

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

57 巻 11 号 1995

〔巻頭言〕 高橋國太郎：最近の生理学会について思うこと 429

INFORMATION 431

CALENDAR 435

RECORDS 436

PROFILE 438

生理学実験技術法講座

シリーズ「細胞内 Ca イオン濃度の光学的測定法」

林 秀晴・金子雅則・寺田 肇：単一細胞における細胞内

Ca イオン濃度測定の実際 441

シングルチャネル・データ
解析用ソフト MAC-TAC、
遂に登場!



ドイツ・ヘカ社／パッチクランプ・システム EPC-9 Version Macintosh

あの新世代パッチクランプ・システムEPC-9が、
新しいパートナー、マックⅡとめぐり逢いました…

- ◆ドイツが世界に誇る2大オーソリティ、ヘカ社の技術と、マックス＝プランク研究所のオリジナリティ。これらを見事に融合させた数々のパッチクランプ専用デザインで武装しています。
- ◆アンプ、ステミュレータ、オシロスコープを統合し、マックス＝プランクのノウハウに基づいたソフトウェアと、アップル社のマッキントッシュⅡで駆動します。多彩なユーティリティと使いやすさを高次元で両立させて、すべてのパッチクランパーを強力にサポートします。

※EPC-7でも使えるソフトウェア(Pulse・PulseFit・MAC-TAC)のサンプルをご提供しています。
詳しくは下記へお問合せ下さい

ヘカ社日本総代理店
EPC-9 西日本総発売元



ショーシンEM株式会社

〒444-02 愛知県岡崎市赤浜町蔵西1-14
ショーシンビル2F

TEL. 0564-54-1 2 3 1

FAX. 0564-54-3 2 0 7

EPC-9 東日本総発売元

(Physio-Tech)

株式会社 フィジオテック

〒101 東京都千代田区内神田2-6-11
若松ビル2F

TEL. 03-3258-1 6 4 1

FAX. 03-3258-1 6 5 7

目 次

〔巻頭言〕 最近の生理学会について思うこと (高橋國太郎)	429
-------------------------------------	-----

INFORMATION

山田科学振興財団 1996年度研究援助候補推薦要項	431
博士課程大学院生募集	432
第104回日本医学会シンポジウム 消化管癌における最近の話題	432
第31回脳のシンポジウム開催のお知らせ	434

CALENDAR

主な学会開催日程	435
----------------	-----

RECORDS

会員消息	436
------------	-----

PROFILE

「生理学者群像」(小 松 英 彦)	438
(菅 屋 潤 壹)	439
(佐々木誠一)	439

生理学実験技術法講座

シリーズ「細胞内 Ca イオン濃度の光学的測定法」

林 秀晴・金子雅則・寺田 肇：単一細胞における細胞内 Ca イオン濃度測定の実際	441
--	-----

〔巻頭言〕

最近の生理学会について思うこと

明治薬科大学病態生理学 高橋 國太郎

一般に生理学以外の諸科学は解剖学にしる、生化学、薬理学、分子生物学にしる多かれ少なかれ方法論指向性が内在し、生体の働きの解明と言う点で全く自由な学際的思考、研究手法の採用というわけには行かない。一方、生理学は昔もいまも生体機能の成立機序を個体レベル、器官レベル、細胞レベル、分子レベルのすべての段階で明らかにしようとする科学であって、医科学のなかにあって研究対象指向性という点で、独自の立場を培っていたし、またこれからも育てて行く必要があると思う。勿論、これは原理的な議論であって、日本生理学会の研究がすべて現実的にもこの原則の上でうごているならば、日本の生理学はまさに王道の上を進んでいるのだから現時点で将来への不安はなく、従って提言する必要もないという結論になってしまう。

そこで2—3の実際的な問題をとりあげて考えてみたい。まず、現在のように、方法論的諸科学が個体から分子のレベルまで長足の発展を遂げているときには、生体機能の解析をすべてのレベルで徹底して進めなければ、生理学の研究だからといって質を保つことが出来ない。従って、研究者育成とくにこれから生理学を担うべき大学院教育には一つの主題について個体レベルと分子レベルの両面から思考し、かつ実験を遂行できる訓練と指導が必要で、そのためには現在の教官自身が学際的な思考に転換すべきであるが、まだ徹底していないのが問題である。勿論、欧米の生理学教室にみられるように若手の分子生物学者その他の専門家を導入して活性化をはかることもできるが、このときは個体から分子レベルまですべての手法で機能の解明をおこなうという生理学的な思考を十分に生かした研究主題の設定が研究指導者には求められる。それなくしては、集まってきた若手にとって生理学教室は単なる生活の場となり、popularな研究のからの疎外感のみが鬱積する可能性がある。従って、生理学の真価の発揮と各方面からの若手を生理学に指向させるには研究主題の設定如何によると考えられる。その点において、若手の不在を嘆くまえに、まず中堅の生理学者の柔軟な思考力の養成が急務と思われる。

研究主題の設定と言う点での一例であるが、生理学研究が最近とくに深い関連を指摘されるものに病態生理学的研究がある。疾患について各方面からの研究手法の進化の結果、基礎研究との接点が極端に増加し、とくに各種受容体の異常に関連する病態研究は基礎研究そのものとして発展しているという事実である。わが国の現状では、経済的にも人力的にもめぐまれた臨床教室で多くの病態生理学の研究が担われている。しかし、長期的でかつ基礎的な病態生理学的主題は生理学の本来から視点があれば極めて生産的に発展させら

れるとともに医科学としての生理学自体の深化をもたらすものと思われる。

さて、生理学の発展の基本が研究者個人の生理学的思考と研究主題の設定なるとするならば、日本生理学会がこれまで伝統的に培ってきた生理学者の個性と各人の独自の発想をそれぞれ平等に尊重しようとする直接民主主義的な運営(たとえば各種委員の選出法)は極めて当を得たもので、先輩たちの先見性を示すものといえる。もし、現代にあわないところがあるとすれば、10余の会場に分散して行われる大会に象徴される専門分化の進行と、またすべての分野に渉る本質的な議論の展開を個々の生理学者に不可能とする総合的思考力の硬化を予測出来なかったからではないかと思われる。その点、学会の夜におこなわれるグループディナーは一定の役割をもっており、その折々の世話人の方々のご苦勞には本来に感謝したい。しかしさらに、比較的少人数で多方面からの深みのある討論を保証するには、自由な学問的集まりにある程度の経済基盤が必要である。その点で、自由な主題と自由な参加者で構成できる総合研究(A)の飛躍的な数の増加が望まれる。

勿論、文部省などの国策的科学を推進する立場からすると重点研究等の主題が慎重に選択され、人員も選択されたグループ研究でなければ経済効率が悪いと考えるのも理解できないわけではない。しかし、科学の発展は本来各個人の自由な発想の斬新さと意外さに期待する以外の方法はなく、また科学の社会的責任の一つが市民の各々に自然に対してであれ、社会に対してであれ客観的、批判的な認識基準を提供することであれば、個人の自由な発想による研究課題を慎重に審査し、審査員の見識の広さと未来予見性をみがいて万人が納得する科研費の配分を行うのが至当である。その点、一般研究と総合研究に科研費を統一し、審査員を増員して公平と新しい視点の恒常的流入をはかるべきと思う。これは、ながく生理学会が堅持してきた姿勢とも一致すると考える。

INFORMATION

山田科学振興財団 1996年度研究援助候補推薦要項

援助の趣旨及び内容

1. 本財団は、自然科学の基礎的研究に対して研究費の援助を致します。実用指向研究は援助の対象としません。
2. 援助額は1件当たり200～500万円、総額4,000万円、援助総件数は10件程度ですが、学会からの推薦及び本財団関係者からの個人推薦の中から選考致します。
3. 援助金を給与に充てることは出来ませんが、特に財団が指定した場合を除き、他の用途は自由です。
4. 援助金の使用期間は、贈呈した年度及びその次の年度の計2年間とします。

推薦方法

- イ. 推薦者：本財団が依頼した学(協)会の代表者
ロ. 推薦件数：1推薦者ごとに2件以内
ハ. 推薦手続：推薦者は、以下の書類を整え、ご送付願います。
1. 所定の推薦書用紙又はその写しに必要事項を記入したもの 4部
 2. 添付書類(研学(96)-5/7 ページ参照)

記載上の注意

- イ. 紙面不足のときには、同型同大の別紙で追加して下さい。
ロ. 代表研究者は、所属のある場合、当該所属の長から本援助の申込をすることについての承諾を得て下さい。

推薦締切日

本財団に推薦書が到着する締切期日は1996年3月31日です。

選考方法

選考委員会において選考の上、理事会が決定します。

選考結果の通知

1996年7月末迄に推薦者及び代表研究者等宛て文書にて通知します。

援助金の贈呈

選考の結果の通知後適時銀行振込にて贈呈致します。

推薦書送付先及び連絡先

財団法人 山田科学振興財団
(Yamada Science Foundation)
〒544 大阪市生野区巽西1丁目8番1号
電話 大阪(06)757-3311(代)

研究の成果及び会計の報告

援助金の受領者には、後日当財団の連絡に基づき、研究経過、研究成果、会計について報告書の提出及び研究交歓会での発表をして頂きます。

付 記

- イ. 援助金の用途を変更する場合には、予め本財団の承諾を得て下さい。
ロ. 研究成果を文書によって発表される際には、本財団(財団法人 山田科学振興財団, Yamada Science Foundation)の援助による旨を記載し、報文の類にあってはその別刷1部、また著書の類にあってはその1部をご寄贈願います。
ハ. ご提出頂きました推薦書及び添付書類は、お返しいたしません。

研究者各位へ

推薦者の項に対応する学(協)会は次記のとおりです。学(協)会により締切期日及び募集方法等が異なりますから、代表研究者は応募の際、各学(協)会にお問い合わせ願います。

日本天文学会 日本化学会
日本生理学会 日本生物物理学会

日本物理学会 高分子学会
日本遺伝学会 日本発生物学会
応用物理学会 日本農芸化学会
日本分子生物学会 日本植物生理学会
日本金属学会 日本薬学会

日本動物学会 日本植物学会
地震学会 日本生化学会
日本細胞生物学会 日本免疫学会
地球電磁気・地球惑星圏学会

博士課程大学院生募集

(総合研究大学院大学生理科学専攻)

岡崎国立共同研究機構・生理学研究所(濱 清所長)では、細胞及び脳機能のメカニズムについての生理科学的研究を展開しており、これまで数々の業績を生んで来ました。また、総合研究大学院大学・生命科学研究所・生理科学専攻として博士課程(MID 及び PhD コース)大学院生の教育も行っており、平成8年度入学院生を募集します。

医学部、歯学部、獣医学部卒(又は見込)(願書メ切：平成7年11月29日)及び理学、薬学、工学、農学等の修士課程終了(又は見込)(願書メ切：平成7年12月22日)の熱意ある方を求めます。

現在進行中の主たる研究テーマ(担当教官)は、◆レセプター分子の機能(井本敬二)◆イオンチャネル分子の機能(老木成稔)◆消化管・心臓細胞機能の分子メカニズム(岡田泰伸)◆神経・乳腺細胞の生理機能(山岸俊一)◆水電解質輸送とエネルギー供給(村上政隆)◆中枢神経系発生・分化の遺伝子解析(池中一裕)◆中

枢神経系の形態形成機構(湯浅茂樹)◆脳の発生・可塑性の分子機構(小幡邦彦)◆アルツハイマー病アミロイド前駆体タンパク質の代謝・機能(丸山 敬)◆感覚と運動の中枢性統合機序(森 茂美)◆運動制御に関わる脳幹網様体の機能(松山清治)◆大脳皮質における視覚情報処理機構(小松英彦)◆能統合機能の能磁図等による非侵襲的計測(柿木隆介)◆超高圧電顕による傾斜像の高分解能三次元画像解析(有井達夫)等です。

詳細は、生理学研究所 神経化学部門 小幡

(Tel: 0564-55-7821, Fax: 0564-55-7825,

〒444 岡崎市明大寺町)

にお問い合わせ下さい。

募集要項申込先：

〒240-01 神奈川県三浦郡葉山町

総合研究大学院大学学務課

(Tel: 0468-58-1525, 1526)

第104回日本医学会シンポジウム

消化管癌における最近の話題

——胃癌と大腸癌——

日時：平成7年12月1日(金) 10:00～17:30

場所：日本医師会館 大講堂

〒113 東京都文京区本駒込2-28-16

TEL 03-3946-2121

午前の部 (10:00～11:40)

10:00 開会の挨拶

森 亘 (日本医学会長)

(5)

I. 胃癌・大腸癌の分子生物学

(座長) 中村 祐輔 (東大・医科研)

10:05

1. ジーンターゲットを用いたヒト

大腸癌発癌過程の解析

野田 哲生 (癌研・細胞生物学)

(25)

10:30

2. 胃癌の多段階発癌機構とその臨床応用

田原 榮一 (広島大・病理学)

(25)

10:55

3. 大腸癌の多段階発生機構とその臨床応用

中村 祐輔 (東大・医科研)

(25)

11:20

討 論

(20)

11:40 休 憩

(70)

午後の部 (12:50~17:30)

Ⅱ. 臨床のトピックスー内科系ー

(座長) 三 輪 剛 (東海大・内科学)

12:50

4. ここまでできる内視鏡治療ー胃癌ー

吉 田 茂 昭 (国立がんセンター東病院) (25)

13:15

5. ここまでできる内視鏡治療ー大腸癌ー

工 藤 進 英 (秋田赤十字病院) (25)

13:40

6. 胃癌・大腸癌の化学療法と QOL 評価

栗 原 稔 (昭和大・豊洲病院) (25)

14:05

7. Helicobacter pylori 感染と胃癌の関わり

浅 香 正 博 (北大・内科学) (25)

