシアン青・PAS 重染色や抗 FCP 抗体による免疫組織化学染色など 3 種の染色法によりシャットネラが鰓周辺部にあることを確認できた。

## 大学連携キャンパス講座「野外観察園の植物紹介 ーホンモノに出会おうー」を開催

名古屋大学 全学技術センター（共通）<sup>1)</sup>、博物館<sup>2)</sup>  
吉野 奈津子<sup>1)</sup>、梅村 綾子<sup>2)</sup>、宇治原 妃美子<sup>2)</sup>、西田 佐知子<sup>2)</sup>

【目的】名古屋大学博物館の第39回企画展「ボタニカルアートと植物分類学ことはじめ」の関連行事として名古屋市教育委員会と共催で大学連携講座「植物学の温故知新～植物学者が見ている世界～（全3回）」を開催。、じかに植物に触れてもらうことを目的として、第1回「野外観察園の植物紹介ーホンモノに出会おうー」を担当した。

【方法】屋外の植物の観察、および好きな植物を採集してもらった。セミナーハウスにて採集した植物の顕微鏡観察、葉脈標本のしおりづくり、およびサテライト展示「名大キャンパスの自然・昆虫編」の見学を行った。

【結果】葉脈標本の材料としてナンテンを使用した。初めての方でも15分という決められた時間内にスムーズに作業が進み、しおりまで作り上げることができた。

【考察】季節的に観察できる植物が少ないことも考慮して室内での作業も取り入れた。屋内作業も好評だったがもっと野外を観察したかったという声もあった。

## キャンパスに生育する希少種の保全活動

広島大学 技術センター 塩路 恒生

広島大学東広島キャンパスには、昔ながらの里山環境が残されており、60種を超える絶滅危惧種が確認されています。里山は、元来人が農業を営む上で作りだした半自然環境です。里山の環境を維持するためには、人が草刈りや間伐などで手入れをすることが非常に大切な作業になります。しかしながら、東広島キャンパスでは移転と同時に農業を営まれることはなくなり、多くの建物が建てられ、一部残された耕作地や林縁は放置されたままでした。それでも、移転当初はまだ良好な里山環境が保たれ、動植物においても住みよい場所でしたが、年月の推移とともにキャンパスの里山環境は荒廃が進んできていました。

この度は、まず保全活動の手始めとして絶滅危惧種にも指定されており環境悪化のひどいイシモチソウとサギソウの自生地について、それぞれ3月と9月に草刈りや間伐などの作業を実施しました。この企画は総合博物館が中心となって募集を行い、教職員や学生の有志が集まりました。これまでは、数名の技術職員により細々と保全作業を行っていたに過ぎず、なかなか成果が出ませんでした。今回、教職員や学生から参加者を募ったことにより、環境保全の作業が大幅に前進し、ある一定の成果を上げることが出来ました。

## シーズアートを楽しもう

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】薬用植物園の種子や葉など利用して、子ども達に万華鏡やマグネットを作成してもらうことで、くすりや植物を身近に感じてもらう。

【方法】子供たちには、受付時に万華鏡とマグネットのどちらかを選択してもらい、本園で採集した10種の綺麗な種子や葉，花卉を使用した万華鏡は1個，10種のユニークな種子を使用したマグネットは2個製作した。

【結果】受付時は万華鏡の方が人気で，主催者側による公開アンケートではどちらも良い評価をもらえた。ただ，万華鏡用ミラーシートのけがき線不良のため，折り曲げに苦勞する子どもがいて，中の模様が見えないものもあった。また，今年は立体的なマグネット作品が多かったため，用意した紙袋ではうまく入らないものがあった。

【考察】万華鏡ミラーシートは，予めスタッフが折り曲げたものを用意することで材料ロス削減と製作時間短縮ができると思う。また，マグネット作品の持ち帰りには立体的な作品に対応する紙コップ利用等を検討したい。

