

日本

生理学

雑誌

JOURNAL OF THE PHYSIOLOGICAL SOCIETY OF JAPAN

59巻

7・8号

1997

第75回日本生理学会大会案内（第2報）

〔巻頭言〕 富田 忠 雄：雑談的意見…………… 225

第74回日本生理学会大会を開いて…………… 227

第74回日本生理学会大会記念写真…………… 231

第19回生理学コンピューター研究会報告…………… 233

INFORMATION…………… 235

CALENDAR…………… 242

RECORDS…………… 243

PROFILE…………… 255

OPINION…………… 257

実験技術講座

シリーズ「生理学者のための分子生物学技術講座」

高田明和：生理学者のための分子生物学技術講座の連載について…………… 269

井本敬二：分子生物学的実験のための準備と基礎技術…………… 271

久保義弘：機能発現法による cDNA のクローリング…………… 279

都筑馨介・小澤滯司：単一ニューロンの mRNA 解析…………… 301

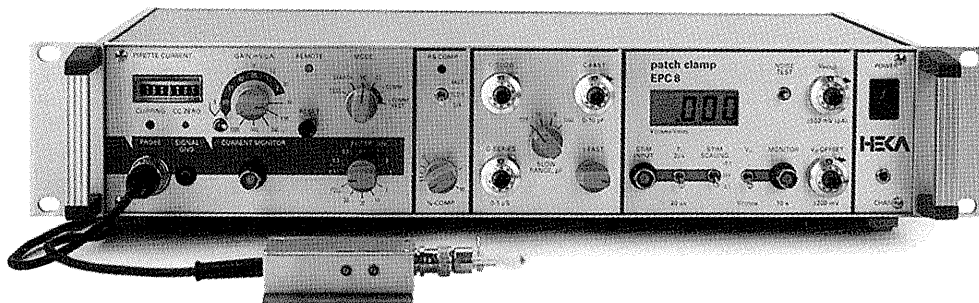
HEKA

EPC-8

Windows 95. NT対応

New!!

パッチクランプ・システム



EPCシリーズの最新作・EPC-8は、名器EPC-7の
正統な後継器として、数々の進歩を刻みました。

- 従来からご要望の多かったホールド電圧のレンジを $\pm 500\text{mV}$ まで、オフセット補正電圧を $\pm 200\text{mV}$ まで、それぞれ大幅に拡大しました。
- ヘッドステージを、EPC-7の2抵抗型からEPC-9と同等の3抵抗型へグレード・アップ。測定レンジを拡大し、大容量の細胞(1000pF)にも対応します。
- 7ポール/12ステップの高性能フィルタを新設。
- ファースト・カレント・クランプやダブル/トリプル・パッチにも対応。
- 専用のインターフェイス+ソフトの追加により、パルス・ジェネレーションに始まる一連のデータ収集・解析をコンピュータ上で実行可能。