14:30 討 論

(15)

14:45 休 憩

(15)

Ⅲ. 臨床のトピックスー外科系ー

(座長) 小堀鷗一郎 (国立国際医療センター)

Ⅲ-I 機能温存手術 (縮小手術)

15:00

8. 胃 癌

丸 山 圭 一 (国立がんセンター) (25)

15:25

9. 大腸癌に対する縮小手術および機能温存手術

齊 藤 幸 夫 (国立国際医療センター) (25)

Ⅲ-II. 他臓器合併切除 (拡大手術)

15:50

10. スキルス胃癌に対する拡大根治手術

「左上腹内臓全摘術+Appleby 手術」

古 河 洋 (大阪府立成人病センター) (25)

16:15

11. 直腸癌手術における機能温存と拡大郭清の両立

森 武 生 (都立駒込病院) (25)

16:40 討 論

(15)

16:55 総合討論

(司会) 三 輪 剛 (東海第・内科学) (30)

小堀鷗一郎 (国立国際医療センター)

中 村 祐 輔 (東大 医科研)

17:25 閉会の挨拶

高 久 史 磨 (日本医学会副会長) (5)

17:30 終 了

第104回日本医学会シンポジウム組織委員

三 輪 剛 小堀鷗一郎 中村祐輔

○参加費不用

○出席者は討論に参加できます。

○参加ご希望の方はハガキに右記要領で日本医学会までお申し込み下さい。
なお、ハガキの下から5cm幅に記入の住所・氏名は、入場券送付時に使用しますので、正確にお書き下さい。

○日本医学会

〒113 東京都文京区

本駒込2-28-16

日本医師会館内

電話 03-3946-2121

第104回日本医学会シンポジウム
参加希望

(所属・勤務先)

(氏名)

〒□□□-□□

(住所)

(氏名)

5
cm
様

○参加者には、日本医師会生涯教育制度(5単位)ならびに日本内科学会認定内科医・専門医更新(2単位)の取得参加証が発行されます。

第31回脳のシンポジウム開催のお知らせ

主 催：日本学術会議，脳・神経学研究連絡委員会
 世話人：慶應義塾大学医学部神経内科教授 福内靖男
 日 時：平成8年3月7日(木)，8日(金)
 会 場：慶應義塾大学三田キャンパス 北新館ホール
 (東京都港区三田2-15-45)
 (電話：03-3453-4511(大代表))

入場無料

問い合わせ先：慶應義塾大学医学部神経内科
 電話：03-3353-1211(内線2303)

プログラム

3月7日(木)

午前：嗅覚研究の最近の進歩 (9:00-11:45)

司会：金子章道 (慶應義塾大学医学部生理学)

- (1) 嗅覚受容器のトランスダクション
倉橋 隆 (国立共同研究機構生理学研究所
情報記憶部門)
- (2) 嗅覚神経系における分子識別機構
森 憲作 (大阪バイオサイエンス研究所)
- (3) 嗅覚の記憶とグルタミン酸受容体
梶 秀人 (鹿児島大学農学部
獣医学科家畜生理学)
- (4) 嗅球の側方抑制とグルタミン酸受容体
高橋智幸 (東京大学医学部脳神経生理学)

午後：神経組織の細胞接着蛋白 (13:00-17:00)

司会：三木直正 (大阪大学医学部薬理学)

- 植村 慶一 (慶應義塾大学医学部生理学)
- (1) 神経組織の細胞接着蛋白研究の進歩
植村 慶一 (慶應義塾大学医学部生理学)
- (2) 神経組織のカドヘリン
松波 宏明 (京都大学理学部生物物理学)
- (3) AxCAM と DenCAM：神経系細胞接着分子の
新たな分類
吉原 良浩 (大阪医科大学医化学)
- (4) ギセリンの構造と機能
三木直正 (大阪大学医学部薬理学)

- (5) 神経回路形成と脳特異プロテオグリカン
大平 敦彦 (愛知県心身障害者コロニー
発達障害研究所)
- (6) シナプス標的認識分子：ファシクリンⅢ
堀田 凱樹 (東京大学大学院
理学系研究科物理学)

3月8日(金)

午前：脳血管—構造と機能 (9:00-11:45)

司会：福内靖男 (慶應義塾大学医学部神経内科)

- (1) 脳血管の三次元微細構築
秋間 道夫 (東邦大学医学部病理学)
- (2) 脳血管の神経支配—組織学的立場より
板倉 徹 (和歌山医科大学脳神経外科)
- (3) 脳血管の神経支配—薬理学的立場より
戸田 昇 (滋賀医科大学薬理学)
- (4) 脳血管内皮と循環調節
室田 誠逸 (東京医科歯科大学大学院
細胞機能制御学)
- (5) 脳血液関門と脳微小循環
富田 稔 (慶應義塾大学医学部神経内科)

午後：脳研究の方法論—現状と未来—

(13:00-16:30)

司会：柳澤信夫 (信州大学医学部内科学)

- (1) 神経回路網研究の方法論
篠田 義一 (東京医科歯科大学医学部生理学)
- (2) 運動と行動の神経機構
丹治 順 (東北大学医学部生理学)
- (3) 大脳辺縁系—ヒトと動物における意義
小野 武年 (富山医科薬科大学医学部生理学)
- (4) 大脳高次機能へのアプローチ—動物実験から
大島 知一 (明治薬科大学薬理学)
- (5) 大脳高次機能へのアプローチ—ヒトの研究から
河村 満 (昭和大学医学部神経内科)
- (6) 臨床研究の果たす役割
亀山 正邦 (住友病院)

CALENDAR

主 な 学 会 開 催 日 程

開 催 日 (演題締切)	名 称	会 場	連 絡 先
95.11.29-30	第16回日本大学国際シンポジウム 「脳機能と記憶」	東京：日本大学会館	日大総合科学研究所内事務局 ☎03-5275-8137 FAX：03-5275-8326
95.11.29-12. 1	第3回日米E U新医薬品承認 審査ハーモナイゼーション国際 会議	横浜：パシフィコ横浜	日本製薬工業協会 広報部 ☎03-3241-0326 FAX：03-3242-1767
95.12. 1	第104回日本医学会シンポジウム 消化管癌における最近の話題	東京：日本医師会館	日本医学会 ☎03-3946-2121
95.12. 2	第8回臨床神経生理学東京談 話会「眼球運動の神経機構」	東京：エーザイ本館	都精神医総研 精神生理・橋本勲 ☎03-3304-5701 FAX：03-3329-8035
96. 1.24-25 (95.11.30)	第12回日本ポリアミン研究会	宇都宮：ホテル フェア シティー	獨協医大 生化学・松崎 茂 ☎0282-87-2127 FAX：0282-86-5678
96. 1.27 (95.10.15)	第25回日本心脈管作動物質学 会	東京：東京医科歯科大学	東京医歯大 細胞機能制御 ☎03-3813-6111(5286)
96. 2. 1- 2	第10回「大学と科学」シンポ ジウム脳研究の最前線：遺伝 子から知能へ	東京：有楽町朝日ホール	
96. 3. 7- 8	第31回脳のシンポジウム（日 本学術会議脳・神経学研究連 絡委員会主催）	東京：慶應大 三田キャンパス	
96. 4. 3- 5 (95.11. 2)	第73回日本生理学会大会	福井：福井大学キャンパ ス	福井医大 生理・大会事務局 ☎ & FAX：0776-61-8101
96. 8.11-16	XII TH INTERNATIONAL BIOPHYSICS CONGRESS	AMSTERDAM：	XII th Internationl Biophysics Congress ☎+31(0)20-549-1212 TELEFAX：+31(0)20-646-4469
96. 8.18-23 (95. 9.30)	1996年国際膜会議(ICOM '96)	横浜：パシフィコ横浜	(株)アイシーエス企画内事務局 関・中島 ☎03-3272-7981 FAX：03-3273-2445
97. 5.17-23	OHOLO 41 st CONFERENCE PROGRESS IN ALZHEIMER'S AND PARKINSON'S DISEASE	ISRAEL：	Abraham Fisher, Ph. D., Israel Inst Bio Res ☎972-8-381603 FAX：972-8-401094

*INFORMATION とこの欄への記載をご希望の方は開催日の3ヶ月前までに事務局宛お送り下さい。

RECORDS

会 員 消 息

<新 入 会 員>

氏 名	勤 務 先 (電話・FAX)	〒	自 宅 住 所	専 門 分 野
青 木 香 織	慶應義塾大学 医学部 生理 03-3353-1211(2615)・03-3359-0437	102	東京都千代田区富士見2-2-9	
宇 野 忠	京都工芸繊維大学 応用生物・生態機能学 075-724-7786	567	大阪府茨木市五十鈴町17-32	感 覚
梶 井 鈴 子	奈良女子大学 0742-20-3414・0742-20-3499	636	奈良県生駒郡三郷町美松ヶ丘西2-2-9	
加 藤 和 男	宮崎医科大学 第一生理 0985-85-0870	889-16	宮崎県宮崎郡清武町今泉丙2645 セジュール平安ⅡB-202	心臓・循環
蒲 生 修 治	島根医科大学 第一生理 0853-23-2111・0853-22-9304	693	島根県出雲市大塚町762-6	
荻 谷 研 一	神戸大学 医学部 第二生理 078-341-7451(3232)・078-341-3837	652	神戸市兵庫区西橘通1-4-2-201	細胞・分子
河 合 房 夫	岡崎国立共同研究機構生理学研究所 0564-55-7751・0564-52-7913	441	愛知県豊橋市牟呂町公文73	感 覚
河 野 次 郎	宮崎医科大学 第二生理 0985-85-1785・0985-85-7932	889-21	宮崎県宮崎市大字加江田1302-1 オーバーツ703	
小 林 薫	日本医科大学 第二生理 03-3822-2131・03-5685-3055	263	千葉県千葉市稲毛区園生町849-3 コープ園生6-103	シナプス他
酒 井 啓	大阪市立大学 医学部 第一生理 06-645-2016・06-645-2015	636	奈良県北葛城郡王寺町王寺2-2-5	
志 村 雅 彦	九州大学 医学部 第二生理 092-641-1151・092-633-6748	812	福岡市東区原田1-42-5-503	
竹 澤 学	京都工芸繊維大学 応用生物・生態機能学 075-724-7786	570	大阪府守口市大久保町3-25-13	感 覚
立 山 充 博	順天堂大学 医学部 第二生理 03-5802-1029・03-5802-1028	223	横浜市港北区綱島西4-16-12-207	
千 田 廉	神戸大学 農学部 応用動物学科 応用生理 078-803-0625・078-803-0995	655	神戸市垂水区上高丸3-11-511	
渡慶次 賀 博	琉球大学 医学部 第一生理 098-895-3331(2262)・098-895-4228	901-23	沖縄県北中城村字和仁屋135-1	血 液
仲 真 良 彦	琉球大学 医学部 第一生理 098-895-3331(2262)・098-895-4228	904-22	沖縄県具志川市字安慶名281-1	血 液
中 山 希 世 美	茨城県立医療短大 0298-40-2212・0298-40-2312	300-23	茨城県筑波郡伊奈町板橋2836-13	病態生理
七 崎 之 利	日本医科大学 第一生理 03-3822-2131・03-5685-3055	113	東京都文京区向丘2-27-23 広沢様方	
丹 羽 正 利	茨城県立医療大学 0298-40-2212・0298-40-2312	305	茨城県つくば市境田173-1-4-101	運 動

氏 名	勤 務 先 (電話・FAX)	〒	自 宅 住 所	専 門 分 野
藤 村 直 子	久留米大学 医学部 第一生理 0942-31-7542・0942-31-7695	830	福岡県久留米市諏訪野町2730-2 L M I 302	
松 浦 尚	京都工芸繊維大学 応用生物・生態機能学 075-724-7786	606	京都府京都市左京区松ヶ崎西町13 松村アパート6号	感 覚
光 本 拓 也	佐賀医科大学 生理 0952-31-6511・0952-33-2516	849	佐賀県佐賀市鍋島2-3-27 セントラル鍋島505	
宮 崎 俊 彦	札幌市立稲積中学校 011-684-1430・011-684-5738	063	北海道札幌市西区山の手2条7-1-18-102	環 境
宮 崎 真	九州大学 医学部 第一生理 092-641-1151(3335)・092-633-6719	812	福岡市博多区吉塚2-3-2-905	
八 木 透	名古屋大学 電子情報学科 生体電子 052-789-2793・052-789-3166	461	名古屋市東区泉2-15-4	
渡 邊 昭 彦	札幌医科大学 第二生理 011-611-2111・011-612-5861	064	北海道札幌市中央区南11条西17丁目2-8-307	

<転勤・異動>

氏 名	勤 務 先 名	勤務先 T E L ・ F A X
井 上 義 崇	産業医科大学 麻酔科学	093-603-1611
稲 葉 敬 隆	いなば歯科矯正クリニック	0426-56-1631・0426-56-1631
上 原 聡	富良野協会病院 内科	
大 川 原 潤	国立循環器病センター 心臓血管外科	06-833-5012・06-872-7486
奥 田 昌 之	山口大学 医学部 公衆衛生	0836-22-2231
金 田 誠	慶應義塾大学 医学部 生理	0236-33-1122(2113)
川 上 雅 之	倉敷芸術科学大学 教養学部	086-440-1111
中 村 孝 一	伊万里市民病院	
林 泰 資	鳴門教育大学 障害児教育	0886-87-1311
廣 田 秋 彦	島根医科大学 第二生理	0853-23-2111
宮 田 麻 理 子	理化学研究所 シナプス機構	048-462-1111(6422)

