

Platanus Vol. 26

総合分析実験センターニュース

- ・ 2019 年度の機器整備 1
- ・ 2018 年度利用状況報告 3
- ・ Dear Users... 7
- ・ アイソトープエッセイ 8

山梨大学
総合分析実験センターニュース
Platanus 第 25 号
2019 年 7 月 15 日発行
<http://www.med.yamanashi.ac.jp/~cmr/>



2019 年度の機器整備

機能解析分野 北間敏弘

総合分析実験センターから文科省基盤的設備整備（研究設備）として要求していた、次世代シーケンサーによる解析のための周辺機器設備の整備、「ハイスループット遺伝子解析システム」が採択され、改修後の実習棟 3F 部分に設置されることになりました。

すでにセンター内には、次世代シーケンサーが導入され、塩基配列の決定や mRNA の同定・定量を調べるために稼働していますが、試薬類のランニングコストや膨大な塩基配列のデータ処理が必要であるため、分析できる試料数に限りがあるのが現状です。この問題の解決のため、多くの検体からのスクリーニングにより得られた細胞や遺伝子などの性質を自動化した PCR 反応によって網羅的に解析するための研究環境整備を目的としています。また、試料からゲノムライブラリーを構築するための機器は未整備であった

め、利用希望者の所有する機器で採取可能な範囲の試料のみしか扱えず、病理組織切片からの目的細胞のみの選択的な採取などは困難な状況

でした。レーザーマイクロダイセクション装置をはじめとする安定した試料調整を行なうための周辺機器と、多検体からの遺伝子群を網羅的に検出できる装置を組み合わせ、さらに次世代シーケンサーの稼働と解析のコンサルティングを担当する瀬川特任助教のサポート体制とにより、学内外のニーズをくみ上げ、適切な試料処理と研究に必要な高品質で安定した解析を総合的に支援する体制を構築できるものと期待しています。また今年度は、これらの基盤的設備整備費による整備とは別に、学長裁量経費の配分により、これまで継続して要求を行ってきたセルアナライザーの更新が実現しました。老朽化した機器の更新がようやく一歩前進という感じです。以下がこれから設置される機器のラインアップです。多くの方々の積極的な利用をお願いします。



ハイスループット遺伝子解析システム

「病理組織切片や硬組織など広範な試料から目的細胞を選択的に抽出し、核酸を精製し増幅し評価して、次世代シーケンサで解析するライブラリを構築する」ために必要な機器を整備するというもので、具体的には Biomark HD、レーザーマイクロダイセクション装置、QIA Cube、バイオアナライザー、そして小型の次世代シーケンサ illumina iSeq100 とゲノム解析ソフトを含みます。次世代シーケンサの外注解析料金は、キャピラリー型の時と同様にどんどん下がってきています。そこに対抗するような業務を打ち出してコスト競争に参加するより、前処理のカバー範囲を広げて試料の質を上げることに貢献する方が、本学の共同利用施設にはふさわしいのではないというスタンスで選びました。

まずは Biomark HD。乱暴に言うと、「マイクロアレイシステムのリアルタイム版」というところでしょうか。マイクロ流路制御を使って、たとえば 96 サンプルを 96 プライマと 9216 反応で qPCR を検出、というような感じのことは行います。代表的なアプリケーションとしては、リアルタイムデジタル PCR、発現解析、ジェノタイピング、アンプリコンライブラリ作製、を想定しています。

次にレーザーマイクロダイセクション装置。プレパラートから組織をはがし取ってくるものですね。新しく薄切したプレパラートから細胞を 1 つずつ狙って精密に採取するとか、古い貴重なプレパラートからちょっとだけ貰ってくるなど、応用範囲の広い機種を選定しました。遺伝子研究の入り口ではとにかく総当たりで何が出てくるか探索することがありますが、探索対象外の細胞が混入しないピュアな状態で採取できれば、後の処理や解析の精度と効率が上がるのではないかと期待しています。ただ入札直前に発表されたニューモデルで、まだ誰も実機を見ていません。もしかしたら国内第一号機かもしれないくらいです。



