

EDUCATION

A FAOPS2019 satellite - NIPS/Thermal Biology Training Course 活動報告

自然科学研究機構生理学研究所細胞生理研究部門（生命創成探究センター温度生物学研究グループ）

曾我部隆彰

日本中が新元号「令和」の発表で沸き立った4月1日、桜満開の生理学研究所にて、生理研/温度生物学トレーニングコース（以下、FAOPSトレーニングコース）が開講されました。これは、前週に神戸で開催された第96回日本生理学会大会/第9回アジア・オセアニア生理学会連合大会（FAOPS2019）のサテライトイベントの一つとして企画されたものです。FAOPS（the Federation of the Asian and Oceanian Physiological Societies）が1990年に正式に発足してから30年の節目、日本で初めてとなる大会ということで、日本らしい特色を打ち出した企画として、大会前日から二日間の教育サテライトワークショップと大会終了後のトレーニングコースが決まりました。生理研では毎年夏に、国内の若手研究者を対象にしたトレーニングコースを開講していますが（生理研トレーニングコース）、今回のトレーニングコースはFAOPS2019に参加するアジア・オセアニア地域の外国人が対象であり、かつ対応する研究室も限定されています。また、新学術領域「温度生物学」の領域代表を務める富永教授の研究室では、国際活動支援の一環として企画していた外国人向けの短期レクチャーコースとカップルさせ、温度で活性化するイオンチャネルの電気生理学的解析や、蛍光寿命イメージング顕微鏡を使って蛍光物質の蛍光減衰時間の温度依存性をみる実習など、温度生物学の実験法に焦点を当てた内容としました。さらに、今回は受講生が各コースで何を学んだのかについて発表する時間も設けました。このように、FAOPSトレーニングコースは、「実習を

通して若手研究者に生理学的実験手法を学んでもらう」という趣旨こそ同じであるものの、生理研トレーニングコースとは大きく異なる初の試みでした。

受講希望者の中から選ばれた11名の若手研究者は、8つの国と地域（オーストラリア、中国、香港、マレーシア、インドネシア、タイ、ネパール、エジプト）から集まった大学院生から教授まで含む全て女性（！）でした。偶然ではありますが、女性研究者が世界的にはとてもアクティブに活動していることの表れだったのかもしれない。さて、彼らはFAOPS2019が終了した3月31日の午後に、神戸から愛知県岡崎市に移動しました。予想外だったのは、これがFAOPSトレーニングコースを通して最も困難なタスクだったことです。我々にとっては、神戸ポートアイランドからの3回の乗り換え（とくに新幹線名古屋駅から名鉄名古屋駅への長い経路）は初めてでもなんとかなるものですが、日本の交通事情に詳しくない外国人にとっては、切符を買って改札からホームまで移動するというだけでも一仕事だったようです。長期滞在で大量の荷物を抱えた一行の旅路は実に6時間を超えたそうです。最短なら2時間半で到着することを考えると、彼らを安全に岡崎まで引率してくださった先生方と若手の皆様には感謝の念が絶えません。

さて、一晩の休息をはさんだ受講生は、翌日からさっそく4つの研究室に分かれて実習に取り組みました。それぞれの研究室で実施したトレーニング内容は次の通りです。



図1. 実習の様子 (左上：富永研，右上：吉村研，左下：西田研，右下：古瀬研)

- 富永研：TRPV1 チャンネルを用いた化学刺激および温度依存的な活性化電流の測定と，温度感受性プローブを用いた蛍光寿命イメージング。
- 吉村研：急性脳スライスを用いた錐体細胞からの電気生理学的記録と神経サーキットの機能的解析。
- 西田研：非侵襲的に心機能を評価するための心エコー技術と初代培養心筋細胞を用いた電位イメージングおよび免疫染色。
- 古瀬研：凍結切片を用いた細胞間接着構造の免疫組織化学的解析と蛍光顕微鏡による観察およびデータ取得。

このように，それぞれが得意とする実験技術を5日間に渡ってレクチャーしました。筆者は富永研の実習を担当しましたので，以下ではその内容を中心に，各コースの実際の活動と日本人向けの生理研トレーニングコースとの違いについて振り返ってみたいと思います。

パッチクランプと温度イメージング (富永研)