さらにゲイン、モード、フィルタのスイッチなどをソフト上から遠隔操作できます。

ソフトは、新たにWindows対応版もリリース。

☆フル・コンピュータ・コントロールのEPC-9も
いっそう完成度を高め、
ますます円熟。



~~~~ 詳しい資料をご請求ください ~~~~

HEKA社 日本総代理店

EPCシリーズ 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. 0564-54-1231

FAX. 0564-54-3207

EPCシリーズ 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. 03-3258-1641

FAX. 03-3258-1657

## 第75回日本生理学会大会案内（第2報）

第75回日本生理学会大会を下記の通り開催致します。多数ご参加下さいますようお願い致します。

当番幹事 永坂鉄夫  
東田陽博  
加藤 聖

1. 会 期 1998年3月27日(金)～29日(日)

2. 会 場 金沢経済大学（金沢市御所町丑10番地）

### 3. 申し込み締め切り期限

参加・発表申し込み期限は、1997年11月4日(火)（必着）です。期日を厳守して下さいますようお願い致します。

### 4. 大会参加申し込み

1) 参加申し込みの書類として、青色の専用郵便振替用紙（参加申込書という）【A-1】・大会用名簿【A-2】・受取通知書【A-3】が本号に挟み込まれていますので、必要事項をご記入下さい。また、**予稿集郵送用「ゆうパック」ラベル**を入れてありますので、そのお届け先欄に貴教室（研究室）の住所をお書き下さい。  
以上の書類は、後述の書類【B-1, 2, 3】とともに教室（研究室）単位でまとめて手続きをして下さい。

2) 大会参加費は8,000円です。

また英文校閲のための費用は一演題につき1,500円です。

必要事項を参加申込書【A-1】にご記入の上、ご送金下さい。なお、事務手続上一旦納入された代金は返却に応じかねますので、ご了承下さい。

### 5. 写真申し込み

記念写真代は1,000円です。参加申込書【A-1】にご記入の上、ご送金下さい。綴じ込みの大会用名簿【A-2】、記念写真郵送用ラベル【A-4】にも必要事項を記入して郵送して下さい。事務手続上一旦納入された代金は返却に応じかねますので、ご了承下さい。

### 6. 発表申し込み

1) 発表者（連名発表者を含む）は、日本生理学会の会員および臨時会員に限ります。発表申し込み前に新規入会または臨時入会の手続きを必要とされる方は、綴じ込みの葉書に必要事項をご記入の上、本年の会費（正会員8,000円、臨時会員4,000円、挟み込みの郵便振替用紙を使用）とともに、日本生理学会事務局宛（〒113 東京都文京区本郷3-30-10 布施ビル、Tel：03-3815-

1624, Fax: 03-5684-2539)にお送り下さい。学部学生および大学院生には会費の割引があります。詳しくは、日本生理学会事務局までお問い合わせ下さい。

2) 研究室あたりの演題数は無制限と致しますが、口演発表は一教室(研究室)一演題とさせていただきます。また、演者になれるのは一人一演題に限ります。

3) 綴じ込みの予稿集抄録用紙【B-1】、索引用氏名一覧表【B-2】、連絡書【B-3】に必要事項を書き込み【B-1, 2は記入例を参照】、予稿集抄録用紙【B-1】および索引用氏名一覧表【B-2】のコピー6部とともに大会事務局(金沢大学医学部)にお送り下さい。予稿集抄録用紙【B-1】は、そのまま写真製版致しますので、必ず郵送して下さい。

4) 【B-1】および【B-2】に記入された内容をE-mailで大会事務局(phys75@med.kanazawa-u.ac.jp)にお送り下さい。また、フロッピーディスクでの登録も受け付けます。必ずテキストファイル形式で大会事務局(金沢大学医学部)にお送り下さい。なお、3.5インチのフロッピーディスクを各自でご用意下さい。ワープロ専用機の場合は、MS-DOSテキストファイル形式に変更する機能を利用して変換・保存して下さい。また、フロッピーディスクのラベルに、所属機関名・代表者名・使用ソフト名・使用コンピュータ名をお書き下さい(次ページ下図参照)。お送りいただいたデータはプログラム編集用に使用致します。いずれの場合でも予稿集抄録用紙【B-1】は印刷して、必ず郵送して下さい。

## 7. 発表形式

1) 口演またはポスターと致します。口演(シンポジウムを含む)はすべてOHPを用いた発表と致します。スライドは一切使用しませんのでご注意下さい。演題ごとにご希望の発表形式を○で囲んで下さい(記入例参照)。ご希望に添えない場合もございますが、ご了承下さい。

2) 口演発表は、1題あたり15分(口演10分、討論5分)です。OHPの使用は1台とします。

3) ポスターは、縦160cm×横90cmの範囲に収まるようお願い致します。演題番号用に、左上の縦18cm×横26cm(B5用紙相当)は余白として残しておいて下さい(次ページ下図参照)。

## 8. シンポジウム・一般口演・ポスター発表の英文抄録

英文抄録は *Japanese Journal of Physiology* (JJP) に掲載致します。本号に綴じ込みの英文校閲用抄録原稿用紙【C-1】の注意事項および裏面の記載例に従って英文抄録原

稿を作成し、発表当日会場の抄録受付にコピー1部と返信用封筒（角形2号：240mm×332mm）を添えてご提出下さい。日本生理学雑誌および JJP 編集委員会で英文校閲後、校閲済原稿とともに「清打用原稿用紙」をお送り致します。

#### 9. 特別講演・シンポジウムについて

詳細は後日お知らせ致します。

#### 10. 宿泊・交通について

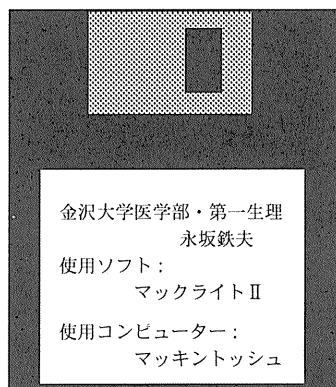
北日本観光旅行社に幹旋を依頼致しましたので、別掲の旅行案内に従ってお申し込み下さい。

#### 11. グループディナーについて

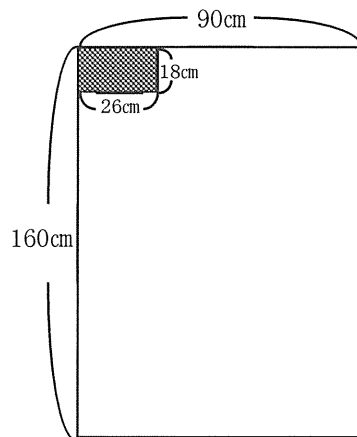
グループディナー開催予定の世話人の方は、10月31日(金)までに大会事務局へ参加予定者数・会費などを連絡して下さい。会場等をお世話致します。

#### 12. ホームページ

その他詳細は第75回日本生理学会大会ホームページ（<http://kipcwww.ipc.kanazawa-u.ac.jp:8080/~med2/04/phys75/>）でご覧になれます。なお、9月1日からアドレスが（<http://web.kanazawa-u.ac.jp/~med2/04/phys75/>）に変更になりますのでご注意ください。



フロッピーディスクのラベル記入例



ポスターの大きさ

## OHPシートの作成要領

OHP (Over Head Projector) 方式とは、透明なシートに描画・印刷されたものを透過光を利用してスクリーンに写し出す方式です。会場を暗くする必要がないので、容易にメモを取ることができ、実質的な討論を行う上でさまざまなメリットがあります。最近では、顕微鏡写真像、ハーフトーンやカラーのOHPシートも簡単に作成できるようになっています。詳しい説明は、大会ホームページでご覧下さい。

### 1. OHPフィルムについて

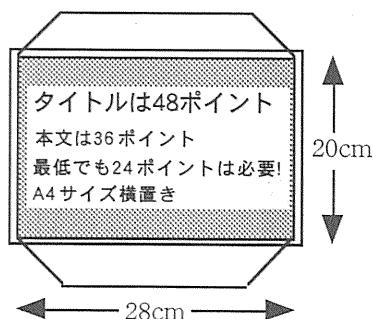
OHPフィルム (TP: Transparency とも言う) は、大別して5種類ほどが市販されています。その他にコピー機やプリンターの方式やインクに合わせて作られた専用のOHPシートもあります。

### 2. OHPシート作成上の注意

- 1) A4サイズ(21.0×29.5cm)のフィルムを使用して下さい。

OHPで投影可能な範囲は、縦20cm×横28cmの枠内です(下図参照)。

- 2) 文字はできるだけ大きく・太く書き、会場後部の人にも読めるようにして下さい。  
A4サイズ横置きの場合、タイトルは15mm画48ポイントの文字で、本文は8～12mm画24～36ポイントの文字で1行24字以内、1枚6～11行以内が適当です(下図参照)。
- 3) 論文の図は縦型が多く字も細かいので、参加者が見やすいように口頭発表用に描き改めて下さい。
- 4) カラーのスライドでは、背景色として暗い色がしばしば使われますが、OHPでは明るい色を背景色に使用した方がよいようです。
- 5) 水性ペン(水性インクも)の文字や図は汗や湿気で消えやすいので注意が必要です。



### 3. OHP映写上の注意

- 1) OHPの使用は1台です。また、同じものを繰り返し使用する場合は、その数だけOHPシートをご用意ください。枚数に制限はありません。
- 2) OHPシートの操作は、原則として共同研究者のご協力により行って下さい。やむを得ぬ場合のみ大会本部からサポートします。
- 3) データの指し示しは、スクリーン上で行って下さい。
- 4) 口演が終了してもOHPスイッチを切らないで下さい。
- 5) OHPシートの上下、左右、表裏を間違えないようにして下さい。
- 6) OHPシートが互いに接着しないように、間に紙などを挟み、スムーズに提示できるよう配慮して下さい。
- 7) OHPに液晶パネルを載せてパソコンからの映像を映写する方法もありますが、本大会ではご遠慮下さい。液晶プロジェクターを用いてノート型パソコンからの出力を映写する方法もご遠慮下さい。

## 発表申込書類の記入要領

発表申込用に、予稿集抄録用紙【B-1】、索引用氏名一覧表【B-2】、連絡書【B-3】が綴じ込まれています。「記入例」を参考にして必要事項を記入して下さい。

1. 予稿集抄録用紙【B-1】：抄録原稿は、そのまま写真製版致します。必ず郵送して下さい。

1) 演題名・所属・氏名および発表内容の要約(本文)を、予稿集抄録用紙【B-1】にワープロで枠からはみ出さないように印刷して下さい。

まず「演題名」を書き、行を変えて「所属・氏名」を記入して下さい。次に、行を変え1行あけて抄録をお書き下さい。なお、**演者名にはアンダーラインを引いて下さい**。12ポイントの文字をお使い下さい。

2) 日本生理学雑誌と*Japanese Journal of Physiology* の分類は統一されています。下の[表1]に示した項目から第1および第2希望を選び、その分類番号を記入して下さい。

[表1]

1. Cellular & molecular physiology (細胞・分子生理)
2. Transport across cell membrane (膜輸送)
3. Heart & circulation (心臓・循環)
4. Respiration (呼吸)
5. Blood (血液)
6. Kidney & body fluids (腎・体液)
7. Gastrointestinal functions (消化・吸収)
8. Muscle physiology (筋)
9. Ionic channels & receptors (イオンチャンネル・リセプター)
10. Neurons & synaptic functions (ニューロン・シナプス)
11. Sensory functions (感覚)
12. Motor functions (運動機能)
13. Higher CNS functions (高次中枢機能)
14. Autonomic nervous functions (自律神経)
15. Behavior & biological rhythm (行動・生体リズム)
16. Neurochemistry (神経化学)
17. Endocrine glands & hormones (内分泌)
18. Reproductive physiology (生殖)
19. Development, growth & aging (発生・成長・老化)
20. Nutrition, energy metabolism & body temperature (栄養・代謝・体温)
21. Exercise physiology (体力)
22. Environmental physiology (環境)
23. Pathophysiology (病態生理)
24. Miscellaneous: modelling & simulation, methodology, history, etc. (その他：モデリング・研究法・歴史など)

3) 「キーワード」と「使用動物種」を記入して下さい。「キーワード」は3語以内(英語)を記入し、「使用動物種」は該当項目番号を○で囲んで下さい。

4) 発表形式の希望欄では「a.口演発表」「b.ポスター発表」「c.どちらでも良い」のいずれかを選んで下さい。ただし、「a.口演発表」の選択は原則として1教室(研究室)あたり1演題にして下さい。また、ご希望に添えない場合もありますので、発表形式(口演・ポスター)の決定は大会事務局にお任せ下さい。

5) 動物実験を日本生理学会の「生理学領域における動物実験に関する基本的指針」(日本生理学雑誌 53(1), 1991)に沿って行ったことを確認するために、**予稿集抄録用紙【B-1】**の所定の欄に演者の署名をお願い致します。

## 2. 索引用氏名一覧表【B-2】

演者および連名発表者全員の氏名を英字と漢字にてご記入下さい。また、正会員・臨時会員のいずれか該当する方に○を付けて下さい。英字は半角を使用して下さい。

## 3. 連絡書【B-3】

演題名と演者名を該当欄に記入して下さい。大会プログラムが決まり次第、分類番号・演題番号・発表形式・発表日・会場・発表時刻をお知らせ致します。

4. プログラム編集用に、予稿集抄録用紙【B-1】と索引用氏名一覧表【B-2】の鮮明なコピーを6部お送り下さい。

5. 【B-1】および【B-2】に記入された内容をE-mail あるいはフロッピーディスクで送付する際には、分類番号(第1希望および第2希望)、抄録原稿、キーワード、使用動物種、索引用氏名一覧表の順にテキストファイル形式でお願い致します。分類番号、キーワード、索引用氏名一覧表はコンマ区切りで、また使用動物種は番号で記入して下さい。E-mail の場合は Subject の欄に Abstract と表記してアドレス [phys75@med.kanazawa-u.ac.jp](mailto:phys75@med.kanazawa-u.ac.jp) までお送り下さい。

## 書類の提出期限・提出方法一覧表

|                                               | 書 類 名                                                         | 提出期限               | 提出方法   |
|-----------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|--------------------|--------|
| A<br><br>大会参加<br>申し込み<br><br><br>記念写真<br>申し込み | ①【A-1】大会参加申込書(郵便振替用紙)                                         | 平成9年11月4日          | 振 込    |
|                                               | ②【A-2】大会用名簿                                                   | 平成9年11月4日<br>(必 着) | 郵 送    |
|                                               | ③【A-3】受取通知書<br>(切手を貼って下さい。)                                   |                    |        |
|                                               | ④ 予稿集郵送用「ゆうパック」ラベル                                            |                    |        |
|                                               | ⑤【A-4】記念写真郵送用ラベル                                              |                    |        |
| B<br><br>発 表<br>申し込み                          | ⑥【B-1】予稿集抄録用紙                                                 | 平成9年11月4日<br>(必 着) | 郵 送    |
|                                               | ⑦【B-2】索引用氏名一覧表                                                |                    |        |
|                                               | ⑧【B-1】、【B-2】のコピー6部                                            |                    |        |
|                                               | ⑨【B-3】連絡書<br>(切手を貼って下さい。)                                     |                    |        |
|                                               | ⑩ 予稿集抄録・キーワード・索引用氏名<br>一覧表をE-mailで送って下さい。<br>(フロッピーディスクでも可)   |                    | E-mail |
| C                                             | ⑪【C-1】英文校閲用抄録原稿用紙<br>(およびコピー1部)                               | 発 表 当 日            | 受付へ    |
|                                               | ⑫ 校閲済原稿返信用封筒<br>(【C-1】の注意事項を参照して演<br>者でご用意下さい。切手を貼って<br>下さい。) |                    |        |

A欄の②～⑤、B欄の⑥～⑩は、一括して送って下さい。

送り先：〒920-8640

金沢市宝町13-1

金沢大学医学部第一生理学講座内

第75回日本生理学会大会事務局

Tel：076-265-2168

Fax：076-234-4223

E-mail：phys75@med.kanazawa-u.ac.jp

# 「記入例」

## 【B-1】 予稿集抄録用紙

(何も記入しないで下さい)

|                           |                  |      |
|---------------------------|------------------|------|
| 希望発表形式(希望するものに○を付けて下さい)   | 分類番号(記入 要領・表1参照) |      |
| a. 口演発表(この選択は一教室に一演題のみです) | 第1希望             | 第2希望 |
| b. ポスター発表                 | 9                | 10   |
| c. どちらでも良い                |                  |      |

### 抗不整脈薬クロフィリウムによるKチャネルのモード変換

北海道大・薬・薬剤<sup>1</sup>、金沢大・医・神経物性<sup>2</sup>

三宅教尚<sup>1</sup>、吉松亜希子<sup>1</sup>、Alla Egorova<sup>1,2</sup>、鍾 振国<sup>2</sup>、東田陽博<sup>2</sup>

単一のKチャネル分子種(NGK1,Kv1.2)を発現させたラット線維芽細胞で、2種類の成分を持つK電流を観測した。クロフィリウムは、速い成分を増大し遅い成分を抑制した。これら2種類の電流成分は単一Kチャネル分子の2種類のモードに起因しており、クロフィリウムはモード間の変換を行っていることがシングルチャネル記録により示唆された。

|                      |                   |                  |            |
|----------------------|-------------------|------------------|------------|
| キーワード<br>(英語・半角3語以内) | potassium channel | whole-cell-patch | arrhythmia |
|----------------------|-------------------|------------------|------------|

|                          |                                                                                                        |
|--------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 使 用<br>動物種<br>(○を付けて下さい) | 1. ヒト 2. サル 3. イヌ 4. ネコ 5. ウシ 6. ウサギ<br>⑦ ラット 8. マウス 9. モルモット 10. ニワトリ 11. カエル<br>12. その他(動物種を記入して下さい) |
|--------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|

動物の取り扱いとは日本生理学会の「生理学領域における動物実験に関する基本的指針」に沿って行った。

三 宅 教 尚

(演者自著)

## 【B-2】 索引用氏名一覧表

「会員」欄には、正会員は正、臨時会員は臨に○を付けて下さい。

|    | 姓(Family name) | 名(Forename) | 会員 |    | 姓(Family name) | 名(Forename) | 会員 |
|----|----------------|-------------|----|----|----------------|-------------|----|
| 英字 | Miyake         | Michihisa   | 正  | 英字 |                |             | 正  |
| 漢字 | 三 宅            | 教 尚         | 臨  | 漢字 |                |             | 臨  |
| 英字 | Yoshimatu      | Akiko       | 正  | 英字 |                |             | 正  |
| 漢字 | 吉 松            | 亜希子         | 臨  | 漢字 |                |             | 臨  |
| 英字 | Egorova        | Alla        | 正  | 英字 |                |             | 正  |
| 漢字 |                |             | 臨  | 漢字 |                |             | 臨  |
| 英字 | Zhong          | Guo-Zhen    | 正  | 英字 |                |             | 正  |
| 漢字 | 鍾              | 振 国         | 臨  | 漢字 |                |             | 臨  |
| 英字 | Higashida      | Haruhiro    | 正  | 英字 |                |             | 正  |
| 漢字 | 東 田            | 陽 博         | 臨  | 漢字 |                |             | 臨  |

【B-1】 予稿集抄録用紙

(何も記入しないで下さい)

|                           |                 |      |
|---------------------------|-----------------|------|
| 希望発表形式(希望するものに○を付けて下さい)   | 分類番号(記入要領・表1参照) |      |
| a. 口演発表(この選択は一教室に一演題のみです) | 第1希望            | 第2希望 |
| b. ポスター発表                 |                 |      |
| c. どちらでも良い                |                 |      |

|                      |  |  |  |
|----------------------|--|--|--|
| キーワード<br>(英語・半角3語以内) |  |  |  |
|----------------------|--|--|--|

|                              |                                                                                 |
|------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| 使 用<br>動物種<br>(○を付け<br>て下さい) | 1. ヒト 2. サル 3. イヌ 4. ネコ 5. ウシ 6. ウサギ<br>7. ラット 8. マウス 9. モルモット 10. ニワトリ 11. カエル |
|                              | 12. その他(動物種を記入して下さい)                                                            |

動物の取り扱いとは日本生理学会の「生理学領域における動物実験に関する基本的指針」に沿って行った。

(演者自著)

【B-2】 索引用氏名一覧表 「会員」欄には、正会員は正、臨時会員は臨に○を付けて下さい。

|    | 姓(Family name) | 名(Forename) | 会員 |    | 姓(Family name) | 名(Forename) | 会員 |
|----|----------------|-------------|----|----|----------------|-------------|----|
| 英字 |                |             | 正  | 英字 |                |             | 正  |
| 漢字 |                |             | 臨  | 漢字 |                |             | 臨  |
| 英字 |                |             | 正  | 英字 |                |             | 正  |
| 漢字 |                |             | 臨  | 漢字 |                |             | 臨  |
| 英字 |                |             | 正  | 英字 |                |             | 正  |
| 漢字 |                |             | 臨  | 漢字 |                |             | 臨  |
| 英字 |                |             | 正  | 英字 |                |             | 正  |
| 漢字 |                |             | 臨  | 漢字 |                |             | 臨  |
| 英字 |                |             | 正  | 英字 |                |             | 正  |
| 漢字 |                |             | 臨  | 漢字 |                |             | 臨  |

## 【A-2】

## 大会用名簿

|            |                   |
|------------|-------------------|
| 研 究<br>機 関 | 教室名<br>部門名        |
| 〒<br>住 所   | (新郵便番号7桁を記入して下さい) |
| Tel        | Fax               |
| 連 絡<br>代表者 | E-mail            |

名簿(下記の注意事項に従って記入して下さい)

| ①<br>氏 名 | ②<br>大会参加 | ③<br>正会員 | ④<br>臨時会員 | ⑤<br>非会員 | ⑥<br>演 者 | ⑦<br>連名発表 | ⑧<br>写真希望 | ①<br>氏 名 | ②<br>大会参加 | ③<br>正会員 | ④<br>臨時会員 | ⑤<br>非会員 | ⑥<br>演 者 | ⑦<br>連名発表 | ⑧<br>写真希望 |
|----------|-----------|----------|-----------|----------|----------|-----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|----------|-----------|-----------|
|          |           |          |           |          |          |           |           |          |           |          |           |          |          |           |           |
|          |           |          |           |          |          |           |           |          |           |          |           |          |          |           |           |
|          |           |          |           |          |          |           |           |          |           |          |           |          |          |           |           |
|          |           |          |           |          |          |           |           |          |           |          |           |          |          |           |           |
|          |           |          |           |          |          |           |           |          |           |          |           |          |          |           |           |
|          |           |          |           |          |          |           |           |          |           |          |           |          |          |           |           |
|          |           |          |           |          |          |           |           |          |           |          |           |          |          |           |           |
|          |           |          |           |          |          |           |           |          |           |          |           |          |          |           |           |
|          |           |          |           |          |          |           |           |          |           |          |           |          |          |           |           |
|          |           |          |           |          |          |           |           |          |           |          |           |          |          |           |           |
|          |           |          |           |          |          |           |           | ⑨合計人数    | a         |          |           |          | b        |           | c         |
|          |           |          |           |          |          |           |           |          | 人         | 人        | 人         | 人        | 人        | 人         | 人         |

- ①には、大会参加者の氏名および大会に不参加でも連名発表者になっている人の氏名をすべて記入して下さい。
- 大会に参加される方は②に○印を記入して下さい。参加費 8,000円を納入して下さい。
- ③④⑤のいずれか該当する欄に○印を記入して下さい。
- ⑥には演者の方が○印を記入して下さい。英文校閲費として一題につき 1,500円を納入して下さい。
- ⑦には連名発表者の方が○印を記入して下さい。