## 東海・北陸地区国立大学法人等技術職員合同研修 「電気・電子」コースのための研修プログラム構築

豊橋技術科学大学 技術支援室 飛沢 健

【概要】本学において技術支援室発足以降はじめて技術職員主導で平成30年度の技術職員合同研修を開催した。本研修を開催するにあたり，学内の分野外の技術職員もいる中で，限られたリソースで，他には無い研修プログラムをどのように構築したのかを報告する。

【工夫した点】まず，テーマを立案した際の工夫として，本学の特徴ある施設を活用することはできないか，できるだけ活用できるものはないか，という点を考慮した。本学の特徴ある施設としてはLSI工場を，できるだけ活用できるものという点では，学生実験で作製している集積回路（LSI）チップを活用することを考えた。次に，リソースの工夫では，技術支援室の技術職員全員で研修の運営にあることとし，分野外の技術職員もいるため，得意な技術分野で，サポートを行うようにして研修を実施した。また，LSI製造技術に特化してしまうことを避け，LSI技術全体を学べるような，設計・プロセス・評価を幅広く学べる実習メインの研修とすることとした。

【まとめ】研修のプログラム構築について，一定の成果を得たと考えている。

## 教育研究支援及び技術継承を効率よく行うための技術の 動画化

浜松医科大学 器官組織解剖学講座<sup>1)</sup>、技術部<sup>2)</sup>、学部学生<sup>3)</sup>  
佐々木 健<sup>1,2)</sup>、堂下 ちひろ<sup>1,3)</sup>、大山 晃生<sup>1,3)</sup>、山口 真央<sup>1,3)</sup>、長屋 美香<sup>1,3)</sup>、  
寺谷 千穂<sup>1,3)</sup>、平田 紗也<sup>1,3)</sup>、佐藤 康二<sup>1)</sup>

【目的】現在の研究技術は多様化し専門性が求められるが、一個人の研究者が全て理解し習得するのは困難である。一方、これらの研究技術に精通する技術職員も定年退職による技術継承や後継者育成が大きな課題となっている。このような背景から、浜松医科大学の技術系職員や研究者が所有する研究技術をビデオ撮影、データ化して技術財産として残すことを目的として、今回、試験的に技術の動画化・データ化を試みたので報告する。

【方法】著者らが有している幾つかの研究手技（組織標本作製、組織の薄切、HE染色等の組織染色、免疫染色等）を小型ビデオカメラにより動画撮影し、編集を行った。さらに動画だけではなくその動画に即したマニュアルも現在作成中である。また、作成した動画やマニュアルは技術的な資産としてアーカイブ化し、また学内研究者・技術者への配布や学内の動画サイト（浜松医科大学オンデマンド）にアップすることも計画している。

## Lancers を利用した GITC ポスターの外部委託

基礎生物学研究所 技術課 杉浦 宏樹

【目的】所属する情報管理解析室では、研究所内外の生物学研究者を対象にした計算機を用いた解析についてのトレーニングコース（GITC:バイオインフォマティクストレーニングコース）を年3回ほど開催している。その際、ポスターを作成して所内外に宣伝を行うが、ポスターの作成を自作からフリーランスに作成を依頼する形式に変更した。

【方法】フリーランスに業務を委託する“Lancers”というサイトにポスターの作成を依頼した。Lancers ではフリーランスの業者を選考する際、コンペ形式と直接依頼する形式の二つが選択でき、今回は両方の形式でポスター作成の依頼を行った。

【結果・考察】Lancers にコンペ形式でポスター案を募集してから納品までにおよそ1ヶ月程度、直接依頼したものについては1週間程度かかった。デザインの質は良好であり、外部に委託することで新たなデザインのものを作成することができた。コストも比較的抑えつつ作成できたため、今後のポスターデザインも外部委託することを検討したい。

## 国立遺伝学研究所 男女共同参画への取り組み

国立遺伝学研究所 技術課 山谷 宣子

【目的】国立遺伝学研究所男女共同参画推進室では、女性研究者だけでなく多くの職種の方々に支援を行っている。それは、研究はあらゆる職種の人達の力で成り立っているからであり、その環境整備に努めることが推進室の使命であると考えているからである。本研究会では、その活動の一部を紹介する。