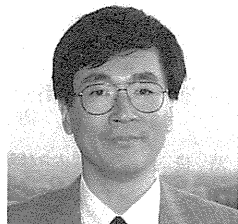
PROFILE

「生理学者群像」

小 松 英 彦 君

生理学研究所高次神経性調節部門

平成7年4月1日就任



わたしにとって脳の働きを生理学的に理解しようとする研究を行う目的は、自分自身を知る試みにほかならないように思えます。子供の時には宇宙や素粒子の世界に興味がありました。しかし大学で物理学を学び、物質の世界を突き詰めていくとどんどん日常的に経験する世界から遠ざかり、抽象的な数式でしか記述できなくなることを知りました。すると一体この自分の経験を成り立たせているものは何なんだろう？という疑問がわたしを別の方向に進ませるきっかけになりました。認知や知覚の仕組みを研究したいと思いながらまだ方法についてはわからぬまま進学した阪大基礎工学部大学院の鈴木良次先生の研究室では、さまざまな有意義な刺激を与えていただき、その後の研究活動を支える土台を作ることができました。博士過程に進む時点でサルを用いて生理学的に認知や知覚の仕組みを研究しようと心に決め、京大霊長研の久保田競先生のもとで慢性サルの単一ニューロン記録実験について一から教えていただきました。その後弘前大学、NIH、電総研、生理研と場所は変わったもののサルを用いて認知や知覚の仕組みに迫るべく研究を続けています。

わたしがサルを用いて研究を始めた1979年から今日までの間にサルの大脳視覚皮質の研究に限っても驚くべき進歩がありました。それまでおぼろげな地図しかなかったのが、今や恐ろしく詳細かつ複雑な地図が手に入りました。大航海時代の船乗りのように研究者は未知の領域を探検して新しい知識をもたらし、地図を正確にしていきました。その結果、視覚皮質がどのような領域から成り立ち、それぞれがどのようにつながり、どのような視覚情報を抽出し、損傷によってどのような行動に影響が生じるかというようなことがわかってきました。今もまだ十分にわかっていない広大

な領域が存在し、このような研究の重要性は少しも減っていません。わたし自身これまで同様今後もそのような研究を行っていくつもりです。しかしこれに加えて、大脳皮質に存在するマイクロマクロな神経回路がどのように動作して、認知や知覚の機能を実現しているのかという研究にも本格的に取り組みたいと考えています。その鍵を握っているのは、同時・多点かつ長時間記録の技術であろうと思います。

視覚認知、視知覚の神経機構の研究を進める上で重要なもう一つのポイントは、計算論的な考え方を取り入れて研究を進めることであると考えています。戦いにおいて敵の正体を知ることが重要であるように、視覚の研究においては視覚神経系がどのような課題に直面しているかをよく把握することが必要です。それを知って初めて、あるニューロンの活動がどのような情報処理に関係しているかを真に理解することができると 생각합니다。計算論はまさに神経系がどのような課題に直面しているかを明らかにするものです。計算論的にさまざまな視覚の問題を定式化すると、世界についての何らかの情報を制約条件として用いなければ、問題が解けないことが多いことがわかります。われわれが知覚し行動する世界はヒトという種に特異的な世界であり、我々は長い進化の歴史を経てその世界に適応しています。そのような長い歴史の中で、我々の適応している世界に関する情報が視覚神経系の中に埋め込まれていたとしても何の不思議ありません。

子供のときに読んだ本の中に、宇宙は閉じていて望遠鏡で宇宙の果てを眺めると、自分の頭の後ろが見えるという絵がのっていました。その逆に自分の頭の中を覗き込んだら、宇宙の姿ももっとよく見えてくるのではないか。最近そんな気がしています。

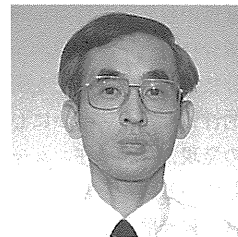
「生理学者群像」

菅 屋 潤 壹 君

愛知医科大学医学部教授

(生理学第2講座)

平成7年4月1日就任



大学卒業後、数年間は臨床心臓電気生理を専攻していたが、昭和53年から愛知医科大学生理学教室に移り発汗生理学を専攻される小川徳雄教授の指導の下で体温調節の生理学についての研究を始めた。当時からヒトの発汗中枢機構に興味をもち、研究を続けている。これまで主として発汗波の解析から、発汗中枢機構の特性を解明してきた。温度入力との統合機構、非温度入力との相互作用などを検討した。近年、微小電極の開発によって皮膚交感神経活動を記録できるようになり(名古屋大学環境医学研究所の間野忠明教授との共同研究による)、発汗神経活動の特性や効果器反応との関係、血管運動神経活動との関わりなどについても検討している。ヒトを対象にする場合、従来は発汗波などの効果器反応を指標にするしか方法がなかったが、発汗神経活動の記録が可能になり中枢へのアプローチが一步進んだ。今後は体温調節中枢への直接のアプローチを目指して、新しい方法論の開発に取り組み、ヒトの発汗調節神経機構の全貌の解明に努力したい。

体温調節系は、系統発生的に新しい機能で、他の調節系と効果器を共用しており、他の調節系との協調・連関がとくに注目されるところであり、これらの生理学意味や機序などの研究も重要な課題としている。分子生物学全盛の時代にあって生体を個体レベルでとらえることの重要性を強調しつつ、この研究を発展させたい。

生理学の教育は、基本的には臨床医学を学ぶための基礎知識として、生命現象の仕組みを理解させることであると考え。学生にただ知識を教授するだけでは不十分で、基礎知識をもとに論理的に考える姿勢を植え付ける必要がある。さもないと、膨大な情報量に溺れ処理能力を失する。考える姿勢から、科学するものとしての自覚と科学することの喜びが生じると思う。従来方式の講義と実習に加え、セミナー形式の少人数教育も採り入れるなど、柔軟性をもって対処してゆきたい。

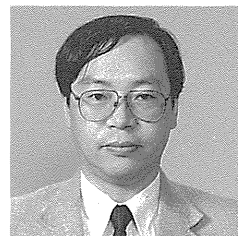
「生理学者群像」

佐々木 誠 一 君

茨城県立医療大学

(医科学センター生理学部門)

平成7年1月1日就任



呼吸生理学を専門分野とし、呼吸運動の神経性制御の研究をしています。呼吸運動は、麻酔下でも横隔神経、肋間神経からリズム的な神経発射として記録されます。この標本は、呼吸リズムの形成機序、様々な呼吸に関係する反射、脊髄の運動機能を研究するのに大変好都合であると思っています。これまで呼吸運動について脳幹の呼吸性ニューロンの脊髄への軸索投射を研究してきました。脊髄へ下行する呼吸性ニューロ

ンの発射様式、脳幹での細胞体の位置は明らかにされていますので、原理的には脊髄の運動ニューロンはこのようなニューロンからの直接入力と脊髄内在ニューロンからの入力で呼吸運動を形成することになります。手法として微小電流刺激法、HRPの細胞内注入法あるいはスパイクトリガーによる平均加算法を用いて延髄にある呼吸性ニューロンの脊髄での軸索分枝様式ならびにシナプス結合様式を調べてきました。これま

で延髄の腹側吸息性ニューロンの横隔神経運動核での軸索分枝様式，呼吸性ニューロンの腰髄，仙髄での軸索分枝様式，腹壁筋を支配する運動ニューロンの生理学的性質などを明らかにしてきました。今後，呼吸運動の発現に脊髄介在ニューロンがどのような役割を果たしているのかを解明したいと考えています。

私は神経解剖学にも興味があり，大学院の学生の時に見事なゴルジ染色の標本を見た時の感動と人脳の連続切片を一年かけてスケッチした時の強い印象が研究に対する原動力になっているような気がします。私自身は個々のニューロンの形態を調べ，シナプス結合関係を検索すれば運動がどのようにして脊髄で結合され発現するのかという問いに答えられると考えています。生理学には近年，分子生物学的手法を初めとして新しい手法が導入されてめざましい成果があげられてきています。自分の研究分野に応用できればと思います。しかしながら，異なる研究手段を用いても研究対

象は同じ神経組織なので，これから研究を始めようとする人達になるべく早い時期に神経組織をじっくり観察する研究課題を何か一つ与えたいと考えています。

茨城県立医療大学は看護学科，理学療法学科，作業療法学科，放射線技術科学科の四学科から成る新設大学です。医学部にも増して生理学が必要とされていることが感じられます。基礎医学科目の授業時間数は限られていて十分な講義ができません。学生には生理学に興味をもってもらいたいのは当然ですが少なくとも生理学を嫌いにならないような授業を心がけています。また，学生に常に開かれた研究室でありたいと心がけています。学内には情報システムが整備され他の教員，学生，事務職員と頻繁に電子メールをやりとりをしています。このような環境の中で学生が自学自習の態度を身につけるようにするためにはどのようにしたらよいかを学生と共に考えて行きたいと思います。

シリーズ「細胞内 Ca イオン濃度の光学的測定法」

単一細胞における細胞内 Ca イオン濃度測定の実際

林 秀 晴*・金子雅則**・寺 田 肇**

(*浜松医科大学光量子医学研究センター・**浜松医科大学第3内科)

I. は じ め に

細胞内 Ca^{2+} は種々の細胞機能において重要な役割を果たしているため、細胞内の遊離 Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) を測定することは細胞機能の解明において重要である。 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の測定にはイオン選択性電極、 Ca^{2+} 感受性発光蛋白 (aequorin)、 NMR 法などが用いられてきた。 fura-2¹⁾ を代表とする Ca^{2+} 感受性蛍光色素法は、感度が高いため、種々の単一細胞における $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の連続的な測定のみでなく、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の細胞内分布の画像化も可能とした^{2,3)}。 本稿では、主に単一心筋細胞を中心に、蛍光色素法による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 測定の実際と注意点について述べる⁴⁾。

II. 蛍光色素法の原理

Ca^{2+} 感受性色素は、 Ca^{2+} を結合するキレートの部分と、光をあてると蛍光を出す発色団の部分よりなり、 Ca^{2+} 結合の有無により、励起光や蛍光の波長が変化したり、蛍光強度が変化する。これらの色素を細胞内に入れ、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の変化による蛍光波長特性の変化や蛍光強度の変化を測定することにより、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の変化を測定する。励起光及び蛍光が1波長のみであると、測定された蛍光強度は細胞内の蛍光試薬の量や細胞の厚さ、また励起光の強度に影響される。そこで2波長蛍光測定による ratio 法が一般的に用いられる。例えば、 Ca^{2+} 感受性色素の中で最も広く使われている fura-2 の特徴は、図1に示した様に、 Ca^{2+} 濃度が低いときには 380 nm で励起時、高いときには 340 nm で励起時に、510 nm で強い蛍光が得られるが、360 nm 付近では蛍光強度は Ca^{2+} 濃度には影響を

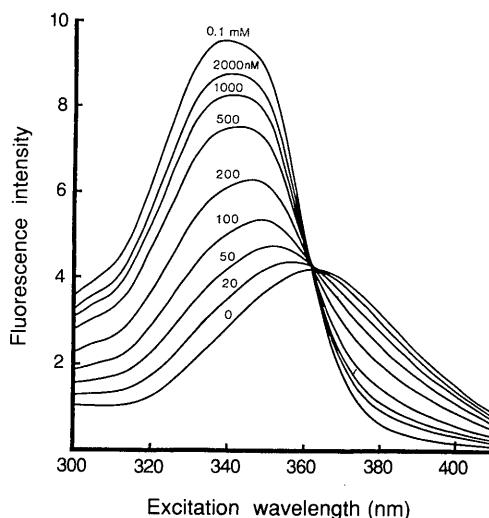


図1. Ca^{2+} 濃度による fura-2 の蛍光特性の変化。横軸は励起波長を、縦軸は 510 nm での蛍光強度を示す。

受けない (isosbestic point)。340 nm と 380 nm で励起した時の蛍光比により、fura-2 の細胞内濃度や細胞の厚さに関係なく $[\text{Ca}^{2+}]_i$ を測定できる¹⁾。340/360 nm, または 380/360 nm で励起時の蛍光強度比も使用できるが、340/380 nm の比の変化が最も大きいため、一般的にはよく使われる。fura-2 などの2波長励起型の蛍光色素を用いた時の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の絶対値は以下の式により求められる¹⁾。

$$[\text{Ca}^{2+}]_i = K_d \times \beta \times (R - R_{\min}) / (R_{\max} - R)$$

ここで、 K_d = 蛍光色素と Ca^{2+} の解離定数、 $R_{\min}$ = すべての色素が遊離型の時の 340/380 nm での蛍光比、 $R_{\max}$ = すべての色素に Ca^{2+} が結合した時の 340/380 nm での蛍光比、 R = 測定した 340/380 nm での蛍光比、 $\beta = R_{\min}$ と $R_{\max}$ 測定時の 380 nm での蛍光比である。 K_d は 135 nM (20℃) または 224 nM (37℃) と報告さ

れているが¹⁾, 温度や細胞内の条件により種々の値が報告されている。

上式からわかるように, 細胞内イオン濃度の測定は細胞内の色素濃度や細胞の厚さに影響を受けないが, fura-2 または fura-2 と Ca^{2+} の結合体以外に蛍光物質は存在しない, fura-2 は calibration を作成する溶液中と細胞内でその蛍光特性が変化しないなどの種々の前提があるため, 実際の測定においては多くの誤差要因がある。特に AM (acetoxymethyl) 体による色素の負荷法を用いた時には, 未加水分解物による影響や, 色素の細胞内でのコンパートメント化の問題がある。これらの検討すべき問題点については後述する。