- ⑥および⑦は、正会員または臨時会員である方に限ります。非会員で発表者(連名発表者を含む)である場合は、速やかに日本生理学会事務局(〒113 東京都文京区本郷3-30-10 布施ビル、Tel: 03-3815-1624、Fax: 03-5684-2539)に正会員または臨時会員の入会手続きをして下さい。
- ⑧には記念写真を希望する方が○印を記入し、記念写真郵送用ラベル【A-4】を一緒にお送り下さい。また、写真代金 1,000円を納入願います。
- ⑨のa,b,c欄は参加申込書【A-1】と受取通知書【A-3】の同欄と一致した数字が入ります。ご確認下さい。
- 一旦納入された代金は、事務手続き上返却に応じかねますので、ご了承下さい。

【A-4】

氏名 住所 〒

記念写真郵送用ラベル（郵便番号は7桁で）

【B-3】

連絡書

（\*のところを記入して下さい。）

|      |  |
|------|--|
| *演題名 |  |
| *演者名 |  |

お申込の上記演題について、次のように決定しました。

|      |  |
|------|--|
| 分類番号 |  |
| 演題番号 |  |

（英文校閲用抄録用紙【C-1】には上記の演題番号を記入して下さい。）

|   |    |   |   |
|---|----|---|---|
| 日 | 会場 | 時 | 分 |
|   |    |   |   |

（口演ポスター）

裏面に宛名を明記して  
切手を貼って下さい。

第75回日本生理学会大会事務局

【A-3】 受取通知書

□内に必要な事項を記入して下さい。

|                          |   |
|--------------------------|---|
| 所属                       |   |
| 郵便払込【A-1】                |   |
| 大会参加費・・・8,000円×a人＝       | 円 |
| JJP 英文抄録校閲費・・・1,500円×b人＝ | 円 |
| 記念写真代・・・1,000円×c人＝       | 円 |

|                   |   |
|-------------------|---|
| 合計                | 円 |
| 大会用名簿【A-2】        | 枚 |
| 受取通知書【A-3】        | 枚 |
| 記念写真郵送用ラベル【A-4】   | 枚 |
| 「ゆうパック」ラベル        | 枚 |
| 予稿集抄録用紙【B-1】【B-2】 | 枚 |
| 【B-1, 2】のコピー（6部）  | 組 |
| 連絡書【B-3】          | 枚 |
| フロップीडイス          | 枚 |

上記確かに受領しました。

平成9年 月 日

裏面に宛名を明記して  
切手を貼って下さい。

第75回日本生理学会大会事務局

郵便はがき

|  |  |  |  |  |  |  |
|--|--|--|--|--|--|--|
|  |  |  |  |  |  |  |
|--|--|--|--|--|--|--|

50円切手  
を貼って  
ください

郵便はがき

|  |  |  |  |  |  |  |
|--|--|--|--|--|--|--|
|  |  |  |  |  |  |  |
|--|--|--|--|--|--|--|

50円切手  
を貼って  
ください

金沢市宝町十三の一

金沢大学医学部第一生理学講座内

第75回日本生理学会大会事務局

金沢市宝町十三の一

金沢大学医学部第一生理学講座内

第75回日本生理学会大会事務局

9208640

9208640

## 英文抄録を書く前にご一読下さい

### Suggestion on the Writing of Scientific Abstracts

The object of an abstract is to tell the reader what you did, why you did it, and what you learned. The usual abstract represents much work, and so it is most important that it be written so as to convey as much information as possible.

Some specific comments and examples :

1. The first sentence should introduce the reader to the work : this is most easily done by relating something about the state of the field and why you did the experiments.

To determine whether growth hormone, which facilitates body growth in rats, also affects the nervous system, we investigated its actions on avoidance learning.

2. It helps the reader if there is a closing sentence summarizing the findings : The potentiation of avoidance learning in rats by growth hormone suggests that a development type process may underlie avoidance learning.

3. Long sentences ending with “respectively” are a bit clumsy ; instead of :

Injection of growth hormone increased the rates of oxygen consumption, carbon dioxide production, and respiration by 17%, 22% and 27%, respectively.

it is better to say :

Injection of growth hormone increased the rate of oxygen consumption by 17%, the rate of carbon dioxide production by 22%, and the respiration rate by 27%.

4. Verb tenses : the common practice is to express the work being described in the past tense :

The average weights of young rats injected with growth hormone were increased by about 15%.

and previously reported work is expressed in either the present or past tense :

Growth hormone is known to increase the rate of limb growth in young rats.

5. Adjectival phrases, that is phrases describing something, should be placed as close as possible to what they are describing ; instead of :

Measurements of the rates of maze learning showed a great increase in the dark.

it is better to say :

The rates of maze learning measured in the dark were greatly increased.

Note that the phrase “in the dark” describes the condition under which the rates of maze learning was measured.

I learned from the two writing workshops that I conducted in Japan that one's colleagues can frequently be very helpful. Therefore I recommend that people take advantage of their colleagues and ask them to read their abstract and comment on them.

Charles Edwards

【C-1】 英文校閲用抄録原稿用紙

|      |      |         |
|------|------|---------|
| 分類番号 | 演題番号 | 連絡先     |
|      |      | Tel:    |
|      |      | Fax:    |
|      |      | E-mail: |
|      |      |         |

注意事項

- 1) 裏面の「作成様式」を参照して、この用紙にご記入下さい。
- 2) 大会当日に、この「英文校閲用抄録原稿用紙」と校閲後の返却のための**返信用封筒(角形2号：240mm×332mm)**に**切手130円を貼付**したものを発表当日会場の抄録受付にコピー1部を添えて提出して下さい。なお、返信用封筒には、演者の氏名・7桁の新郵便番号・住所を記入し、封筒の左下に演題番号(連絡書【B-3】を参照)を**朱書き**して下さい。
- 3) *Japanese Journal of Physiology* 掲載用の清打用原稿用紙は、校閲済み「英文校閲用抄録原稿用紙」とともに送り致します。

*Japanese Journal of Physiology*  
掲載英文抄録原稿(英文校閲用)作成様式

下記の記入例を参考にして、用紙の枠内に12ポイント、ダブルスペースで印刷して下さい。  
所属・住所と本文の間は1行あけて下さい。

**Going Around the City Kanazawa**

KANAZAWA, T.<sup>1</sup>, ISHIKAWA, J.<sup>2</sup>, and STEVENSON, R.<sup>2</sup>

Department of Physiology, Kanazawa University School of Medicine<sup>1</sup>, Kanazawa 920-8640; Graduate  
School of Literature, Ishikawa University<sup>2</sup>, Kanazawa 920-1302, Japan

Kanazawa is small enough to be well suited to walking tours — it only takes an hour to walk from the station clear across town to Daijoji temple. And much of Kanazawa's charm is to be found in the old back streets, the original main roads of the castle town. Winding by old shops and houses, they maintain the atmosphere of the Edo period. Buses travel almost exclusively on the broad avenues built in this century, over the filled-in moats or where a fire leveled a neighborhood. ....

| 臨時会員申込書     |                        |     |  |
|-------------|------------------------|-----|--|
| ふりがな<br>会員名 |                        |     |  |
| 所属先名        |                        |     |  |
| 所在地         |                        |     |  |
| TEL         |                        | FAX |  |
| 有効期限        | 平成 10 年 3 月 27 日から 1 年 |     |  |
| 大会名         | 第 75 回 日本生理学会大会（於：金沢）  |     |  |

## 日本生理学会入会申込書

|              |                                              |    |              |                             |       |            |
|--------------|----------------------------------------------|----|--------------|-----------------------------|-------|------------|
| ふりがな<br>氏 名  |                                              |    | ローマ字<br>NAME | 姓(Family Name), 名(Forename) |       |            |
| 年入会          | 明・大・昭                                        | 年  | 月            | 日生                          | 男 女   | 学位         |
|              |                                              |    | 最終<br>学歴     | 大学                          | 学部    | 年卒業        |
| 勤            | 名称(和文)                                       |    |              | 職名                          | 大学院   | 在学中<br>年修了 |
| 務            | 名称(英文)                                       |    |              | TEL                         |       |            |
|              | 所在地(和文)<br>〒                                 |    |              | FAX                         |       |            |
|              | 所在地(英文) 記入例・愛知県AICHI, 名古屋市NAGOYA...郵便物の届く程度に |    |              | JAPAN                       |       |            |
| 先            | E-MAIL ADDRESS                               |    |              |                             |       |            |
| 自            | 和文<br>〒                                      |    |              | TEL                         |       |            |
| 宅            | 英文                                           |    |              | FAX                         |       |            |
|              |                                              |    |              | JAPAN                       |       |            |
| 通信及び<br>雑誌送先 | 勤務先                                          | 自宅 | 専門分野         |                             | 紹介評議員 |            |
|              |                                              |    |              |                             | ㊞     |            |

新規入会および臨時会員の申し込みをされる方へ

1. 上記の申込葉書に必要事項をご記入の上、日本生理学会事務局宛にお送り下さい。会費(正会員 8,000円、臨時会員 4,000円)は、挟み込みの郵便振替用紙を使用しご送金下さい。
2. 臨時会員の有効期間は、今回の大会の初日平成10年 3月27日から 1年間で、次回の大会時には改めて申し込んで下さい。その期間内の地方会にも有効です。  
この臨時会員の有効期限をご自身で銘記しておいて下さい。

郵便はがき

|   |   |   |  |  |  |  |
|---|---|---|--|--|--|--|
| 1 | 1 | 3 |  |  |  |  |
|---|---|---|--|--|--|--|

50円切手を貼って  
ください

東京都文京区本郷三―三〇―一〇  
布施ビル  
日本生理学会 御中

郵便はがき

|   |   |   |  |  |  |  |
|---|---|---|--|--|--|--|
| 1 | 1 | 3 |  |  |  |  |
|---|---|---|--|--|--|--|

50円切手を貼って  
ください

東京都文京区本郷三―三〇―一〇  
布施ビル  
日本生理学会 御中

# 宿泊及び航空券のご案内

平成10年3月27日(金)~3月29日(日)3日間、金沢市におきまして第75回日本生理学会大会が盛大に開催されますことを心よりお祝い申し上げます。

さて、この度、大会に参加される皆様の便宜をおはかりするため、宿泊・航空券等のお世話を「北日本観光旅行社・第75回日本生理学会大会係」がさせていただきますことになりました。

ご参加されます皆様に喜んでいただけますよう充分な配慮を致す所存でございます。

多数の皆様がご利用くださいますようご案内申し上げます。

## 1. 宿泊のご案内

【宿 泊 期 間】平成10年3月26日(木)~29日(日)

【宿 泊 条 件】1泊朝食付き、税金・サービス料込み(お一人様)

| ホ テ ル 名                                                                                                                 | 部屋タイプ | 宿泊料金            | 区分  |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|-----------------|-----|
| ホテル日航金沢 金沢全日空ホテル<br>金沢東急ホテル 金沢スカイホテル(ツイン)                                                                               | シングル  | 11,500円~12,000円 | A S |
|                                                                                                                         | ツイン   | 9,500円~10,000円  | A T |
| 金沢都ホテル・金沢ニューグランドホテル・ニューグランドホテルアネックス・ホリディイン金沢<br>金沢ワシントンホテル・ガーデンホテル金沢・金沢シティモントホテル<br>金沢白鳥路ホテル(ツインのシングル利用)・金沢スカイホテル(シングル) | シングル  | 9,500円~11,000円  | B S |
|                                                                                                                         | ツイン   | 8,500円~ 9,000円  | B T |
| 金沢セントラルホテル・キャッスルイン金沢・金沢シティホテル<br>ホテルアクティ金沢・ガーデンホテル金沢・金沢白鳥路ホテル(ツイン)                                                      | シングル  | 8,000円~ 9,000円  | C S |
|                                                                                                                         | ツイン   | 7,500円~ 8,300円  | C T |
| ニューグランドイン金沢・金沢ファーストホテル・信開ホテル金沢<br>信開ホテル野町・金沢ロイヤルホテル・金沢プリンスホテル・金沢ステーションホテル<br>金沢サンシャインホテル・第一ホテル広坂                        | シングル  | 6,500円~ 7,800円  | D S |
|                                                                                                                         | ツイン   | 5,800円~ 7,300円  | D T |

※宿泊ホテルのご希望については、お申込順に予約致しますが、ご希望通りにならない場合もありますので  
ご了承下さい。

※ツインルームは、お二人様でお申込下さい。

シングルルームお申込の場合でもツインルーム又はダブルルームをお一人で利用していただく場合があります。

## 2. 航空券のご案内

★設定便は、団体特別運賃を適用しておりますので、15名様以上のお申込があった場合のみ適用となります。

15名様に満たない場合は、事前にご連絡申し上げ、便の変更あるいは普通運賃で対応させていただきます。

設定路線以外、または事前購入割引をご希望の方は、下記をご覧ください。申込書にその旨をお書き下さいますようお願い致します。

## (1)航空便(団体設定便)のスケジュール

平成9年5月現在の予定スケジュールです

| 往      | 路           | 3月25日 | 3月26日 | 復      | 路           | 3月28日 | 3月29日 |
|--------|-------------|-------|-------|--------|-------------|-------|-------|
| 区 間    | 出発予定時刻      | 記号    | 記号    | 区 間    | 出発予定時刻      | 記号    | 記号    |
| 東京→小松  | 7:30~ 8:00  | 5A    | 6A    | 小松→東京  | 8:00~ 8:30  | 8A    | 9A    |
| "      | 8:30~ 9:00  | 5B    | 6B    | "      | 8:30~ 9:00  | 8B    | 9B    |
| "      | 9:30~10:00  | 5C    | 6C    | "      | 9:30~10:00  | 8C    | 9C    |
| "      | 10:30~11:00 | 5D    | 6D    | "      | 11:30~12:00 | 8D    | 9D    |
| "      | 15:00~15:30 | 5E    | 6E    | "      | 12:30~13:00 | 8E    | 9E    |
| "      | 17:00~17:30 | 5F    | 6F    | "      | 15:30~16:00 | 8F    | 9F    |
| "      | 17:30~18:30 | 5G    | 6G    | "      | 16:30~17:30 | 8G    | 9G    |
| "      | 18:30~19:00 | 5H    | 6H    | "      | 18:30~19:30 | 8H    | 9H    |
| "      | 19:00~19:30 | 5J    | 6J    | "      | 19:30~20:00 | 8J    | 9J    |
| 札幌→小松  | 10:00~11:00 | 5K    | 6K    | 小松→札幌  | 10:00~11:00 | 8K    | 9K    |
| 福岡→小松  | 8:30~ 9:00  | 5M    | 6M    | 小松→福岡  | 10:30~11:00 | 8M    | 9M    |
| "      | 16:30~17:00 | 5N    | 6N    | "      | 18:30~19:00 | 8N    | 9N    |
| 沖縄→小松  | 11:30~12:30 | 5P    | 6P    | 小松→沖縄  | 12:00~13:00 | 8P    | 9P    |
| 仙台→小松  | 10:30~11:30 | 5R    | 6R    | 小松→仙台  | 16:00~17:00 | 8R    | 9R    |
| 鹿児島→小松 | 10:30~11:30 | 5S    | 6S    | 小松→鹿児島 | 12:30~13:30 | 8S    | 9S    |

## ★学会参加者割引運賃

| 区間     | 東京~小松   | 札幌~小松   | 福岡~小松   | 沖縄~小松   | 仙台~小松   | 鹿児島~小松  |
|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 片道普通運賃 | 15,850円 | 27,400円 | 24,550円 | 34,700円 | 20,100円 | 26,150円 |
| 割引運賃   | 12,850円 | 19,500円 | 19,800円 | 27,900円 | 14,300円 | 21,070円 |

## ★航空便(設定便以外)のご案内

※設定便以外のご予約も承ります。ご希望の方は、申込書にお書き下さい。

小松空港へは下記の便が運行されております。

|       |             |       |             |                  |
|-------|-------------|-------|-------------|------------------|
| 広島→小松 | 9:00~10:00  | 小松→広島 | 11:00~12:00 | 小松→広島(片道)18,350円 |
| "     | 16:30~17:30 | "     | 18:00~19:00 | (往復割)33,040円     |
| 岡山→小松 | 8:30~ 9:00  | 小松→岡山 | 10:30~11:00 | 小松→岡山(片道)18,100円 |
| "     | 15:30~16:00 | "     | 17:00~17:30 | (往復割)12,650円     |
| 出雲→小松 | 16:30~17:30 | 小松→出雲 | 16:00~16:30 | 小松→出雲(片道)18,250円 |
|       |             |       |             | (往復割)32,860円     |

運行日によりダイヤが異なる場合があります

## ★事前購入割引もお取り扱いいたします

ご希望の方は、申込書に具体的にご記入下さい。ご利用条件・取消料等は航空会社の規定に基づきます。

団体設定便との重複予約はお受けできません。

## ====事前購入割引の一例====

|         |               |             |               |
|---------|---------------|-------------|---------------|
| # 前売り28 | 搭乗日の28日前までに予約 | 割引率・・45~50% | 取消料・・券面金額の50% |
| # 前売り21 | 搭乗日の21日前までに予約 | 割引率・・約30%   | 取消料・・券面金額の35% |
| # 前売り14 | 搭乗日の14日前までに予約 | 割引率・・約20%   | 取消料・・券面金額の25% |

◎事前購入割引が適用される席数には限りがあります。ご希望にそえない場合があります

また事前の予約変更はできません。

### 3. 申し込み手続きおよび精算方法について

- (1) 申し込み受付締切日……平成10年2月20日(金)
- (2) 申し込み方法……別紙申込書に必要事項をご記入のうえ、郵送又はファクシミリでお願いします。  
原則として電話でのお申込みはお受けできません。
- (3) 支払方法……申し込み締切後、宿泊予約券・交通機関等のご利用料金分の請求書をお送りいたします。通信連絡費として、一件につき500円を申し受けます。

《振込銀行》 北国銀行 金沢駅前支店  
普通口座 109135  
口座名 第75回日本生理学会大会

### 4. 申込み後の取消し、変更について

申し込み後の取消し、変更につきましては、必ず北日本観光旅行社宛に文書(葉書)、ファクシミリ等によりご連絡ください。なお、申込み後の取消しについては、お一人様につき下記料金の取消料を頂戴します。  
宿泊及び観光(1件につき下記料金の取消料を頂戴します。)

| 取消日 | 15日前~5日前 | 4日前~2日前  | 前日       | 当日(不泊・開始後) |
|-----|----------|----------|----------|------------|
| 宿泊  | 1,000円   | 2,000円   | 宿泊料の50%  | 全額         |
| 観光  | 旅行代金の20% | 旅行代金の30% | 旅行代金の40% | 全額         |

航空券(1区間につき下記料金の取消料をいただきます。特別航空運賃のみ適用)

| 特別航空運賃             | 13日前から4日前まで | 出発の3日前以降 |
|--------------------|-------------|----------|
| 10,000円以上20,000円未満 | 2,000円      | 4,000円   |
| 20,000円以上30,000円未満 | 3,000円      | 6,000円   |

### 1. 申し込み及び問い合わせ先

北日本観光旅行社 本社・第75回日本生理学会大会係  
担当 塚本 藤田 中井  
〒921 金沢市泉野町1-4-4  
TEL (076)244-7373  
FAX (076)243-7400

#### エクスカーションのご案内

A及びBコースは《3月29日(日)、30日(月)の2日間》を予定しております。

Cコースは、3月29日(日)~30日(月)になります

**Aコース** : 《能登半島の旅》渚のドライブ・千里浜なぎさドライブウェイ・能登金剛・巖門(日帰り) (旅行代金 7,800円)

9:00 10:20~10:40 11:00~11:30 12:20~13:40 15:20  
金沢———千里浜なぎさドライブウェイ———羽咋・気多大社———能登金剛・巖門(昼食)———金沢

**Bコース** 《世界文化遺産の旅》五箇山・合掌造り 井波・らんま彫刻(日帰り) (旅行代金 8,700円)

9:00 10:20~11:30 12:20~14:00 15:00~15:30  
金沢———井波・らんま彫刻———(飛越合掌ライン)———五箇山・合掌集落(昼食)———福光・棟方志功  
16:30  
記念館———金沢

**Cコース** 《日本一の旅館・加賀屋に宿泊、能登半島一周の旅》

(1泊2日) (旅行代金 43,000円) 個室ご希望の場合料金は高くなります。

14:00頃 16:00  
金沢———千里浜なぎさドライブウェイ———和倉温泉、加賀屋・渚亭(泊)  
9:00 10:00~12:00 12:10~13:20 14:30~15:00  
和倉温泉———輪島・朝市(見学)———輪島塗(稲忠漆芸会館)見学(昼食)———門前———能登金剛・巖門  
16:30 17:20  
———金沢———小松空港

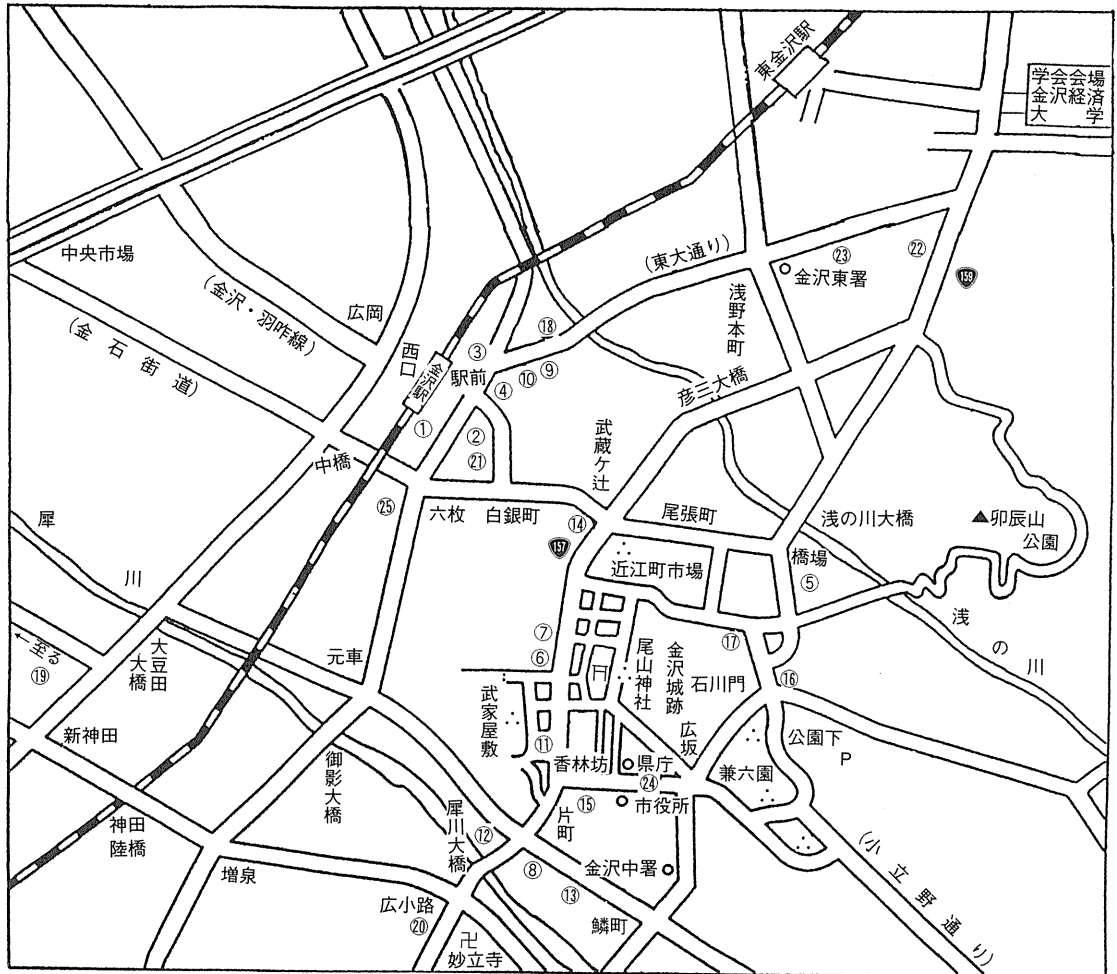
#### ====ご旅行条件====

※各コースとも最少催行人員25名様です。催行人員に満たない場合中止又はコースの変更をお願いする場合があります。日帰りの場合7日前、宿泊コースの場合14日前までにご連絡し、お預かりしている代金を全額お返しします。

※各コースとも添乗員が同行します。

※Cコースの宿泊は、6名様以上で一部屋利用(男女別相部屋)になります。

## 会場・宿泊施設案内



会場へは、金沢駅からタクシーで10分程度です。

### 【宿泊施設】

| 番号 | ホテル名            | タイプ | 番号 | ホテル名        | タイプ | 番号 | ホテル名        | タイプ |
|----|-----------------|-----|----|-------------|-----|----|-------------|-----|
| ①  | 金沢全日空ホテル        | A   | ⑩  | 金沢ステーションホテル | D   | ⑲  | 信開ホテル金沢     | D   |
| ②  | ホテル日航金沢         | A   | ⑪  | 金沢東急ホテル     | A   | ⑳  | 信開ホテル野町     | D   |
| ③  | ホリデイ・イン金沢       | B   | ⑫  | 金沢プリンスホテル   | D   | ㉑  | ガーデンホテル金沢   | C   |
| ④  | 金沢都ホテル          | B   | ⑬  | 金沢ファーストホテル  | D   | ㉒  | 金沢ロイヤルホテル   | D   |
| ⑤  | 金沢シティモンドホテル     | B   | ⑭  | 金沢スカイホテル    | B   | ㉓  | 金沢サンシャインホテル | D   |
| ⑥  | 金沢ニューグランドホテル    | B   | ⑮  | ホテルアクティ金沢   | C   | ㉔  | 第一ホテル広坂     | D   |
| ⑦  | ニューグランドホテルアネックス | B   | ⑯  | ニューグランドイン金沢 | C   | ㉕  | 金沢シティホテル    | C   |