そして QIA Cube と小型の定量 PCR 装置と自動電気泳動装置。研究者の時間を節約すると同時に手技のバラツキをなくし繰り返し精度を爆上げする縁の下の力持ち達です。QIA Cube は内部を UV 照射でクリーニングする仕様で、準備に必要なのはキットの試薬とチップやチューブのセットだけ。定量 PCR 装置は汎用性では定評のある機種、バイオアナライザーは QC 用のインデックス値がデファクトスタンダードになってしまった Agilent の新型機で、自分でゲルを詰めなくていいモデルなので準備が簡単です。

基本的には他の機器と同様に利用者自身で予約して設定して使用していただきますが、センタースタッフが試料ごとの最適化や QC のアドバイスをを行います。ぜひご相談ください。

セルアナライザー

20 年の稼働実績を誇る細胞工学室の FACS Calibur が、ついに世代交代です。

今回の新型機は、3 本のレーザーで 12 色の蛍光検出器を装備することになっていきます。近年いろんなメーカーが参入し百花繚乱の様相を呈してきたセルアナライザー業界ですが、Calibur と同等の性能を持つモデルは大幅に小型化し値下がりし、ちょっと気合を入れたプロジェクトなら自前で導入されるようになりました。そうなる共同利用で



目指すべきは、応用範囲の広い高級機ということになります。実際に 6 色とか 7 色の問い合わせもくるようになっていきますし、色素も進歩して様々な色の組み合わせでシャープなデータが得られるようになってきています。これでまた大いに活用していただき、さらなる研究成果に繋がることを願っています。

ちなみに既存の Calibur ですが、データ移行のためにも Calibur と新型機の両方で計測して見る必要がありますので、当面若い二号機を稼働させます。早めに検証を済ませて移行することを推奨します。

2018 年度利用状況一覧（その 1）

飼育の状況

	延飼育数(匹日)	入荷数(匹)
マウス	3,310,910	5,814
ラット	75,003	642
モルモット	993	11
ウサギ	29,482	174
ネコ	1,739	0
ヤギ	47	4
ヒツジ	0	0
ニホンサル	3,107	3
合計	3,421,281	6,648

動物実験施設登録者数

区分	利用教室登録数	利用者登録数
基礎	11	99
臨床	20	155
一般・看護	2	2
教育人間科学	1	15
生命環境	1	13
附属施設等	1	17
計	36	301

動物実験施設入館者数

区分	月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	合計	前年比
入館者数(人)		1,250	1,182	1,259	1,407	1,503	1,179	1,417	1,336	1,389	1,287	1,163	1,349	15,721	930
1日平均(人)		42	38	42	45	48	39	46	45	45	42	42	44	43	2

資源開発分野利用状況のまとめ

登録教室は 36 教室、登録者は 301 人でした。入館者総数は 15,721 人で、1 日平均では 43 人でした。延べ動物飼育数は、前年度比較で 4% 減の 3,421,281 匹日でした。

マウスは、延べ動物飼育数 5% 減の 3,310,910 匹日、入荷数も 658 匹減っています。ラットは、延べ動物飼育数 45% 増の 75,003 匹日、入荷数も 192 匹増えています。ウサギは、延べ動物飼育数 37% 増の 29,482 匹日、入荷数は 18 匹減っています。モルモットは、延べ動物飼育数 2% 減の 993 匹日で、入荷数も 3 匹減っています。ネコは、延べ動物飼育数 28% 減の 1,739 匹日。ヤギは、延べ動物飼育数は 4 倍の 47 匹日、入荷数 4 匹。ニホンザルは、延べ動物飼育数 50% 増の 3,107 匹日、入荷数 3 匹でした。実績は表をご参照ください。

本年度は、マウスとモルモットで延べ動物飼育数と入荷数共に減り、ラットで延べ動物飼育数と入荷数共に増えました。また、短期の実験ではありますがヤギといった大型の実験動物の使用が増えました。これからも、飼育動物の現状を踏まえ将来を見据えて飼育室の改修や飼育装置の増設等を検討していきたいと思えます。