実習生 5名

スタッフ 富永真琴，曾我部隆彰，齋藤茂，高山靖規，Derouiche Sandra，宇治澤知代，Li Tian-

bang, Feng Xiaona, Nguyen Thi Hong Dung, 岡部弘基

本コースではまず，ラット TRPV1 を発現させた HEK293 細胞を用いてホールセルパッチクランプ法の習得と，辛み成分カプサイシンおよび侵害熱 (43℃～) による活性化電流の観察に取り組んだ。また，そのための細胞の準備と遺伝子のトランスフェクションについても学んだ。電気生理実験の現役から全くの未経験者まで経験値には大きな開きがあったが，単一の細胞にガラス電極を当て，ギガシールの形成から吸引によるホールセルモードの完成という電気生理学の最初の一步は全員がほどなくクリアすることができた。このステップ自体は電動のマニピュレータがあれば難易度はそれほど高くなく，成功の鍵は狙うべき細胞のコンディションである。その他の多くの実験と同様，パッチクランプもまた実験材料の準備が最も重要なステップといえる。受講生は膜電位固定におけるカプサイシン依存的な TRPV1 の活性化と，そのときの電流—電圧曲線を膜電位のランプパルスで観察した。チャンネルの不活性化に関わる Ca^{2+} イオンの有無によって繰り返し刺激時の応答がどう異なるかについても学んだ。次に，灌流に

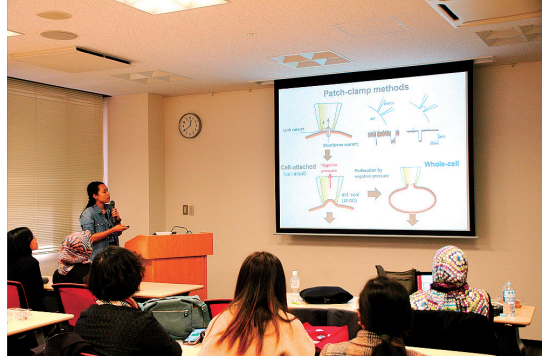


図2. 初日のガイダンス（左）と最終日の発表の様子（右）

よる熱刺激依存的な活性化電流の測定を試みた。この実験の秘訣は（おそらく温度刺激をしない研究者にはあまり知られていないが）、ホールセルモードの細胞を底面のガラスから剥がして線香花火のように溶液中に浮かせることと、温度プローブを可能な限り細胞近くに設置することである。これを実践することで、皆きれいな熱電流を観測することができた。また、一人の受講生はカプサイシン刺激時の単一チャネル電流の計測にも成功した。パッチクランプの手技と併せて、TRPV1という多刺激受容体の色々な応答特性について、受講者自身の手で確認してもらうことができた。

その後、温度生物学領域の班員である東京大学の岡部弘基助教の指導のもと、膜透過性の温度感受性ポリマーと最新の蛍光寿命顕微法を使った温度イメージングの実習が行われた。このポリマーは温度依存的に骨格構造が変化し、温度上昇ともなって蛍光ユニットが保護されると蛍光強度が上がる。このとき励起パルスによる蛍光の減衰（蛍光寿命）は温度に比例し、この値を計測することで細胞内の温度分布を極めて精細に知ることができる。温度感受性ポリマーを導入されたHela細胞を顕微鏡で観察し、細胞内小器官に温度の不均一性があることを観察した。例えば、核やミトコンドリアでは他の領域と比して温度が高い。細胞内の温度を測れるということ、そして細胞内の温度が一樣でないということは受講生にとってとても新しく、刺激的であったようだ。

脳スライスでのパッチクランプ（吉村研）

実習生 2名

スタッフ 吉村由美子、石川理子

本コースでは、スライスパッチクランプ実験法を習得することを目標とし、脳スライス標本の作製手順、ホールセル記録の基本的な手技、データの解析方法を指導した。実習では、予定していた大脳皮質および受講生からリクエストがあった小脳を用いてスライス標本を作製し、current clamp法およびvoltage clamp法を用いてニューロンの活動電位やシナプス電流を記録した。

心エコーと電位イメージング（西田研）

実習生 2名

スタッフ 西田基宏、小田紗矢香、富田拓郎、石原博美、田中智弘

本コースでは、非侵襲的に心機能を評価するための心エコー技術のデモや、*in vitro*のイメージングを行うための初代培養心筋細胞の単離法などのデモを行った。さらに、単離した心筋細胞を用いて基本的な免疫染色や膜電位のイメージングを実施した。

受講生は病院所属の教授と助教で、基本的に実験には携わらず、病院の各部署とのコラボレーションで研究をすすめている状況である。受講の目的は、実際の実験手技を見学することだった。受講態度は熱心で、頻繁に質問していた。



図3. トレーニングコースを終えて、桜満開の生理研にて

細胞間接着構造の免疫組織化学（古瀬研）

実習生 2名

スタッフ 古瀬幹夫, 大谷哲久, 菅原太一

本コースでは、蛍光免疫染色によるタンパク質の組織・細胞内における発現と局在の可視化と蛍光顕微鏡による観察を指導した。マウス腎臓の無固定凍結組織切片を用いて、細胞間接着関連分子ファミリーのサブタイプが尿細管ごとに異なる発現分布を示すことの観察を目標とした。期間中、受講生は意欲的に習得に取り組み、他の組織、培養上皮細胞についても蛍光免疫染色を経験した。