| ⑧  | 金沢ワシントンホテル      | B   | ⑰  | 金沢白鳥路ホテル    | B   |    |             |     |
| ⑨  | キャッスルイン金沢       | C   | ⑱  | 金沢セントラルホテル  | C   |    |             |     |

# 第75回 日本生理学会大会 宿泊・航空券・観光申込書

お申込日 月 日

|                      |     |    |       |      |      |      |       |      |      |              |      |      |      |
|----------------------|-----|----|-------|------|------|------|-------|------|------|--------------|------|------|------|
| フリガナ                 |     |    |       |      |      |      |       |      |      |              |      |      | 勤務先  |
| 代表者氏名                |     |    |       |      |      |      |       |      |      |              |      |      |      |
| 勤務先<br>住所            |     |    |       |      |      |      |       |      |      |              |      |      |      |
|                      | TEL |    |       |      |      |      | FAX   |      |      |              |      |      |      |
| 宿泊者氏名                | 性別  | 年齢 | 宿泊希望日 |      |      |      | 希望ホテル |      |      | 航空券(団体設定便のみ) |      |      |      |
|                      |     |    | 3/26  | 3/27 | 3/28 | 3/29 | タイプ   |      |      | 往路           |      | 復路   |      |
|                      |     |    | (木)   | (金)  | (土)  | (日)  | 第一希望  | 第二希望 | 第三希望 | 第一希望         | 第二希望 | 第一希望 | 第二希望 |
| キタカン タロウ<br>(例)北観 太郎 | 男   | 40 |       | ○    | ○    | ○    | A S   | B S  | C S  | 5 A          | 5 B  | 9 H  | 9 J  |
| 1                    |     |    |       |      |      |      |       |      |      |              |      |      |      |
| 2                    |     |    |       |      |      |      |       |      |      |              |      |      |      |
| 3                    |     |    |       |      |      |      |       |      |      |              |      |      |      |
| 4                    |     |    |       |      |      |      |       |      |      |              |      |      |      |
| 5                    |     |    |       |      |      |      |       |      |      |              |      |      |      |
| 6                    |     |    |       |      |      |      |       |      |      |              |      |      |      |
| 7                    |     |    |       |      |      |      |       |      |      |              |      |      |      |
| 8                    |     |    |       |      |      |      |       |      |      |              |      |      |      |

※設定便以外及び事前購入割引のご希望便がありましたらお書き下さい。

【例】3/27・出雲→小松 3/29・小松→出雲

|  |
|--|
|  |
|--|

※エキスカッション《観光コース》申し込み

|        |       |   |                         |   |   |    |   |
|--------|-------|---|-------------------------|---|---|----|---|
| 参加代表者名 | ご参加人数 | 男 | 名                       | 女 | 名 | 合計 | 名 |
| 参 加 日  | 月     | 日 | ご希望コース A B C            |   |   |    |   |
|        |       |   | Cコースご希望の方 男女別相部屋 個室( 名) |   |   |    |   |
|        |       |   | ご希望のところを○で囲んで下さい        |   |   |    |   |

申込締切日

平成10年  
2月20日(金)

申込送付先

北日本観光旅行社

第75回日本生理学会大会係宛 担当 塚本 藤田 中井

〒921 石川県金沢市泉野町1-4-4

TEL (076) 244-7373

FAX (076) 243-7400

## 目 次

第75回日本生理学会大会案内（第2報）

〔巻頭言〕 雑談的意見（富田忠雄） ..... 225

第74回日本生理学会大会を開いて ..... 227

第74回日本生理学会大会記念写真 ..... 231

第19回生理学コンピューター研究会報告 ..... 233

**INFORMATION**

(財)ブレインサイエンス振興財団

第12回研究助成候補者・塚原仲晃記念賞受賞候補者及び

第11回国際交流助成候補者の推薦を公募 ..... 235

千里ライフサイエンスセミナー ブレインサイエンスシリーズ 第10回

「損傷神経の再生と機能修復」 ..... 235

第43回日本宇宙航空環境医学会総会案内 ..... 236

日本医学会だより ..... 237

第27回日本心脈管作動物質学会 ..... 238

第13回疲労研究会と一般口演の演題募集（第1報） ..... 239

第5回「脳の世紀」シンポジウム開催のお知らせ ..... 239

第20回神経研シンポジウム

神経系の発達及び病変修復過程における神経栄養因子・サイトカインの役割 ..... 240

第2回日本医学会特別シンポジウム「医と教育」 ..... 240

**CALENDAR**

主な学会開催日程 ..... 242

**RECORDS**

日本生理学会平成9年度第1回常任幹事会議事録 ..... 243

日本生理学会平成9年度評議員会・総会議事録 ..... 248

平成8年度第4回日本生理学会教育委員会議事録 ..... 254

会員消息 ..... 254

**PROFILE**

|                      |     |
|----------------------|-----|
| 「生理学者群像」(小林春雄) ..... | 255 |
| (高木 都) .....         | 256 |

**OPINION**

|                                                |     |
|------------------------------------------------|-----|
| 第74回日本生理学会大会の際の教育シンポジウム報告 (高田明和) .....         | 257 |
| 学部教育と卒後教育 (富田忠雄) .....                         | 258 |
| 基礎配属 — その現状と課題 — (福田 淳) .....                  | 259 |
| 一般大学における大学院改革 (小澤澗司) .....                     | 260 |
| 学部教育改革の1例: テュートリアルと統合カリキュラム (宮崎俊一) .....       | 262 |
| 学部教育の改革の試み, 基礎分子医学講座, 基礎配属, 選択の臨床実習 (高田明和) ... | 264 |
| ま と め (佐久間康夫) .....                            | 266 |

**実験技術講座**

|                                      |     |
|--------------------------------------|-----|
| シリーズ「生理学者のための分子生物学技術講座」              |     |
| 高田明和: 生理学者のための分子生物学技術講座の連載について ..... | 269 |
| 井本敬二: 分子生物学的実験のための準備と基礎技術 .....      | 271 |
| 久保義弘: 機能発現法による cDNA のクローリング .....    | 279 |
| 都筑馨介・小澤澗司: 単一ニューロンの mRNA 解析 .....    | 301 |

## 巻頭言

## 雑談的意見

藤田保健衛生大学総合医科学研究所  
富田 忠雄

九大理学部生物の初代教授（瀨瀬，小島）は九大医学部生理学教室の同門会員である。理学部が新設された時，東大から赴任され暫く生理で研究をされていたそうである。私が生理に入った頃，理学部に動物学教室が新設されたが，桑原教授（北大より赴任）も教室が完成するまで暫く生理の方で研究され，その後も行き続いて生理で合同セミナーが定期的に開かれていた。また，教室には以前に遺伝の研究に使われた金魚が標本瓶に並んでいたし，第二生理の瀬尾教授は時間感覚という実験心理の研究をされていて，時には哲学的な話を聞かされた。このように，生理学は非常に学問の幅が広いもので，また，いろんな専門分野が生理学から分かれていったことが体験的にも強く感じられた。その後も生物物理や神経科学などの関連分野の学会が設立され，それぞれ立派に育ってきつつある。

生体の機能の分析という広い意味での生理学は細分化されながら，また多くの学部に分散しながら益々発展しているといえる。しかし，本家である（自意識過剰？）医学部の生理学教室やそれを母体とした生理学会はいくつかの問題を抱えているようである。主なものとしては他の活発な分野に較べて優秀な若い人を惹き付ける魅力が足りなくなっていることであろう。研究内容があまりにも細分化され過ぎて，面白味が少なくなったり，指導的立場の生理学者が狭い領域の知識しか持ち得ず，小粒な感じになって人間的魅力も乏しくなっているのも原因の一つかも知れない。

30数年前にロンドンの Guy's Hospital に就職のための面接に行ったとき，生理の N. Hunt 教授（消化管生理）が内科の臨床検討会にしばしば出席して，広い範囲の生理学的見地からいろいろ意見を述べられるのに感心したり，驚異を感じたりしたが，今になって考えると医学部生理学の教授程度の人は少なくとも専門に近い臨床領域の勉強をする努力がもっと必要であるような気がしてならない。脳死の問題などについても生理学者から積極的な発言があつてしかるべきだと思われる。このような態度が長い目でみれば，大なり小なり研究に影響を与え，生理学についてより多くの人に興味を感じさせ，若い人を惹き付けることにも繋がるのではないだろうか。しかし，医学部出身の後継者不足の状態を改善するのは大変難しく，この傾向は益々強くなることも予測される。それで，むしろ他学部から優秀な人材を集め，研究者としてだけでなく立派な教育者として養成していくことも考慮すべきであろう。問田直幹九大名誉教授は随分前にこの点を指摘され，医学部に修

士課程を設けるよう提案されている（日本医師会誌，59：753—757，1968）。なお，教育者養成として考えた場合，人体解剖の実習を初期の段階で行うことも一つの重要な過程ではないかと考えられる。順天堂大学では実際に基礎の教育者を対象に実施されているとのことである。

医学部における生理学教育に関する積極的な意見は特に持ち合わせていない。しかし，知識を与えることも大切であるが，原理的なものを理解させたり，何かに興味を持たせることの方を重視すべきであろう。これには当然ながら小人数でのセミナー形式が有効である。なお，教育には臨床の人材を大いに活用したら良いと思われる。Guy's Hospital に行ったとき呼吸生理の授業が行われていて，内科の講師級の人が担当していて大変良い講義をしていたが，日本では生理学教室の規模が小さくて人材が不足しているので，臨床の人を積極的に生理学の教育に活用したら良いのではないだろうか。どこの大学でも臨床には生理学を教育するのに相応しい大勢の人がいるはずで，臨床生理に偏ったとしても，より立派な内容の教育が行える可能性が考えられる。

## 第74回日本生理学会大会を開いて

第74回日本生理学会大会(浜松医科大学)

当番幹事 森田之大・高田明和・寺川進・高田由美子  
鮫島道和・浦野哲盟・林秀晴・保智巳  
内田勝久・永井信夫・櫻井孝司

第74回日本生理学会大会は平成9年3月26～28日に浜松市のアクティシティ浜松で開催された。平成7年3月の生理学会総会で、浜松医科大学が第74回大会の当番校として正式に決定されたのを受け、早速組織委員会を発足させ、以来、毎月1回委員会を開いて検討を重ねた。第1・第2生理学教室、光量子医学研究センターの他、生化学、薬理学、心理学、生物学、内科学、脳神経外科学、看護学科等、広く学内の生理学関係者が集まって2つの基本方針を決めた。シンポジウムを公募することと、一般発表をポスターにすることである。現在、我が国で活発に研究されている分野からのシンポジストを期待することと、時間的に効率よく発表できるポスター形式を意図したものである。シンポジウムには幸い広い研究領域からの応募を頂いたので、そのタイトル一覧を見れば現在の生理学研究の潮流を伺える。オーガナイザーの方々には多大なご尽力を頂き、深く感謝を申し上げる次第である。会場にはイベント用複合施設として最近作られたアクティシティ浜松を選んだ。今大会の参加者総数は1806名、各シンポジウム、ワークショップ、ランチョンセミナーを併せて総演題数は963にのぼった。お蔭様で大きなトラブルもなく、盛会裡に大会を終了できたことは担当者一同、大変喜ばしく、参加者と協力者各位に厚く御礼を申し上げたい。

### 運営資金・経費

大会の必要経費は、登録料、学会本部からの援助、企業などからの賛助、テクニカルシンポジウム、ランチョンセミナー参加費、展示、予稿集の広告によりまかなうことにした。企業からの賛助は3当番幹事が同額の分担で、ローカルの企業に依頼した。展示と広告の取り扱いについては、学会代行業者に見積りを出してもらい、学会への上納が多い業者に依頼することとした。上納の比率は会社により大変異



なるので、学会を開催される先生方には是非注意して会社を選ぶことをお勧めしたい。テクニカルシンポジウムの参加企業には参加費として25万円をお願いし、ランチョンセミナーの参加企業にはその時間帯で使用した会場費と150～200の弁当(サンドウィッチであった)と缶ジュースを用意してもらった。機器展示への各企業の協力も多かった。会場費が大きなウエイトを占める大会では、これらは大変有効な資金集めの手段であったと思われる。出費の面では、学会専門業者に全てを依頼せず、こちらでできることを選んでやった事により大きな節約ができた。申込書や予稿集用原稿の整理、名簿の整理、振込金の確認などの細かい仕事は、多数の人の協力でできた。アルバイトの確保やコーヒーサービスの準備を自前でやるのはそれなりに大変だったが、安かったわりにより結果であったと考えている。

### 学会開催専門業者

当日の学会運営と発表者のデータベースの作成とを学会専門業者に依頼した。数社から見積もりを取り、複数回の面接の後、学会運営と、企業展示を別々の会社に依頼した。大会本部が主体性を持てれば、業者に依頼することの問題は感じられなかった。相互理解が不可欠であるが、生理学会大会の様な大きな会の運営には当日の現場での専門業者の支援は大

きく、教室からの会場責任者及び大会本部が余裕をもって運営に当たる事が出来た。業者からの借用器材には不必要なものも多く、また3日間借用するより購入した方が、大会後使用できることも考えれば安く上がるものもあった。また案内板等で主催者側で容易に準備できるものも多い。業者との事前の周到な打ち合わせが必要である。見積もりは、業者間でおおいに異なる。事前に複数社の説明と見積もりを慎重に検討することが必須である。総合的には、「学会専門業者には当日の学会運営のみを手伝って貰うのが賢明である」との印象を得た。

### 予稿集

印刷を担当した会社は、大学出入りのもので、良くやってくれた。予稿集の表紙を単純な図柄にして経費の節約が出来た。しかし伝統を壊したかもしれない。一般講演の予稿原稿の集まりは順調だったので、印刷締め切りにも充分間に合い、比較的早い時期(2月中旬)に、予稿集を参加者に届けることが出来た。一方、シンポジウムの形式が新しかったので、予稿の手配をして下さったオーガナイザーの先生方は大変だったかも知れない。お手数をお掛けしたことをお詫びすると共に、ご協力に感謝申し上げる。

### データベース作成

所属単位毎の大会参加申込書を郵便番号順に並べて台帳としたが、これは準備期間全体を通して便利だった。抄録用紙に基づくデータベースの作成は業者に依頼した。業者は依頼された項目についてはデータベースを作成したが、汎用のデータベースではなかったため、後から必要が生じた項目を拾い出して照合することが出来ないといった不便さがあった。むしろ、製版を電子ベースで進めていた予稿集の印刷会社の方が、テキストベースの全てのデータをもっていて、臨機応変の対応をしてくれた。データベースは細かい点で主催者側のチェックが必要であり、結局は自前で作成したほうが経費と使いやすさの点からよかった様に思う。

### 電子メール・ホームページ

学会参加者との連絡や事務局のメンバー間の連絡には、電子メールやメーリングリストによるネットを活用し、便利であった。しかし、抄録を電子メー

ルで集めるには、問題が残った。例えば、大会案内に記入の仕方を文章で示したが、受け取った抄録メールの形式は揃わなかった。記入見本が必要であった。また受け取った抄録メールの管理に手間取った。メール処理の専任者が必要である。ホームページの掲載内容に少しミスがあり、また、受け取った全ての抄録を掲載できず申し訳なかった。ホームページの検索機能の組立については森田が兼任する静岡大学・生体情報処理講座から多大な援助を頂いた。しかし、実際にはさらにプログラミングやネットワーク処理の専門家の手助けが必要であると感じた。例えば、統一形式にないたくさんのデータを統一された形式に直すフィルターを作る必要があるし、データは絶えず更新の必要がある。日本でも、例えば神経科学学会の大会では、インターネット受け付けを始めているが、業者が代行しているようである。そうしたサービス会社が適切な価格で多数出現することが望まれる。

### 学生アルバイト

学会参加意識の高いアルバイト要員を集めるために、その募集は、業者に依頼せず直接行うことにし、浜松医科大学の学生と常葉医療専門学校の学生に依頼した。アルバイト要員は業者の監督下で、前日にマニュアルに添って教育を受け、ほぼ全員が3日間の会期を通して働いた。当日の彼等の働きは特筆に値する。業者による事前教育の効果もあり、仕事ぶりは業者の人も感心していたほどで、参加者からも概ね好評であった。学会に興味を持つ学生アルバイトは、今後も学会運営に重要と思われる。また彼等にとっても学会がどういったものなのかを知るいい機会になったと思う。学生の一人が怪我をしてしまい、配慮が足りなかった点を反省した。保険も考慮に入れると業者に募集依頼をするのも高くないかもしれない。アルバイトの人数として50名は丁度よかったようである。

### 当日の運営

大会本部には、電話、ファックスの他にパソコンとレーザープリンターを設置した。大会途中での緊急掲示等にこれらは不可欠であった。参加者のデータベースが作成されていれば総合受け付けにも設置して、事前参加登録のチェック等に有効に使用でき

たことと思われる。今回使用したアクトシティ浜松は公共の施設であり、時間的な制約が問題になった。通常の業務時間(9:00~17:00)では学会開催には不適で、時間外の使用を余儀なくされた。幸い時間外使用の交渉がまとまり、7時50分に開門し、8時40分から会を始める事が出来た。しかし、かなりの超過料金を出すことになった。使用する施設により状況は異なるが、できるだけ早く始めて、充実したプログラムを組みたい主催者側にとっては、早朝の参加者の輸送手段と併せて、今後も問題になるであろう。本部にはアルバイト2人をおき、電話連絡、ファックス、参加者からの質問を受けたりして、仕事量としては丁度よかった。主要スタッフは携帯無線機で連絡がとれるようにしたのも大いに役立った。

### シンポジウムとポスター展示

今回の生理学会は、口演発表をなくしシンポジウムおよびポスター発表に重点を置いた点が従来の形式と全く異なっている。シンポジウムで現在その分野でもっとも活躍している人達の話しを比較的ゆっくり、しかもまとめて聞くことができ、ポスター発表では、特に自分が興味のある演題について、その演者とゆっくり討論ができた。シンポジウムとポスター発表とを時間的に分離せず、午前中にも一部ポスター発表の時間を作ってもよかったかもしれないが、会場の条件の基では今回のプログラムは成功と考えている。

ポスター会場は十分な広さで、暖房も効いており快適であった。休憩スペースやトイレ・電話・自販機等の設備もよかった。参加者の方からの感想は、

「アメリカの学会のようだ」というものが多く聞かれた。今回のポスター方式について、皆さんのご意見感想を知りたい。何人かの好意的な意見もあったし、ポスター発表は自由討議だけで良いという意見もあった。また、ポスター説明が遅い時間帯だったことは反省の余地がある。自由討議の時間を十分に確保できなかったのが、示説は午前あるいは昼食後が良かったかもしれない。会場は離れていたが、展示、ポスター部分の配置などはよかったと思う。

### 招待講演

今大会では、第1日目にはカリフォルニア大学サンディエゴ校の Prof. Shu Chien に“Molecular and hemodynamic mechanisms of the focal nature of atherogenesis.”と題して、第2日目はサウスカロライナ医科大学の Prof. L. Stephen Frawley に“Molecular Dynamics: A Strategy for Quantifying Gene Expression in Single, Living Cells.”と題して、第3日目はバージニア大学の Prof. Michael Menaker に“The mammalian circadian axis and its roots.”と題して講演してもらった。それぞれ最先端の研究成果を専門外の聴衆にも分かりやすく解説して頂き、多くの反響があった。

### 教育シンポジウムと動物シンポジウム

毎年主催者の企画から独立したシンポジウムとして開催されている。教育も動物実験をめぐる環境も問題が多いのでこれからも同じように独立して、さらに時間帯も総会の前など多くの参加者が見込まれる時に開催されるようにお願いしたい。





### テクニカルシンポジウム

シンポジストの依頼はスポンサーとなるメーカーに一任した。演者は開発担当者であったり、ユーザー側の研究者であったりしたが、説明対象の機器や薬剤を知りつくしている人達であったので、聞きごたえのある内容になったと思われる。聴衆の数も予想以上であった。技術的なテーマでのシンポジウムをメーカーに依頼しても、なかなかおもしろい話が聞けるようになったのは、最近のメーカー側の研究の進展によるところもあるであろう。

### ランチョンセミナー

ランチョンセミナーは今回の大会で試みられたいくつかの新しい企画の一つであった。参加者がどれくらいあるか見当が付かなかったが、昼食時間にやってお弁当を配ることにしたためか、ほぼ満席のものが多く安心した。質問も多く、参加者にも、開催した企業の側にもそれぞれメリットがあったと思われる。

### 機器展示

参加した会社関係からは、特に改善点の指摘はなかったもので、好評だったと考えている。スペースに余裕があり展示はやりやすかったようである。最終日の展示は、お昼過ぎに終了させたいという業者もあったが、最後まで展示を続けてもらった。

### サテライトシンポジウム：

大会前には“Clot Formation and Lysis”(3月21

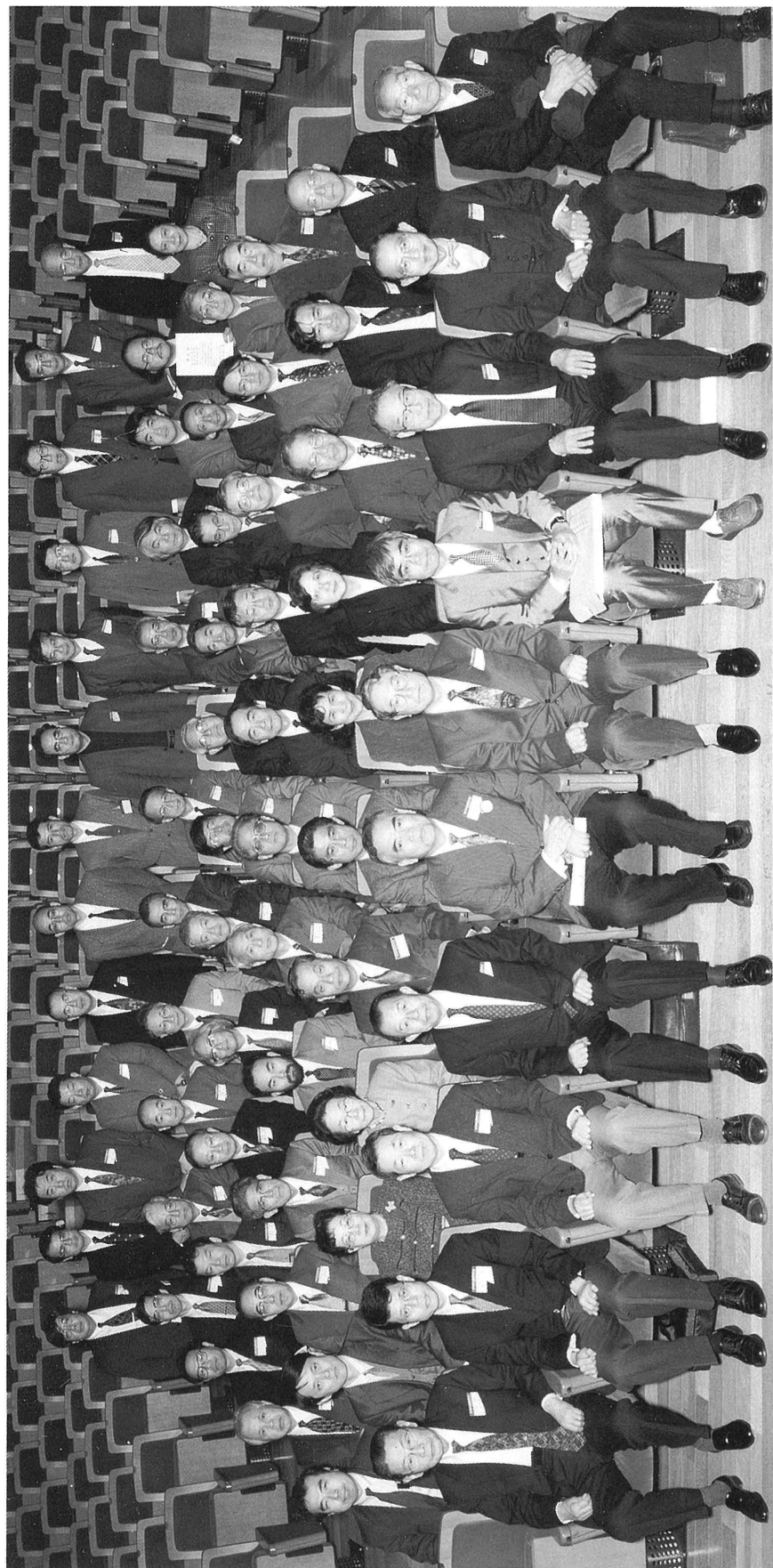
～22日、参加人数120名、演題数27、高田当番幹事担当)、大会後には“1st Meeting of Asia Pacific Pineal Society”(3月28～31日、参加人数100名、演題数72、森田当番幹事担当)の2件がそれぞれ浜松グランドホテルで開催された。多数の海外からの参加者を集め、熱心な質疑応答が続き、この分野の発展に関心をひいていることが伺えた。コンピュータ研究会も東海大学の山口教授による世話で学会前日に開催された。ネット関係の話題で予想以上の参加者(25名ほど)があった。

### 広報活動

広報活動はこれからの生理学会の発展に極めて重要と思われる。新聞、テレビに報道されれば、地域の人達に生理学会の活動を知らしめることが出来、今後の様々な活動にも支援を受けやすくなる。学会後に、新聞社とテレビ局の責任者に話を聞いたところ、事務局と事前の打ち合わせがないとスケジュールに入れにくいということであった。今回は事前に気が回らなかったのでもやむをえなかったが、これからの学会主催者には早くからマスコミへ連絡をとることをお勧めしたい。

### 学会後

受け取った英文抄録の数を調べ、校正のためアメリカに送出し、さらに校正後の抄録を本人に送るかえす仕事が残った。校正を受け持った Charles Edwards 氏は、自筆の校正が直接著者に郵便で全部送り返されるシステムになっていることに驚嘆していた。彼は、また、手書きの校正が問題無く読みとってもらえるかどうかを気にしていた。学会後にも集金と支払いの作業が多く残り、やっと、6月中旬に会計監査を終わらせた。常任幹事会や総会の議事録作りもかなりの作業量であった。この日生誌への原稿を最後に生理学会主催の当番校としての務めを終えられそうである。生理学も、徐々にその内容を変えながらも、やはり発展している、という印象を持つことができ、主催者として幸いである。



第74回 日本生理学会大会

平成9年3月26日～28日 於 アクトシティ浜松

## 第19回生理学コンピューター研究会報告

世話人：東海大学開発工学部医用生体工学科 山 口 隆 美

### ●概 要

本会は、平成9年3月25日午後3時～6時、浜松アクティビティー研修交流センター21号室にて開催された。形式的には、これまでの会と同様に無事終了したが、その内実は相当の反省を要するものと考えられた。

### ●準備の経緯

本会は、通常、日本生理学会大会の前日に、開催地の有志を世話人として開催されるものであるとのことである。本年度は、当世話人の所属する東海大学開発工学部の、生物工学科学科長である榊原教授が依頼をうけたが、卒業式出席のため世話ができないという理由で、当世話人に依頼のあったものである。

当世話人は、生理学会の会員ではあるが、研究分野が標準的な生理学とは離れてきたため、相当期間、学会に出席することもなく、また、生理学コンピューター研究会には、一度も出席したことがなかった。直接のご依頼を頂いた、浜松医科大学寺川教授から、最近、演題数が減少しているらしいとの情報があったので、一般演題と特別講演の組み合わせで会を実施することとした。

### ●特別講演の依頼

特別講演は、最近のコンピューター関係の話題を独占している観のある、インターネットに関連する話題を中心にとすることとし、次の2題を依頼した。

#### 1. 「インターネットにより生物医学国際会議の開催」

三重大学医学部付属病院医療情報部助教授  
村 瀬 澄 夫 先生

#### 2. 「わが国および世界の医学研究ネットワークの現状」

国立がんセンターがん情報研究部  
がん診療支援情報研究室長  
水 島 洋 先生

お二人には、多忙のところ、快諾を頂き、ほぼ無報酬でご講演頂いたことに感謝したい。

### ●一般講演の募集

平成9年3月10日の締切で、一般演題を募集するむね、生理学会誌およびはがきで通知した。はがきは、前回開催の金沢工大島田洋一先生から申し送られた名簿に従い、全国の医科大学生理学教室を中心に200個所に送付した。

しかし、締切までに、応募があった演題は、2件のみであり、これでは、セッションが成立しないので、止むを得ず、世話人の教室から1件、国立循環器病センター研究所脈管生理部南山求室長に1件の演題を依頼して、合計4件を確保することができた。

### ●当日の運営

当日は、当教室から秘書2名および学生3名を動員し、これに世話人の合計6名で運営にあたった。延べ出席者は、上記を除いて、23名(うち、参加費支払者は21名)であった。講演発表は、別添プログラムの通り、滞りなく進行された。第1部の一般演題については、愛媛大学医学部第2生理学教室、前田信治教授に司会をお願いし、第2部の特別講演については世話人が司会を行った。

会場は、新築で、非常に良い設備を有する施設であり、AV機器、照明設備なども完備していたが、運営には、最低4名(時計係、照明係、スライド係、および受付)の補助者が必要であった。

第1部における発表に対する質疑応答も活発で、少なくとも出席者においては有意義なものであったと考えられる。

第2部の特別講演では、三重大学の村瀬先生からは、すでに、3回を数える生物医学におけるインターネット利用に関する国際会議の企画、運営、経験などについて非常に興味深い講演を頂いた。とくに、発表内容の確定化という目的で、CD-ROMを発行しなければならないという指摘は、今後の同種の試みにおいて重要な指摘であると考えられた。この点は生理学会においても今後の参考となる点であろうかと考えられた。

国立がんセンターの水島先生からは、国内、国際の医学研究支援ネットワークについて、今後の動向

を見据えた展望が示された。とくに、インターネット関連の技術について最新の情報が提示され、学内ネットワークの構築管理にあたっている出席者には特に有用であったと考えられる。

### 反省点

#### 1. 本会の意義について

会場においても、2～3の指摘のあった点であるが、コンピューターが生活の隅々にまで浸透している今日、生理学に限らず、研究においてコンピューターを利用することは、言わば当たり前のことになっており、コンピューター利用一般に関する会を別個に開催する必要があるかどうか極めて疑わしい。このことは、一般演題の応募が2題にとどまったことにも如実にあらわれており、今後の運営には、相当の再考が必要と考えられた。

#### 2. 運営について

特別講演を頂いた先生お二人とも、プレゼンテーションに、プロジェクターを使用したいという希望があったが、会費では設備の借用ができず、水島先生にはわざわざ東京からプロジェクターを持参していただいた。今後マルチメディアプロジェクターの利用は普通のこととなるが、スライドプロジェクターのように自由に使えない現状は問題である。コンピューター研究会を独立採算的に運営するより、必要に応じて生理学会大会のシンポジウムとして開催する方式にすればこの問題は解決すると思われる。

#### 3. 世話人の選任について

当世話人は、上述したように本研究会には、全く参加したこともなく、また、生理学会自身にも、最近10年程は参加していない状況であり、生理学会本体が、この研究会をどう位置付けているのか窺い知

ることができないが、世話人の選任についても、一考あるべきかと愚考する。やはり、このような会は、主要な研究発表の場としてではなくとも、一応、生理学会において活動し、かつ、生理学においてコンピューターを利用することを自身の活動の主題としている方が開催、運営されるべきであろうと考えられる。

#### 4. 今後の活動について

上述の次第であるので、今後の本会の運営にとくに意見を述べる立場にはないがあえて苦言を呈するならば、生理学会は、ややもすると旧習を墨守する傾向が強いように感じられ、それが、このような会を20年にもなんなんとして継続していることにも表われているように考えられる。当世話人は、最近10年以上は、生理学会誌を斜め読みするだけの会員として終始しているが、誌面からも、生理学という学問が迎えている危機と、これに対する対応の遅れが伝わってくるように思われる。大学の再編によって、生理学を冠する講座が消滅しつつある現在にも、旧態依然の生理学では立ち行かないのは理の当然であろう。たとえば、コンピューターの利用という主題でも、コンピューター一般を漠然と利用するということは、現在では有りえないのであり、たとえば、他分野である理工学においては、実験、理論と同格の第3の研究手段として認識されるようになっている高度の計算研究、進歩の速い分野では常識となりつつあるインターネット上における研究、学会活動など、より焦点を絞った研究を対象とするのではない限り本会を本体会議と別個に開催することの意義は終了したものと言ってよいと考えられる。

今回の経験から苦言を呈したが、本会および生理学会の脱皮と新たな発展を祈って、世話人の責を果たしたこととさせて頂きたい。

# INFORMATION

## (財)ブレインサイエンス振興財団

### 第12回研究助成候補者・塚原仲晃記念賞受賞候補者及び 第11回国際交流助成候補者の推薦を公募

ブレインサイエンス振興財団では、平成9年度の助成、褒賞事業として下記の事業を行う計画で、候補者の推薦を公募している。

#### I. 助成、褒賞事業

1. 研究助成：ブレインサイエンスの分野において国際的評価に値する研究の助成。研究分野は、脳神経に関する実験的研究のみならず理論、モデリング研究をも含む。

助成件数 8件 1件 80万円

2. 塚原仲晃記念賞：生命科学の分野において優れた独創的研究を行っている45歳以下の研究者に賞牌及び賞金100万円(原則として1件)
3. 派遣助成：ブレインサイエンスの研究の促進を図るため、国際学会、シンポジウム等への参加、あるいは短期間の共同研究のための研究者の海外派遣の助成。往復渡航運賃を30万円を限度として若干件助成。

(助成総額 120万円)

4. 招聘助成：ブレインサイエンス研究分野にお

いて、独創的テーマに意欲的に取り組んでいる外国人研究者の短期間(3ヶ月以内)の招聘の助成。往復渡航運賃または滞在費を30万円を限度として若干件助成。

(助成総額 80万円)

- II. 推薦方法：関連学会代表責任者または研究者の所属機関及び当財団の理事、評議員の推薦による。但し、所定の用紙に必要事項を記入すること。

#### III. 推薦締切日：

1 及び 2 については平成9年11月末日