【方法】悪天候時の臨時休校（小学校）に関するアンケートを実施した。その後、回答をもとに市及び情報システム研究機構本部へ要望書の提出を行った。

【結果】アンケート結果から、臨時休校時に 80%を超える職員が、子供を留守番させる、預ける、又は職場に連れて業務を遂行していることがわかった。また、休暇を取得した場合でも、休暇扱いにて自宅で仕事をしたり、後日残業でカバーしている職員もいることがわかった。また、意見として、保育室の利用希望や休校時に使える在宅制度、特別休暇、時間休が欲しいなどがあった。市・機構への要望については、回答及び改善が得られた。

【考察】保育室の利用については特に意見が多く、今後、職員の期待に添えるような改革を進める。

## 本年度に改編した浜松医科大学技術部の 新組織ならびに各業務の紹介

浜松医科大学 技術部 総合人間科学講座 外山 美奈

平成 12 年度に発足した本学技術部は、平成 18 年に「グループ制」に改組した。この改組は、職員相互の技術研鑽や業務の相互補助、技術指導などを目的とし、技術職員が有する技術内容や配属先の特性などを考慮し、6つのグループに分けられた。しかし、改組から 10 年以上が経過し、構成員が 1 名のグループが複数生じ、組織として機能しない状況に陥ったため、技術部運営委員会で審議の結果、本年度 4 月に再び改組を行った。今回の改組では、1. 機器利用支援グループ（先進機器共用推進部に配属されている技術職員）2. 教育研究支援グループ（先進機器共用推進部以外の部署に配属されている技術職員）の 2 つのグループの組織に改められた。そして、それぞれのグループにグループ長と副グループ長を置き、グループ長と副グループ長の計 4 名で技術職員の活動の計画や把握、および技術部の運営の種々の仕事を分担する形とした。

本報告では、今年度の改組による新組織の紹介と技術職員の各業務について紹介する。

## 他部局採用の新任広報系技術職員の育成に関わって

東北大学大学院医学系研究科・医学部 広報室 一條 肇

【背景】以前から広報的な技術研修などを企画・開催・報告してきたこともあり、東北大学総合技術部の情報・ネットワーク群と該当部局から新任職員採用に関する協力の要請が届く。業務に支障のない範囲で、できるだけ継続的な支援を、という方針で部局間・職群との合意が取れた。こうして、2017年度より他部局採用の新任の広報系技術職員の育成業務等に協力することとなった。

【結果・考察】広報業務は、部局の経営方針や現状などに沿って企画・運営されるため、部局側との連携が特に重要であった。現在3年目の職員は、業務に丁寧に取り組み、部局の広報担当窓口として活躍し、全学的な業務などにも取り組んでいる。今後の若手職員育成では、技術や知識習得も大切であるが、少しでも早い時期から、企画の策定や提案などの業務にも取り組ませるべきだと思う。部局に拘らず、エリア全体のカバーや技術部の運営への参加などと活動範囲を広げ、その経験等を全国各地の広報系の技術業務などで悩む技術職員にも伝えながら、より深化・発展させてくれることを期待したい。

## VUCA の時代における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】昨今、社会は「VUCA」化していると言われており、このような変化が激しく将来の予測が困難な時代においては、環境変化への適応力を高め、個人が主体的にキャリアを形成していくことの重要性が増してきたと考えられる。このことは、定年延長や働き方改革等のテーマが内包する様々な課題とも関連し、我々技術職員も無縁の存在ではない。

【方法】この VUCA の時代における今後の技術職員のキャリア形成に関連して、主に2つの話題を提供する。一つは野生イネ栽培技術者として、野生イネの環境変化への適応力:「野生」の“智慧”の事例をお伝えし、もう一つはキャリアコンサルタント資格を持つ管理職(技術課長)として、「プロティアンキャリア」という考え方を紹介する。これら話題をトリガーにして、自由(脱線上等?)に意見交換し、技術職員のキャリアを考える機会としたい。

【参考文献・資料】 1) 田中研之輔 (2019)「プロティアン」. 2) 山口周 (2019)「ニュータイプの時代」. 3) 古海弘康 (2019)「技術職員の実践知を考える。」2019年度分子研機器・分析技術研究会報告集. 4) 古海弘康 (2019)「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。」生物学技術研究会報告 第30号: 176-177.