利用者の方は設備機器等のアンケートの際には是非ご希望をお寄せください。

30 年度に行った動物実験結果報告書の提出をお願いします。この報告書の「使用動物」の欄は、動物の尊い命を使用した実験の記録となります。この欄は、動物種と当該年度使用数を記載するものです。動物実験責任者は、この報告書により学長に報告する義務がありますので、毎年必ず提出してください。

実験動物慰霊式

平成 30 年度実験動物慰霊式が、平成 30 年 11 月 16 日(金)午後 3 時より動物実験施設西側の実験動物慰霊碑前にて執り行われ、教職員学生等 131 名が参列しました。



2018年度利用状況一覧（その2）

装置名称	電顕室			培養準備室				試料調整室				細胞工学	遺伝子工学室	
	透過電顕 (h)	走査電顕 (h)	ミクロトーム室 (h)	純水 (L)	超純水 (L)	液体窒素 (L)	ドライアイス (Kg)	卓上超遠心機 OptimatLX (h)	CP80W 超遠心機 (h)	DNA SpeedVac (h)	分光光度計合計 (回)	FACS Calibur 合計 (h)	遺伝子工学室 P2 (回)	遺伝子工学室 P3 (回)
解剖構造生物	213:10	8:50	119:22			0.88	13.60		28:37		88			
解剖細胞生物	103:40	12:30	3:30	184.00	147.25	17.00	22.50	1:00	375:34			19:16	58	12
統合生理														
神経生理						52.52					4			33
第一生化	102:35				1068.90	28.65	58.85							
第二生化							4.80		1:10				49	
薬理					18.00		14.40		0:30	28:57		1:00	1	
分子病理				451.30	67.80	11.83	14.60				32			
微生物					302.00	1.01						6:01	1	
免疫			53:20		356.00	3.56	7.90							12
法医														
環境遺伝医学														
社会医学							3.70							
第一内科				300.00										
第二内科						61.36	9.10	4:37				88:31	32	
第三内科						12.69	33.00	4:40	29:53			7:50	145	51
神経内科	30:25		50:05		49.00	11.94	18.50				40			
血液内科				66.50	309.90		2.90							
小児科				24.00			6.60				28	158:41		
精神神経科							5.20				4			
皮膚科				234.50			2.40				38	188:25		5
第一外科				282.50	13.00	60.35	5.00		34:25		84	14:35		
第二外科														
整形外科					368.00	3.11	13.00					29:53	1	15
脳神経外科											7			
麻酔科					6.55	28.55					15		5	
産婦人科														
泌尿器科				145.00	11.05		3.45							44
眼科				108.00			5.10				15			101
耳鼻科							5.35							
放射線科														
歯科口腔外科													7	
救急集中治療医学				308.50			5.80							
臨床検査医学							7.35							
人体病理					5.00						45			
基礎臨床看護学														
医学教育センター				164.00	98.00		1.30							
分子情報伝達				553.40	0.50									
生命環境学部														
教育学部						5.33								
付属病院														
分析センター				137.10								50:55		
動物実験				8.00	127.16	2.53	3.00				47			1
その他														
計	449:50	21:20	226:17	2966.80	2948.11	301.31	267.40	10:17	470:09	28:57	447	565:07	299	274
前年度実績	550:05	14:21	489:51	3628.60	2883.20	233.14	250.06	1:00	817:28	14:35	399	559:48	247	895
増減	▲100:15	6:59	▲263:34	▲661.80	64.91	68.17	17.34	9:17	▲347:19	14:22	48	5:19	52	▲621
利用講座数	4	2	4	14	16	15	24	3	6	1	13	10	9	9
利用者数	10	3	8	16	43	47	79	3	10	4	48	32	21	24
利用回数	120	14	89	251	327	466	394	7	76	15	447	582	299	274