3 及び 4 については平成10年1月16日(金)

- IV. 選 考：選考委員会での選考を経て、平成10年3月中に評議員会、理事会で決定。

推薦要領及び推薦書式を御希望の方は80円切手同封のうえ財団宛文書でお申込下さい。

(財)ブレインサイエンス振興財団

〒104 東京都中央区八重洲2-6-20

ホンダ八重洲ビル内

電話(03)3273-2565

## 千里ライフサイエンスセミナー ブレインサイエンスシリーズ 第10回

### 「損傷神経の再生と機能修復」

日 時：平成9年9月26日(金)10:00~16:10

場 所：千里ライフサイエンスセンタービル  
5階ライフホール  
(地下鉄御堂筋線千里中央駅北口すぐ)  
(大阪府豊中市新千里東町1-4-2)

主 催：財団法人 千里ライフサイエンス振興財団

協 賛：株式会社 千里ライフサイエンスセンター

コーディネータ：大阪大学医学部教授 遠山正彌

旭川医科大学教授 木山博資

プログラム：

1. はじめに

大阪大学医学部教授 遠山正彌

2. 損傷神経の生存・再生に関与する遺伝子群

旭川医科大学医学部教授 木山博資

3. 脳循環代謝制御と生物の生存戦略

大阪市立大学医学部教授 井上正康

4. 神経移植による脳機能の再建

名古屋市立大学医学部教授 西野仁雄

## 5. 神経幹細胞移植による損傷神経回路網再建の試み

慶応義塾大学医学部助手 内田 耕一

## 6. 神経損傷における脳温変化とその治療法

日本大学医学部教授 林 成之

## 7. おわりに

旭川医科大学教授 木山 博資

受講料: (講演要旨集含む)

会 員 (大学, 官公庁, 主催・協賛団体会員)

6,000円

非会員

8,000円

学 生

3,000円

定 員: 200名

参加申込方法: ①氏名②勤務先, 所属, 役職名, 所

在地, 〒, 電話, FAX番号を明記の上, 郵便またはFAXで下記宛お申し込み下さい。受講料は申込後に大和銀行千里中央支店普通預金 No.4601085財団法人千里ライフサイエンス振興財団口座宛お振込下さい。なお振込の際, 振込者名の前にB10とご記入下さい。ご送金を確認次第, 領収書兼参加証を送付致します。

申 込 先:

(財)千里ライフサイエンス振興財団セミナー係

〒565 大阪府豊中市新千里東町1-4-2

千里ライフサイエンスセンタービル8階

TEL (06)873-2001

FAX (06)873-2002

## 第43回日本宇宙航空環境医学会総会案内

第43回日本宇宙航空環境医学会総会を下記のように開催致します。多数のご参加を心からお待ちしております。

総会会長 吉 岡 利 忠

会 期: 平成9年11月19日(水)・20日(木)

会 場: 神奈川県民ホール・小ホール

〒231 神奈川県横浜市中区山下町3-1

電話045-662-5901

参加および一般演題申し込み:

締切日 平成9年6月21日(土)必着

参加費等を銀行口座に振り込んだ後に, 書類に必要事項をご記入の上, 総会事務局まで郵送, E-MAIL (seiri2@marianna-u.ac.jp) またはファックスにて返送下さい。E-MAIL の場合も, 必要事項すべて送信してください。

\*一般演題は口演のみとなっております。

予稿集用原稿:

締切日 平成9年7月19日(土)必着

予稿集用原稿を既定通りにワードプロセッサ

にて作成し, 総会事務局まで郵送して下さい (FAX および E-MAIL は受け付けません)。

シンポジウム:

第1日目「環境適応の生理学 (現状と将来)」

司会 永坂鉄夫

第2日目「航空の安全と医学適性」

司会 中村彰男・飛鳥田一朗

研究奨励賞受賞講演

未 定

総会事務局

〒216 神奈川県川崎市宮前区菅生2-16-1

聖マリ安娜医科大学第2生理学教室内

第43回日本宇宙航空環境医学会総会事務局

担当 山下(後藤)勝正・寺島智恵子

電 話 044-977-8111 内線3410

044-977-3915(直通)

F A X 044-977-3915

E-MAIL seiri2@marianna-u.ac.jp

## 日本医学会だより

1997年5月 No. 17

## 第25回日本医学会総会

第25回日本医学会総会(会頭:高久史磨)は、20世紀最後の総会として、医療の根底にある「人間愛」を主題とし、メインテーマを「社会とともにあゆむ医学—開かれた医療の世紀へ—」として開催される。

会期は、1999(平成11)年4月2日(金)~4日(日)までの3日間にわたり学術講演が、また1999(平成11)年3月30日(火)~4月8日(木)までの10日間にわたって展示が開催される。

会場は、学術講演に東京国際フォーラム(有楽町)を、また総合医学展示には東京国際展示場(有明)を予定している。

展示は、従来の登録者を対象とした医学展示以外に、今回は特に、一般市民に開かれた医学博覧会も計画している。

また、総会活動の一端として、プレシンポジウムを会期の1年前に、主務機関6大学で行う予定。

今後、その都度のお知らせは、第25回日本医学会総会のホームページが開設されているのでご覧いただきたい、アドレスは、<http://bube.umin.u-tokyo.ac.jp/isoukai/> また日本医師会ホームページの<http://www.med.or.jp/>ともリンクしている。

## 第64回日本医学会定例評議員会

第64回日本医学会定例評議員会が、1997年2月24日(月)に開催された。挨拶に立った森 亘日本医学会長は「この1年間、比較的順調に日本医学会は推移してきた。日本の医療界では大きな出来事の多い1年であったが、その間、日本医学会は着実に、地味な活動を続けつつあり、今日、世の中にも次第に認められてきたという印象を持っている。なお日本医学会の立場は、あくまでも学問という学術に徹するものであり、その持てる知識・経験が各方面で発揮、活用され、国民全体のために役立てられることに繋がれば、それは喜ばしいと考える」と述べた。

特記すべきことは、日本医学会に加盟する分科会の審査制度が平成8年度から新制度として発足し、評議員会で審議の結果、日本医学教育学会、日本医療情報学会が新たに加盟することになった。これで

日本医学会を構成する分科会は91を数える。

## 第108回日本医学会シンポジウム

「感染症—21世紀に向けての展望—」が、1997年7月4日(金、10:00~17:30)に日本医師会館大講堂で開催される。

本シンポジウムの組織委員は、玉置憲一、木村哲、竹内 勤の3氏である。参加希望者は、日本医学会あてに葉書で申し込まれたい。参加費は無料、また本シンポジウム記録集は、希望者に贈呈する予定。詳細は事務局まで。

プログラムの概要は、下記のとおり。

## I. 細菌感染症の動向

1. 腸管出血性大腸菌(病原性大腸菌 O157)感染症/竹田美文(国立国際医療センター・研究所)
2. 結核の現状と今後/森 亨(結核予防会・結核研究所)
3. 細菌の薬剤耐性の動向と対策/荒川宣親(国立感染症研・細菌・血液製剤部)

## II. プリオンとウイルス感染症

4. プリオンとCJD、狂牛病/立石 潤(老人保健施設・春風)
5. ウイルス性出血熱—デング出血熱を中心に—/五十嵐 章(長崎大・熱帯研)
6. HIV感染症の疫学/北村 敬(富山県衛生研究所)
7. HIV感染症治療の新展開/木村 哲(東大・感染制御学・内科学)
8. 予防接種拡大計画(EPI)とポリオ根絶計画/楠本一生(国立国際医療センター・内科学)

## III. マラリア

9. マラリア:疫学と薬剤耐性の諸問題/竹内勤(慶應大・熱帯医学)
10. マラリア:Pathogenesis研究の進歩/相川正道(東海大・総合医学研究所)

## 日本医学会への加盟申請

日本医学会は、分科会として加盟を希望する学会に対し、新方式による審査制度を平成8年度より実施している。

平成9年度の加盟申請の公示は、平成9年5月15日に行い、7月31日で申請を締切る。

新方式の審査基準としては、a. 分科会としての独自性と必要性、b. 会員構成、c. 活動性、d.

国際性, e. 学会運営, f. 総合的な判断などがあげられている。

審査は新規加盟審査委員会で審議検討した結果を, 協議会, 幹事会の議を経て評議員会で審議し, ここで決定を行うこととしている。加盟の申請書は, 日本医学会あて請求されたい。

### 医学用語管理事業

本会の医学用語管理委員会は, 「日本医学会医学用語辞典英和」の改訂版の作業を行うことになった。

改訂の方針は, 文部省科学研究費の補助の下に3基準にもとづく基本的な用語を優先して作成した「医学用語標準化の調査研究」報告書, 各分科会の用語集ならびに本会の医学用語辞典の3者を比較検討し, 足りない用語はさらに追加する。

その際, 医学・医療関係者が承知していることが望ましい用語は必ず採用する一方, あまりに分科会の中でのみ用いられるような専門性の高い用語は省略するなどの点も考慮して行う。

各分科会には上記に関連した依頼を行った。またすでに日本医学会分科会用語委員会(H. 9. 3. 11)の席上で, 本会の医学用語辞典の改訂について説明し, 協力依頼を行った。当日出席の各分科会の用語委員からは医学用語に関する意見が多数, 活発に述べられた。

### 医学賞・医学研究助成費

1989年より, 標記の医学賞・医学研究助成費の選考は, 日本医師会から日本医学会に委託されている。医学賞・医学研究助成費についての候補者の推薦は, 4月下旬に日本医学会各分科会長, 全国大学医学部長・医科大学長, その他諸関係機関長に依頼した。

各要項の概略は, 下記のとおり。

#### 医学賞要項

1. 日本医師会医学賞は, 日本医師会会員で, 医学上重要な業績をあげたものに授与する。 2. 本賞は, 毎年1回, 基礎医学・社会医学・臨床医学を通じ計3名に授与する(副賞は1名500万円)。

#### 医学研究助成費要項

1. 日本医師会医学研究助成費は, 日本医師会会員で, 医学上将来性に富む研究を行っているものに授与する。 2. 本助成費は, 毎年1回, 基礎医学・社会医学・臨床医学を通じ15件に授与する(1件200万円)。

各機関長からの推薦は, 医学賞は各部門1名, 助成費は各部門を通じ3件以内。

## 第27回日本心脈管作動物質学会

会 期: 平成10年9月15日(火)

会 長: 矢崎 義雄(東京大学医学部第三内科)

会 場: 京王プラザホテル

(今回は第18回国際脈管学会と同時開催されます)

問い合わせ先:

〒113 東京都文京区本郷7-3-1

東京大学医学部第二内科

第27回日本心脈管作動物質学会総会事務局

TEL (03) 5800-8649

FAX (03) 3814-0021

事務局長: 平田 恭信

演題申し込みについて

演題申し込み締め切り: 平成10年5月末日(予定)

演題申し込み書類請求先:

〒466 名古屋市昭和区鶴舞町65

名古屋大学医学部薬理学教室

日本心脈管作動物質学会事務局

TEL (052) 744-2076

FAX (052) 744-2083

※なお, 演者は本学会の会員に限ります。本学会への入会を御希望の場合は, 上記の演題申し込み書類請求先に御連絡下さい。必要書類をお送りします。

## 第13回疲労研究会と一般口演の演題募集 (第1報)

第13回疲労研究会を下記の通り大阪市において開催いたします。どうか奮ってご参加いただきますようご案内いたします。

日 時：平成9年9月20日(土)午前10時～  
会 場：三井アーバンホテル大阪「生命ホール」  
大阪府大阪市北区豊崎3-18-8  
(地下鉄御堂筋線中津駅下車すぐ)  
TEL 06-374-1111

予定プログラム：

### (1) シンポジウム「ストレスと食」

司 会：

広 田 孝 子教授(辻学園栄養専門学校)

シンポジスト：

奥 村 彪 生教授(山手女子短大, 伝承料理研究家)

「食いだおれ大阪の食文化」

坂 田 利 家教授(大分医大第一内科)

「都市型社会にみられる食の破壊と健康障害」

木村美恵子助教授(京都大大学院社会予防医学)

「ストレスコントロールのための食事」

吉 川 敏 一助教授(京都府立医大第一内科)

「ストレスと活性酸素—食事による予防—」

津 田 泰 弘主任研究員(サントリー商品開発研)

「ビールのおいしさとストレス」

### (2) 一般口演

#### ◎一般口演の演題募集について

疲労ならびに休養等に関する研究演題を幅広く募集いたします。平成9年7月31日までに演題名、氏名(演者に○を付す)、所属を記載した口演要旨(400字程度)を下記事務局までお送り下さい。口演時間は、1演題につき質疑応答を含めておおよそ20分です。

研究成果は、後日まとめていただき、当研究会誌「疲労と休養の科学」第13巻に掲載いたしますので、あらかじめご了承下さい。尚、申し込み演題が多数の場合、演題の採否は事務局にて行わせていただきます。

#### ◎一般参加について

一般参加に関する手続きはありません。参加費は会誌代(疲労と休養の科学第13巻：平成10年発行)を含めて3,000円です。研究会当日、受付にて申し受けます。

その他のお問い合わせは下記事務局までお願い致します。

事務局：〒216 川崎市宮前区菅生2-16-1

聖マリアンナ医科大学第二生理学教室内

疲労研究会事務局

TEL & FAX 044-977-3915

## 第5回「脳の世紀」シンポジウム開催のお知らせ

「脳の世紀」推進会議が訴え続けてきた脳科学研究の重要性は、多くの方々の賛同をえて、支持されるものとなりました。それは大きな力となり、現在、国家規模で脳科学研究を支援する体制が築かれつつあります。脳科学研究はさまざまな学問領域を越えて統合的に行われるべきものです。本シンポジウムは、多彩なアプローチによる脳科学分野の最先端の研究成果と問題点を皆さまに報告し、活発な議論を通じてさらに理解を深めていくことを目的に開催されます。これまで以上に多くの方々のご参加をお待ちしております。

開会挨拶 (9:50~10:00)

特別講演 (10:00~10:50)

司会 脳の世紀推進会議代表 伊藤 正 男  
複雑系としての脳

慶應大学理工学部 米沢富美子

脳を知る (10:50~12:10)

司会 東北大学医学部 丹 治 順

1. 神経回路形成とカドヘリン

京都大学理学部 竹 市 雅 俊

2. 運動の制御と学習

順天堂大学医学部 彦 坂 興 秀

昼 休 み (12:10~13:20)

脳を創る (13:20~14:40)

司会 玉川大学工学部

塚 田 稔

1. 聴覚の情報分析と計算論

A T R 人間情報通信研究所 河 原 英 紀

2. シリコンチップに脳機能を集積する

東北大学工学部

大 見 忠 弘

休 憩 (14:40~14:50)

脳を守る (14:50~16:10)

司会 国立精神・神経センター名誉総長

大 熊 輝 雄

1. うつ病の臨床と病態

昭和大学藤が丘病院

樋 口 輝 彦

2. 発達障害児のキューアとケア

鳥取大学脳研

竹 下 研 三

日 時:平成9年9月22日(月)

場 所:有楽町朝日ホール

住 所 東京都千代田区有楽町2-5-1

有楽町マリオン11F

TEL 03-3284-0388(当日・受付)

地下鉄 日比谷線・銀座線

銀座駅下車 徒歩2分

地下鉄 有楽町線 有楽町駅下車 徒歩2分

J R 山手線・京浜東北線

有楽町駅下車 徒歩2分

主 催:「脳の世紀」推進会議

入場は無料です。当日、会場まで直接お越しください。

多くの方のご参加をお待ちしております。

問い合わせ先:

(株)クバプロ TEL 03-3238-1689・FAX 03-3238-1837

(株)けいはんな TEL 077-495-5111・FAX 077-495-5116

## 第20回神経研シンポジウム

### 神経系の発達及び病変修復過程における神経栄養因子・サイトカインの役割

日 時:平成9年9月25日(木) 9:45~16:00

場 所:東京・新宿・安田生命ホール

(J R 新宿駅西口前)

9:50 イントロダクション

松 本 陽(東京都神経科学総合研究所・神経病理)

10:00 ミクログリア・アストロサイトが産生する

サイトカインとその作用

錫 村 明 生(奈良県立医科大学・神経内科)

10:45 神経栄養因子によるミクログリア活性化の

調節

中 嶋 一 行(国立精神神経センター・代謝研究部)

13:00 免疫性神経疾患におけるサイトカインの役割

田 沼 直 之(東京都神経科学総合研究所・神経病理)

13:35 変性疾患の神経栄養因子による治療

祖父江 元(名古屋大学・神経内科)

14:40 交感神経節細胞に対するサイトカインの作用

河南有希子(大阪府立大学・獣医生理)

15:25 シュワン細胞に関与する神経栄養因子

渡 部 和 彦(東京都神経科学総合研究所・神経病理)

主 催:財団法人東京都神経科学総合研究所

電話0423-25-3881 内線4104(調査課)

(参加費無料・事前の申込みは不要です)

## 第2回日本医学会特別シンポジウム 「医と教育」

会 期:1997年9月27日(土)~9月28日(日)

場 所:岡山ロイヤルホテル 光楽の間

〒700 岡山市絵図町2-4

TEL 086-254-1155(代)

FAX 086-254-0777

主 催:日本医学会

シンポジウム I

医学教育史の立場から

座 長 蒲 原 宏(日本医史学会理事長)

医学史の教育的意義

演 者 大 村 敏 郎(慶応義塾大学客員教授)

指定発言 松 木 明 知(弘前大学教授)

## 世界の医史学教育の現状

演 者 酒 井 シ ゾ (順天堂大学教授)  
 指定発言 深 瀬 泰 旦 (神奈川県川崎市医師会)

## 岡山における医学教育と医学史

演 者 石 田 純 郎 (新見女子短期大学教授)  
 指定発言 中 山 沃 (岡山大学名誉教授)

## シンポジウムⅡ

## 医学教育の立場から

座 長 尾 島 昭 次 (順天堂大学医学部客員教授)

## 卒前教育

演 者 堀 原 一 (筑波大学名誉教授)  
 指定発言 神 津 忠 彦 (東京女子医科大学教授)

## 卒後教育

演 者 開 原 成 允 (国立大蔵病院院長)  
 指定発言 小 泉 俊 三 (佐賀医科大学教授)

## 生涯教育

演 者 浅 野 健 夫 (岡山県医師会副会長)  
 指定発言 福 井 次 矢 (京都大学教授)

## 特別講演

## 日米の医学部教育スタッフの比較と

## 日米の医師の臨床研修のレベルの差について

座 長 勝 村 達 喜 (川崎医科大学学長)  
 演 者 日 野 原 重 明 (聖路加看護大学学長)

## シンポジウムⅢ

## 医の倫理と教育

座 長 星 野 一 正 (京都大学名誉教授)

## 日本人の死生観をめぐる心の教育

演 者 藤 井 正 雄 (大正大学文学部長)  
 指定発言 永 瀬 正 己 (元岡山県医師会会長)

## 性と生殖の健康・権利をめぐる心の教育

演 者 金 城 清 子 (津田塾大学教授)  
 指定発言 石 津 日出雄 (岡山大学教授)

## 緩和ケアにおける心の教育

演 者 山 崎 章 郎  
 (聖ヨハネ会桜町病院ホスピス部長)  
 指定発言 津 田 司 (川崎医科大学教授)

## 総合討論

座 長 松 尾 信 彦 (前岡山大学医学部長)  
 座 長 大 森 弘 之 (岡山大学医学部附属病院長)  
 蒲 原 宏 (日本医史学会理事長)  
 尾 島 昭 次 (順天堂大学医学部客員教授)  
 星 野 一 正 (京都大学名誉教授)

組織委員：小坂淳夫・永山克巳・勝村達喜・  
 松尾信彦・大森弘之・産賀敏彦

## 参加方法

- 主な参加対象者は、日本医学会分科会会員、日本医師会・都道府県医師会等の会員、大学関係者並びにこれらに準ずる関係者としてします。
- 参加ご希望の方は所定のハガキで下記事務局までお申込み下さい。所定のハガキが無い場合には官製ハガキか、あるいはFAXでお申込みされても結構です。どうぞお早めにお申込み下さい。折り返し参加登録済入場券を郵送致します。

## ● 申込先

〒700 岡山市鹿田町2-5-1 岡山大学医学部内  
 「第2回日本医学会特別シンポジウム」  
 事務局

- この特別シンポジウムは、日本医師会生涯教育制度の5単位として認められます。さらに、日本医学会加盟学会の認定医・専門医等の研修単位の認定については、出席者に参加証を交付致しますので、この参加証を所属の学会に提出され、単位を取得されるか又は所属学会の指示に従って下さい。
- また、参加費は不要です。出席者は討論に参加できます。

# CALENDAR

## 主 な 学 会 開 催 日 程

| 開 催 日<br>(演題締切)           | 名 称                                                             | 会 場                         | 連 絡 先                                                                                               |
|---------------------------|-----------------------------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 97. 8.30<br>(97. 5.31)    | 第12回北海道臨床体温研究会                                                  | 札幌：ホテルニューオー<br>タニ札幌         | 札幌医大 麻酔学教室 並木<br>☎011-611-2111(3568)<br>FAX：011-631-9683                                            |
| 97. 9. 4- 5               | 第12回生体・生理工学シンポジウム                                               | 東京：玉川大学講堂                   | (社)計測自動制御学会<br>生体・生理工学部会<br>☎03-3814-4121 FAX：03-3814-4699                                          |
| 97. 9. 5- 6<br>(97. 5.31) | 第11回国際眼研究学会 日本部会                                                | 東京：順天堂大学有山記<br>念館講堂         | 順天堂大学 医 眼科 金井, 堀田<br>☎03-3813-3111(3355)<br>FAX：03-3817-0260                                        |
| 97. 9.15-19               | 第5回「NOと生物学」に関する<br>国際会議                                         | 京都：国立京都国際会館                 | 滋賀医大 薬理 岡村<br>☎0775-48-2181 FAX：0775-48-2183                                                        |
| 97. 9.16-18               | カリウムイオンチャネルの構造・機<br>能・疾患に関する国際シンポジウム                            | 山形：山形市中央公民館<br>ホール          | 山形大学 医学部 細胞情報解析<br>☎0236-33-7166 FAX：0236-33-7167                                                   |
| 97. 9.26                  | 千里ライフサイエンスセミナー<br>ブレインサイエンスシリーズ第10回                             | 豊中：千里ライフサイエン<br>スセンタービル     | (財)千里ライフサイエンス振興財団<br>☎06-873-2001 FAX：06-873-2002                                                   |
| 97. 9.26-27<br>(97. 7.10) | 第17回日本眼薬理学会                                                     | 岩手：岩手県医師会館                  | 岩手医科大学 眼科学<br>☎019-651-5111(6905)<br>FAX：019-653-2864                                               |
| 97.10.15-17               | '98 長野冬季五輪<br>国際スポーツ医科学シンポジウム                                   | 長野：長野県松本文化会館                | 信州大学 医 加齢適応研究センター<br>☎0263-37-2682 FAX：0263-34-6721<br>E-mail: nosehir@gipac. shinshu-u. ac. jp     |
| 97.10.18                  | 第2回分子モニタリング研究会                                                  | 埼玉：埼玉医科大学専門<br>課程校舎         | 埼玉医大 第一生理学 野村正彦<br>☎0492-76-1150 FAX：0492-95-5573<br>E-mail: mnomura@saitama-med. ac. jp            |
| 97.10.20-22               | 3 <sup>rd</sup> ASIAN CONGRESS FOR<br>MICROCIRCULATION(ACM '97) | BANGKOK:                    | Suthiluk Patumraj Ph. D., Dept. Physiol.<br>Fac. Med. Chulalongkorn Univ. Bangkok<br>国内連絡先：国循七研 新見  |
| 97.10.22-24               | 第40回日本神経化学会大会                                                   | 愛媛：松山市総合<br>コミュニティセンター      | 愛媛大学 医学部 第一生理<br>☎089-960-5240 FAX：089-960-5242                                                     |
| 97.10.23-24               | 第6回日本バイオイメーキング学<br>会学術集会                                        | 東京：東京大学山上会館                 | 東京大学 医学部 栄養 脊山<br>☎03-3812-2111(3495) FAX：03-5689-2704<br>E-mail: yosuke@m. u-tokyo. ac. jp         |
| 97.11.15<br>(97. 9.13)    | 第13回 <sup>13</sup> C 医学応用研究会                                    | 千葉：サンシティ<br>(市川市)           | 日本学務事務センター 会員業務係<br>☎03-5814-5810 FAX：03-5814-5825                                                  |
| 97.11.16-21               | 第13回国際比較内分泌学会議                                                  | 横浜：横浜国際平和会議場                | 早稲田大学 教育 生物 菊山<br>FAX：03-3207-9694<br>E-mail: kikuyama@mn. waseda. ac. jp                           |
| 97.11.19-20<br>(97. 7.19) | 第43回日本宇宙航空環境医学会総<br>会                                           | 神奈川：神奈川県民ホール<br>小ホール        | 聖マリアンナ医大 第二生理 山下, 寺島<br>☎044-977-3915 FAX：044-977-3915<br>E-mail: seiri2@marianna-u. ac. jp         |
| 97.11.29-30<br>(97. 7. 1) | 第18回バイオメカニズム学術講演<br>会                                           | 神奈川：アマダ FORUM 246<br>(伊勢原市) | 神奈川県総合リハビリテーション研究・研究所内 野村進<br>☎0462-49-2594 FAX：0462-49-2598<br>E-mail: NAHO4120@niftyserve. or. jp |
| 98. 3.27-29<br>(97.11. 4) | 第75回日本生理学大会                                                     | 金沢：金沢経済大学                   | 金沢大学 医学部 第一生理<br>☎076-265-2168 FAX：076-234-4223<br>E-mail: phys75@med. kanazawa-u. ac. jp           |

\* 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

## 日本生理学会平成9年度第1回常任幹事会議事録

日 時：平成9年3月25日(火) 午後1時30分～5時25分

会 場：グランドホテル浜松

出席者：黒島晨汎，本間研一，佐藤 誠，丹治 順，小澤澗司，  
工藤典雄，中島祥夫，三浦光彦，植村慶一，金子章道，  
熊田 衛，栗原 敏，佐藤昭夫，高橋國太郎，本郷利憲，  
小野武年，熊沢孝朗，富田忠雄，永坂鉄夫，津本忠治，  
福田 淳，松尾 理，森本武利，菅 弘之，瀬山一正，  
有田 眞，堀 哲郎，山下 博，高田明和(当番幹事，  
教育委員会委員長)，森田之大(当番幹事)，寺川 進(当  
番幹事)，加藤 聖(次回当番幹事)，東田陽博(次回当番  
幹事)

欠席者：伊藤正男，入来正躬，畠瀬 修，久保田競(動物実験委  
員会委員長)

議 長：森田之大(当番幹事)

## &lt;報告&gt;

1. 庶務報告(本郷庶務幹事)：会員について，平成8年10月～9年3月の入会151名，退会者45名，自然消滅219名で，現在の総会員数が3,607名(一般会員3,317名，特別会員35名，名誉会員7名，準会員183名，賛助会員31名，寄贈交換34件)であることが報告された。

第23回日産科学振興財団学術研究助成に本学会より推薦した山下勝幸氏(大阪大学，720万円)と，神谷温之氏(群馬大，155万円)が採択されたとの報告があった。

山田科学振興財団研究援助の候補者に伊東裕之氏(九州大)と水村和枝氏(名古屋大)を推薦したと報告があった。

(財)神奈川科学アカデミー平成9年度第1期教育講座(医薬品開発のためのシグナル伝達コース)，第15回バイオメカニズムシンポジウム(1997. 8. 18～20)，第4回頭・頸部運動制御国際シンポジウム(1997. 8. 22～25)，第12回生体・生理工学シンポジウム(1997. 9. 4～6)，第6回日本バイオイメーキング学会学術集会(1997. 10. 23～24)，第13回国際比較内分泌学会議(1997. 11. 16～21)，'98長野五輪・国際スポーツ医科学シンポジウム(1997. 10. 15～17)の各集会に対する後援または協賛を諒承した，と報

告があった。

学術会議会員の候補者を本郷庶務幹事とし，推薦人を金子，熊田，予備推薦人を植村の各幹事として届け出たことの報告があった。

IUPSのD. Noble氏から国際生理学大会への参加の勧誘があったことと，3月末まで大会登録の締切を延期することの通知があり，各地区常任幹事にアナウンスし，ホームページに載せたとの報告があった。

2. 決算報告(栗原会計幹事)：平成8年1月1日から12月31日までの決算の報告があった。会員の増加と，8年度に9年度分会費も収めた人が200人いたことにより収入が増加した，支出では，予備費でパソコンを購入した，賛助会員による収入31件(39口，185万円)は別会計としている，と報告された。

高橋監事から監査した旨の報告があり，提出された表の通り決算が承認された。

3. 日本生理学雑誌について(金子編集幹事)：中国四国，九州地方の編集委員が代わったこと(中国四国：日地康武氏，九州：河南洋氏)，生理学雑誌の一部はニュースレター形式になっていること，平成9年3月7日の時点で59巻1号まで発行し4号まで編集を終了したこと，5号は現在編集中であること，新しい実験技術講座を掲載すること，インター

ネットの学会のホームページを作ったこと(メールアドレス: psj@qa2.so-net.or.jp, ホームページアドレス: <http://wwwsoc.nacsis.ac.jp/psj/>)が報告された。ホームページは、日生誌の「お知らせ」の部分毎月アップデートしているので、定期的に関連してほしい旨の発言があった。

会員名簿が前回発行後4年以上を経過しており、平成10年4月を目処に更新したいので計画中的であること、が報告された。

学会事務室に学会あてに寄贈された本が集まっているので、希望者に1冊1000円+送料で、分ける計画であることが報告された。

4. JJP 編集委員会報告(金子委員長): 平成9年3月7日の時点で46巻6号までを発行し、47巻2号まで編集作業を終了していること、インターネットホームページ(<http://wwwsoc.nacsis.ac.jp/psj/jjp/jjphome.html>)で論文表題とアブストラクトを公開したこと、入澤記念 JJP 優秀論文賞に Sakai, T., Hirota, A., Kamino K.: Video-imaging assessment of initial beating patterns of the early embryonic chick heart. JJP 46: 465-472, 1996 を選出したこと、JJP への投稿論文数が少ないこと、論文掲載の採択率は69%であること、が報告された。

金子委員長から、新規投稿が少なくなったのは、インパクトファクターが低くなったことと関連しているのではないかと、との発言があり、JJP のインパクトファクターを上げる努力をして欲しいとの希望が出された。

JJP の発行に関する決算表が提出され、特に質問はなく承認された。

5. 評議員選考委員会報告(高橋委員長): 3月17日に審査した29名と、その後申請のあった2名の計31名が評議員候補者として適格であることが報告された。

6. 教育委員会報告(高田委員長): 前回施行から10年目となるので、大学の生理学講座や研究所の関連研究室に所属する会員についてのアンケート調査を実施する。7月に委員会で決め、その後発送する、との報告があった。

これまで生理研の生理学技術講習会への援助として拠出していた20万円を資金として、若手優秀者への旅費や Young Investigator Award (奨励賞) の設立をしてはどうかという主旨のアンケートを委員の中

でとったところ、そのような賞を生理学会が庶務幹事名で出す、あるいは、公募または論文リスト等を参考に賞を決めるなどという提案あった、と報告された(この件は議題4の中で審議された。そこを参照のこと)。

7. 研究費委員会報告(森本委員長): 8年度の生理学分野への研究費配分状況の報告があった。科学技術研究計画に関する国の予算をどのように生理学会へ導入すべきかの問題が指摘された。