## 安全衛生巡視での iPad の活用

基礎生物学研究所 技術課 飯沼 秀子

【目的】基礎生物学研究所では現在、安全衛生巡視の際に巡視当番が用紙に手書きで結果を記入し、巡視終了後に安全衛生管理室の担当者が用紙のデータをパソコンに手入力している。作業を簡素化するため iPad を活用し、巡視の際に結果をその場でデジタルデータとして入力できるようにしたい。

【方法】(1)安全衛生巡視項目に合わせてファイルメーカーで入力しやすいフォームを作成する。(2)入力用フォームとは別に対象機器確認のために一覧表を作成し、必要に応じて表示切替を行えるようにする。(3)ドロップリスト、カレンダー入力などの機能を利用して iPad で入力しやすいようにする。(4)入力事項ごとに調査内容の説明を表示し判断しやすいようにする。

【結果】パソコン上で作成していた時は気にならなかったが、iPad は画面がパソコンより小さいため、一覧表に表示切替を行ったときに情報が多すぎると一覧表が見にくく、操作がしにくかった。そのため、iPad 用に一覧表に記載する情報は最小限にした。

## CRISPR/Cas9 システムを用いた 多重遺伝子欠損マウス系統の樹立と性状解析

生理学研究所 技術課 稲橋 宏樹

【目的】シナプスの足場蛋白質 PSD-95 は、脳の速い興奮性シナプス伝達を担う AMPA 型グルタミン酸受容体を裏打ちすることで、シナプス機能を制御する。PSD-95 のシナプス局在はパルミトイル化という翻訳後脂質修飾に依存しており、パルミトイル化酵素と脱パルミトイル化酵素により制御されている。しかし、これら酵素には複数のアイソフォームが存在しており、1 遺伝子のみでの欠損では表現型が見出せていない。そこで、今回は複数の酵素を同時に欠損したマウスの作製およびその性状解析を目指した。

【方法】ゲノム編集技術の一つである CRISPR/Cas9 システムを用いて、まず、PSD-95 のパルミトイル化制御酵素の 3 種類のアイソフォームをそれぞれ欠損するマウス作製した。戻し交配に続いて、3 重遺伝子欠損マウス系統 (Triple Knockout, TKO) を樹立した。さらに、細胞種特異的な機能を明らかにする目的で、Cre マウスとの交配を進めている。

【結果】TKO マウスにおいて、単独のノックアウトでは見出せなかった表現型を見出した。

【考察】遺伝子重複により解析が困難な遺伝子の機能を明らかにする 1 例として報告する。

## 分科会 ～ CRISPR/Cas9 について ～

今回、以前よりアンケートで要望がありました、分科会を試みとして行います。テーマは最近いろいろな場面で取り上げられる、「CRISPR/Cas9について」です。話し合う内容ごとにグループに分かれ、グループディスカッションを行う予定です。皆様にたくさん意見を出していただき、気軽に話し合うことを主とした分科会にしたいと思います。

**【入門編】** CRISPR/Cas9 システムに興味はあるけどまだよく分からない、これから利用したいけど何をどうしたらよいか分からないなど、疑問をかかえている方は多いと思います。そんな方は、どうぞ、この入門編にご参加ください。どのような手順で行うのか、何が必要なのか、従来法と何が違うのか、などについて、意見交換しましょう。どんな実験材料でも実践できる魅力的な手法です。お気軽にご参加ください。(担当：壁谷幸子、内海秀子、高木知世)

**【社会編】** 昨年度環境省により、「ゲノム編集技術の利用により得られた生物であってカルタヘナ法に規定された「遺伝子組換え生物等」に該当しない生物の取扱いについて」が策定されました。この内容をテーマに話をしましょう。組換え生物に該当しない事例と、該当するものを具体的に認識することや、各大学・研究機関でのゲノム編集の取扱いを比較しながら意見交換をします。農産物の品種改良、環境問題、医療への応用などの社会問題の提起も歓迎します。(担当：田中幸子、竹内靖、森友子)