Ca^{2+} 感受性色素には, 励起波長は変わらず最大蛍光の波長が変化する色素がある。indo-1 は, 励起波長はあまり変化せず, Ca^{2+} 濃度により蛍光波長特性が変化する。つまり, Ca^{2+} 濃度が低いときには 485 nm, 高いときには 405 nm の蛍光が強いため, 二つの波長で測定した蛍光の比をとることにより $[\text{Ca}^{2+}]_i$ を算出する。

fura-2 を代表とする蛍光色素法により, 非侵襲的に心筋細胞のような小型細胞の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ を測定することが可能で, 光電子増倍管により蛍光強度を測定するのが一般的であるが, 細胞内の Ca^{2+} 濃度分布を検討するためには, ビデオカメラで捉えた蛍光顕微鏡像をデジタル変換し, 画像処理する必要がある。蛍光色素法は信号が明るいため, この蛍光顕微鏡画像法にも適している。

Ⅲ. 実験装置

A. 画像法^{4,5)}

図 2 は, fura-2 法による $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 測定用装置のブロックダイアグラムである。倒立顕微鏡のステージに実験槽を置き, アセトキシメチル化した色素 (AM 体) をインキュベートして色素を取り込ませた細胞, あるいは色素を直接細胞内に注入した細胞を倒立顕微鏡のステージに置き, 落射蛍光装置を用いてキセノンランプから

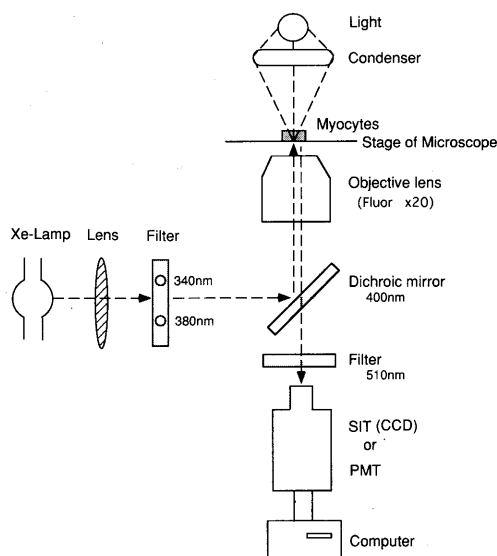


図 2. $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 測定用蛍光顕微鏡解析装置 (fura-2 法)。

の光を分光器または干渉フィルターにより必要な励起光のみを選択して取り出す。fura-2 の場合は 400 nm より短波長の励起光はダイクロイックミラーを反射して蛍光用対物レンズを通して細胞に照射され, 放出された 400 nm より長波長側の蛍光はダイクロイックミラーを通過して, 510 nm の蛍光用干渉フィルターを介して検出器に達する。蛍光の検出器としては画像法では SIT (silicon intensified target) カメラまたは CCD (charge-coupled device) カメラなどの高感度テレビカメラを用いて蛍光を取得する。高感度テレビカメラを用いて取得された蛍光画像は, A/D 変換されてコンピューターである画像処理装置のフレームメモリーに取り込まれ, 蛍光強度比の画像作成などの処理がされる。この画像法は細胞内の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 分布を観察できることと, 一回の実験で複数の細胞における $[\text{Ca}^{2+}]_i$ を測定できる利点があるが, 上記のビデオシステムを用いた画像解析法では, 時間分解能は基本的には 1/30 秒が限界である。

B. 光電子増倍管

光電子増倍管 (photomultiplier tube: PMT) は微弱光を電流に変換するが, 感度が高く, 高速

応答性が特徴である。装置としては、図2のテレビカメラを光電子増倍管(PMT)にして、取得した蛍光データはA/D変換して、コンピュータにより蛍光強度比の計算や $[Ca^{2+}]_i$ への変換がされる。蛍光色素としては、 Ca^{2+} に対する親和性が高く、強い蛍光を発するfura-2がよく用いられてきたが、心筋細胞の収縮時のように動く細胞や、 $[Ca^{2+}]_i$ の速い変化(Ca^{2+} transient)を観察するためには、交互に2波長で励起して比を計算する必要がある。同じ現象を繰り返すコントロールの Ca^{2+} transientなどは、340 nmと380 nmの蛍光を各々記録した後に比を計算できる。しかし、薬剤投与後など速く変化する Ca^{2+} transientを記録する必要がある時には、340 nmと380 nmの励起波長をチョッパーや回転フィルターで高速に切り換え、蛍光を数 msec 毎に取得することになるが、信号対雑音(S/N)比は低下する。1波長励起2波長蛍光のindo-1を用いると、2個の検出器で同時に蛍光を測定することができるため、より正確に $[Ca^{2+}]_i$ の変化を測定することができる。実際のindo-1法による実験装置は後述する(Ⅵ, 図6), しかし, fura-2やindo-1の Ca^{2+} との結合解離の速度定数は数 msecと報告されているため⁶⁾, 蛍光の取得速度をこれ以上に速くする意味はないと考えられる。

Ⅳ. 測定の実際

A. 細胞の分離

fura-2を代表とする蛍光色素による測定法は、感度が高いため単一細胞の $[Ca^{2+}]_i$ 測定を可能とした。培養細胞または酵素により分離した単一細胞を使用するが、その方法は動物種および細胞種による。単一細胞を用いることにより、自律神経系や内分泌的な影響を取り除き、細胞間の不均一性を検討できるが、培養や酵素による影響があるため、組織やin situの状態と異なった条件であることに注意を払う必要がある。また、単一細胞を用いた実験では $[Ca^{2+}]_i$ と関連した他の細胞機能の同時測定に困難を伴

うことがある。

B. 蛍光色素の負荷

マイクロインジェクションによる細胞内注入またはパッチクランプ電極による細胞内灌流で直接細胞内にfura-2を導入することもできる⁷⁾。fura-2は水溶性で細胞膜を通過できないため、fura-2のカルボキシル基にアセトキシメチル(acetoxymethyl: AM)基をエステル結合させて脂溶性にしたfura-2/AMは、DMSO(dimethyl sulfoxide)に溶解されているものとされていないものがある。溶解されていないfura-2/AMは粉末のため、DMSOにより1 mMの溶液にしてから、一回の実験に使用する量に分け、遮光して凍結保存する。この保存方法で通常半年位はfura-2/AMの劣化はないが、凍結融解を繰り返すと早期に劣化する。使用する時にはfura-2/AMを融解して灌流液で0.3~10 μ Mの濃度に希釈するが、fura-2/AMは脂溶性のため、試験管ミキサーで灌流液を攪拌しながらfura-2/AMを希釈するか、超音波処理をする。細胞を室温~37℃で10~120分間インキュベートした後に、fura-2/AM溶液を灌流液で数回洗浄し、fura-2/AMが加水分解されるまで30~60分間放置する。

fura-2/AM負荷条件(濃度, 温度, 負荷時間)は細胞の種類や動物種により異なるため、各々がその条件を決める必要がある。例えば心筋細胞は5 μ Mのfura-2/AMを室温で30分間インキュベートすることにより容易に負荷されるが、平滑筋細胞では0.3 μ Mのfura-2/AMを60~90分間のインキュベートが必要であると報告されている⁸⁾。負荷された蛍光の強度は自家蛍光 autofluorescence) に対する比で評価されるが、蛍光が暗くてS/N比が低下する時には、Pluronic F-127⁹⁾やcremophor ELなどの界面活性剤を追加する必要がある。fura-2/AMは、細胞膜を通過して細胞内のエステラーゼによる加水分解を受けてfura-2とAM体に分解するが、未加水分解物の存在(incomplete deesterification)や細胞内でのコンパートメント化などがあり、負荷条件に関しても種々の検

討すべき問題があるため後述する。

C. 蛍光測定

1) 画像法

平滑筋細胞などでは、核や筋小胞体(SR)の Ca^{2+} 濃度は細胞質より高く、細胞内 Ca^{2+} 濃度分布は不均一であると報告されている⁸⁾。Wier らは¹⁰⁾、fura-2 を心室筋細胞に負荷して $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の細胞内分布を画像化し、静止細胞内の Ca^{2+} 濃度分布は均一であったが、自発性収縮細胞では細胞内 Ca^{2+} 濃度分布が不均一であることを報告した。図3は、fura-2 法によりモルモットの静止心室筋細胞の細胞内 Ca^{2+} 濃度分布を画像化したものである。左上は単一心室筋細胞の透過光像で、右上および左下はそれぞれ 340 nm および 380 nm で励起した時の蛍光像である。右下は細胞内 Ca^{2+} 濃度分布を示す 340/380 nm の比の画像であるが、細胞内 Ca^{2+} 濃度分布は均一で、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ は 70 nM であった。一方、静止心筋細胞でも fura-2 による細胞内 Ca^{2+} 濃度分布は不均一で、これはミトコンドリア内の高い Ca^{2+} 濃度によるとする

報告もある¹¹⁾。この様に、細胞内 Ca^{2+} 濃度分布の不均一性があることは、浮遊細胞を用いた測定や、光電子増倍管による測定結果の評価には注意を要することを示している。

2) 光電子増倍管による Ca^{2+} transient の測定

興奮性細胞における $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の一過性の上昇と下降などの速い $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の変化 (Ca^{2+} transient) を測定したり、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の細胞内分布の解析を必要としない時には光電子増倍管により蛍光を取得するが、実際の測定については後述する (VI. 細胞内 Ca^{2+} 濃度と他のパラメーターとの同時測定)。

高感度テレビカメラを用いた画像法でも光電子増倍管を用いた方法でも、注意すべきことに光軸のブレがある。急にコントロールの細胞の蛍光比が変化した時には、光軸のブレにより励起光の照明が不均一となっているためのことがあり、光軸の調整が必要である。

D. キャリブレーション(検量線の作成)

fura-2 の蛍光比を $[\text{Ca}^{2+}]_i$ に変換するため

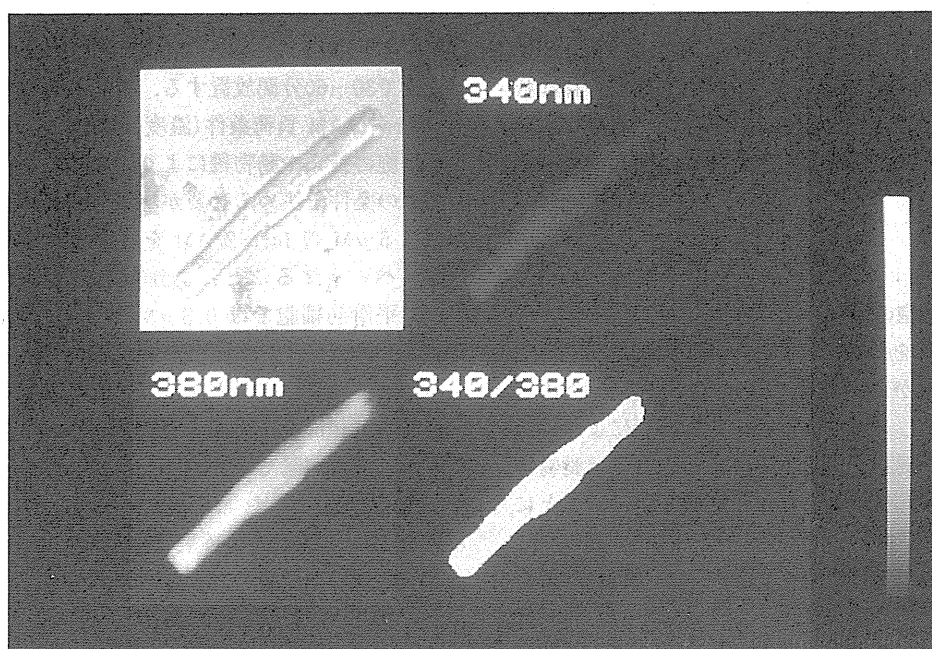


図3. fura-2 によるモルモットの静止心室筋細胞の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の測定例。左上：透過光像。右上：340 nm で励起時の蛍光画像。左下：380 nm で励起時の蛍光画像。右下：340/380 nm の ratio 像で $[\text{Ca}^{2+}]_i$ を示す。

に、蛍光比と Ca^{2+} 濃度との関係を示す検量線を作成する。既知の Ca^{2+} 濃度の溶液は、 CaCl_2 と EGTA を混合することにより作成できるが、100 nM 程度の低濃度 Ca^{2+} 溶液を正確に作成するには種々の注意が必要であるため、Molecular Probes 社より市販されている Ca^{2+} 緩衝液を使うと便利である。キャリブレーションには、細胞内液類似の溶液中における蛍光試薬の蛍光強度比と Ca^{2+} 濃度との関係を示す検量線を作成する in vitro calibration¹⁾と、AM 体により蛍光試薬を細胞内に取り込ませてイオノフォアを用いて細胞内で検量線を作成する in vivo calibration⁸⁾がある。

1) in vitro calibration

1 ~ 50 μM の fura-2 (free acid) を、100 nM から 1 μM の間の最低 3 種類の濃度の Ca^{2+} 濃度緩衝液に溶解し、実験と同じ光学系および装置を使用して fura-2 の蛍光強度比を測定する。この時に、fura-2 の K_d 値に影響を与える溶液の pH と温度を調整することが大事であり、低濃度の Ca^{2+} 溶液を使用するため、溶液の保存には Ca^{2+} が遊出するガラス器具を使わないこと、灌流槽などは再蒸留水または超純水で十分に洗う必要がある。測定した点は Tsien らの理論式に合うように最小 2 乗法で計算すれば $K_d \times \beta$, M_{max} , R_{min} の定数を求めることができる。この方法は簡便であるが、fura-2 の蛍光特性は細胞内の viscosity や細胞内蛋白の影響を受け¹²⁾、 K_d は pH により大きく影響される¹³⁾。また、fura-2/AM を用いた場合には、後述の様に incomplete deesterification 等の問題点がある。一方、free の fura-2 または indo-1 をパッチクランプ電極により細胞内に直接負荷すれば、基本的には in vitro calibration による値を使用できることが示されている¹⁴⁾。これらの in vitro calibration 欠点を少なくするために、in vivo (in situ) calibration がある。