日生誌に「研究費の広場」等を掲載し、会員に広告する予定であることが報告された。

8. 会則委員会報告(熊田委員長): 会則に関する検討は特になく、「将来計画」について E-mail による意見交換を行い、将来計画に関する検討組織についての「たたき台」を資料として本日配布してある旨、報告された。(議題4参照)

9. 動物実験委員会報告(久保田委員長代理中島幹事): 第74回生理学会の2日目に実験動物に関するシンポジウム(テーマ: 生理学における動物実験の意味。演題: 1. 病態モデル動物を用いた実験とその意義 2. 動物実験の必要性 3. 高次脳機能の研究における動物実験の意義 4. 生理学実験における遺伝子ノックアウト動物の有用性と限界)を開くこと、動物実験に関する欧米での教育の実状を調べる計画であることの報告があった。

10. 用語委員会報告(植村委員長): 用語委員会では1984年版の改訂を継続中であること、8名の編集委員と38名の専門委員により各専門分野の用語を取りまとめた原案が完成したこと、岩間、村上、菅野氏らから生理学用語に対する意見が寄せられたこと、今年度中に、再度見直し、統一化、索引、付録の作成を経て新しい用語集を出版する予定であること、の報告があった。

これに対し、日本医学会から要請されている協力の内容はどのようなものかという質問が出された。植村委員長から、医学会で作成される用語集について分科会の当該分野(生理学)の用語の選択、統一等の協力を行う、と返答があった。

さらに、学会によって同じことを違った用語であらわし、あるいは英語訳が異なることに対する議論はなかったか、という質問が出された。植村委員長から、それぞれの学会の用語集に不統一があるが、医学会を介して学会間の話し合いを促進し用語の統

一をはかることになった、との返答があった。

11. 国際交流委員会(金子委員長)：今回名誉会員の申請は無かったことが報告された。名誉会員推薦は7月末が締め切りで、庶務幹事へ前もって相談して、推薦して欲しいと述べられた。

1997年 St. Petersburg の IUPS について、Chairman の S. Medvedev, IUPS Secretary の D. Noble 氏より国際学会へ参加の強い要望があった、と報告された。

12. 日本医学会評議員報告(植村委員長)：第64回日本医学会定例評議員会は1997年2月24日に開催された。第25回日本医学会(東京、学術講演：1999年4月2日～4月4日、展示：3月30日～4月8日)の準備状況の報告があり、参加と募金への協力の要請があった。また、1996年度日本医学会年次報告が行なわれた。さらに、1997年度日本医学会事業計画として、医学会総会準備、日本医学会シンポジウム、医学用語管理事業、日本医師会医学賞、医学研究助成費選考、新規加盟審査の事業の説明が行なわれ、承認された。1996年度日本医学会新規加盟学会の審査が行なわれ、申請された28学会の中から日本医学教育学会と日本医療情報学会の2学会の加盟が承認された。従来89の学会が加盟しており、総計で91学会となった、と報告があった。

13. 日本学術会議第7部・生理科学研究連絡委員会報告(本郷委員長)：平成8年11月14日に第6回委員会を開催し、その中で、科研費細目のキーワードの見直しの照会はなさそうであること、平成10年度の概算要求に FAOPS への加入を要求することにしたこと、日本学術会議の「教育・研究における動物の取り扱いについての対外報告(案)」に意見を述べることにしたこと、St. Petersburg の IUPS 総会への生理研連からの派遣代表に金子章道委員を推薦することにしたこと、報告書「生理学の動向と展望」作成のための討議を行ったこと、が報告された。

平成9年1月28日に第7回委員会を開催し、第6回委員会の項目2、3(資料)を実施した旨報告されたこと、報告書「生理学の動向と展望」作成の作業をすすめたこと、が報告された。また平成9年2月に、平成10年度の IUPS 分担金の増額を要求したこと、が報告された。

14. 国際生理科学連合報告(伊藤 IUPS 会長代理本郷庶務幹事)：IUPS 大会は本年6月30日から7

月5日に開催され、3月10日現在で登録数が2000を越えたこと、が報告され、我が国からの多数の参加が期待される旨の発言があった。IUPS fellowship はアジア地区では50名の枠があるが、日本からの応募者は選に漏れたこと、が報告された。

15. アジア大洋州生理科学連合報告(伊藤 FAOPS 会長代理本郷庶務幹事)：7月初め、IUPS 大会時に執行委員会が開かれること、1998年9～10月Brisbane開催のFAOPS大会において役員の交代があること、総会に出す候補者のリストを作る指名委員会の委員長を伊藤幹事が務めること、その他のメンバーが韓国、中国、インド、オーストラリアであること、が報告された。

16. 第75回生理学会大会の準備状況報告(永坂当番幹事)：東田、加藤両当番幹事と共に開催にあたること、第一報案内を日本生理学雑誌に掲載する準備をしたこと、会期は平成10年3月27日(金)、28日(土)、29日(日)とすること、第一報案内に掲載予定の会場と異なり金沢経済大学が会場となること、発表はTV投射式になる可能性があること、総会は2日目午後とすること、シンポジウム等の提案の締め切りは4月一杯とすること、一般演題の申込み締切は平成9年11月4日とすること、等の報告があった。

17. 第74回生理学会大会報告(寺川当番幹事)：1年半にわたり、森田、高田両当番幹事と共に20回のミーティングを重ねて計画し準備したこと、会場の形態が多数の分科会を設けて一般口演をするよりポスター展示をするのに向いているため、一般演題はポスター発表のみにして、多数のシンポジウムを企画したこと、シンポジウムを公募し演題募集の締め切りを7月初めまで繰り下げたこと、9月から11月に寄付集めをしたこと、2社に学会の実行準備について依頼したこと、企業の学会参加を勧誘したこと、予稿集が早く出来上がったこと、等の経過報告があった。サテライトシンポジウムとして、「Asia Pacific Pineal Meeting」(森田当番幹事担当)と「血栓の形成と溶解」(高田当番幹事担当)の2件を開催したこと、事前の参加登録者数は1552人、特別講演3演題、シンポジウム数22件(140演題)、テクニカルシンポジウム2件(12演題)、ランチョンセミナー7件(7演題)、ポスター発表804演題、総計966演題となったこと、が報告された。

18. その他：JJP のインパクトファクターを上げ

るための努力について発言があった。

#### <議題>

1. 前回幹事会議事録の承認：変更無しに承認された。

2. 平成9年度予算案：栗原会計幹事より、多くの項目は8年度と同じであること、収入は8年度決算を見て低く見積もったこと、支出について日生誌分支出が体裁の改変等で250万円低減し、同発送費も郵便第4種扱いとなったため低減したこと、教育委員会等の活動費を設けたこと、等の説明があった。

論文表題集について、CD-ROMなどのメディアを使って経費を削減することはできないか、という質問に対し、金子編集幹事より、CD-ROMを作る経費を調べてみて、そちらが安ければそのようにすると返答があった。

審議の結果、提出された平成9年度の予算案は承認された。

3. JJP編集委員の半数改選について：金子 JJP編集委員会委員長より、編集委員の半数が改選の時期にきたこと、その中で葛西道生(阪大)委員は生物物理学会側から推薦されて派遣されているのでここでは改選されないこと、が説明され、JJP編集委員会推薦の候補者の中から選出する選挙を行った。なお当番幹事は、福井の学会での常任幹事会にならって、この改選のための投票に加わらないことが確認された。

投票の結果、中枢神経生理に丹治順、筋生理に栗原敏、腎・体液・消化生理に森本武利、呼吸生理に福田康一郎、内分泌生理に山下博の各氏が選出され、4年間の任に就くこととなった。

4. 将来計画の検討組織について：熊田会則委員会委員長より、将来計画の検討をする「将来計画委員会(仮称)」を作ることを検討しているとして、資料の「たたき台」により以下のように説明された。すなわち、委員会の目的は日本における生理学の活性化、若手生理学者の意見反映、問題点の指摘、および活動目標の設定である。その位置づけは常任幹事の諮問機関または下部組織であり、当初3年程度の活動を行い、その後に常設とすかどうか委員会と常任幹事会で検討する。委員は15名位とし、1/3は若い人(奨励研究員のレベル)とする。1名以上の女性を入れる。庶務幹事も参加する。教育委員会か

らも代表を入れる。常任幹事は1/3を越えない。検討事項の例としては生理学の使命と特殊性の認識、生理学の各部門の均衡ある発達、生理学の魅力とインパクトを増すにはどうするか、若手生理学者の動員と養成の方策、生理学者の社会的経済的安定性とポストの増加、健康科学分野への進出、女性研究者の待遇改善、研究費の増加と公正な配分、常任幹事会のあり方、常任幹事の選出方法、生理学会大会と地方会のあり方、生理学の必要性和魅力に対する広報活動、生理学の活性化のための緊急度と重要度に基づく目標設定と行動計画の作成などとする、との案で検討中であると報告された。

これに対して、委員の任期、女性委員の数、近年新たに出現しているポストドク職に対する対応、生理研連で作成中の報告書との関連、生理学研究所と生理学会との関係等に関して質疑がなされた。また生理学者にしかできない研究は何か、分子生物学が強い時代に生理学はどうするかの議論が必要、との意見が出た。

将来計画委員会設立のこれからの手順について、熊田委員長より、次の常任幹事会に同委員会について具体策を提出すると述べられ、その予定で進めることが了承された。

将来計画と関連して、教育委員会から提案された若手奨励の賞の設置について討議した。最近賞が評価される傾向にあるので、人事選考等における他分野との競合の面でも賞は必要である、Young Investigator Awardは多人数に出される傾向にあり、それだけ価値が下がる、学会賞として真に内容の優れた権威あるものにすべきである、賞の目的、対象者の資格、選考手順等を明確にせよ、等の意見が述べられ、入澤賞との関係や現在実施されているグループディナー賞についても意見が交わされた。討議の結果、賞新設の問題は将来計画委員会とは別に扱うこととし、三専任幹事(本郷、栗原、金子)、将来計画委員会担当責任者(熊田)、教育委員会委員長(高田)で検討して、その結果を常任幹事会に諮ることにした。

5. 評議員の選考について：評議員選考委員会から提案された31名を評議員候補者として承認し、評議員会に提案することとした。

6. IUPS大会の日本招致について：本郷庶務幹事より、前回常任幹事会においてほとんどの常任幹

事が2005年の IUPS 大会を招致することに賛成であったが、まだ時間の余裕があったので決定はしなかった。しかし2005年の開催地を決める1997年 IUPS 総会(サンクトペテルスブルグ)において提案するためには、ここで招致の意志決定をする必要がある、との説明があり、招致するかどうか最終結論を出して欲しいと述べられた。

どの程度積極的に招致するのか、等について意見が交わされ、国際交流委員会で、地域の順番からするとアジア・オセアニア地域は有利ではない、結果の予想は難しい、日本は前回も立候補しているが、途中でやめるのはその後の招致にマイナスである、大々的な招致運動は考えにくい、決まったら立派にやるという意志表示がよい、等の議論がなされた旨紹介された。

以上の審議の結果、IUPS の大会を招致することを決定した。

7. IUPS 総会への派遣代表について：本郷庶務幹事、金子国際交流委員会委員長より、IUPS 総会へ派遣する日本生理学会代表6名を正式に決める必要があり、できるだけ常任幹事の中から決めたい、日程的に6月29日の総会に出席可能な常任幹事または適当な会員に当たって本郷庶務幹事と金子国際交流委員会委員長が相談して決めたい、との提案があり、そのようにすることとした。(その後、金子、佐藤、三浦、津本常任幹事と大村、岩村シンポジウム議長が派遣代表に決まった。)

8. FAOPS 新役員候補の推薦について：伊藤 FAOPS 会長より FAOPS 次期役員候補を1名推薦して欲しいと要請があったので、国際交流委員会で審議したが、結論を出すに至らなかった旨金子委員長より説明があった。この件は本郷庶務幹事と金子国際交流委員会委員長が協議して、候補者を推薦することが了承された。

9. 日本医学会総会登録推進委員会委員の推薦について：本郷庶務幹事より、日本医学会総会登録推進委員会委員として植村幹事を推薦したいとの提案があり、これを承認した。

10. 第76回(平成11年)日本生理学会大会開催地について：本郷庶務幹事より、長崎大学が第76回生理学会大会開催の意思表示をしており、他の大学から開催意志の表明はないこと、長崎における前回開催は昭和6年であること、4名の当番幹事がいること、日本医学会総会の開催される年で、本来なら東京近郊で開くことが要請されているが、時期をずらせば必ずしも問題とならないであろう、などの説明があった。

審議の結果、賛成多数で、長崎で開催することとした。

11. その他：JJP 編集委員会委員選出内規の記述について、委員の交代のときにはその分野を引き継ぐことを明記すべきであると指摘があり、金子委員長が善処することとした。

## 日本生理学会平成9年度評議員会・総会議事録

日 時：平成9年3月27日(木) 午後5時30分～7時15分  
場 所：アクトシティー浜松コンgresセンター(中ホール)  
議 長：森田之太(当番幹事)

## 1. 平成9年度第1回常任幹事会報告(森田当番幹事)

常任幹事会は平成9年3月25日午後1時30分から5時30分まで開催され、以下に報告することの審議決定をした、と報告された。

## 2. 庶務報告(本郷庶務幹事)

一般会員数3,433名、特別会員数35名、名誉会員数7名、その他の準会員等を加えて、合計3,680(平成8年12月末現在)であることが報告された。

学術会議会員の候補者を本郷庶務幹事とし、推薦人を金子、熊田、予備推薦人を植村の各幹事としたことの報告があった。

IUPSのD. Noble氏から国際生理科学連合大会への参加の勧誘があったことと、3月末まで大会申込みの締切を延期することの通知があったので、各地区常任幹事に連絡して周知を依頼したこと、の報告があった。

## 3. 会計報告および次年度予算(案)について(栗原会計幹事)

平成8年度決算報告書が提出された。収入合計は41,326,542円支出合計は34,164,831円で、平成9年度への繰越金は7,161,711円であった。賛助会員会費収入は別会計で1,850,000円であった、と報告された。高橋幹事から、会計監査の結果、特に問題が無いことが報告され、この決算書の通り承認された。

平成9年度予算書が提出された。収入見込額および支出予定額は39,268,961円であると、報告され、この予算書の通り承認された。

## 4. 日本生理学雑誌編集報告(金子編集幹事)

第58巻の編集結果は、1～12号(7・8号合併)で発行11回、総ページ数416ページ、巻頭言11、NEWS 3、INFORMATION 87、CALENDAR 11、RECORDS 20、PROFILE 9、OPINION 8、追悼4、生理学実験技術法講座7、統計処理法講座5、Q & A 1、解説1、原著2、学会抄録5であった。今年度の編集方針は昨年度と同様で、実験講座の連載を

日本生理学会庶務報告  
(平成8年12月末現在)

|        |        |
|--------|--------|
| 会 員    |        |
| 一般会員   | 3,433名 |
| 特別会員   | 35名    |
| 名誉会員   | 7名     |
| 準会員    |        |
| 学校図書館  | 104部   |
| 研究所・書店 | 67部    |
| 寄贈及び交換 |        |
| 外 国    | 21部    |
| 国 内    | 13部    |
| 合 計    | 3,680  |

## 特別会員(35名)

|      |       |      |
|------|-------|------|
| 井上 章 | 伊藤 真次 | 伊藤 龍 |
| 市岡正道 | 岩瀬善彦  | 岩間吉也 |
| 内藺耕二 | 及川俊彦  | 大村 裕 |
| 岡本彰祐 | 河村洋二郎 | 後藤昌義 |
| 額額教三 | 佐藤昌康  | 酒井敏夫 |
| 須田 勇 | 杉 靖三郎 | 鈴木達二 |
| 銭場武彦 | 高木貞敬  | 中馬一郎 |
| 塚田裕三 | 問田直幹  | 名取禮二 |
| 中村治雄 | 中山 沃  | 永井寅男 |
| 長嶋長節 | 西田 勇  | 古河太郎 |
| 本間三郎 | 松下 宏  | 望月政司 |
| 山田 守 | 吉井直三郎 |      |

(尚、福原武氏は平成8年1月21日逝去されました)

## 名誉会員(7名)

|                   |                 |
|-------------------|-----------------|
| Sir John Eccles   | Tasaki Ichiji   |
| Arimura Akira     | Charles Edwards |
| Eckhanrt Simon    | Edward Perl     |
| Robert F. Schmidt |                 |

する。名簿の発行を計画中であること、E-mailを設置したこと、ホームページを開設したこと、論文表題集は別冊として刊行すること、が報告された。

**日本生理学会平成8年度決算報告**  
(自 平成8年1月1日 至 平成8年12月31日)

|   |               | 収 入         |             |     |                   |
|---|---------------|-------------|-------------|-----|-------------------|
|   |               | 8年度予算       | 8年度決算       |     |                   |
| A | 前年度繰越金        | 4,269,827円  | 4,269,827円  |     |                   |
| B | 平成8年度収入       | 34,002,000  | 37,056,715  |     |                   |
|   | (内 訳)         |             |             | 差 額 | 備 考               |
|   | 会 費           | 26,412,000  | 28,326,400  | +   | 一般会員・臨時会員         |
|   | 購 読 料         | 1,710,000   | 1,885,000   | —   | 準会員(研究所・図書館等)     |
|   | 論 文 掲 載 料     | 250,000     | 351,624     | —   |                   |
|   | 広 告 料         | 2,700,000   | 3,235,024   | —   |                   |
|   | 会 誌 分 冊 売     | 10,000      | 20,000      | +   |                   |
|   | 預 金 利 子       | 40,000      | 109,510     | —   |                   |
|   | 日本医学会奨励金      | 200,000     | 200,000     |     |                   |
|   | 印 税           | 30,000      | 95,407      | +   | 用語集・実習書・MCQ       |
|   | 論 文 表 題 集     | 2,500,000   | 2,792,000   | +   |                   |
|   | 雑 収 入         | 150,000     | 41,750      | —   |                   |
|   | A + B 合 計     | 38,271,827  | 41,326,542  | +   |                   |
|   |               | 支 出         |             |     |                   |
|   |               | 8年度予算       | 8年度決算       | 差 額 | 備 考               |
|   | (内 訳)         |             |             |     |                   |
|   | 会 誌 印 刷 代     | 14,000,000円 | 13,991,390円 | +   | 57.10～58.9 サプリメント |
|   | 会 誌 発 送 代     | 4,000,000   | 3,765,799   | +   | 同 上               |
|   | 編 集 会 議 費     | 100,000     | 56,740      | +   | 日本生理学雑誌           |
|   | 校 正 料         | 120,000     | 39,140      | +   | 同 上               |
|   | 原 稿 料         | 50,000      | 20,000      | +   | 同 上               |
|   | 大 会 援 助 費     | 900,000     | 900,000     |     | 浜松医科大学            |
|   | 事 務 室 使 用 料   | 2,935,350   | 2,935,350   |     | 含更新料              |
|   | 事 務 室 光 熱 費   | 307,000     | 280,498     | +   |                   |
|   | 通 信 費         | 1,100,000   | 946,165     | +   |                   |
|   | 事 務 費         | 1,000,000   | 816,221     | +   |                   |
|   | 備 品           | 70,000      | 0           |     |                   |
|   | 会 合 費         | 330,000     | 330,087     | +   | 幹事会, 委員会          |
|   | 旅 費           | 1,500,000   | 1,381,771   | +   | 同 上               |
|   | 人 件 費         | 5,100,000   | 4,983,810   | +   | 含(アルバイト)          |
|   | 社 会 保 険       | 500,000     | 406,126     | +   |                   |
|   | 職 員 退 職 金 積 立 | 120,000     | 120,000     |     |                   |
|   | 論 文 表 題 集     | 2,300,000   | 1,878,078   | —   |                   |
|   | 国 際 交 流 基 金   | 250,000     | 250,000     |     |                   |
|   | F A O P S 会 費 | 330,000     | 357,250     | +   |                   |
|   | 雑 費           | 180,000     | 239,636     | +   | 献花, 清掃, 他         |
|   | 予 備 費         | 3,179,477   | 466,770     | +   | 教育委員会, パソコン       |
|   | 合 計           | 38,271,827  | 34,164,831  | +   |                   |
|   | 平成8年度繰越金      |             | 7,161,711   |     |                   |
|   | 賛助会員会費収入      |             | 1,850,000   |     |                   |

## 日本生理学会平成9年度予算

(自 平成9年1月1日 至 平成9年12月31日)

|       |           | 収           | 入 | 備                             | 考 |
|-------|-----------|-------------|---|-------------------------------|---|
|       |           | 9年度予算       |   |                               |   |
| A     | 前年度繰越金    | 7,161,711円  |   |                               |   |
| B     | 平成9年度収入   | 32,107,250  |   |                               |   |
| (内 訳) |           |             |   |                               |   |
| 会     | 費         | 24,540,000  |   | 会費8,000円×(3,450-250)×0.9+臨時会費 |   |
| 購     | 読料        | 1,667,250   |   | 準会費9,500×195×0.9              |   |
| 論     | 文掲載料      | 250,000     |   |                               |   |
| 広     | 告料        | 2,700,000   |   |                               |   |
| 会     | 誌分冊売      | 10,000      |   |                               |   |
| 預     | 金利子       | 40,000      |   | 第一勧業銀行等                       |   |
| 日     | 本医学会奨励金   | 200,000     |   |                               |   |
| 印     | 税         | 100,000     |   | 用語集・実習書・MCQ                   |   |
| 論     | 文表題集      | 2,500,000   |   |                               |   |
| 雑     | 収 入       | 100,000     |   |                               |   |
| A + B | 合 計       | 39,268,961  |   |                               |   |
|       |           | 支           | 出 | 備                             | 考 |
| (内 訳) |           |             |   |                               |   |
| 会     | 誌印刷代      | 11,500,000円 |   | 58巻10号～59巻9号, サプリメント          |   |
| 会     | 誌発送代      | 3,000,000   |   | 同 上                           |   |
| 編     | 集会議費      | 100,000     |   | 日本生理学雑誌                       |   |
| 校     | 正料        | 120,000     |   | 同 上                           |   |
| 原     | 稿料        | 50,000      |   | 同 上(会員外)                      |   |
| 委     | 員会活動費     | 400,000     |   | 教育委員会他                        |   |
| 大     | 会援助費      | 900,000     |   | 金沢大学                          |   |
| 事     | 務室使用料     | 2,795,025   |   | 12ヶ月                          |   |
| 事     | 務室光熱費     | 307,000     |   | 12ヶ月                          |   |
| 通     | 信費        | 1,000,000   |   | 会誌外通信                         |   |
| 事     | 務費        | 1,000,000   |   | コピー, 事務雑費                     |   |
| 備     | 品         | 100,000     |   | 椅子                            |   |
| 会     | 合費        | 330,000     |   | 幹事会, 委員会                      |   |
| 旅     | 費         | 1,500,000   |   | 同 上                           |   |
| 人     | 件費        | 5,100,000   |   | 含(アルバイト)                      |   |
| 社     | 会保険       | 500,000     |   |                               |   |
| 職     | 員退職金積立    | 120,000     |   |                               |   |
| 名     | 簿積立       | 1,000,000   |   |                               |   |
| 論     | 文表題集      | 2,300,000   |   |                               |   |
| 国     | 際交流基金     | 250,000     |   |                               |   |
| 大     | 会援助費      | 900,000     |   | 浜松医科大学                        |   |
| I     | UPS大会準備金  | 250,000     |   |                               |   |
| F     | A O P S会費 | 400,000     |   | \$ 3000                       |   |
| 雑     | 費         | 180,000     |   | 献花, 清掃, 他                     |   |
| 予     | 備費        | 5,866,936   |   | 生理研講習会補助金他                    |   |
|       | 合 計       | 39,268,961  |   |                               |   |

## 日本生理学会雑誌第58巻(平成8年度)編集報告

58巻1～12号(7・8号合併)発行11回

58巻総ページ数 416ページ

|             |    |
|-------------|----|
| <内 訳>       | 編  |
| 巻 頭 言       | 11 |
| NEWS        | 3  |
| INFORMATION | 87 |
| CALENDAR    | 11 |
| RECORDS     | 20 |
| PROFILE     | 9  |
| OPINION     | 8  |
| 追 悼         | 4  |
| 生理学実験技術法講座  | 7  |
| 統計処理法講座     | 5  |
| Q & A       | 1  |
| 解 説         | 1  |
| 原 著         | 2  |
| 学 会 抄 録     | 5  |

尚, 業績表題集は別冊として刊行

## 5. JJP 編集委員報告(金子委員長)

92編の論文を掲載した。採択率は70%である。46巻よりA 4判にした。インパクトファクターが低下しつつあるのでこれを高めるために会員は是非 JJP の論文を引用して欲しい。編集委員の5名が任期により交代するため委員会で候補を推薦し、常任幹事会で選挙した。中枢：丹治順，筋：栗原敏，呼吸：福田康一郎，環境：森本武利，内分泌：山下博の各氏となった，と報告された。

平成8年度，決算の収入は2,737,339円，支出は2,644,400円，国内購読者数は1,179部，外国購読者数は244部の計1,423部であったと報告され，平成9年度予算案が承認された。

## 6. 評議員の選考について(高橋委員長)

3月17日に候補者を決め，その後に申請のあった2名も加えて計31名を評議員候補者として推薦するとの提別があり，その全員を評議員とすることが評議員会で承認された。

## 7. 選挙管理委員会報告(佐藤委員長)

平成9年度文部省科学研究費審査委員候補者の選挙結果，第一段審査委員候補者として，生理学一般：有田 眞，大橋俊夫，栗原 敏，宮崎俊一，環境生理学：河南 洋，貴邑富久子，堀 哲郎，間野志明，神経筋肉生理学：津本忠治，板東武彦(50音

## JJP論文投稿状況

(1997年3月1日現在)

| 月             | 新規投稿数  | 掲 載 数      | 返 却 数   |
|---------------|--------|------------|---------|
| 平成8年3月        | 8( 2)  | Vol. 46—3  | 3( 1) a |
| 4             | 6( 1)  | 6 + Rv 2   | 2( 0) b |
| 5             | 8( 2)  | Vol. 46—4  | 1( 0) c |
| 6             | 6( 2)  | 7 + Rv 2   | 5( 1) d |
| 7             | 7( 2)  | Vol. 46—5  | 5( 1) e |
| 8             | 13( 2) | 7 + Rv 1   | 0( 0)   |