**【実践編・問題解決編】** CRISPR/Cas9 を用いた実験に携わったことがある方、○結果が安定しない(安定させたい) ○もっと効率の良い方法があったら知りたい ○どんな方法を用いているか情報を集めたい ○参考に行っているウェブサイトや論文を知りたい など、ざっくりしたことから細かいことまで、経験を共有しませんか？勿論、経験者ではないが研究室に情報を還元したい、という方も歓迎します。(担当：水口洋子、大澤園子、岡早苗)

**【日時】** 2月21日(金)(研究会2日目) 9:00-10:20

9:00-9:10 CRISPR/Cas9 の概要 (基礎生物学研究所 技術課 竹内 靖)

9:10-9:25 グループに分かれて自己紹介

9:25-10:05 グループディスカッション

10:05-10:20 各グループが話し合った内容の報告

各グループの参加者は2月20日(木)(研究会1日目)に会場の掲示板で募集します。分科会と並行して、生理学技術研究会の「奨励研究採択課題技術シンポジウム」の口演を行っておりますので、そちらへのご参加も可能です。

## 参加者名簿

| 氏名     | 所属                                     |
|--------|--|
| 板 宗克   | 北海道大学大学院 獣医学研究院                        |
| 大多 亮   | 北海道大学大学院 工学研究院                         |
| 富樫 愛采  | 北海道大学 電子科学研究所 技術部                      |
| 宇野 修子  | 一関工業高等専門学校 技術室                         |
| 一條 肇   | 東北大学 大学院医学系研究科                         |
| 矢野 愛美  | 秋田大学 バイオサイエンス教育・研究サポートセンター             |
| 野呂田 郁夫 | 山形大学 医学部技術部 (薬理学講座)                    |
| 川口 敏史  | 山形大学 工学部技術部                            |
| 井手尾 光臣 | 小山工業高等専門学校 教育研究支援部技術室                  |
| 黒木 大海  | 慶應義塾大学医学部 共同利用研究室                      |
| 酒井 有沙  | 東京大学 工学系研究科 附属総合研究機構                   |
| 佐伯 喜美子 | 東京大学 理学系研究科・理学部 技術部                    |
| 鈴木 雄祐  | 東海大学 伊勢原研究推進部 生命科学統合支援センター             |
| 西槇 俊之  | 北里大学医学部 形態系解剖学                         |
| 八田 秀樹  | 富山大学 医薬系技術部 (病理診断学)                    |
| 鈴木 二平  | 富山大学 医薬系技術部 (分子・構造解析施設)                |
| 小木曾 正造 | 金沢大学 総合技術部環境安全部門 (環日本海域環境研究センター臨海実験施設) |
| 臼田 隆亮  | 信州大学 工学部 技術部                           |
| 武田 昌昭  | 信州大学繊維学部 技術部                           |
| 小林 策治  | 核融合科学研究所 技術部                           |
| 古海 弘康  | 国立遺伝学研究所 技術課 技術課長                      |
| 今井 悠二  | 国立遺伝学研究所 技術課                           |
| 柏原 美紗子 | 国立遺伝学研究所 技術課                           |
| 矢野 弘之  | 国立遺伝学研究所 技術課                           |
| 山谷 宣子  | 国立遺伝学研究所 技術課                           |
| 外山 美奈  | 浜松医科大学 医学部 総合人間科学講座                    |
| 青島 拓也  | 浜松医科大学 医用動物資源支援部                       |
| 稲葉 勇太  | 浜松医科大学 技術部                             |
| 佐々木 健  | 浜松医科大学 技術部 (器官組織解剖学講座配属)               |
| 宮城 明日香 | 浜松医科大学 技術部                             |
| 宮田 学   | 浜松医科大学 技術部                             |
| 村松 歩   | 浜松医科大学 技術部                             |
| 加茂 隆春  | 浜松医科大学 腫瘍病理学講座                         |