2) in vivo calibration

実験に使用する細胞内の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ を設定するために、イオノフォアである ionomycin (1

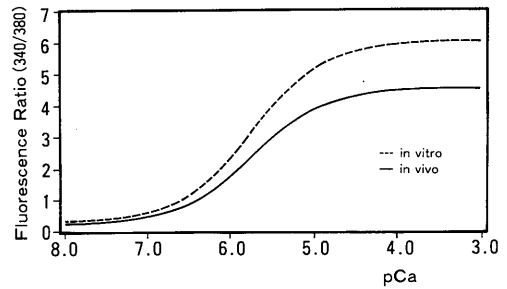


図4. fura-2 蛍光の較正曲線。点線は in vitro calibration を、実線は in vivo calibration を示す。

~ 10 μM)^{8,15)} を加えて細胞膜の Ca^{2+} に対する透過性を高くして、細胞外液の Ca^{2+} 濃度を変えることにより $[\text{Ca}^{2+}]_i$ を変化させて、細胞内の fura-2 の蛍光強度比との関係を求めて較正曲線を作成する。心筋細胞は $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が高くなると細胞拘縮をきたすため、ionomycin を使用する前に La^{3+} , BDM (2, 3-butanedione monoxime) を使用して拘縮を防いだり¹⁵⁾、代謝阻害による rigor を起こさせてから¹⁶⁾、ionomycin を与えて細胞外の Ca^{2+} 濃度を変える。図4は、in vitro calibration と、Li ら¹⁶⁾の方法によりモルモット心室細胞を用いて作成した in vivo calibration を比較したものであるが、両曲線は異なっている。ionomycin により確実に細胞内外の Ca^{2+} 濃度が平衡化しているのか不明であるため、in vivo calibration も完全ではないが、より正確に $[\text{Ca}^{2+}]_i$ への換算がされると考えられる。

V. 検討するべき項目

A. incomplete deesterification (未加水分解物の存在)

fura-2/AM が細胞内のエステラーゼにより分解されず、 Ca^{2+} との結合とは無関係に蛍光を発する未加水分解物¹⁷⁾の存在の程度は、エステラーゼ活性が異なるため細胞種や動物種により差がある。fura-2/AM で負荷した細胞で測定した $[\text{Ca}^{2+}]_i$ や、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ を上昇させる薬剤などの投与時の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇が reasonable でない時には、この未加水分解の存在の

可能性が考えられる。Mn²⁺ は fura-2 と複合体を形成してその蛍光を消失させる (quench) ため、Mn²⁺ を投与後に残存した蛍光が fura-2 以外の未加水分解物を含んだ蛍光を示すと考えられる。実際には fura-2/AM 負荷後に溶液を ionomycin (0.1~10 μ M) と Mn²⁺ (1 mM) に変えて蛍光を測定する。また、キャリブレーションの項で記した様に、in vivo キャリブレーションと in vitro キャリブレーションと比較することにより、未加水分解物の存在がある程度判定できる。未加水分解物の程度が大きい場合には、fura-2/AM の負荷条件 (濃度、温度、負荷時間) を変えたり、fura-2/AM の負荷後に細胞外液の fura-2/AM を洗い流して 30~60 分間の post-incubation を行なう。それでも fura-2/AM の加水分解が不十分な時には、電極により遊離の蛍光色素 (fura-2 の free acid) を注入するのが望ましいと考えられる⁷⁾。

B. コンパートメント化 (compartmentation)

色素がミトコンドリアや筋小胞体などの細胞内小器官に取り込まれるコンパートメント化¹⁸⁾は、細胞種により差があるが [Ca²⁺]_i の測定の誤差の原因となる。画像法で直接色素の分布を観察したり、適量のジギトニン (2~10 μ M) で形質膜を破壊して、残存する色素量を測定することによりその程度をある程度算出することが可能である。コンパートメント化を防ぐためには室温での負荷が有効と報告されている³⁾。

C. 退色 (bleaching)

励起光による細胞内蛍光試薬の bleaching (退色)^{18,19)}の程度は、蛍光試薬により差があり、indo-1 は fura-2 より bleaching が速い。光により分解した中間体が蛍光を発することと、波長により bleaching の程度に差があるため、ratio 法による測定でも bleaching は実験誤差の原因となる。蛍光の取得時間をなるべく短くし、測定しない時には励起光にシャッターを降ろすように注意する。また、ND (neutral density) フィルターを励起光の光路に追加することによ

り励起光の強度を調整し、各々の実験プロトコルに従って bleaching の程度を測定して ratio にも変化のないことを実験前に確認する必要がある。また、bleaching とは別に細胞内の fura-2 が細胞外に漏出 (leak) することが細胞種によっては問題となるが³⁾、この場合には有機アニオン輸送の阻害剤である probenecid を追加したり、低温下の実験により防げると報告されている。

D. 自家蛍光 (autofluorescence)

fura-2 蛍光に対して NADH などによる自家蛍光 (autofluorescence) が無視できない時には、色素負荷前に計測値より background として減ずる。fura-2/AM を負荷した時にはその細胞の autofluorescence は測定できないため、色素を負荷していない細胞で測定した autofluorescence を差し引いて比を計算する。また、低酸素や虚血時には NADH が増加して autofluorescence も増加するため注意が必要である。

E. buffering

autofluorescence の影響を減少させたり他の誤差要因を減らすためには、蛍光強度を強くするために細胞内の fura-2 濃度をある程度高くする必要がある。しかし、fura-2 は Ca²⁺ のキレート剤であるため、細胞内の fura-2 濃度が高いと [Ca²⁺]_i を低下させたり、[Ca²⁺]_i の変化を減少させて細胞機能に影響を与える可能性がある²⁰⁾。細胞内の fura-2 濃度は約 50 μ M とされているが、各々の細胞での fura-2 濃度を測定することは困難であり、一般的には fura-2 の負荷条件を変えて細胞機能に影響がないことを検討する。

E. motion artifact

心筋細胞や筋細胞などの収縮する細胞や、形態が速く変化するときには問題となる。motion artifact の時には 340 nm と 380 nm で励起時の蛍光が鏡像にならず、同じ方向の動きを示す。2 波長の比をとることにより機械的な動きの影響はキャンセルできることが多い。

VI. 細胞内 Ca^{2+} 濃度と他のパラメーターとの同時測定

心筋細胞において $[\text{Ca}^{2+}]_i$ は興奮-収縮連関において重要な役割を果たしており、電位依存性 Ca^{2+} 流入が筋小胞体からの Ca^{2+} 放出をきたして Ca^{2+} transient を形成する。この Ca^{2+} transient が収縮を引き起こすため、膜電流、 Ca^{2+} transient と細胞収縮を同時に測定することは興奮-収縮連関の解明において重要である。

A. 膜電流

パッチクランプ電極内に fura-2 (free acid, 30 ~ 70 μM) を溶解して whole cell clamp を行な

い、膜電流と Ca^{2+} transient を同時に記録する⁷⁾。図5は、モルモットの心室筋細胞の Ca^{2+} 電流と Ca^{2+} transient を記録したものである。

B. 張力

単一細胞の収縮性の測定には、平滑筋細胞では高感度微小張力トランジューサーによる方法もあるが²¹⁾、video motion detector²²⁾ や photodiode array²³⁾ により細胞長の変化を計測する方法もある。図6は、1波長励起2波長蛍光の indo-1 を用いた細胞収縮と $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の同時測定装置のブロックダイアグラムであり、細胞収縮は 600 nm 以上の長い波長の光により photodiode array により測定する。キセノンランプ

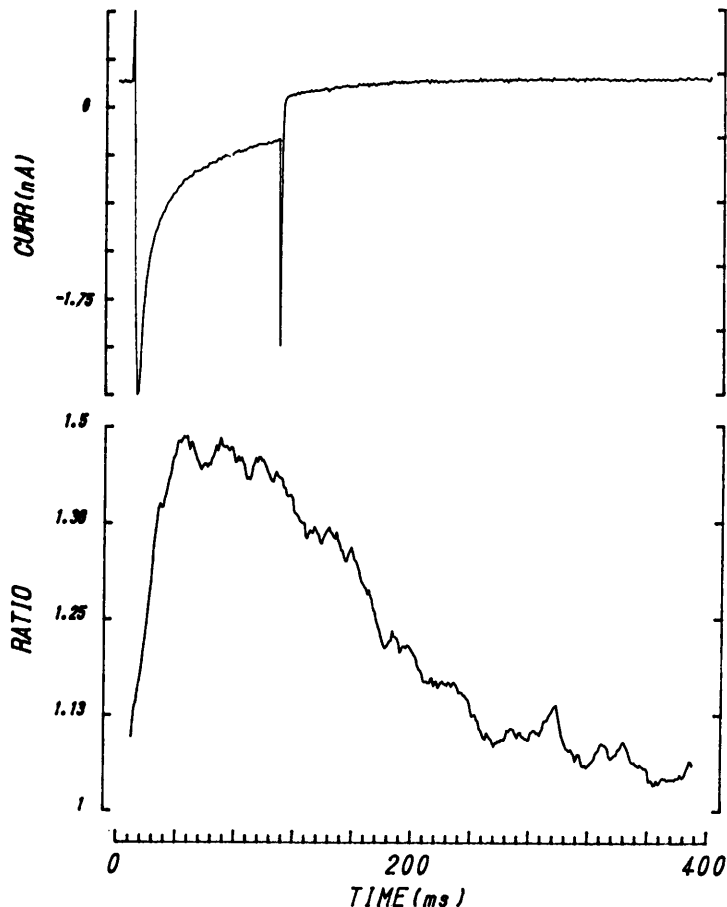


図5. モルモット心室筋細胞における Ca^{2+} 電流と Ca^{2+} transient の同時測定例. 70 μM の fura-2 (free acid) を含むパッチクランプ電極により whole cell clamp を行なった。

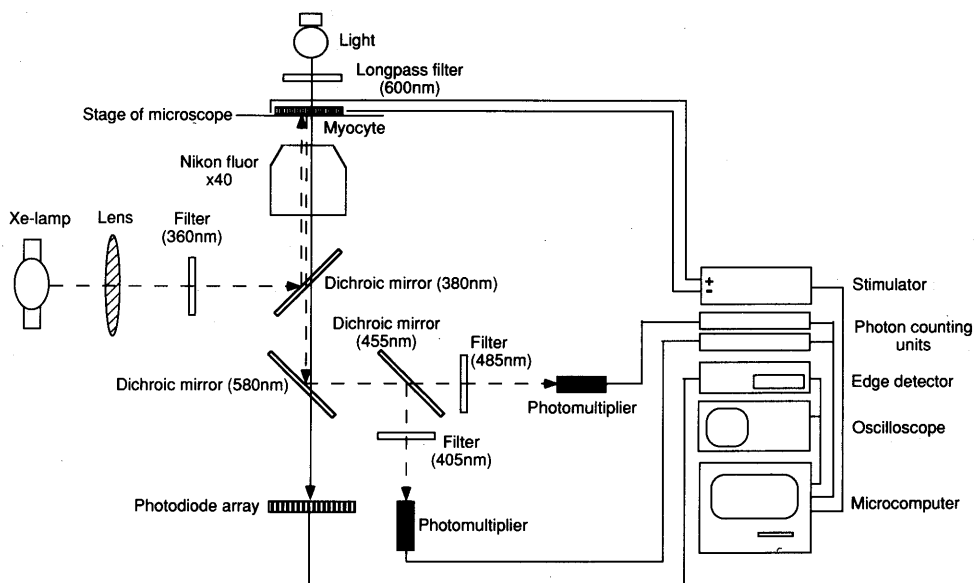


図6. indo-1を用いた細胞収縮と Ca^{2+} transientの同時測定装置のブロックダイアグラム。細胞長は、実線で示すように、600 nm 以上の光で photodiode array に結像された細胞像から、edge detector により測定する。キセノンランプからの蛍光は、破線で示すように、360 nm で照射され、405 nm と 485 nm の蛍光は2本の光電子増倍管 (photomultiplier tube) により検出され、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ は 405/485 nm の比として示される。

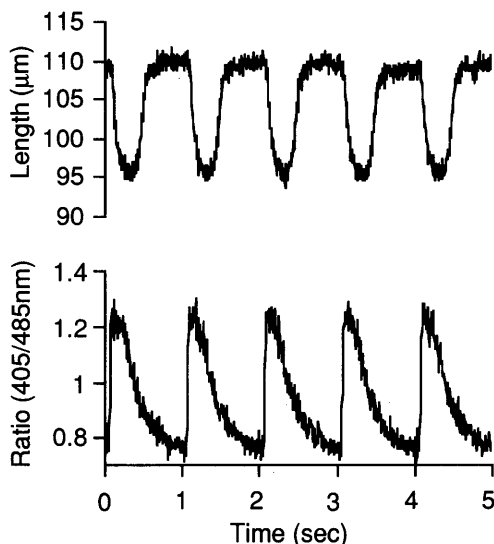


図7. モルモット心室筋細胞における細胞収縮(上段)と Ca^{2+} transient(下段)の同時測定例。

からの蛍光は、2枚のフィルター(405 nm と 485 nm)を通して2台の光電子増倍管で記録し、 Ca^{2+} transient は 405/485 nm の蛍光比として算出する。図7は、この装置により測定したモルモット心室筋細胞の細胞収縮と Ca^{2+} transientを示す。しかし、indo-1 は fura-2 に比較し photobleaching が大きいことや細胞内でのコンパートメント化が強いなどの使いにくい面もあり、まだ一般的ではない。