| 9             | 14( 2) | Vol. 46—6  | 6( 1) f |
| 10            | 11( 1) | 7 + Rv 1   | 0( 0)   |
| 11            | 5( 1)  | Vol. 47—1  | 1( 0) g |
| 12            | 4( 0)  | 14 + Rv 2  | 5( 1) h |
| 平成9年1月        | 7( 0)  | Vol. 47—2  | 1( 0) i |
| 2             | 3( 2)  | 7 + Rv 2   | 0( 0)   |
| 合計(96.3—97.2) | 92(17) | 48 + 10 Rv | 29( 5)  |

審査中原稿数：23(3)

却下率31%

( )内は Short Communication+Technical Note 数

## 【返却理由概要】

- a(却 下)3論文
- b(却 下)2論文
- c(却 下)1論文
- d(取下げ)1論文，(却下)4論文
- e(取下げ)1論文，(却下)4論文
- f(取下げ)1論文，(却下)4論文
- g(却 下)1論文
- h(取下げ)3論文，(却下)3論文
- i(却 下)1論文

## 【今年度の刊行実績】

- 46—2：82p
- 46—3：84p
- 46—4：92p
- 46—5：68p
- 46—6：66+index(16 pp)
- Supplement：242 pp
- 47—1：146 pp(合計 796 pp)

順)の氏名が，第二審査委員候補者として，神経科学：小野武年，久場健司の両氏が選出され，学術会議に推薦した旨，報告された。

## 8. 教育委員会報告(高田委員長)

大学の生理学講座や研究所の関連研究室の会員についてアンケート調査を実施し，統計をとることが報告された。若手奨励賞の設立について討議され，

さらに検討すべき事項として残されたことが報告された。

#### 9. 研究費委員会報告(森本委員長)

科学技術基本法による国のビッグプロジェクトへどのように対応するかの討議があった。これに関する意見質問箱を日生誌に設けて、会員の考えを集めることとすることになった、と報告された。

#### 10. 動物実験に関する委員会報告(久保田委員長)

特に外部からの動物実験に反対する目立つ動きはなかった、今回の大会において動物実験に関するシンポジウムをおこなった、動物実験に関する欧米での教育の実状を調べる計画である、と報告された。

#### 11. 生理学用語委員会報告(植村委員長)

用語委員会では1984年版の改訂を継続中であること、8名の編集委員と38名の専門委員により各専門分野の用語を取りまとめた原案が完成したこと、今年度中に、再度見直し、統一化、索引、付録の作成を経て新しい用語集を出版する予定であること、の報告があった。

#### 12. 国際交流委員会報告(金子委員長)

名誉会員の申請はなかった、と報告された。

#### 13. IUPS 大会の日本招致について(本郷庶務幹

事・金子国際交流委員会委員長)

IUPS 大会を2005年に招致することについて、常任幹事会で審議の結果、IUPS 総会で招致の意思表示をすることに決定した、と報告があり、これを承認した。

#### 14. 将来計画の検討組織について(熊田幹事)

若手問題、任期制への対処、女性研究者に関する問題、学会の体質改善、若手中堅の意向反映等の問題を検討するために「将来計画検討委員会」を設けることについて審議した。12名程度の委員による構成を考えているが、継続して審議することとなった、と報告があった。

#### 15. 日本医学会評議員報告(植村医学会評議員)

第25回日本医学会(1999)の準備の進行状況の報告、参加と募金への協力の要請があったこと、1996年度日本医学会年次報告と1997年度日本医学会事業計画として、医学会総会準備、日本医学会シンポジウム、医学用語管理事業、日本医師会医学賞、医学研究助成費選考、新規加盟審査の事業等が承認されたことが報告された。

#### 16. 日本学術会議生理研連委員会報告(本郷委員)

日本学術会議の「教育・研究における動物の取り

### 平成9年度日本生理学会新評議員名簿

(敬称略)

| 氏 名     | 所 属・職 名           | 氏 名     | 所 属・職 名              |
|---------|-------------------|---------|----------------------|
| 稲 村 欣 作 | 静岡大学 教育学部 保健体育    | 寺 田 信 一 | 防衛医科大学校 第二生理         |
| 白 井 永 男 | 放送大学              | 徳 部 浩 司 | 大分医科大学 第二生理          |
| 内 海 計   | 旭川医科大学 第一生理       | 中 上 寧   | 藤田保健衛生大学 衛生学部 生理     |
| 大日向 浩   | 旭川医科大学 第一生理       | 西 川 泰 央 | 大阪歯科大学 生理            |
| 加 藤 總 夫 | 東京慈恵会医科大学 第二薬理    | 西 崎 知 之 | 神戸大学 医学部 第一生理        |
| 柿 木 隆 介 | 生理学研究所 統合生理学施設    | 西 山 哲 成 | 愛知医科大学 第二生理          |
| 勝田新一郎   | 福島県立医科大学 第一生理     | 林 秀 晴   | 浜松医科大学光量子医学研究センター    |
| 亀山亜砂子   | 鹿児島大学 医学部 第二生理    | 古 川 哲 史 | 東京医科歯科大学難治疾患研究所 自律生理 |
| 小 宮 秀 明 | 宇都宮大学 教育学部        | 前 田 順 一 | 宮城教育大学 教育学部          |
| 小武海公明   | 埼玉県立循環器病センター      | 松 岡 達   | 京都大学 医学部 生理          |
| 佐 藤 勝 重 | 東京医科歯科大学 医学部 第二生理 | 村 上 宏   | 香川医科大学 第二生理          |
| 櫻田惣太郎   | 金沢大学 医学部 第一生理     | 盛 英 三   | 東海大学 医学部 生理          |
| 下 川 哲 昭 | 群馬大学 医学部 第一生理     | 山 口 淳   | 大阪医科大学リハビリテーションセンター  |
| 杉 村 忠 敬 | 大阪歯科大学 生理         | 山 田 雅 弘 | 電子技術総合研究所 分子機能       |
| 鷹 野 誠   | 京都大学 医学部 第二生理     | 山 本 哲   | 東京歯科大学 生理            |
| 辻 本 哲 宏 | 東京大学 医学部脳研究施設 脳生理 |         |                      |

扱いについての対外報告(案)」に意見を述べたこと、St. Petersburg の IUPS 総会への生理研連からの派遣代表に金子章道委員を推薦したこと、報告書「生理学の動向と展望」作成のための討議をし、その作成作業を進めていること、が報告された。

17. 国際生理科学連合報告(伊藤 IUPS 会長, 代理本郷庶務幹事)

IUPS 大会は 6 月 30 日から 7 月 5 日に開催され、3 月 10 日現在で登録数が 2000 を越えたこと、我が国からの多数の参加が要請されたこと、が報告された。

18. アジア大洋州生理科学連合報告(伊藤 FAOPS 会長, 代理本郷庶務幹事)

7 月初め、IUPS 大会時に執行委員会が開かれること、1998 年 9～10 月 Brisbane 開催の FAOPS 大会において役員の交代があること、総会に出す役員候補者のリストを作る指名委員会の委員長を伊藤幹事が務めること、同委員会の他のメンバーは韓国、中国、インド、オーストラリアであること、が報告された。

19. 第 74 回(平成 9 年)日本生理学会大会の報告(寺川当番幹事)

事前登録数 1,552 名、当日登録第 1 日 178 名、当日登録第 2 日 59 名、計 1,795 名の参加となった。一般口演はなく、すべてポスター発表である。シンポジウムの数 22 件(140 演題)、テクニカルシンポジウム 2 件(12 演題)、ランチョンセミナー 7 件(7 演題)特別講演 3 演題、ポスター 805 演題(うち発表取り消し 4 演題)、サテライトシンポジウム 2 件(Asia Pacific Pineal Meeting: 森田当番幹事担当, Clot

Formation and Lysis: 高田幹事担当)、サテライト研究会 1 件(生理学コンピュータ研究会)、グループディナー 10 件であった、と報告された。

20. 第 75 回(平成 10 年)日本生理学会大会の準備状況報告(永坂次期当番幹事)

東田、加藤両当番幹事と共に開催にあたること、会期は平成 10 年 3 月 27 日(金)、28 日(土)、29 日(日)とすること、第一報案内に記す会場と異なり金沢経済大学が会場となること、発表は TV 投射式になる可能性があること、シンポジウム等の提案の締め切りは 4 月一杯とすること、一般演題の申込み締切は平成 9 年 11 月 4 日とすること、等の報告があった。

21. 第 76 回(平成 11 年)日本生理学会大会の当番校について(庶務幹事)

当番校を長崎大学とすることが常任幹事会において決定された、と報告があり、これを承認した。

22. その他

JJP のインパクトファクターを上げるための努力について発言があった。

23. JJP 平成 8 年度優秀論文賞(入澤賞)表彰

Sakai, T., Hirota, A., and Kamino, K. Video-imaging assessment of initial beating patterns of the early embryonic chick heart. JJP 46:465-472, 1996. を優秀論文に選び、酒井哲郎氏に入澤賞を授与した。

24. 謝辞

岡 宏、根来英雄第 73 回生理学会大会当番幹事から、森田之大、高田明和、寺川 進第 74 回生理学会大会当番幹事への、学会主催に対する謝辞が述べられた。

## 平成8年度第4回日本生理学会教育委員会議事録

日 時：平成9年3月25日(火) 午前11:30～午後1:00

場 所：浜松グランドホテル

出席者：本間(北海道大), 泉井(弘前大), 野村(埼玉医大), 栗原(慈恵医大), 佐久間(日医大), 本間(昭和大), 宮崎(女子医大), 高田(浜松医大), 西野(名市大), 富田(藤田保衛大), 瀬山(広島大), 赤須(久留米大), 有田(大分医大), 今永(福岡大)

欠席者：松田(関西医大)

1. 第74回生理学会教育シンポジウムについて
  - 1) 高田教育委員長より教育シンポジウム「生理学者養成のための教育改革の試み」の演者の紹介とシンポジウム進行法についての説明があった。
2. 第75回生理学会教育シンポジウムについて
  - 1) 教育シンポジウムの案が討議され、次の教育委員会決定することになった。
3. IUPS の教育ワークショップについて
  - 1) ワークショップの詳細を日生誌に掲載したことの報告があった。
4. 日生誌への技術講座シリーズの掲載について
  - 1) 「生理学者のための分子生物学技術講座」は現在進行中である。
  - 2) 「データ処理技術講座」は8名の執筆者が決
- 定した。
5. 生理学会奨励賞について
  - 1) 若手研究者の研究奨励のため毎年2～3名に与える。
  - 2) 生理学会内に委員会をつくり賞は生理学会から与えるように、教育委員会から常任幹事会に提案する。
6. 平成8年度決算報告
7. 平成9年度の活動方針について
  - 1) 生理学の今後のあり方を後継者の養成の面から討議していく。
  - 2) 生理学教員のアンケートを10年おきにとり、来年度の活動として次の教育委員会で具体案を提出する。

## 会 員 消 息

## &lt;転 勤・異 動&gt;

| 氏 名   | 勤務先名・部署名         | 勤務先(TEL・FAX)              | E-MAIL ADDRESS |
|-------|------------------|---------------------------|----------------|
| 浅田 英穂 | 東京都済生会中央病院 脳神経外科 | 03-3451-8211              |                |
| 入来 正躬 | 山梨県環境科学研究所       | 0555-72-6211・0555-72-6204 |                |
| 嶋田 勝彦 | 名古屋市立大学 芸術工学部    | 052-721-6548              |                |
| 八木 忍  | 山形県立保健医療短期大学 薬理  | 0236-86-6611/6657         |                |
| 鈴木 秀歌 | 静岡県東部家畜保健衛生所     | 0559-78-3131・0559-78-9642 |                |

## PROFILE

「生理学者群像」

## 小林 春 雄 君

国際医療福祉大学保健学部教授

平成9年4月1日就任



私は東京医科大学生理学第一講座における40年に及ぶ勤務を去る3月に終え、栃木県に新設された国際医療福祉大学に籍を移して、保健学部教授として新たに勤務を開始しております。東京医大では最後の15年は教授の職にあり、講座主任の登坂恒夫教授と協力して、教育・研究の任にあたりました。私の専攻分野は一貫してシナプス・伝達物質作用の領域で、特に交感神経節の Slow synaptic potentials の細胞機序と生理的意義に深く関わりました。このテーマは私が若い頃、カリフォルニア州立大学・医学部(サンフランシスコ)のリベット教授の下でポスト・ドクをつとめていた時以来のもので、シナプス伝達に細胞内第二次伝達体のカスケードが介在すると言う、所謂「Greengard 仮説」の対象とされたものです。この仮説自体には多くの難点があり、批判を受けて、そのままの形では現存していませんが、私も自分なりの視点をもってこの論戦に参加し、今では一般的となったこの研究主題の発展の歴史に小さな一頁を書き加えた事は、未だに新鮮に記憶に残っています(新生理科学大系・第2巻, 1986)。

交感神経節は神経細胞間シナプスでアセチルコリンが初めて伝達物質として同定された歴史を持つ研究材料で、幾多の著名な先達の輝かしい業績が、この材料と共に残っています。東京医大の研究室でもこの材料を様々に使って業績を生み出していますが、中でも神経細胞同士の間で培養下で安定したコリン作動性シナプスを作らせ、これを用いて、シナプス前終末からアセチルコリンの放出が起こる際の終末内分子機構(Ca と制御蛋白の役割)の解析を行っている持田澄子博士の仕事は素晴らしいもので、国際的な注目を集めています。この研究に、難関と言われる Human Frontier Science Project のファンドもつき、正当な高い評価を得ているのは、私にとっても喜ばしい限りです。

国際医療福祉大学は発足間もない学校で、基礎系の先端的研究のための環境整備はこれからの課題として、私自身は当面、自分の役目を看護学生を始めとする Comedical students に対する生理学教育の使命と限定して、もう一人のスタッフ(東京都老人研から移籍した黒沢美枝子博士)と共に励んでいます。(医学部でもそうですが)コメディカル教育と言うのは言わば実学と言うもので、細かい事柄を色々と問う資格試験をにらんで、成るべく広く浅く知識を身につけさせるような形になり勝ちです。これも大切ですが、これだけでは本当の医療の実践の場で根の浅いうわべの知識の寄せ集めになってしまい、年々日々急増する知識・情報量を追いかけて、とても追いつけない不毛な競争を延々と続けるだけになってしまいます。私個人としては、何か自己創造的な生命科学の営みの感動的な経験に僅かでも触れさせる事が出来ればと工夫して、色々と試みています。この構想がうまく行って、もし彼らが学校では広い知識の一部分にしか触れなかったとしても、それが真に彼らの自己創造性を感動と共に掻き立てるものだったら、彼らは将来、必要な事を自ら進んで学び、医療・福祉の場で創造的に実践して行くでしょう。(そしてこれは、将来研究者を目指す基礎系大学院でも同じ事なのです)これが私の過剰な理想主義の夢に終わらない事を願うのみです。

## 略 歴

- 1956年 東京都立大学・大学院理学研究科修士課程修了  
東京医科大学に就職
- 1963年 医学博士号受領
- 1966年 カリフォルニア州立大学・医学部にてポストドクトラル・フェロー
- 1982年 東京医科大学・教授に昇任
- 1997年 東京医科大学を退任。名誉教授となる  
国際医療福祉大学・保健学部教授に就任

## 「生理学者群像」

## 高 木 都 君

奈良県立医科大学生理学第二講座教授

平成8年11月1日就任



私は、平成8年11月1日付けで、奈良県立医科大学生理学第二講座教授に、榎泰義前教授の後任として就任いたしました。

京都大学大学院薬学研究所を昭和48年3月に修了後、これまで、岡山大学医学部生理学第二講座にて、足かけ二十四年間、生理学の研究と教育を行なってきました。はからずも、今回、奈良県立医科大学教授として就任いたし、色々な意味で、その重責を感じ、まさに身の引き締まる思いがしております。しかし、同時に、新しい大学で、新たな気持ちで、研究、教育にとり組みたいと張り切っております。

## 1) 研究について

これまで、中枢神経系、消化器系、循環器系の研究を次々と二十数年して参りましたので、奈良県立医科大学ではこれらをすべて統合できる研究テーマを遂行するつもりです。医学部における研究は、本来、人類の健康福祉の向上に役立つものであらねばなりません。基礎研究はともすれば研究者の独善に陥りやすい危険性を孕んでおります。私はこの本来の目的を常に忘れず、質の高い基礎研究を進めて行きたいと考えております。

具体的な基礎研究のテーマとしては、循環器系と消化器系機能の自律神経による制御機構を解明する研究を進めていきたいと考えております。科学研究の細分化は生理学の分野でも進む一方で、システム生理学的研究の視点に立った研究を進める研究者が数少なくなっております。そういう中で、私は、分子生物学的アプローチも導入しつつも、循環器系と消化器系の両システムに跨がった自律神経による制御機構を解明していきたいと考えています。そのために、まず、個々の循環器系と消化器系の特性を明らかにする必要がありますので、教室員とその研究に取り掛かっております。そして、将来的には、ストレスによる自律神経系を介する循環器系と消化器系への影響をマクロとミクロのレベルから明らかに

し、そのストレスによる悪影響を治療する方法の確立まで研究を進めることができると考えております。

## 2) 教育について

これまでの岡山大学時代の経験を生かし、医者の育成はもちろん、医学研究者の育成にも努めていきたいと考えております。まず、医者の育成の基本方針は、私の医者でないという「メリット」を生かし、患者の立場に立った医者の養成を目指して教育にあたるつもりであります。研究者育成の基本方針は、臨床研修の間にしっかりと問題意識をもった若手医師を、研究者としても国際的に通用する様に教育していきたいと考えています。科学的思考の習慣は臨床においてもプラスになると考えております。具体的には研究者としての心構えを始めとして、研究の進め方、研究のまとめ方等まで指導して行きたいと考えています。

最後に、全国の医科系大学では女子学生が平均20%~30%を占めるようになっております。従って、女子学生らにとってもよき手本となり得る様、自らに厳しく研究、教育にとりくんで行きたいと思っております。生理学を、女子学生を含む若い学生達に魅力のある学問にするように頑張りたいと思っております。

## 略 歴

- |         |                               |
|---------|-------------------------------|
| 昭和48年3月 | 京都大学大学院薬学研究所修士課程修了            |
| 昭和48年4月 | 岡山大学助手医学部（生理学第二講座）に採用         |
| 昭和58年9月 | アメリカ合衆国コロンビア大学医学部解剖細胞生物学教室へ留学 |
| 平成7年4月  | 岡山大学助教授医学部（生理学第二講座）に昇任        |
| 平成8年11月 | 奈良県立医科大学教授（生理学第二講座）に昇任        |

## OPINION

## 第74回日本生理学会大会の際の教育シンポジウム報告

日本生理学会教育委員会

委員長 高 田 明 和

第74回日本生理学会大会が3月26～28日に浜松市のアクトシティで開催された。

その第2日目に教育シンポジウム「生理学者養成のための教育改革の試み」が行われた。そのプログラムは下記の通りである。

司会：佐久間康夫(日本医大・第一生理)

高 田 明 和(浜松医大・第二生理)

1) 学部教育と卒後教育

富 田 忠 雄(藤田保健衛生大・総合医科学研究所)

2) 基礎配属

福 田 淳(大阪大学・医・第二生理)

3) 一般大学における大学院改革

小 澤 澗 司(群馬大学・医・第二生理)

4) 学部教育の改革の1例；チュートリアルと統合カリキュラム

宮 崎 俊一(東京女子医大・第二生理)

5) 学部教育の改革の試み，基礎分子医学講座，基礎配属，選択の臨床実習

高 田 明 和(浜松医大・第二生理)

総合討論

6) まとめ；日本医大における経験

佐久間康夫(日本医大・第一生理)

### は じ め に

医学教育は本来医師，または臨床家を養成するように組まれている。とくに最近の一般大学においては臨床の体験実習に重きをおくように指導され，カリキュラムもそのように編成されている。一方卒後教育も臨床の経験を重視し，それに資格を与えようという考えが行き渡ってきている。昨年は研修医制度の義務化について教育シンポジウムにおいて議論した。

このようなカリキュラムの変化とともに，医学部学生が在学中に研究に触れる機会がないこともあいまって，卒業生で基礎医学に進むものが際だって少なくなっている。また医学部出身者以外のものが基礎医学の人材として教育，研究に重要な貢献をはたしていることも否めない。では医学部における基礎医学の教育は医学部出身者でなくてもよいのだろうか。またもし NON-MD に基礎医学の教育をまかせるとしたら，彼らに医学の基礎知識を学んでもらう必要はないのだろうか。また医学部出身者が基礎医学の担当者として必要なら，彼らの学部，卒後における教育は如何にあるべきか，という問題は日増しに切実なものになっている。

教育委員会ではこのところ毎年この問題を取り上げている。生理学の後継者が MD であれ，NON-MD であれ，よき後継者をうることは，医学教育そのものにとっても極めて重要なことと思われる。

最近各大学で医学教育に関する様々な改革が試みられている。学部教育では基礎配属が，また大学院ではカリキュラムの充実と学位審査の改革が試みられている。一方，日本の医大の中には臨床家の養成を主目的にしている大学もある。このような大学での改革もその他の大学における臨床医学の教育の参考になることが少なくない。基礎医学教育は臨床医学教育とあいまって改革されるべきであるからである。

今回の生理学会における教育シンポジウムではこのような観点にたって，学部教育，基礎配属，大学院改革，選択制と単位制などの問題について実際に各大学において，改革に携わっている先生方に発表していただいた。さらに今回の発表では今まで研究者として業績を挙げられ，研究を大学における活動の主軸にされているような方に参加していただいた。これらの先生方が積極的にこのシンポジウムに

加わっていただいたことは、同時にこの問題の重要性和深刻性を示しているものと考えられる。

ここに発表内容を掲載させていただくので、是非

会員各位の所属する大学の改革の参考にさせていただくことが出来れば、所期の目的は達したと考えている。

## 学 部 教 育 と 卒 後 教 育

藤田保健衛生大学総合医科学研究所 富 田 忠 雄

卒前教育：医学部の教育において生理学が重要な地位を占めていることに異論はないと考えられる。しかし、学問が細分化され、各分野の研究活動や医療への貢献度に大きい差が見られるようになってくると、若い医学徒にとって従来の生理学の教育があまり魅力的でなくなっていると思われる。多くの学生にとって基礎医学は単に臨床へ進むための道程であり、試験に合格することのみが目的になっている。教える側も臨床教育や国家試験の合格率のことを考慮し過ぎて広範囲にわたっての過度の知識の詰め込みに陥っている傾向があるのではないだろうか。しかし、理想としては学部教育で得られた医学についての理解を基礎にして、将来にわたって続く専門教育に備えて、基本的な原則を学び、医学上の諸問題を正確に判断し得るような問題解決能力の養成に主眼を置くべきであろう。これには生理学全般にわたって記憶を要求するような教育は止め、重要な課題を重点的に取り上げて理解させ、出来れば歴史的な背景を踏まえて学問的意義を述べ、さらには臨床的な問題と結びつけるようにして、魅力あるような内容にすれば教育効果があがるものと期待される。

教育上の実際的な大きい問題は学生によって勉学意欲や学習能力にかなりの差がみられ、これらの程度はまた大学によってもかなり差があることである。さらに、物理や生物などを充分学習せずに入学してくる学生に対する専門教育のあり方にも難しさを感じられる。臨床教育の充実の必要性から、教養科目の授業が削減され、基礎医学の教育が低学年へ移行されて来ているが、この点からも大学における教育は単に知識を増すことよりも、学問に対する動機付けや、理論的思考あるいは問題解決能力を身に付けさせることを重視するような教育内容にすべき

であろう。限られた時間で基礎知識が乏しい学生にも充分理解させ、興味を持たせるように教育するには教師にもかなりの努力が要求されよう。

卒後教育：生理学の発展には優秀な後継者を育成することが最も重要なことであるが、これには大きく分けて2つの問題が含まれている。後継者の補充、特に優秀な大学院生の確保と、若手生理学者の教育、いわゆる卒後教育である。生理学を目指すにはまず学問について魅力を感じる事が前提にあるが、そうなるには学生時代における生理学者との個人的な接触を通じてか、臨床から学位取得のための研究過程で得られる精神的充実感、あるいは欧米への留学などを含めて研究成果に対する自己満足感などを通してであろう。これらの点で基本的には重要なのは生理学教室における教授を頂点とした人間集団の活動度ではないかと思われる。高い活動度を持つ集団は人を惹きつけ、さらに活動度を増すという自己再生的な力を生み出すようである。

現在かなりの数の他学部出身者が医学部の生理学の教育および研究に関わって大きい貢献をしているが、基礎医学へ進む医学部出身者が非常に少なく、生理学の研究内容が理学部や薬学部でなされているものと区別出来なくなっている。この傾向は今後益々強まるものと考えられる。この点で、問田直幹九大名誉教授は随分前から医学部に修士課程を設置して基礎医学者を養成するようにと主張されているが（日本医師会雑誌 59：753-757, 1968）、出来るだけ早くその方向へ進むことが期待される。そのような制度が確立されるまでは、他学部出身の大学院生や教育担当者に生理以外の基礎医学の勉学を積極的に支援することによってより優れた教育者、生理学者を育成していくべきであろう。

## 基礎配属 — その現状と課題 —

大阪大学医学部第二生理 福 田 淳

全国医学部・医科大学における基礎配属—九州大学医学部学務委員会の調査報告書（平成8年6月発行）をもとに—

1) 基礎配属の実施状況：平成7年11月現在で国立、公立、私立を問わず、現在実施中が約60%，実施を決定し実施準備中を含めると80%近くになる。

2) 基礎配属の時期と期間：配属の実施期間は3年次と4年次が圧倒的に多く、少数の大学で1年次、5、6年次であった。配属期間はほとんどが8週以内であり、ごくわずかに10, 17, 18週間の大学もあった。最も多いのは2～3週間である。また配属先は、ほとんどが基礎医学系の研究室であるが、一部に臨床医学系研究室及び学部外の研究室もあった。

3) 基礎配属の目的、評価、成果：基礎配属のねらいは「医科学への関心と医科学的思考力」が圧倒的に多く、その他には「基礎医学研究者の人材発掘と養成」「自己学習能力」「問題解決能力」などが続いた。カリキュラム自体の評価は25学部で行っており、「成果発表会」「論文集から間接的に評価する」が多く、その他には、「学生の出席状況調査」、「学生・教官へのアンケート調査を行う」ところもかなりあった。学習評価も、大多数の学部で行われており、「統一した形式で行う」は約半数で、その他は「教室の裁量に任されている」。最も多いのが「教官の観察評価」で、次いで、「発表会、論文集の作成」、「レポート提出」などが併用されている。実施歴のある大学での基礎配属の成果に関しては「期待した成果を上げている」が最も多く、「成果は挙げているが期待したほどではない」がそれに次いだ。

### 大阪大学における基礎配属の変遷と現状

1) 基礎配属の時期と期間：大阪大学では、1967年以来基礎配属を実施しており、最近、年々その期間が次第に早く、かつ長くなってきている。平成元年度入学者では、4年次の10月初めから12月末まで3ヶ月であったのが、平成2年度入学者には、7月の初めから11月末までで、夏期休暇を入れると5ヶ月になり、さらに平成3年度入学者には、6月下旬

から11月下旬まで、さらに平成4年度入学者には6月上旬から11月下旬までとなり、夏期休暇をはさめて6ヶ月に延長された。

2) 全学共通教育移行に伴う問題点：平成6年度から教養部を廃止し、1年次から6年次までの一貫教育が実施され、あらたに全学共通教育制度に移行したため、2年次の後半、つまり第4セメスターから基礎医学の教育が始まるようになった。従って3年次の12月までに基礎医学が全て終了することになり、それに伴い基礎配属も平成7年度入学から3年次の1月下旬から始め、4年次の夏期休暇までとした。つまり、春期休暇、夏期休暇を含めて、およそ7ヶ月を基礎配属で過ごすことができる。ただ大阪大学医学部の場合、全学共通教育への移行によって、編入学者(学士入学)とその他の学生との基礎医学の就学時期が異なることによる問題が生じる。編入学者の10名は3年次4月から医学部に入学するが、1年次から入学してきた者は、すでに半年早く基礎医学が始まっており、生理理解剖学などの基礎科目をほとんど終了しており、足並みがそろわない。これを解決する一つの方法は基礎配属を2年次後半の第4セメスターに移すことである。こうすれば基礎医学の就学の足並みをそろえることができるが、一方で、基礎医学を学ぶ前であるから基礎配属先を選ぶ手がかりが得られないし、編入学者が基礎配属を受けられなくなる。そこで妥協案として、基礎配属を2年次の後期と4年次の前半の2段階構えで行うことを検討している。

3) 基礎配属の実施状況と評価法：大阪大学の場合、医学部基礎教室の他に、バイオメディカル教育研究センター、微生物病研究所、細胞生体工学センター、蛋白質研究所を含めて、約50部門への配属で、平均すると各研究室2名程度が配属される。あらかじめ、基礎配属ガイドブックという小冊子を配布し、各研究室の研究の特色、学生の指導方針、学生への要望、受け入れ可能人数などを学生に知らしめ、希望を募り、希望者が偏った場合には教育企画調整室が調整して配属先を決めている。平成8年度から基

基礎配属期間中の学習評価として、指導教官のコメントと学生からの成果報告にもとづき教授が総合評価をA, B, C, Dの4段階(Dは不可)で行うこととした。半数強がAの評価を得ており、残りはBかCのいずれかであった。この評価を履修単位に入れるかどうかは目下検討中である。

4) 生理学教室への基礎配属者の研究成果：最近10年以内に第二生理学教室あるいは神経生理学教室へ基礎配属で在籍した学生の在籍期間及びその後の研究を含めた成果の一端を紹介した。4人は大学院医学研究科博士課程に進学し、一人は研究生で、いず

れも研究を続け現在、各生理学教室の研究推進役として活躍している。

5) 大学院重点化に伴う MD-PhD コースとの関連：平成9年度からの大学院重点化に伴い、MD-PhD コースの新設を検討している。これは医学部在学中から医科学研究を始め、卒業後3年間で医学博士が取得できる制度で、このコースに進む者の選出には、それに先立つ基礎配属期間中の成績評価が高いことを基準にしようと考えており、ここにおいても、基礎配属評価は重要となる。

## 一般大学における大学院改革

群馬大学医学部第二生理学教室 小 澤 瀬 司

### 1. は じ め に

近年、科学研究の高度化を推進し、それらの活動を担う研究者を育成するために、わが国の大学院を世界的水準の教育・研究の中核となる高等教育機関として整備することが国家的な緊急課題であるとする認識が、政府、産業界、大学人の間で共通のものとなり、大学院の改革が急速に進められつつある。

大学院改革に関連する国の施策は、医学部についていえば、大学院大学と医学専門学校への二極分化を推し進めることにあるように見える。すなわち、旧帝大を中心とする一部の大学を卒前専門教育のための学部中心から卒後教育と研究に重点をおく大学院中心の高等教育機関へ転換させ、他を医師養成のための教育機関とし、前者に重点投資を行い、国際的な評価に耐えうる COE (Center of Excellence) 的研究・教育機関として育成するというのが国の基本方針と思われる。すでに京都大学医学部、東京大学医学部が前者の大学院大学への制度的転換を完了している。

高田先生からいただいた本演題中の「一般大学」を、ここでは、後者の医師養成のための教育機関と規定し、現状では大学院大学化への展望のほとんどない大学と定義したい。一般大学の一教官としての私の基本的立場は次の通りである。一般大学においても一流の研究を行い、一流の医学研究者、教育者

を育てるポテンシャルは十分にあり、政策的に安易な二極分化の推進は、それだけでなく独創性の欠如と層の薄さを指摘されている我が国の医学研究をますます貧困に追いやるものである。従って、一般大学においても大学院を内容的に充実させる努力を積み重ねることにより、COE 的研究・教育機関への展望を模索し、その実現を積極的に要求すべきであり、そのことが科学・技術立国をめざす我が国の発展に貢献する道でもある。

私は現在、上記の定義に従えば、地方大学の一つである群馬大学の大学院医学研究科の教務委員長として、大学院を活性化するための改革に取り組んでいる。ここでは、その内容の一部を紹介し、その経験から基礎医学の後継者養成の問題についても触れてみたい。

### 2. 現在までに行われた改革

群馬大学大学院医学研究科では、平成2年4月から大学院医学研究科教務委員会を新設し、この委員会を中心に大学院改革に取り組んできた。現在までに行われた改革は以下の通りである。

#### 1) 定員充足率の向上

大学院の活動状況を端的に表現している数値に大学院の定員充足率がある。医学研究科の定員は64名であるが、昭和62年から平成元年までの平均入学者

数は15名であった。大学院医学研究科教務委員会が中心になり、医学系大学院を「次世代の医学教育を担う高度の研究能力をもつ医師・医学研究者の育成の場」として積極的に位置づけ、それを学内のコンセンサスとする努力をしたことにより、平成2年より入学者は漸増し、平成9年度の入学者数は60名(充足率94%)に達した。

## 2) 学位審査方式の改革

学位は主とし、研究者になるためのトレーニングを受けた大学院修了者に与えるべきであり、論文博士は特に優れた研究実績をもつ者のみに制限することとし、課程博士と論文博士の審査基準を別にした。また論文審査過程をより透明化するための改革を行った。平成9年より実施されている改正点は以下の通りである。

- a. 従来、提出論文は専門学術雑誌に掲載された論文のみとしてきたが、課程博士の審査に Thesis 方式を部分的に導入した。
- b. 論文博士の学位論文提出基準を厳格にした。
- c. 論文審査委員を公選し、論文審査会を公開で行うことにした。
- d. 大学院修了者のうちで特に優れたものを、毎年2名程度顕彰することにした。