2018年度利用状況一覧（その3）

装置名称	分析機器室		培養室	核酸実験室			画像解析室						作業室 (h)	低温室 (回)	
	FACS Aria (h)	PH8100 (90cm 変換枚数)		定量PCR 合計(回)	エンドポイント PCR合計 (回)	クリオスタット (回)	(h) レーザ 共焦点顕微鏡	鏡 (h)	多点タイ ムラプス顕微 鏡(h)	ボツクス 型共焦点顕微 鏡	KEYENCE 顕微鏡 (回)	LAS400 合計(回)			ダー 合計(回)
解剖構造物		12			1		8:40							4:35	
解剖細胞生物	15:20	24			3		72:13		87:05	3:08	189	2			54
統合生理		8												6:07	
神経生理		24					1:00			56:29				0:33	
第一生化		17		15			5:00	175:30				2	12		
第二生化		10		16			107:03				53				1
薬理		30		192	3		7:15				38	26			
分子病理		4									64	22			
微生物	10:49	12					42:46		1:25			39			
免疫		6								32:20	59				
法医		4													
環境遺伝医学															
社会医学		2										27			
第一内科		14													
第二内科		34		119		3	3:05	1:30	1:25		163	173			
第三内科	9:55	87	1:01						79:48	44:58	440	52			
神経内科		21			3		23:40								
血液内科		5									91				
小児科		109							4:07			60			
精神神経科		2									3				2
皮膚科		30		20			30:12		0:50	3:33	12	15			
第一外科		28		61							17	36			
第二外科		6													
整形外科		92		47					56:25	4:31	137	7			
脳神経外科		22										11			
麻酔科		18		10	9										
産婦人科															
泌尿器科		49					0:40			86:22	36	27	0:25		
眼科		26		45	32		10:48			126:52	84	1			
耳鼻科		41					4:00				2				
放射線科		18												0:30	
歯科口腔外科		11	30:13				15:11				7	15			
救急集中治療医学		21													
臨床検査医学		14	3:10	13		7	17:10					15	0:35		
人体病理		10													
基礎臨床看護学															
医学教育センター		4					6:00				1				
分子情報伝達		14	7:11								320	173			
生命環境学部															
教育学部				13											
付属病院		93		9											
分析センター		5		2							6		4:40		
動物実験	65:05											2			
その他															
計	101:09	927	41:35	562	51	10	354:43	177:00	231:05	358:13	1724	715	17:25		57
前年度実績	66:55	970	48:43	386	28	16	519:47	461:40	245:57		1994	1018	30:03		52
増減	34:14	▲ 43	▲ 7:08	176	23	▲ 6	▲ 165:04	▲ 284:40	▲ 14:52	358:13	▲ 270	▲ 303	▲ 12:38		5
利用講座数	4	37	4	13	6	2	16	2	7	8	20	19	7	3	
利用者数	5	176	5	43	10	3	30	2	12	24	64	52	9	4	
利用回数	41	392	100	562	51	10	215	8	118	274	1724	715	29	57	

2018年度利用状況一覧（その4）

実験室別利用回数

	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	合計	前年比
電顕室	15	21	11	26	22	37	50	24	25	27	27	12	297	▲43
培養準備室	192	231	172	200	171	150	171	132	147	172	140	172	2050	▲134
組織培養室	10	9	7	5			2	2	16	19	22	8	100	12
試料調整室	69	45	39	45	61	40	44	23	43	45	61	60	575	53
分析機器室	83	72	138	51	63	98	74	105	23	51	61	149	968	▲31
細胞工学室	27	51	27	31	34	65	57	60	71	64	59	71	617	▲15
画像解析室	266	291	332	265	245	219	235	218	224	185	186	176	2842	▲818
遺伝子工学室	127	97	116	106	111	73	64	59	131	79	67	75	1105	▲176
核酸実験室	66	65	58	38	46	42	60	51	36	42	48	71	623	193
工作室	0	2	5	0	4	9	7	2	2	2	3	3	39	▲9
低温室	9	10	5	2	3	1	6	3	5	6	5	2	57	5
利用合計	864	894	910	769	760	734	770	679	723	692	679	799	9,273	▲963