VII. 他の細胞内イオン濃度測定への応用

pH 感受性色素の 2', 7'-bis(carboxyethyl)-5, 6-carboxyfluorescein (BCECF) や Na^+ 感受性色素である sodium-binding benzofuran isophthale (SBFI) は、fura-2 と同様に2波長励起1波長蛍光型の色素であり、BCECF と SBFI の励起波長はそれぞれ 490 nm と 450 nm, 340 nm と 380 nm であり、蛍光はそれぞれ 520 nm, 510 nm である²⁾。従って、基本的には fura-2 法と同じ装置により細胞内 pH や細胞内 Na^+ 濃度

($[Na^+]_i$)の測定が可能である。

$[Ca^{2+}]_i$, 細胞内 pH 及び $[Na^+]_i$ は, Ca^{2+} - H^+ interaction, Na^+ - H^+ 交換, Na^+ / Ca^{2+} 交換を介してお互いに関連している。また, fura-2などの蛍光色素と Ca^{2+} との解離定数 (Kd)は細胞内 pH により影響を受けるため¹³⁾, 特にアシドーシス溶液灌流時や虚血時の細胞内イオン測定時には, 同時に pH_i を測定することが必要となる。我々は, 各蛍光試薬の波長特異性の差を利用して, 複数の蛍光色素を同時に負荷して単一心筋細胞内における2種類のイオン濃度を測定することが可能であることを報告した^{24, 25)}。

VII. お わ り に

蛍光色素法による $[Ca^{2+}]_i$ 測定は簡便で有効な方法であるが, 特に $[Ca^{2+}]_i$ の絶対値の算出には種々な誤差があることを認識して, 基本的な検討をしてから実験を始める必要がある。また, 薬剤には蛍光を有したり, 蛍光を吸収して蛍光試薬の蛍光特性に影響を与えることも多いため, 細胞に投与する前に蛍光分光光度計でチェックするべきである。また, Mn^{2+} や Ni^{2+} などの2価の陽イオンは蛍光試薬の蛍光を消失させる (quench) ため, 投与時にはこれらのイオンが細胞内に入るかどうかを調べる必要がある。

蛍光顕微鏡画像法の問題点として時間分解能および空間分解能の改善がある⁵⁾。現在の蛍光顕微鏡画像法の空間分解能を規定しているものとしては, 光学系やテレビカメラの性能の他に, 蛍光色素のシグナルが空間的に平均化されたものであることから, 焦点外の蛍光も検出している問題点がある。共焦点レーザー走査顕微鏡を用いると焦点面を薄くできるため, 解像能が優れ, 細胞の一断面の Ca^{2+} 濃度の変化を画像でできる。また, 時間分解能の改善には, photo-multiplier による測定が一般的である。

文 献

- 1) Grynkiewicz, G., Poenie, M. & Tsien, RY. (1985) A new generation of Ca^{2+} indicators with greatly improved fluorescence properties. *J. Biol. Chem.* **260**, 3440-3450
- 2) Tsien, RY. (1989) Fluorescent indicators of ion concentrations. *Methods Cell Biol.* **30**, 127-156
- 3) Malgaroli, A., Milani, D., Meldolesi, J. & Pozzan, T. (1987) Fura-2 measurement of cytosolic free Ca^{2+} in monolayers and suspensions of various types of animal cells. *J. Cell Biol.* **105**, 2145-2155
- 4) Hayashi, H. & Miyata, H. (1994) Fluorescence imaging of intracellular Ca^{2+} . *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* **31**, 1-10
- 5) Moore, EDW., Becker, PL., Fogarty, KE., Williams, DA. & Fay, FS. (1990) Ca^{2+} imaging in single living cells: theoretical and practical issues. *Cell Calcium* **11**, 157-179
- 6) Jackson, AP., Timmerman, MP., Bagshaw, CR. & Ashley, CC. (1987) The kinetics of calcium binding to fura-2 and indo-1. *FEBS Lett.* **216**, 35-39
- 7) Cannell, MB, Berlin, JR. & Lederer, WJ. (1987) Effect of membrane potential changes on the calcium transient in single rat cardiac muscle cells. *Science* **238**, 1419-1423
- 8) Williams, DA., Fogarty, KE., Tsien, RY. & Fay, FS. (1985) Calcium gradients in single smooth muscle cells revealed by the digital imaging microscope using Fura-2. *Nature* **318**, 558-561
- 9) Poenie, M., Alderton, J., Steinhardt, R. & Tsien, RY. (1986) Calcium rises abruptly and briefly throughout the cell at the onset of anaphase. *Science* **233**, 886-889
- 10) Wier, WG., Cannell, MB., Berlin, JR., Marban, E. & Lederer, WJ. (1987) Cellular and subcellular heterogeneity of $[Ca^{2+}]_i$ in single heart cells revealed by fura-2. *Science* **235**, 325-328
- 11) Williford, DJ., Sharma, VK., Korth, M. & Sheu, SS. (1990) Spatial heterogeneity of intracellular Ca^{2+} concentration in nonbeating guinea pig ventricular myocytes. *Circ. Res.* **66**, 234-241
- 12) Konishi, M., Olson, A., Hollingworth, S. & Baylor, SM. (1988) Myoplasmic binding of fura-2 investigated by steady-state fluorescence and absorbance measurements. *Biophys. J.* **54**, 1089-1104
- 13) Lattanzio Jr., FA. (1990) The effects of pH and temperature on fluorescent calcium indicators as determined with Chelex-100 and EDTA buffer systems. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **171**, 102-108
- 14) Noma, A., Shioya, T., Paver, LFC., Twist, VW. & Powel, T. (1991) Cytosolic free Ca^{2+} during operation of sodium-calcium exchange in guinea-pig heart cells. *J. Physiol.* **442**, 257-276
- 15) Borzak, S., Kelly, RA., Kramer, BK., Matoba, Y., Marsh, JD. & Reers, M. (1990) In situ calibration

- of fura-2 and BCECF fluorescence in adult rat ventricular myocytes. *Am. J. Physiol.* **259**, H973-H981
- 16) Li, Q., Altshuld, RA. & Stokes, BT. (1987) Quantitation of intracellular free calcium in single adult cardiomyocytes by fura-2 fluorescence microscopy: calibration of fura-2 ratios. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **147**, 120-126
- 17) Scanlon, M., Williams, DA. & Fay, FS. (1987) A Ca^{2+} -insensitive form of fura-2 associated with polymorphonuclear leukocytes. *J. Biol. Chem.* **262**, 6308-6312
- 18) Blatter, LA. & Wier, WG. (1990) Intracellular diffusion, binding, and compartmentalization of the fluorescent calcium indicators indo-1 and fura-2. *Biophys. J.* **58**, 1491-1499
- 19) Becker, PL. & Fay, FS. (1987) Photobleaching of fura-2 and its effect on determination of calcium concentrations. *Am. J. Physiol.* **253**, C613-C618
- 20) Baylor, SM. & Hollingworth, S. (1988) Fura-2 calcium transients in frog skeletal muscle fibres. *J. Physiol.* **403**, 151-192
- 21) Yagi, S., Becker, PL. & Fay, FS (1988) Relationship between force and Ca^{2+} concentration in smooth muscle as revealed by measurements on single cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85**, 4109-4113
- 22) Peeters, GA., Hlady, V., Bridge, JH. & Barry, WH. (1987) Simultaneous measurement of calcium transients and motion in cultured heart cells. *Am. J. Physiol.* **253**, H1400-H1408
- 23) Spurgeon, HA., Stern, MD., Baartz, G., Raffaelli, S., Hansford, RG., Talo, A., Lakatta, EG. & Capogrossi, MC. (1990) Simultaneous measurement of Ca^{2+} , contraction, and potential in cardiac myocytes. *Am. J. Physiol.* **258**, H574-H586
- 24) Hayashi, H., Miyata, H., Noda, N., Kobayashi, A., Hirano, M., Kawai, T. & Yamazaki, N. (1992) Intracellular Ca^{2+} concentration and pHi during metabolic inhibition. *Am. J. Physiol.* **262**, C628-C634
- 25) Hayashi, H., Satoh, H., Noda, N., Terada, H., Hirano, M., Yamashita, Y., Kobayashi, A. & Yamazaki, N. (1994) Simultaneous measurement of intracellular Na^{+} and Ca^{2+} during K^{+} -free perfusion in isolated myocytes. *Am. J. Physiol.* **266**, C416-C422

〔編集後記〕

木々の紅葉も一段と鮮やかさを増し、見る目を和ませてくれます。暑すぎず、寒すぎず、一年中で最も過ごしやすい季節となりました。また科学研究費などの申請も済まされ、先生方は研究、教育に専念されておられる頃と思います。

さて57巻11号をお届けします。巻頭言は高橋国太郎先生に戴きました。生理学の学問的特徴から、今後、若い生理学の育成する指導者には、一つの研究主題について個体レベルと分子レベルの両面から思考、かつ実験を遂行できる能力が要求されること、今後分子生物学の発展を取り入れた病体生理学研究の充実が望まれること、特定の分野に重点的に研究費を出すことも重要だが、研究者個人の自由な発想にもとづく研究が学問の基本であり、一般研究、総合研究を主体にした

科研費配分に重点を置くことが重要性であるとの提言を戴きました。会員の皆様はどのようにお考えでしょうか。

PROFILE では小松英彦先生、菅屋潤壹先生、佐々木誠一先生から今後の研究、教育に対する抱負を戴きました。今後のご活躍を期待しております。

好評の実験技術シリーズ、細胞内 Ca イオン濃度の光学的測定法では、林 秀晴、金子雅則、寺田 肇先生に単一細胞における細胞内 Ca イオン濃度測定の実際について執筆して頂きました。大変な力作ですので会員の皆様には色々な面から役立って頂けると思います。

今年より、神田先生の後を受けて編集委員をさせて頂くことになりました。微力ながら、頑張って行きたいと思いますので、よろしくお願い致します。

(佐々木成人)

編 集 委 員

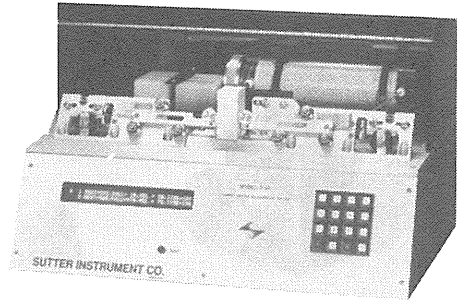
金 子 章 道(幹 事)	野 村 正 彦	野 崎 修 一
中 島 祥 夫	佐々木 成 人	高 松 研
青 木 藩(北海道)	土 居 勝 彦(東 北)	工 藤 典 雄(関 東)
松 波 謙 一(中 部)	福 田 淳(近 畿)	片 岡 喜 由(中・四国)
山 下 博(九 州)		



孤高の境地に到達するサッターのプラー (ガラス電極作製装置)

P-97 **NEW**

各界で圧倒的な支持を得た
銘器P-97をさらにブラッシュ・アップ。
再現性とユーティリティにいっそう
磨きをかけました。

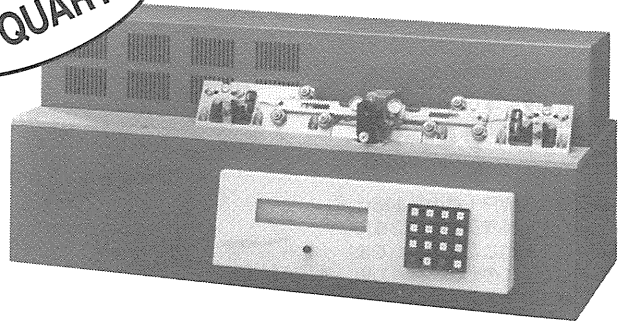


- ◇日本で特に再現性の敵となる湿度の影響を最小限に抑えるフィラメント・ハード・カバーを装備
- ◇ヒーター電流25%強化・冷却エア能力強化により大径・肉厚ガラスにも余裕の対応
- ◇メモリ可能なプログラム数を一挙に100まで増加
- ◇P-97で立証されたすぐれたメカニカル・ハードウェアを踏襲

P-2000

for QUARTZ

計り知れないポテンシャルを
もつクォーツ・ガラスからの電極
作製を可能としたサッター会心
のプラー。



- ◇従来のガラスとは比較にならない強度をはじめ、数々のメリットを持つクォーツ・ガラスからあらゆる形状のガラス電極を作製します。通常のガラスにももちろん対応
 - ◇レーザー光線を熱源としながら、金属フィラメントと同様の高操作性・安全性を達成
- ※クォーツ・ガラスの数々のアドバンテージをお知り頂くためにサンプルをお作りしています。
下記へお問い合わせ下さい。

◆詳しい資料をご請求下さい



サッター社 日本総代理店

ショーシンEM株式会社

〒444-02 愛知県岡崎市赤浜町蔵西1-14 ショーシンビル2F

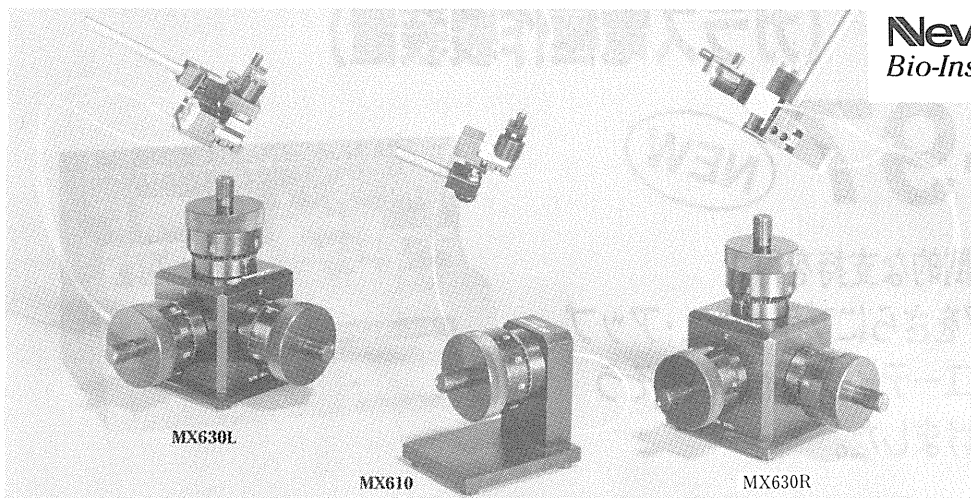
TEL. (0564) 54-1231 番(代表)

FAX. (0564) 54-3207 番

水圧式マイクロマニピュレータ



Newport.
Bio-Instruments



- コンパクトで遠隔操作型
- 低ドリフトで驚くべき安定性
- 高い分解能
- スムーズで応答性に優れた駆動
- 顕微鏡や粗動マニピュレータへのセッティングが簡単

ニューポート社の高性能、低ドリフト型MX-610及びMX-630シリーズの水圧式マイクロマニピュレータは、他社で見られる多くの技術的な問題点を解消しました。手動調節による駆動は円滑で応答性に優れ、Intracellularやパッチクランプの長時間記録をはじめ、マイクロインジェクションや超精密細胞刺入に理想的なマニピュレータです。同社独自の設計により定温下でのドリフトを1 μ m/時以下に抑え、精密なポジショニングが十分な駆動距離から得られます。水圧式のメリットは、油圧システムに比べ熱膨張率が2～3倍低い水の特性を利用したものです。

信頼と実績のヴァリエーション。直販システムで一層お求めやすくなりました。

WPI 製品ダイレクト販売のお知らせ!