生理研トレーニングコースとの違いについて

日本人向けのコースに比べて実習の時間が一日少なかったが、指導そのものについては大きな違いはなかった。受講生については、生理研トレーニングコースと変わりなく非常に熱心に取り組んでいたが、日本人と比べると実力差や受講する目的の違いなど、様々な点で多様性があると感じた。受講生同士が協力し助け合っていたことで、短い期間でも目標を達成できたのだと思う。専門的技術を自らの手で実践したことで、見聞きするよりずっと理解が進んだという意見があり、生理研ト

レーニングコースと同等の意義はあったと思う。

生理研トレーニングコースでは最終日の午前までが実習で、午後は他の研究室の見学に当てられている。一方で、FAOPSトレーニングコースでは各コースの受講生によるプレゼンテーションが実施され、受講生がどの程度理解したかを把握することができた。また、他コースの内容について知ることができた点も良かった。どのグループの発表も聞き応えがあり、高いモチベーションでFAOPSトレーニングコースに参加していたことがよくわかった。また、受講生同士が仲良くなったのを見て、このようなイベントからも研究者間の国際交流が深まることを実感した。

今回は、公共交通機関の利用といった日本のシステムに馴染まない受講生を遠方から引率する必要があり、タクシーの手配や乗り換えの少ないルートを探るなど、過大な負担が生じた。また、交通費の払い戻しとそれにとまなう書類手続きなど、海外からの受講生ならではの手間もあった。さらに、宗教上の食事制限についても気を使ったが、受講生たちは思いの外、日本の食事も楽しんでくれたようで助かった。

まとめ

受講生は金曜日の朝から、皆で取得したデータの解析やプレゼンのためのスライド作りに取り組みました。昼からは再び全受講生が集まって、スタッフと一緒にランチを食べながらそれぞれ学んだことの成果を発表しました。印象的だったのは、受講生の実験能力と学習能力の高さですが、何より実習にアクティブかつ熱心に、同時に非常に楽しみながら取り組んでいる姿でした。5日間という実習期間は技術を体得するには十分ではありませんし、国際学会から休みのないスケジュールは受講生にとって負担だったはずですが、そんな中でも、研究するということに対するピュアな情熱をしっかりと感じる事ができ、我々も指導に熱が入りました。また、生理研の最新技術を見て体験してもらえたことは、それぞれの研究の今後の良い糧となったと思いますし、これからアジア各国の研究を支えていく人材に、日本の生理研を知ってもらえたことは我々にとっても意義があることでした。今の時代の学術研究にとって国際的なコラボレーションは必須条件であり、FAOPSトレーニングコースはそのための種まきとしての意味もあったと、全てを終えて感じています。アジア・オセアニア地域での学術研究が今後ますます発展していくことを願いつつ、受講生からの生の声をダイジェストでお伝えしてこの報告を終えたいと思います。最後に、本原稿を執筆するにあたってご協力くださったFAOPSトレーニングコーススタッフの先生方に感謝いたします。また、「Education」に執筆の機会を与えてくださった教育委員会にも心よりお礼申し上げます。

受講生の声

一生理研に来られてとても良かったです。これまで電気生理学の理論的な部分しか知りませんでしたが、自分の手で実践し、新しい知識も得ることができました。

一手技や技術的なバックグラウンドについて、スタッフが丁寧に教えてくれました。受講生からの助けもあり、とても充実した滞在でした。これまでの自分の実験の誤りにも気がつくことができました。

一コース全体がとてもよくオーガナイズされていて、スタッフもフレンドリーで忍耐強く、初心者でもとてもよく理解できました。これから学生に指導していく上で大きな自信になりました。もし可能なら、次回は一人ずつに固定した指導者がいてくれると嬉しいです。

一これまで電気生理の経験はありましたが、今回の経験はとても役立ちましたし、とても楽しかったです。ただ、全ての手技を学ぶには5日間は短すぎました。

一とても素晴らしい時間を過ごすことができ、同僚にも間違いなく勧められます。思っていたより実習時間が短かったですが、驚くほど得るものがありました。今回学んだことは自分自身の研究にも生きてくると思います。

一このトレーニングコースで、自分の希望したラボで学ぶことができ、本当にラッキーでした。

一短い滞在でしたが、温かいサポートの下で免疫染色について学び、私自身の研究に大変役立ちました。FAOPSトレーニングコースを開催してくださったことを感謝します。

「教育のページ」は学部学生、大学院生、ポスドク、教員などを対象に、生理学教育に関する取り組みや意見を紹介することを目的としています。原稿はWeb（日本生理学会ホームページ）上にも掲載されます。皆様のご投稿をお待ちしています。投稿規程はhttp://physiology.jp/magazine/contribution_rule/をご参照ください。