機能解析分野利用実績概観

2018年度は近年になく忙しい年でした。前号でお伝えした通り分析機器室や組織培養室の改装から始まり、実習棟の設計や概算要求の準備作業に走り回っているときに空調が次々に故障し、雨漏りが発生し、利用者の皆さんにも迷惑をかけましたが管理課や施設課も大騒ぎだったと思います。

そんな中、以前から遺伝子工学室に置いた暗室レスの蛍光顕微鏡をもっとコンパクトなものに更新したいという希望がやっと実現しました。すっきり小さな蛍光顕微鏡で作業スペースが確保できるようになり、これまでの顕微鏡はクリーニングの上で画像解析室に移動し、ついでに蛍光フィルタも新型に交換して感度を向上させています。早速幅広いみなさんに使っていただけているようで、Win-Winな整備に大満足です。

さて、利用の傾向としては2018年度もわずかに減少です。ただ、大型機器は減少しても小物の機器や材料供給は減りませんし、研究支援業務は逆に増加しています。キャンパスの研究アクティビティ自体は高く維持されているものと思われます。センターとしては、大型小型に関わらず老朽化した機器を更新して新しいニーズにマッチさせることが重要だと認識し、あらゆるチャンスを生かして予算を獲得していきたいと思います。とりあえず

研究支援業務利用実績

業務	講座数	件数	前年比	検体数	詳細
光顕試料作製	10	174	3	633	薄切数：8203 染色数：1145
凍結試料作製	2	39	25	137	薄切数：675 染色数：0
液体窒素予約	7	212	1		総量：2066



他の記事でお知らせした通り次世代シーケンサ関連の前処理装置群の整備と、セルアナライザーの更新が進行中です。今後にご期待ください。

そういえば、機械工作室で展開しているものづくりセンターのサテライトはとても好評のようですね。センターでも小物の工作をお願いしま

したが、よい感じに仕上げただけではありません。実験環境のちょっとした痒いところに手を届かせてくれる職人集団に感謝です。

2018 年度利用状況一覧（その 5）

RI 実験施設入館者数

区分	月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	合計	前年比
入館者数（人）		44	56	45	77	92	48	58	21	60	30	55	65	651	▲ 543
1日平均（人）		1.5	1.8	1.5	2.5	3.0	1.6	1.9	0.7	1.9	1.0	1.8	2.1	1.8	▲ 1.5

核種別使用量

	H-3	P-32	I-125	S-35
利用量 (MBq)	0	9.3	370.1	0
新規受入量 (MBq)	0.0	9.3	259.0	0.0

RI 実験施設登録者数

区分	利用教室登録数	利用者登録数
基礎	3	9
臨床	13	56
一般・看護	1	1
附属施設等	3	18
計	20	83

Dear Users...

利用記録の記入について

利用記録は、活動実績の資料であると同時に、今誰が利用中なのか、前回は誰がいつ使っていたのかを明らかにして利用者間の調整に役立つものです。利用開始時に所属・氏名・開始時刻の記載、利用終了時には残りの項目の記載を、予約や予定ではなく実際の時刻で記入してください。

データの保存について

最近では PC のストレージが大きくなってあまり気にしてませんが、「大切な実験データ」は必ず自分で持ち帰り保存してください。機器内に残されているデータについては、一切保証はしません。管理上の都合で削除することもありますし、誰かが上書きしても追跡はできません。

非登録者の同伴不可

近年、国内の研究機関で、動物実験反対団体の構成員が外部の研究者のふりをして飼育施設を見学させて欲しいと接触してくる事案が発生しています。騙されて動物実験施設に案内した事例もあるようです。

当センターは各分野とも、利用登録をした方は 24 時間いつでもそれぞれの区域に入って利用することが可能ですが、入れるのは登録した本人だけです。相手が誰であれ、非登録者を入らせることのないようにしてください。非登録者が立ち入りを希望する場合、可否の判断はセンターで行いますので各分野の事務室に事前相談してください。