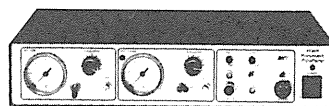
円高差益還元 大巾プライスダウン

弊社は米国WPI社の日本総代理店として、長年研究者の皆様にとにかくならぬご愛顧を頂いてまいりました。このたび、今春のWPI日本支社開設に伴い同社との協力・連携のもと、ユーザーの皆様にダイレクト販売を実施させていただきます。中間マージンカット・円高差益還元により、従来定価を大幅に下回る特別ご奉仕価格は、必ずや皆様にご満足頂けることと存じます。(直販価格はWPI英文カタログに記載)

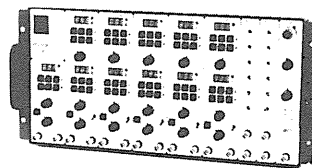
何卒この機会に、ぜひ弊社のダイレクト販売システムをご活用下さいませようご案内申し上げます。詳細は弊社WPIダイレクト販売課までお気軽にお問い合わせ下さい。

- DAM-80 差動型前置増幅器
ヘッドフロー付き
¥221,800

- ISO-NO NOメータ
¥559,200
- ガラスキャピラリー
I B100F-4 500本入り
¥6,400
- I B120F-4 350本入り
¥6,400
- I B150F-4 225本入り
¥7,200



- 気圧式ピコポンプ
(マイクロインジェクション用)
PV-800/820 ¥221,800
PV-830 ¥290,200



- A-300 マルチチャンネル刺激装置
¥509,600
- 電極ホルダー ¥5,100～
- パッチ用電極ホルダー ¥13,600
- 電極ペレット ¥3,400～
- マイクロフィル ¥5,600～

注：価格は税別の納入価格です。送料は別途申し受けます。



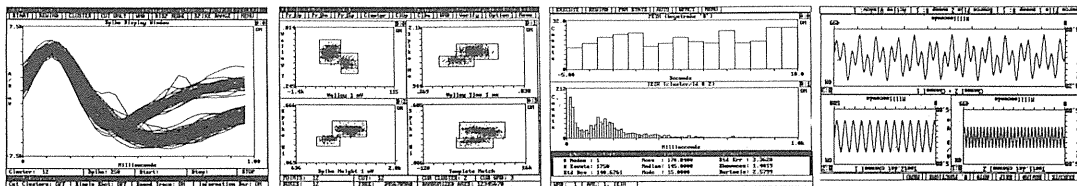
バイオリサーチセンター株式会社

WPIダイレクト販売課

本社 名古屋市東区東桜2-10-21 (錦見ビル2F) ☎052(932)6421 FAX052(932)6755
東京 東京都千代田区岩本町2-10-1(オカジマビル) ☎03(3861)7021 FAX03(3861)7022

WorkBench & Discovery

ワークベンチ&ディスクバリーシステムは、EEG、ECG、EMG等のアナログ信号、ユニット信号を取り込み、リアルタイムで多種多様な解析が可能な優れたシステムです。豊富なコマンドファンクションを持ち、マウス操作で画面表示、データ記録、演算・解析処理、ユニット分離、印刷等が簡単に自動化できます。



- ユニット分離 1つのユニットより12項目の値を抽出し、最大12のグループに区別します。
- ヒストグラム PETH, IEIH, XCRR, Rate Meter, JPST, Replay, Periodic PETH。
- 波形演算処理 アベレージング、スムージング、FFT、微積分、刺激誘発反応、可変面積、他多数。
- 波形数値抽出 Peak to Peak, dv/dtをはじめ、70種類にも及ぶデータ抽出が可能です。
- ディスプレイ オシロスコープ、ヒストグラム、XYプロット、デジタル表示、他多数。

動作環境	IBM PC-ATまたは100%互換機 (486DX-33MHz推奨)	
最大サンプリングレート	150KHz (1chに限定)	標準装備
	500KHz (1chに限定)	オプション
最大同時入力チャンネル数	16ch (A/Dボード1枚使用時)	標準装備
	32ch (A/Dボード2枚使用時)	オプション

マッキントッシュ専用データ収録・解析プロセッサー

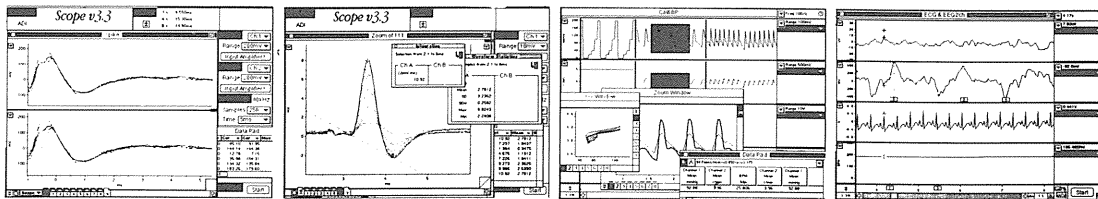
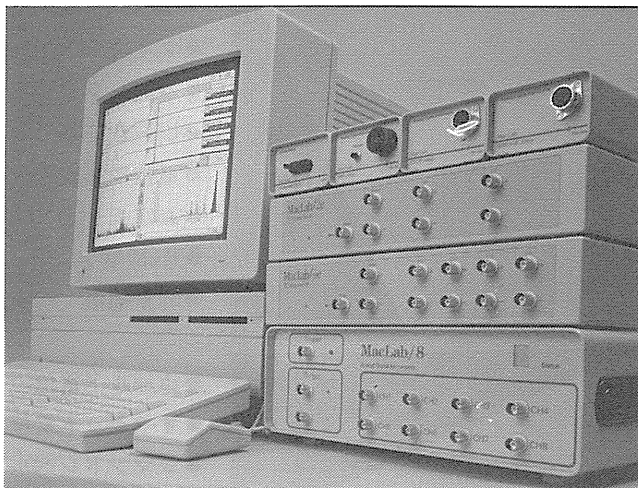
MacLab/2e/4e/8

マックラブ専用アンプを使って、心電、呼吸、脳波、等の生体現象の測定記録として、マッキントッシュをボリグラフとして利用できます。オフセット、オートゼロ、フィルターセッティング、キャリブレーション等全てディスプレイ上でコントロールできます。

- 微分、積分 ● 平均、加算平均 ● FFT、カウント
- ピーク検出&ホールド ● SD、SEM ● 最大、最小
- X-Yプロット ● 単位変換……

データはテキスト、ドロー系、ペイント系、スプレッドシート等ほとんどのソフトにコピー&ペーストOK//

- 価格改訂 MacLab/2e (2ch入力) ¥450,000
- MacLab/4e (4ch入力) ¥790,000
- MacLab/8 (8ch入力) ¥890,000



A. D. I. 社
日本総代理店

ADI

バイオリサーチセンター株式会社

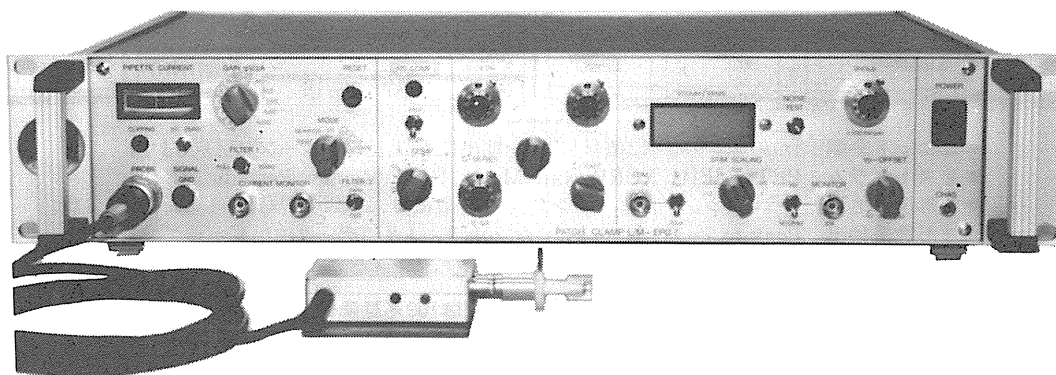
本社 名古屋市中区東横2-10-21 (錦見ビル2F) ☎052(932)6421 FAX052(932)6755
東京 東京都千代田区岩本町2-10-1(オカジマビル) ☎03(3861)7021 FAX03(3861)7022

実績 No.1!!

F. J. Sigworth, E. Neher のオリジナル

西独リスト社

パッチクランプシステム *EPC-7*



■ 主な性能

- ノイズレベル (rms) : 0.05pA 1KHz, 0.30pA 3KHz
- 電流レンジ : 200pA (50GΩ), 20nA (500MΩ)
- 周波数応答 : 100KHz (500MΩ)
- 電位増幅度 : X10
- 測定モード : VC, CC, CC+COMM
- Rs補償 : 1-100MΩ
- 容量補償 : 0-10pF (First)
: 0.2-10pF, 2-100pF (Slow)
- ホールド電位 : ±200mV
- オフセット電位 : ±50mV
- コマンドレベル : 0, .1, .05, .001, -.1, -.05

日本総代理店／西日本地区発売元



ショーシンEM株式会社

〒444-02 愛知県岡崎市赤浜町蔵西1番地14ショーシンビル
TEL (0564) 54-1231(代) FAX (0564) 54-3207

東日本地区発売元

(Physio-Tech)

株式会社 フィジオテック

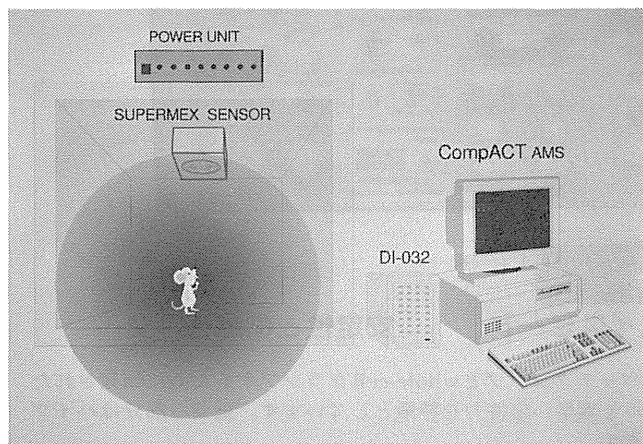
〒101 東京都千代田区内神田2丁目6番11号 若松ビル2F
TEL (03) 3258-1641(代)

ローコスト・マルチチャンネル型
自発運動量測定システム

SUPERMEX[®]

スーパーメックス

PAT. P



- 小動物（マウス、ラット、マーモセット等）から大動物（イヌ、サル、ブタ）まで自発運動量を測定することが出来ます。
 - お手持ちの飼育ケージ、ラック用ケージ、代謝ケージ等を使用することが出来ます。
 - マイクロダイアリシスやテレメータ測定等との並行測定を行なうことも出来ます。
 - 感度調整等の煩わしい操作は不要です。
 - 従来の自発運動量測定装置に比べ少ない予算で多チャンネルのシステム構成が可能です。
- （価格例：4chシステム ¥1,500,000）
8chシステム ¥2,100,000）
- 標準付属品のインターフェースで32ch、オプションで最大80chまでのデータを集録し、付属の運動量解析プログラムCompACT AMS及び周期計算プログラム（オプション）にてデータの集録、解析を行なうことが出来ます。
 - 測定場所から離れた所でデータ集録を行なうことも可能です。
 - 増設は簡単にでき、費用も安価です。
 - 自発運動量に飲水量を加えた測定システムも用意されております。
- ★特許出願済みにつき類似品には充分ご注意ください。