|        |                                |
|--------|--------------------------------|
| 柴田 清   | 浜松医科大学 先進機器共用推進部               |
| 徳永 雄平  | 浜松医科大学 先進機器共用推進部 超微形態解析        |
| 太田 勲   | 浜松医科大学 光先端医学教育研究センター 先進機器共用推進部 |
| 藤沢 郁英  | 豊橋技術科学大学 応用化学・生命工学系            |
| 飛沢 健   | 豊橋技術科学大学 技術支援室                 |
| 木村 和典  | 分子科学研究所 技術課                    |
| 豊田 朋範  | 分子科学研究所 技術課                    |
| 土肥 名月  | 名古屋市立大学大学院 医学研究科               |
| 西村 恭子  | 名古屋市立大学大学院 医学研究科 細胞生理学         |
| 日比 悠里名 | 名古屋市立大学 医学研究科 神経発達症遺伝学         |
| 大瀧 純   | 名古屋市立大学大学院 医学研究科 法医学分野         |
| 中村 昌美  | 名古屋市立大学大学院 医学研究科 法医学分野         |
| 高野 聡美  | 名古屋市立大学 医学部 実験動物研究教育センター       |
| 牛田 かおり | 名古屋大学 全学技術センター                 |
| 河野 永治  | 名古屋大学 全学技術センター                 |
| 吉野 奈津子 | 名古屋大学 全学技術センター（共通）             |
| 小山 由起子 | 滋賀医科大学 実験実習支援センター              |
| 木原 駿介  | 京都大学 iPS 細胞研究所 共通機器管理室         |
| 大野 理沙  | 京都大学 人間・環境学研究科                 |
| 馬場 麻衣  | 同志社大学 環境保全・実験実習支援センター          |
| 太田 太恵子 | 同志社大学 環境保全・実験実習支援センター事務室       |
| 松本 香   | 神戸大学大学院 工学研究科 電気電子工学専攻         |
| 春口 大樹  | 兵庫医科大学 共同利用研究施設                |
| 成相 裕子  | 島根大学医学部 病態生化学                  |
| 宇都 武司  | 広島大学 技術センター                    |
| 塩路 恒生  | 広島大学 技術センター                    |
| 新開 薫   | 広島大学 技術センター 共通機器部門             |
| 山口 信雄  | 広島大学 自然科学研究支援開発センター            |
| 今林 潔   | 徳島大学 技術支援部 蔵本技術部門              |
| 北池 秀次  | 徳島大学 技術支援部 蔵本技術部門              |
| 森澤 啓子  | 高知大学 設備サポート戦略室                 |
| 楠本 朋一郎 | 九州工業大学 飯塚キャンパス技術部              |
| 吉利用之   | 久留米工業高等専門学校 教育研究支援センター         |
| 園田 佳世子 | 熊本大学大学院 生命科学研究部 生体微細構築学講座      |
| 池田 充   | 鹿児島大学教育学部 実習地                  |
| 西谷 篤   | 鹿児島大学 遺伝子実験施設                  |