また、それぞれのカードゲートは、たとえドアが開いていても、通る人全員が個別にかざして認証してください。



アイソトープエッセイ 放射性物質の利用と被曝管理の歴史

放射線業務に従事する場合、放射線防護の基本である被ばく管理は重要です。今回は、その被ばく管理の重要性について、X線発見当時のヨーロッパまで遡ってお話します。

19世紀末レントゲン博士により、人類初の放射線であるX線が発見されました。

X線は、骨や肺の画像診断としてすぐに利用される一方で、それがもたらす弊害も早い段階で明らかになっていました。そのきっかけとなったのが、X線による皮膚障害でした。なお当時、X線障害を最も多く受けた人々は、医療関係者ではないそうです。その職業には、子供が就いており、それ故多くの子供たちが犠牲になったといわれています。その職業についてお話しする前に、当時のX線に対する社会の反響について触れておきます。目に見えない未知のエネルギーを、人々はどのように受け止めたのでしょうか。

時代のイメージは、小説のシャーロックホームズが活躍していたころになります。街中では石畳の上を馬車が走り、街灯はガス灯でした。科学の世界では、電気や磁気について理解が進み、発電から送電までのしくみが出来て家庭にも電気が届き始めます。また、電話や無線という目に見えない手段で情報がやり取りされるようになりました。そんな科学の恩恵を受けていた当時のヨーロッパの人々ですが、人間の体が透けて見えるというX線写真の登場は、とても衝撃的であったようです。さらに、新聞が面白おかしく書き立て人々の興味を引きます。『鉛製の下着発売中』、『劇場ではX線メガネ禁止』、『X線嘘発見器』…。X線は、裸も心をも見透かす魔法にされてしまいました。それを読んだ人々は、X線とはすべてを白日の元に晒す魔法のカメラであると思ひこみます。巷では、もはやプライバシーは存在しないとの不安が広がりました。そんなX線透視は、次第に見世物として流行りだします。その実演モデルになったのが、貧しい家の子供たちだったのです。徐々に子供たちの体に異変が現れます。初めは赤くなる程度で感覚も正常でしたが、次第に脱毛や皮膚の損傷が見られるようになります。さらにひどくなると悪性の潰瘍から癌

になり亡くなる子供たちもいましたが、ほとんどは経済的理由から病院には行けず、それ故公式な記録も残っていません。徐々に体が蝕まれていく原因不明の病が、子供たちに与えた不安や恐怖は計り知れません。

その後研究が進むにつれ、X線と皮膚障害や造血障害の関係が明らかになり、医療関係者を中心に放射線防護という意識が芽生えました。その結果、「距離・時間・遮蔽」の三つが有効であることが分かり、また症状が出る境界となる線量(閾線量)以下に被ばくを抑える考えが一般的となりました。1950年代になると、原子力エネルギーの利用が進み、多くの方が被ばくする可能性が出てきました。そこで医療関係者だけでなく、一般公衆まで放射線防護の対象を広げることになりました。また、原爆被害者の追跡調査により、被ばく量と放射線影響の関係も明らかになり、線量限度に反映されました。そこでは、「遺伝的影響や発がんについては、閾線量がなく、被ばく線量に伴い発症率が上昇する」という考えが採用されました。そのことにより、「線量限度以下であっても、出来るだけ被ばくをしないよう心がける」という現代の放射線作業の方針が出来ました。現在私たちは、放射線業務をする上で個人被ばく線量計による被ばく管理が義務づけられています。ただ、実際の被ばく量は、線量限度よりかなり低く放射線障害の恐れがないため、被ばく管理を軽んじてしまいがちです。そのような時に思い出して頂きたいのが、現在の放射線防護に行き着くまでには、数多くの放射線障害による苦しみがあったということです。目に見えず、何も感じない放射線の影響が明らかになるまでに犠牲になったのは、医療の恩恵を受ける方々だけではなく、生活のためにX線を浴び続けた子供たちや、原子爆弾の被害者が多く含まれています。また山梨大学において、普段皆さんと直接やり取りをすることは少ないと思いますが、健康管理や設備管理を担当する多くの方々の協力により、安全に放射線作業を行えるような環境が整えられていることも忘れないで頂きたいと思ひます。