Muromachi

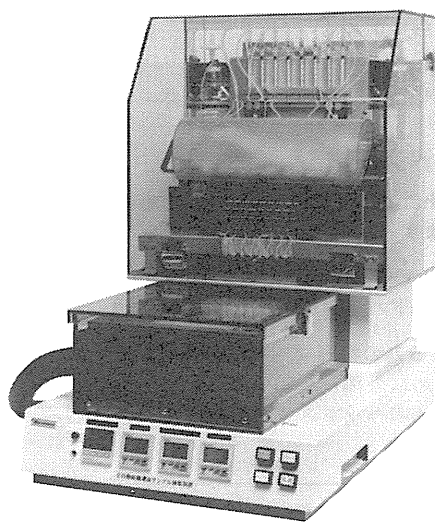
総発売元

室町機械株式会社

本社：〒103 東京都中央区日本橋室町4-2-1 大辻ビル
TEL 03(3241)2444 FAX 03(3241)2940
大阪営業所：〒532 大阪市淀川区木川東4-5-3長谷興産新大阪ビル
TEL 06 (302)1277 FAX 06 (302)5026

全自動

細胞灌流サンプリング装置 MK-4000



脳スライス切片の各部位を灌流しながら、生体内で行なわれている化学的・電気的刺激により灌流液中に放出される物質（サイクリックAMP、神経伝達物質、代謝産物等）を捕集することを目的とした装置です。

従来より行なわれていたセプター結合実験（RRA）と併用することで、より効果的な神経伝達物質、セカンドメッセンジャー間の相互作用の研究が行なえます。

■主な特長

- 脳切片を専用チャンバーにセットするだけで予め設定した灌流操作をし、専用ラックに灌流液を捕集します。
- 切片を入れるチャンバー数及びチャンバーは、ご指定に応じて作成いたします。
- 各チャンバーは、独立した系になっており、コンタミネーションは一切ありません。
- 本体フロントの設定スイッチにより、全ての設定ができます。

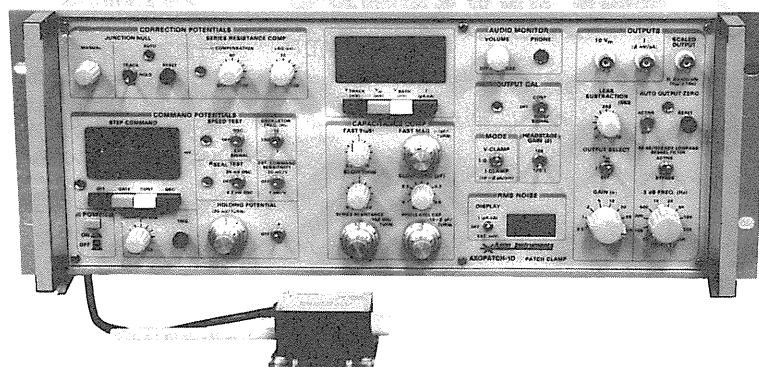
Muromachi

総発売元

室町機械株式会社

本社：〒103 東京都中央区日本橋室町4-2-1 大辻ビル
TEL 03(3241)2444 FAX 03(3241)2940
大阪営業所：〒532 大阪市淀川区木川東4-5-3長谷興産新大阪ビル
TEL 06 (302)1277 FAX 06 (302)5026

AXOPATCH-1D PATCH CLAMP



低ノイズ

ハイスピード

安定性と信頼性

AXOPATCH-1Dはsingle-channelパッチクランプとwhole-cellクランプするために開発された増幅器です。極めて低いノズル・レベルと素早い応答力の特徴としています。重要な部分はハイブリッド化により完全シールドされています。

AXOPATCH-1Dはボルテージクランプと同様にカレントクランプ・モードでも作動します。フィードバック抵抗は同じセルからsingle-channel電流とwhole-cell電流を記録するため、リモート・コントロールができます。

CV4ヘッドステージは下記の3種類があります。

AXOPATCH-1Dの特徴

- 使いやすい容量補償
- ラグ・コントロールつき直列抵抗補償
- コマンド電位発生器
- 接合電位除去
- RMSノイズモニター
- ZAP（パッチ膜破壊）
- 可変出力ゲイン
- DCオフセット除去
- 可変低域通過ベッセルフィルター
- シールテスト
- オーディオモニター
- 漏れ電流除去

AXOPATCH-1Dのヘッドステージ

CV4 1/100 whole-cellクランプ（20 nAまで）とsingle-channel電流を記録するためのものです。50 GΩと500 MΩのフィードバック抵抗があります。

CV4 0.1/100 大きなセル（200 nA; >>100 pF）のwhole-cellクランプとsingle-channel電流を記録するためのものです。50 GΩと50 MΩのフィードバック抵抗があります。

CV4B 0.1/100 人工膜からsingle-channel電流を記録する為の特別なヘッドステージです。大きなコマンド電圧の間、サチレーションを防ぐために外部から50 GΩと50 MΩのフィードバック抵抗でコントロールできます。（大きなセルのヘッドステージと同型です）

西日本地区発売元



INTER MEDICAL CO., LTD.

株式会社 インターメディカル

本社/〒461 名古屋市中区葵一丁目25番1号
TEL (052) 937-7060/FAX (052) 937-5423
TLX 444-3603 WDMC J
東京支社/〒157 東京都世田谷区柏谷三丁目32番16号
製造営業部 アビタシオン千歳烏山102号
TEL (03) 5384-6387 FAX (03) 5384-6487

東日本地区発売元

(Physio-Tech)

株式会社 フィジオテック

〒101 東京都千代田区内神田2丁目6番11号

若松ビル2F

TEL (03) 3258-1641 (代)

新製品

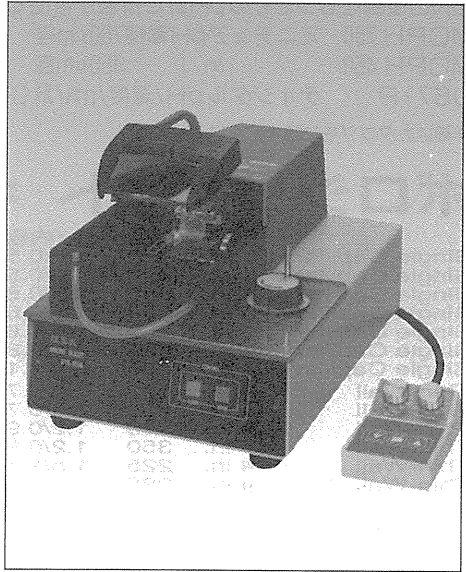
お求めやすい価格で新登場！

新鮮脳切片作製のための

D.S.K. マイクロスライサー®

DTK-1500型・セパレートタイプ

- 新鮮脳の切断面のダメージが、著しく少なくなりました。
- 横振(FREQUENCY)の幅を小さくして、前進スピードを出るだけおそくする操作を可能にしました。
- セパレート型、コントロール部を独立させる事により生理食塩水、バッファ、水等の浸透を防ぎ、操作性、耐久性がアップしました。
- 刃の作動方式には電磁振動方式を用いず、上下振動のない滑走式(PAT)を採用しています。
- 刃の往復数が自由に換えられるため、柔らかい組織や不均一な組織も切りやすくなりました。

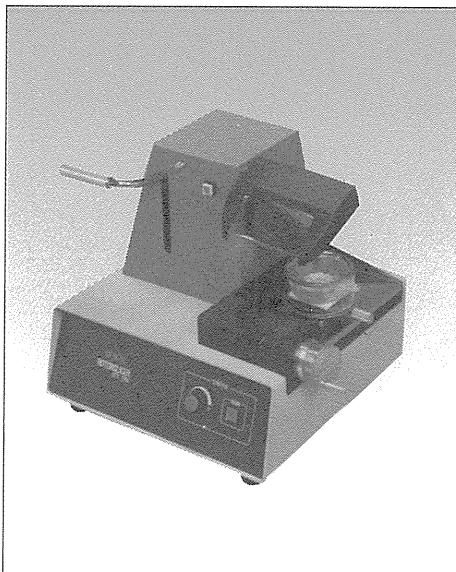


新製品

“生きのいい”脳薄切標本作製装置

D.S.K. ロータースライサー®

DTY-7700型・手動式



- 脳組織など、素早く取り出した生きた軟かい生体組織の薄切標本(70ミクロン以上)が容易に得られます。
- 組織の送り幅(薄切の厚さ)、刃の回転速度をセット。あとは組織をコンテンツ台に固定して、手動でレバーを操作し回転刃を下降すればOK。
- 組織の固定も簡単で熟練を要しません。
- 液中で薄切するので、標本が空気中にさらされる時間も短縮され“生きのいい”切片が順序よく回収できます。
- 特製試料トレイ(多孔質セラミックス製ブレンダー付 [PAT.P])を標準装備。

★詳しい資料・文献・デモンストレーションは下記までご請求ください。

D.S.K. 堂阪イーエム(株)

本社・工場/〒601-11 京都市左京区静海市原町1032の3 TEL (075)741-3069 FAX (075)741-3026

ミニチュア pH 電極

測定範囲: pH2~12

必要試料: 5 μ L

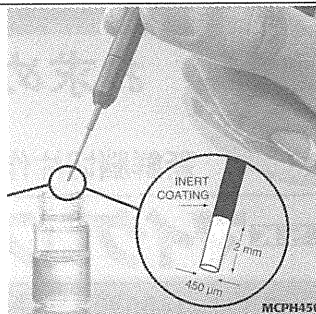
BNC接続をもつ他社のpH計と接続が可能です。

MCPH 750 ミニチュアpH電極750 μ m径 ¥63,200

MCPH 450 " 450 μ m径 ¥79,200

J671P デジタルpH/温度/mV計(100V用) ¥55,000

詳細はカタログをご請求下さい。



ボロシリケイト キャピラリー グラス

	長さ	本入り	外/内径(mm)	型番	価格
Single Capillary	4 in.	500	1.0/0.58	1B100F-4*	¥6,400
Single Capillary	4 in.	500	1.0/0.58	1B100-4	¥5,100
Single Capillary	4 in.	350	1.2/0.68	1B120F-4*	¥6,400
Single Capillary	4 in.	350	1.2/0.68	1B120-4	¥5,100
Single Capillary	4 in.	225	1.5/0.84	1B150F-4*	¥7,200
Single Capillary	4 in.	225	1.5/0.84	1B150-4	¥6,400
Single Capillary	4 in.	125	2.0/1.12	1B200F-4*	¥6,400
Thin-Wall	4 in.	500	1.0/0.75	TW100F-4*	¥6,900
Thin-Wall	4 in.	500	1.0/0.75	TW100-4	¥6,400
Thin-Wall	4 in.	350	1.2/0.90	TW120F-4*	¥6,900
Thin-Wall	4 in.	350	1.2/0.90	TW120-4	¥6,400
Thin-Wall	4 in.	225	1.5/1.12	TW150F-4*	¥6,900
Thin-Wall	4 in.	225	1.5/1.12	TW150-4	¥6,400

*F-はフィラメント
入り

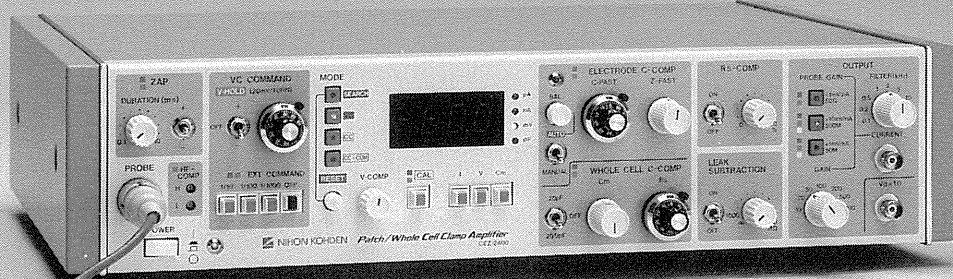
長さ3インチ、6インチもございます。パッチクランプ用などもありますのでカタログをご請求下さい。



ワールド プレシジョン インストルメンツ

〒153 東京都目黒区中目黒1-4-2, 702 電話: 03-3760-5050 Fax: 03-3760-5055
e-mail: 71124, 2173 @Compuserve.com

パッチクランプ／ホールセルクランプの 測定に威力を発揮！



細胞膜の研究に

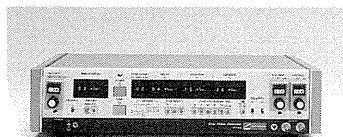
パッチ／ホールセルクランプ用増幅器 CEZ-2400

パッチクランプ法とホールセルクランプ法（小型細胞全体の膜電位固定法）による測定が、プローブの交換無しで可能。セルアタッチレコーディングからホールセルレコーディングまで、効率よく実験が行えます。

- 同一プローブ内で $50\text{G}\Omega$ / $500\text{M}\Omega$ の電流検出抵抗が切り換え可能。
- トランジェント補正完了時に、膜容量・シリーズ抵抗が測定可能。
- 4次ベッセルフィルタを内蔵、更にノイズの低減を実現。

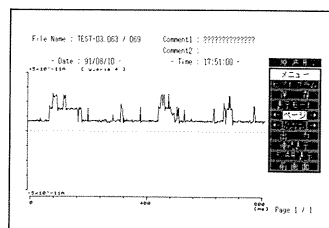
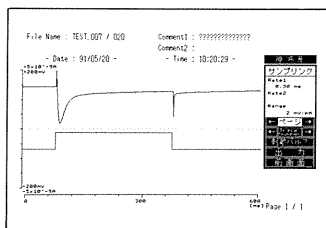
ステップパルスジェネレータ SET-1201

高精度のパルス発生回路と、ステップ電圧発生回路を組み合わせ、パッチ／ホールセルクランプに必要なコマンド信号を高い精度で発生できます。



パッチ／ホールセルクランプ用処理プログラム QP-120J

パッチクランプ法及びホールセルクランプ法により測定された微小イオン電流のデータを、パーソナルコンピュータ（PC-98シリーズ）を使用して、保存・解析するためのプログラムです。



日本光電 〒161 東京都新宿区西落合1-31-4
 ☎03(5996)8028 宣伝課

カタログをご希望の方は宣伝課迄ご請求下さい。