## 基礎生物学研究所 技術課

| 氏名     | 所属  |
|--------|---|
| 三輪 朋樹  | 技術課長  |
| 森 友子   | 技術班長<br>生物機能解析センター 生物機能情報分析室                              |
| 水谷 健   | 技術班長<br>進化多様性生物学領域 進化発生研究部門<br>安全衛生管理室 兼務                 |
| 壁谷 幸子  | 細胞生物学領域 生物進化研究部門  |
| 林 晃司   | 細胞生物学領域 細胞動態研究部門  |
| 尾納 隆大  | 細胞生物学領域 定量生物学研究部門<br>(生命創成探求センター 創生領域研究 定量生物学研究グループ)      |
| 高木 知世  | 発生生物学領域 形態形成研究部門  |
| 内海 秀子  | 発生生物学領域 分子発生学研究部門<br>(生命創成探求センター 創生領域研究 発生シグナル創発研究グループ)   |
| 岡 早苗   | 発生生物学領域 初期発生研究部門  |
| 水口 洋子  | 発生生物学領域 生殖細胞研究部門  |
| 竹内 靖   | 神経生物学領域 神経行動学研究部門<br>(生命創成探求センター 創生領域研究 神経ネットワーク創発研究グループ) |
| 田中 幸子  | 進化多様性生物学領域 共生システム研究部門                                     |
| 野田 千代  | 環境生物学領域 環境光生物学研究部門  |
| 諸岡 直樹  | モデル生物研究センター モデル植物研究支援室<br>安全衛生管理室 兼務                      |
| 大澤 園子  | モデル生物研究センター モデル動物研究支援室                                    |
| 野口 裕司  | モデル生物研究センター モデル動物研究支援室                                    |
| 牧野 由美子 | 生物機能解析センター 生物機能情報分析室                                      |
| 山口 勝司  | 生物機能解析センター 生物機能情報分析室                                      |
| 西本 裕希  | 生物機能解析センター 生物機能情報分析室                                      |
| 近藤 真紀  | 生物機能解析センター 光学解析室  |
| 斎田 美佐子 | 生物機能解析センター 光学解析室  |
| 西出 浩世  | 生物機能解析センター 情報管理解析室  |
| 中村 貴宣  | 生物機能解析センター 情報管理解析室  |
| 杉浦 宏樹  | 生物機能解析センター 情報管理解析室  |
| 松田 淑美  | アイソトープ実験センター<br>安全衛生管理室 兼務                                |
| 澤田 薫   | アイソトープ実験センター<br>安全衛生管理室 兼務                                |
| 飯沼 秀子  | アイソトープ実験センター<br>安全衛生管理室 兼務                                |

## 生理学研究所 技術課

| 氏名     | 所属  |
|--------|---|
| 大河原 浩  | 技術課長  |
| 戸川 森雄  | 技術課長補佐（技術班長）<br>システム脳科学研究領域 認知行動発達機構研究部門                        |
| 吉村 伸明  | 技術班長<br>情報処理・発信センター ネットワーク管理室                                   |
| 山本 友美  | 分子細胞生理研究領域 神経機能素子研究部門   |
| 稲橋 宏樹  | 分子細胞生理研究領域 生体膜研究部門  |
| 加納 雄一朗 | 生体機能調節研究領域 細胞構造研究部門   |
| 福田 直美  | 生体機能調節研究領域細胞生理研究部門<br>（生命創成探求センター 創生研究領域 温度生物学研究グループ）           |
| 石原 博美  | 生体機能調節研究領域 心循環シグナル研究部門<br>（生命創成探求センター 創生研究領域 心循環ダイナミズム創発研究グループ） |
| 山口 登   | 基盤神経科学研究領域 大脳神経回路研究部門   |
| 吉友 美樹  | 基盤神経科学研究領域 生体恒常性発達研究部門  |
| 高木 正浩  | 基盤神経科学研究領域 視覚情報処理研究部門   |
| 佐藤 茂基  | システム脳科学研究領域 生体システム研究部門  |
| 高橋 直樹  | システム脳科学研究領域 神経ダイナミクス研究部門  |
| 伊藤 嘉邦  | システム脳科学研究領域 心理生理学研究部門   |
| 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 機器試作研究室  |
| 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  |
| 村田 安永  | 情報処理・発信センター ネットワーク管理室   |
| 稲垣 茉莉子 | 情報処理・発信センター ネットワーク管理室   |
| 廣江 猛   | 動物資源共同利用研究センター  |
| 窪田 美津子 | 動物資源共同利用研究センター  |
| 神谷 絵美  | 動物資源共同利用研究センター  |
| 山中 緑   | 動物資源共同利用研究センター  |
| 永田 治   | 研究基盤技術係   |
| 森 将浩   | 研究基盤技術係 安全衛生管理室   |

☆☆☆☆☆☆☆☆ 編集 ☆☆☆☆☆☆☆☆

発行日：2020年2月6日

●基礎生物学研究所 技術課 技術研究会実行委員会

田中 幸子，松田 淑美，壁谷 幸子，牧野 由美子，  
竹内 靖，水口 洋子，中村 貴宣

●生理学研究所 技術課 技術研究会委員会

吉村 伸明，高木 正浩，三寶 誠，高橋 直樹，加納 雄一郎，  
窪田 美津子，山本 友美，山口 登