## 3) 教育カリキュラムの整備

### a. 共通カリキュラムの設定

大学院生に研究面でより広い視点をもたせるために、各専攻分野の最新の研究成果を紹介する連続講義シリーズ(専門家による1回90分、5～10回の連続講義、平成8年度は細胞骨格、遺伝子医学など9コース)を設定した。また、大学院生に医学研究に共通して必要な実験技術を修得する機会を与えるために、多数の実習コースを用意した。実習コースのうち、学術情報検索、動物取り扱い法は必修とし、RI 実習、遺伝子技術、電子顕微鏡実習などを選択で取得させることとした。

共通カリキュラムの実施に必要な経費は大学院積算校費から支出することにした。

### b. 大学院研究発表会の開設

大学院生が在学期間中の主要な研究成果を口頭発表し、研究内容について広く批判を受けるとともに、発表技術についての指導を受ける機会として、平成7年より大学院生研究発表会を実施している。これにより大学院生は課程修了の約半年前に、学内で研究成果を口頭発表することを義務づけられた。この発表会は各専攻分野の研究指導の成果を学内で公表し、相互評価する場としての役割も果たしている。

## 3. 基礎医学系大学院生の確保について

群馬大学大学院医学研究科では、この数年間で大学院生の数が急増したが、これは主として、内科学、外科学教室を中心とする臨床系教室の大学院生数の増加による所が多い。この間、医学部出身者で基礎医学系を専攻として大学院に入学した者の数はやや増加しているが、生理学専攻(生理学系3講座)で入学した者は過去10年間でわずか3名である。基礎医学志望者を増やすために、基礎配属、大学院入学案内等、種々の工夫をしてきたが、この状況が改善される見通しはほとんどない。今後、臨床研修が義務化されたり、医学部が米国並みの Medical School 化を志向し学士を積極的に入学させて行くと、基礎医学の全領域で状況はますます悪化することが予測される。従って、我々の取るべき方策としては、生命科学系の修士課程の修了者のなかから、優れた人材を医学系大学院に入学させ、将来の基礎医学の研究・教育の後継者として、大切に育て上げるシステムをつくることである。そのためには、他学部から来る大学院生に、基礎医学教育を担うためのトレーニングを組織的に行うためのカリキュラムも必要となろう。優秀な non-MD の若者にとって、医学系大学院に入学して、基礎医学の研究・教育者となるのが魅力的な進路となるような種々の改革を、医科大学・医学部で基礎系教官が中心となり、積極的に推進することが望まれる。

## 学部教育改革の1例：テュートリアルと統合カリキュラム

東京女子医大第二生理 宮 崎 俊 一

### 1. 東京女子医大の MD プログラム

東京女子医大では1990年から新しい医学部教育「MD プログラム」を開始した。その到達目標は、「将来医師が活躍しうる様々な分野に必要な基本的知識、技能および態度を身に体し、生涯に亘って学習しうる基礎を固める」ことであるが(到達すべき知識、技能、態度は具体的に各11項目で提示している)、特に、自主的に課題に取り組む、問題を把握しかつ追及する姿勢を養う、問題を解決できる能力および継続的に自己学習する態度を開発する、包括的にかつ創造的に論理を展開でき様々な人に対応できる全人的医人としての素養を涵養する、ことを目標としている。この目標のために、MD プログラムはテュートリアルと統合カリキュラムを二本の柱としている。テュートリアルはスモールグループ学習であるが、テューターが知識を教えるのではなく、学生の自学自習、自己開発を目的としている。統合カリキュラムは統合科目を幾つか設けるというのではなく、6年間を通じての全面的な統合カリキュラムである(1994年度開始)。テュートリアル学習の中で思考能力を身につけること、特に総合的・多角的に考察することが重要な要件であり、この接点からテュートリアルと統合カリキュラムは互いに必要な教育方式として位置づけられている。

### 2. テュートリアル

1) 構成：1～4学年で通年行う。学年約100名の学生を16のグループ(6～7名)にわけ、各々テューターがつく。1週2回(105分×2)テューターつき、4回テューターなしで行う。約3ヶ月のクールでメンバーを組み換え、テューターも交代する。テューターは助教授、講師、助手で、研修による認定制である。

2) 学習方式：初めに短文の課題シートを学生に提示。学生は課題に含まれる関連事項を想起し、問題点を抽出する。ある程度出たところで第二のシートを提示。ここで課題に含まれる重要なテーマ(生理学的課題では生体の恒常性、刺激・信号伝達・反

応など)に気付く。各自調べてきてはグループ内で発表・討論し、1課題を2週間でまとめあげていく。テューターは学生の討論がうまく進展するように時々指導するだけで知識を教えることはしないが、グループダイナミクスを良くし、学習を盛り立てるために重要な役割を果たす。なおテューターには課題作成者から関連事項についてのテューターガイドが渡されている。

3) 評価：テューターおよび学生に評価シートが渡され、課題毎にチェックする。評価シートにはテュートリアルを進める順序を追って 1) 関連事項の想起と学習項目の抽出、2) 学習対象の取捨選択、

3) 学習計画の立案・実行、4) グループ学習上の態度、という各項目につき5つの細項目を設定して表にしてある。これはテュートリアルでは何を行うかを示していることになる(文献参照)。テューターは各学生につき課題ごとに5段階評価を行う。学生は自己評価を行う。テューターはこれを読み、実際のグループ内での学習態度を含めてコメントを返す。1、2学年では課題の内容を完全に到達するかどうかよりも、問題解決を行うプロセスそのものをしっかり行うことに重きがおかれる。なお平成8年度から故吉岡守正学長記念教育賞を設け、1～4学年を通じてテュートリアル学習で高い評価をうけた学生と、優れたテューターが表彰されることになった。

### 3. 統合カリキュラム

1) 基本方針：従来の学問体系による講座別の科目を廃止し(「何々学」を無くし)、テーマ別、器官系別、領域別、発達段階別の科目を設定し、一般教育教室、基礎医学教室、臨床医学教室が協同・分担する方式をとっている。各科目責任者は各講義担当者との協議によって講義の流れと統合性を保ち、試験も統合的に行なうように統括している。テュートリアルは統合化学習を進める上での重要な方式として位置づけ、この目的を十分意識して課題の設定や討論を行なう。生命科学、医学、医学技術の進歩に

学生が対応できる能力を獲得できるように、新しい学習項目を増設した。また、選択科目を増設して学習機会を多様化した。

2) Block 制：6年間をBlock(B)1～8にわけている(学年制は維持されている)。1～4学年(B1～6)で基本的な基礎医学、臨床医学の知識を習得する。B7は病院実習、B8は総括である。

3) B1(1学年4月～2学年7月)：「人間生物学」を統一テーマとして生体の基本的、基礎的事項をテーマ別に総合的・統合的に学習し、さらに臨床医学への接点を捉える。科目は図のように体系づけられる(必修の素養科目も含めて示してある)。各科目は15～20コマ(1コマ85分)の講義と、週2～3回(1回2コマ)の実習、テュートリアル1～2課題(1課題2週間)からなる。内容は基礎医学総論で、その基礎科学的部分を物理、化学、生物学教室の教員が分担する。また、臨床医学教室が一部参加して臨床医学への関連を紹介する。各科目とも試験を行う。

4) B2(2学年9月～3月)：初めに臨床医学の学習に必要な基礎的事項(病因と病態、臨床総論、診断と検査の基礎など)を総合的に学習する。ついで器官系別に正常と異常を統合的に学習する。B2では循環器系、呼吸器系、腎・尿路系を対象とする。正常の形態と機能を基礎医学教室が分担する。

5) B3～B5(3学年4月～4学年7月)：器官系別の学習が続く。B3は内分泌系、代謝系、消化器系を対象とする。B4は脳神経系、精神・高次機能、感覚器系、運動器系、麻酔系の科目がある。B5は血液・造血器系、感染系、免疫系、皮膚系、東洋医学系、救命救急医療、医の倫理の科目がある。

6) B6(4学年9月～3月)：「人の一生、人と社会、まとめの総合学習」を統一テーマとしている。人間のライフスパンという時間を軸として、性と生殖系、妊娠と出生の医学、成長・発達と小児の医学、加齢・老化と高齢者の医学という統合カリキュラムが組まれている。社会医学はB1～6の科目やテュートリアルの中で社会医学的側面の学習を加える他に、B6に社会医学系の核になる統合された2科目、「環境と健康・疾病・障害」と「社会制度と保健・医療・福祉」が設定されている。さらにB6では、B6までのまとめの学習とB7病院実習の準備

の学習を行なう。実習を主体とする診断各論と病理実習(CPC)が設定されている。またB6までの総合試験を行う。

7) B7(5学年4月～6学年7月)：B1～B6で得た知識をもとに、病院実習で臨床的な実際の基本的技術と態度を獲得する。初めの2ヶ月は内科系、外科系の初期臨床実習にあて、基本的事項を共通のカリキュラムに従って実習する。OSCEによる臨床技法の客観評価を行ったのち、各科或いはセンターをローテートする。

8) B8(6学年9月～3月)：臨床を総論(症候と検査一般)と臓器系統別の11の領域に分け、社会医学と医療総論を1領域とする計12領域について、夫々週4日の講義があり、翌週月曜に総合試験が行なわれる(卒業試験に相当する)。最後の1、2月に、どのような分野に進む上でも医師として必須と考えられるプライマリーケア、生命倫理、医師患者関係、健康管理などに関する学習を行ない、卒前教育の総決算としている。

#### 4. 学部教育改革の経験から

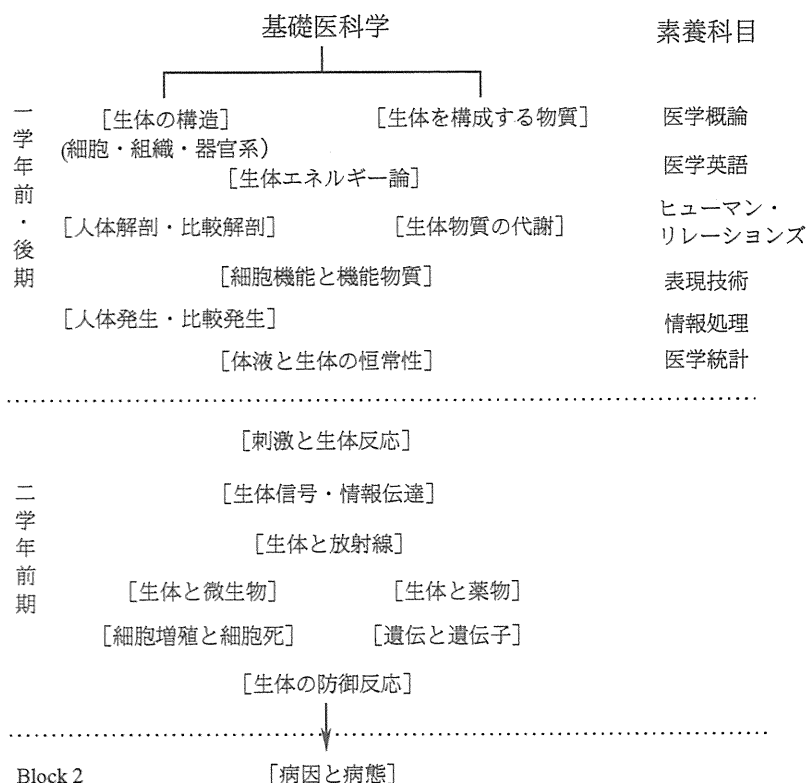
MDプログラムの構想、立案、実施、推進は、故吉岡学長の強力な指導力によって可能になった。テュートリアルや統合カリキュラムの立案は、夫々7、8名の先鋭的なコアメンバーが行い、決定機関(学長を会長とするMDプログラム審議会)がオーソライズした。実施は教務委員会、各Block教育委員会での十分な検討とフォローアップが必要である。各教員は専門分野のテリトリー意識をなくし協同分担する意識改革が必要である。また学生側も新しい教育の目指すところを理解し、それに沿って学習に励むことが要求される。その成果が卒業後どのように表れるか、評価の方法も考えなければならない。

東京女子医大のMDプログラムは現時点での改革カリキュラムであって、これからも改善していく余地が残されているが、医学部教育改革の一例として紹介した。

#### 【参考文献】

吉岡守正、東間紘監修：テュートリアル教育 篠原出版、1995

## Block 1 「人間生物学」の科目



## 学部教育の改革の試み，基礎分子医学講座，基礎配属， 選 択 の 臨 床 実 習

浜松医科大学第二生理 高 田 明 和

浜松医大では開学当初より，初代学長の吉利和先生の構想により，非常にユニークなカリキュラムを組んでいた。

そのカリキュラムの特徴は次のようなものである。

1) 最初からクサビ型のカリキュラムである。特に解剖が2年から始まり，臨床の器官系別が基礎の公衆衛生，衛生，法医などの講義と同時に4年次で開講している。また臨床の放射線医学は3年次に開講している。

2) 臨床は器官系別を施行し，系統講義は少なくしている。

3) 臨床の合同講義で，科を越えて，合同でシンポジウム形式の講義をしている。

4) 6年次に関連科目として，臨床解剖，救急医学，人類遺伝学が開講している。

5) 1年次，2年次に医学概論を開講し，2年では1週間体験学習をする。

しかし，時代の変化から基礎医学をさらに早い時期から始めるようにしたい，とか，単位制にして他大学と単位の互換が出来るようにしたいというような意見が出された。また臨床実習を長く行い，その一部を選択制にして外部の施設での履修を可能にしたいというような意見も強くなった。一方基礎医学では基礎配属を外部の施設でも履修可能にするために，単位の認定を外部の教官に委任する必要も生まれた。このようなことから，単位制も含め，かなり

抜本的なカリキュラムの改正に着手した。

このために次のような基本方針で改革に望むことにした。

- 1) 単位制への移行
- 2) 卒業要件単位数を188単位に近付ける。
- 3) 現行のカリキュラムの2/3を必須、1/3を選択にする。

- 4) 臨床教育では講義を1/3以下に減らし、体験学習、クリニカル・クラークシップを主体とする。

このために必須の時間は文部省の定める時間数に出来るだけ近付けるようにした。その変更は下記のようなものである(表1)。

次に時間制を単位制にする変更である。医学部ではどの大学でも長い間時間制になっているので、これを単位制にするためには、時間数をかなり流動的に単位数に変えなくてはならない。その方針は次のようなものである。

時間制から単位制への移行

- 1) 講義・演習・セミナーは1単位15時間とする。しかし現行の時間は15の倍数になっていないので、15～30時間をめどに計算する。
- 2) 実習は1単位30時間とする。しかし現行の移行のために30～45時間をめどに計算する。
- 3) 臨床実習は1週が40時間なので、40時間を1単位とする。

さて講義が少なくなった分を補うため、2年次後期に基礎分子医学を開講し、基礎医学の各科で用いる基礎的な項目を合同で講義することにした。これは分子生物学、分子生理学、免疫学の基礎である。たとえば分子生理学では、膜、受容体、チャネル、情報伝達などを取り扱う。また基礎各科から、専門家に得意な分野を易しく講義してもらった。さらに毎回講義の「振り返り」として、講義の内容、難解さ、理解度、興味などについてアンケートをとった。

さて3年次の後半の11月末から、2月10日前後まで基礎配属を行う。13週で、最初の2週間は必須。

しかし単位の認定は残りも含めて行う。つまり選択の講義、実習の部分をここで基礎配属に用い、必須の時間と一緒にして全体の基礎配属を必須選択にした。今まで1～2週間の予行をおこなったが、浜松医大では講座、施設などの科が多くないので、一般教育の実験系のみならず、人文系にも参加してもらっている。しかし本年度から、外部の施設でも履修可能となるようにした。

さて外部に委任する基礎配属は選択のポリクリと同じような形態をとるので、ここで選択のポリクリについて述べる。

5年次に学内のポリクリを行い、6年次の前期に自由選択として、学外のポリクリを選択することも可能である。これを純然たる選択にしないために必須の時間として全体で7単位を選択の部分から取らなくてはならないことにした。選択のポリクリを選んだ学生は、このために7単位必須になるので、単位の認定は選択必須と同じになる。

さて外部への委託は次のように行うことにした。

- 1) 基礎配属は学内でも学外でも可能である。いくつかの学外の施設にはすでに学生の受け入れをお願いして許可を得ている。
- 2) それ以外の施設で学生が望み、受け入れが許可されている場合は大学学長が依頼状を出す。
- 3) 基礎配属は必須なので、学内、学外を問わず単位の認定を依頼する。

- 4) 選択のポリクリでも同じように学外の病院を学生に選択させ、許可が得られれば、依頼状を出す。最後に選択のポリクリについて述べる。

- 1) 選択のポリクリは同じ科を3ヶ月選択しても、いくつかの科をローテイトしてもよい。
- 2) これは受け入れ側の指示が許可により決める。
- 3) 同じ病院、施設でなくてもよい。これも受け入れ側の許可による。
- 4) 姉妹校である中国医科大学や、外国の大学で

表1. 浜松医大における必須時間の変更

|      | 改 革 案 |       | 現 行  |       |           |
|------|-------|-------|------|-------|-----------|
|      | 単位    | 時間    | 単位   | 時間    |           |
| 一般教育 | 4.9   | 118.5 | 7.9  | 160.5 | (医学概論を除く) |
| 基礎医学 | 5.0   | 128.3 | 7.9  | 160.0 |           |
| 臨床医学 | 8.2   | 244.3 | 15.8 | 327.5 | (医学概論を含む) |

行ってもよい。その際は単位の認定をするという意思が得られている必要がある。

最後に履修時期の調整について述べる。現行のカリキュラムでは5年次の後期からポリクリが始まる。しかし新しいカリキュラムでは5年次の1学期から開始する。このために移行期では前学年がポリクリの後半を履修している。このために新しい学年と同時に履修することになる。これをさけるために工夫をした。

#### 臨床実習の期間の調整

1) 現在の5年次生は8月の半ばからポリクリを始め、春期の休みを2週間短縮し、6月半ばまでポリクリを行う。そのために6月半ばから、7月半ばまで4週間代替休業。

2) 即ち秋から春の26週を30週にし、春から終了までの14週を10週にする。

3) 4年次生は4年次の2月に5年次の講義を受ける。これが6月中旬まで続く。そこでポリクリを始め、8月の休みを2週間少なくし、5月初めにポリクリを終わる。その後2ヶ月休業。

4) 現在の3年次生は新しいカリキュラムである。彼らが5年になると、まだ6年次生が5月の連休明けまで、ポリクリをしている。このため4月から4週間休業する。5月から始めたポリクリは夏休みを2週間、春休みを2週間削り、3月末に終わる。

5) その後、現在の1年次生からは4月にポリクリを始められる。

以上が浜松医大におけるカリキュラムの改革の概要である。学年が進行している最中に新しいカリキュラムの学年が進級してくることは思わぬ困難をもたらす。我々の試みが多くの改革を志す大学の参考になれば幸せである。

## ま と め

日本医科大学生理学第一講座 佐久間 康 夫

今回の教育シンポジウムでは設置主体や規模、歴史などの背景の異なる大学医学部、医科大学における生理学の undergraduate の教育の現状を報告していただいた。何れの機関においても、講義と実習主体の従来の生理学教育の改革が行われていることは注目に値する。特に(1)学生の主体的興味を喚起し、(2)知識の形成のためにさまざまな体験を行わせ、(3)その評価を如何に行うかという3点で、各大学が様々な形で努力しておられることが伺われた。これらの目標を達成するために、たとえば大阪大学における教育企画調整室といった全学のカリキュラムを調整する組織の形成や、基礎配属や課題中心の小グループ教育が今後全国的に試みが広がって行くことと思われる。特に基礎配属については、九州大学学務委員会報告(1996)によれば、すでにその時点で国立では35校、公立では7校、私学では16校が実施中または実施予定であり、医学生に対する基礎医学一般の知識の習得を促す手段として確立しつつあり、さまざまな経験を経て配属の期間(多くは2, 3ヶ月、大阪大学では6ヶ月)、学生配属の手法(ほとん

どが全員参加)や教育成果の評価法(指導教官の観察や学生の自己評価)が定まってきたようである。

一方、これらの改革を通じて、医学教育の一環としての生理学教育を現行6年の限られた時間の中にどのように位置づけていくか、また、年々増加していく情報量をどのように選別し学生に有効に伝達していくか、他の科目との連携をどのように築き上げるかといった問題に対処していかなければならない。教育統合の一手段としての臓器別教育の提唱は新しいことではないが、生理学がもともと臓器別の原理に則って編成されており、これに機能別分類が加味されたバランスの上に成り立ってきたことは、新旧を問わず教科書の構成を見れば明らかである。このバランスが生理学の知識の集積と共に機能を重視する方向に発展してきた。生理学の知識は臓器の相違を越えて、細胞の機能を細胞内分子の作用の結果として普遍的な説明を試みる段階に至っている。全身の現象から、臓器を経て細胞レベルに至るという解析的過程は、生理学に限らず臨床をも含む医学教育全般に共通する流れであり、生理学の立場から

すればこれまでの解析結果を統合し、生命の一層の理解を目指すという点で、一見当然進むべき方向と思われる。しかし、これまでの臓器別統合教育が必ずしも成功とは評価されない原因には、医学の諸領域における現象の理解に相当の差が存在し、複合的で複雑な多くの病態を一元的、統合的に説明し学生に納得させることがたとえば生理学の現状ではかならずしも容易でないことにある。生理学の現状からすれば、機能別教育が臨床との統合教育の一手段として考えられる。たとえば生理学の重要な概念であるホメオスタシスやフィードバック、運動の工学的制御などについては臨床各科目との統合が可能かも知れない。

個々の機関における教育目標は建学の思想によって異なることが当然であり、また活用し得る人的、制度的なリソースにより、教育手段にも相違が生じるようだが、医学教育の修了時に、科学者としての背景を持つ専門職従事者としての学識を取得していることを目標として掲げることには特に異議がないと思われる。我々は生理学は生体機能の理解と記述という点で、医学生の科学的論理性的の育成に寄与することが大であると考えて日本医科大学の生理学教育プログラムを組んでいる。講義、実習、自主学習と称する基礎配属を主体としている。講義においては近年の情報量の増加から、教科書の知識の伝達では知識の習得には対処しきれないことを学生自身も実感しているので、暗記を最小限にとどめ、基礎的な知識の演繹により病態を科学的に理解し納得する学習を重視しており、特に小グループで指導を行った場合には効果が大きいようである。また、臨床との有機的連携を考えた病態生理学的講義は学生の興味の喚起に有効である。実習は講義が全て終了した後に、古典的、基本的な内容に限って行っているが、2講座あわせて10日間(週2回5週)全日を充てており、頻回の小試験や討論による学生の知識習得の評価によっても高い教育効果が得られており、常識的な方法であるが今後も重視していきたいと考えている。基礎配属は基礎各講座がガイドブックを作成して方針や研究内容などを紹介し、またおよそ計100項目のプロジェクトを立案した課題集を作成して学生に選択させている。参加や人数の配分は学生に一任しており、基本的な方針は学生の代表委員と基礎医学講座の教員との委員会で合議して調整してい

る。熱心な学生では期待以上の成果が挙げられているが、積極的に参加する学生がおおよそ半数の現状をどう評価するか、試行錯誤の段階である。今後課題中心の小グループ教育を導入していく過程で、基礎配属を夏休み中に行うなど時期について再検討していくことになろう。

以下に参考までに昨年度の自主学習ガイドブックの生理学第一講座の項目を掲げる。

### (参考)

#### 1996年自主学習案内 生理学第一講座の研究活動

#### はじめに

丸子での細胞生物学の講義に始まり、生理学の系統講義、実習、それに引き続く進級試験で、諸君が臨床医学を勉強する上で当然知っているべき生理学の知識の伝授は完了しました。この間、出席をとったり、実習の遅刻を厳しく点検するといった、学問とは全く関係のない点もある程度強調してきたのは、最低限の知識の伝授を果たし、将来医療や研究といったチームワークをこなすために必要な訓練として致し方ない方針でした。

しかしながら、基礎医学には臨床医学を学ぶための基礎という、医学教育上の便宜的な区分の他に、医学全般の発展の基礎を担っていくという重要な使命があります。基礎医学諸科目を学んで、医学の発展により如何に多くの人命が救われ、生活の向上が実現してきたかを実感したことと思います(例えばインスリンの発見を思い出して下さい)。同時にたとえば長寿の実現により老人性痴呆の問題が生じてきたように、医療の進歩は生命に関する応用科学である医学に絶え間なく研究課題を突きつけてきます。また、我々が興味を持っている脳の性差や性ホルモンによるムードの調節、一部の精神神経疾患に発症に見られる性差などの課題をとっても、基礎医学、臨床医学といった区分自体が意味を失いつつあります。

次代の医学医療を担っていくことになる諸君に、現在の知識をマスターしたうえで明日の課題にどのようなものが控えているかを、自主学習の機会に覗いて、研究のおもしろさと発見のよろこびを分かち合って欲しいと思います。他学を卒業して当講座に属している若手研究者は、本学に自主学習の制度があることを知り、大変うらやましがっています。講義や実習とは異なり学生の普段目にふれないところで、いったい何をやっているのだろうという好奇心を満たす機会として自主学習を活用してもらいたいと考えています。ですから形式や課題は二の次で、限られた時間で完結する必要はないし、自主学習の期間に限らず、教室員がやっている実験に参加したり、気のあった仲間と勉強会を組織して一緒に考えるといったことはいつでも大歓迎です。何かやりたい、という漠

然とした要望を持つのは学生の特権です。積極的に相談に応じます。教授室のドアは努めて開け放してあります。遠慮なくどうぞ。

### 現在の研究

性ホルモンが脳に及ぼす影響を調べる共通の目的を持って、以下の5チームがあります。

- (1) 個体発生グループ(Parhar 助手): 脳の形態形成、個体発生における性ホルモンの役割について免疫組織化学や *in situ hybridization* を用いてダイナミックな形態学的研究をしています。
- (2) 分子生物学グループ(木山講師, 折笠助手): 神経細胞の生存や死滅、ひいては脳の形成に関わる可能性があるエストロゲン受容体の発現制御を遺伝子、メッセージ、タンパクの各レベルで調べています。
- (3) 電気生理グループ(加藤助手): 性衝動、性欲といった情動行動をニューロン活動から説明する目的で、無麻酔無拘束ラットの脳から単一神経細胞の活動を記録し、行動との相関を調べています。
- (4) 細胞生理グループ(加藤講師): パッチクランプ法と細胞内カルシウムイオン濃度測定法により、視床下部ペプチドや性ホルモンによるイオンチャネルの制御を明らかにすることを期しています。
- (5) 行動実験グループ(近藤助手): 雌ラットの性衝動を制御する性ホルモン感受性脳内神経回路の特定と、雄型の生殖行動の調節系と作用する性ホルモンの特定を目標に、脳内特定部位の破壊、刺激、*c-Fos* 発現を手がかりに行っています。

### これまでの研究成果

ラットの性行動を手がかりに性ホルモンが脳に及ぼす作用について調べてきました。多くの動物では生殖行動は受胎可能な時期にしか起こりません。これは卵巣由来の性ホルモンが脳に作用して、排卵と交尾を同期させるため、雌の準備が整ったときにすかさず交尾するため

に、雄は常時発情しています。この傾向は雌の内分泌環境が受胎に絶対的な影響を及ぼしている哺乳類で特に顕著で、内側視索前野や視床下部に発する神経回路のエストロゲン感受性が雌雄で異なることが原因であることを明らかにすることができました。ヒトでもラットでも、遺伝情報による脳の設計図は、生殖器官と同様女性型が基本で、個体発育の途上で男性ホルモンの作用により、男性型への改造が起こります。ラットでは新生仔期に雄を去勢したり、雌に男性ホルモンを投与すると脳の性転換が容易に起こります。また、母親にストレス負荷を行うことで、同性愛の雄をつくることもできます。新生仔期に去勢した雄は成熟後、雌型の行動を示し、同じ時期に男性ホルモンを投与された雌は雄型の行動を示すようになります。行動に対応して、脳内神経回路のエストロゲンに対する感受性の変化が起こっていることも明らかになっています。

### 将来の夢

少なからぬ難治の精神神経疾患の発症が思春期や更年期といった性ホルモン分泌の激変期と一致したり、性差を伴うことが知られています。また、過剰な男性ホルモンが粗暴な犯罪を起こさせるというように、ヒトの行動も性ホルモンの支配下にあることが判っています。脳の性分化を題材として、神経細胞の発生や生存、神経突起の成長などが性ホルモンの調節のもとにあることも示されてきました。ラットのモデルが精神神経難病の理解や外傷や脳血管障害による脳、脊髄の損傷の修復といった課題の解決に役立てばよいという夢を持って研究を進めています。

学生諸君に気楽に読んでもらえる参考書やより詳細な教室の紹介、最近の論文目録などを URL <http://www.nms.ac.jp/NMS/SEIRI1/sakuma.html> で行っていますのでご覧下さい。



## 生理学者のための分子生物学技術講座の連載について

教育委員会委員長 高 田 明 和

最近の生命科学の発展に大きく貢献した技術の一つに分子生物学的手法があることには誰も異論を唱えないであろう。細胞の構築、遺伝子の発現、微量物質の合成と構造の決定、細胞内の情報伝達など、生命に関する全ての領域で分子生物学的手法は目を見張る貢献を果たした。生理学では一方において電気生理学的手法により細胞の応答を瞬時に捉えるという研究が盛んに行われ、もう一方においては個体の統合的研究として、臓器、生体の全体の機能を調べようということで、どちらかと言えば遺伝子を扱ったり、一つの分子の合成の制御や機能を研究するという研究者は少なかった。しかし最近では分子生物学的手法を機能の研究に応用しようという試みが広く生理学においても取り入れられるようになった。その例として今年の生理学会総会で特別講演をした米国カリフォルニア大学の SHU CHIEN の研究発表がある。彼は血管内皮細胞への SHEAR STRESS が透過因子の合成、遺伝子の発現とその制御に如何に関係しているかを論じた。このように生理学的現象の解明に分子生物学的手法を応用しようということになると、生理学者もその手法を学んだり、その応用に関心を抱いたりせざるをえない。

今回日本生理学雑誌の技術講座として「生理学者のための分子生物学技術講座」を連載させていただくことにした。この企画には生理研の小幡邦彦教授と井本敬二教授の御尽力がある。そしてあくまでたんに分子生物学の技術講座というだけでなく、「生理学者のための」という企画の意図をくみ取られ、このシリーズを活用してくださることを望む。

その内容は下記のようなものであるが、掲載はこの順序とは限らない。

### 「生理学者のための分子生物学技術講座」

- |                                                          |                                                     |
|----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 1) 分子生物学の実験のための準備と基礎技術<br>井 本 敬 二 (生理研)                  | 8) ウイルスベクターを用いた遺伝子導入<br>池 中 一 裕 (生理研)               |
| 2) 機能発現法による cDNA のクローニング<br>久 保 義 弘 (東京都神経研)             | 9) マウス個体における遺伝子ノックアウト<br>八 木 健 (生理研)                |
| 3) mutagenesis によるレセプター、チャネル<br>の構造機能相関解析<br>森 泰 生 (生理研) | 10) 異常遺伝子の同定と遺伝子診断<br>小 嶋 哲 人 (名古屋大)                |
| 4) 単一ニューロンの mRNA 解析<br>小 沢 澪 司 (群馬大学)                    | 11) 造血幹細胞への遺伝子の導入<br>北 村 聖 (東大)                     |
| 5) 生理活動によって発現する遺伝子のクロー<br>ニング<br>児 島 伸 彦 (生理研)           | 12) ファージライブラリーによる抗体産生<br>熊 谷 泉 (東北大学大学院)            |
| 6) in situ ハイブリダイゼーション<br>遠 山 正 弥 (大阪大学)                 | 13) 細胞膜情報変換システムの分子機構<br>野 沢 義 則 (岐阜大)               |
| 7) アンチセンスオリゴヌクレオタイドによる<br>生理機能解析<br>武 内 垣 成 (奈良先端科技大)    | 14) ras 遺伝子発現の線維芽細胞のカルシウム<br>動態の変化<br>野 沢 義 則 (岐阜大) |



## 分子生物学的実験のための準備と基礎技術

井 本 敬 二

(生 理 学 研 究 所)

### は じ め に

分子生物学的な技術は、過去10年あまりの間にごく一般的な技術となり、生物学・医学の分野の研究における基本的技術の一部となった。cDNA クローニングや cDNA 発現等は、誰にでも出来る技術であるといわれるようになってきている。また生理学の分野でも、cDNA を直接にあるいは間接に利用した仕事は増え続けている。cDNA が必要であれば他の研究者から譲渡されればいいのであるが、実際は競争相手であったり多忙のためになかなか送ってくれないなどという理由のために、cDNA を貰い受けることは必ずしも容易ではない。また cDNA を使いこなすにはある程度の操作を自分で行わなくてはならない。分子生物学的技術に関するマニュアル類は多く出版されており、また生物・医学系の雑誌にも技術的な記事が多く掲載されているので、これらの情報を活用して分子生物学的実験をはじめようとしている人は少なからずいると思われる。本稿ではマニュアル類に詳細に述べられている事項は省き、もう少し別の面での事項を取り上げた。しかし分子生物学的な実験を初めて行う場合、より重要であることは、実際に実験が行われているところに出かけ、もし可能であればそこで自分自身で体験してみることである。そのような体験をすることにより、立ち上げの苦労・時間・出費を少なくすることができる。

#### 1. “大学等における組換え DNA 実験指針”

分子生物学的実験は、たいがいの場合“組換え DNA”の操作を含んでいるため、大学等で分子生物学実験を行う場合は、文部省の“大学

等における組換え DNA 実験指針”(以下、指針)にしたがって行わなければならない。指針は組換え DNA 実験が広く行われるようになった1982年(昭和57年)に定められたが、1991年(平成3年)に全面改訂されその後も部分的な改定が行われている。大学等では“組換え DNA 実験に関する安全委員会”あるいはそれに相当するものが設置されており、その機関での DNA 組換え実験に関する規則(健康診断など)を定めているので、分子生物学的な実験をはじめると当たっては、まず組換え DNA 実験の担当者に相談することが必要である。

指針の定義では、“組換え DNA 実験”とはある生細胞内で増殖可能な DNA (ベクター)と異種の DNA との組換え分子を試験管内で作製し、それを当該生細胞に移入し、異種の DNA を増殖させる実験及び実験の結果得られた組換え体を用いる実験をいう。“組換え体”とは、組換え DNA 実験の結果、組換え DNA 分子を移入された生細胞をいう。したがってイオンチャンネルやトランスポーターなどの cDNA を培養細胞に発現させる実験は、“組換え DNA 実験”である。一方、mRNA をアフリカツメガエル卵母細胞に注入したり、PCR でプローブを作製して in situ hybridization を行うこと自体は、“組換え DNA 実験”には相当しない。ただし、これらの場合にも mRNA 合成や PCR に用いるテンプレートを作製する過程に、“組換え DNA 実験”に相当する実験が含まれている。

指針では、“組換え DNA 実験”は、“組換え体作製実験”と“組換え体増殖実験”の2つに大別される。“組換え体作製実験”とは、同定されていない異種 DNA を持つ組換え体を得る

実験および当該組換え体を用いる実験と定義されており、cDNA クローニングを行うときのライブラリーのスクリーニングはこの実験に含まれる。また“組換え体増殖実験”は、同定された特定の DNA を持つ組換え体を増殖させる実験及びそれを用いる実験と定義されている。“組換え体増殖実験”は組換え体の増殖のみならず組換え体の構成の変更や組換え体を用いた実験も含まれる。

指針は、“組換え DNA 実験”を安全に行うために、承認・届出などの手続き、備えなくてはならない設備などを付属資料として規定している。組換え体の拡散を防止するために、物理的封じ込めと生物学的封じ込めの2種類の封じ込めの方法を定めている。物理的封じ込めは、もっとも規定のゆるい P1 からもっともきびしい P4 までの4段階に分かれている(表1)。また生物学的封じ込めレベルは、宿主-ベクター系の安全性を考慮したものであるが、通常の宿主-ベクター系は B1 レベルであり、自然条件下での生存能力が特に弱い宿主-ベクター系は B2 レベルとして定められている。

ウイルスを用いる実験や毒素を産生する場合や大量に培養する場合(20リッター以上が目安)などは別の規定に当てはまる。また“組換え DNA 実験”に準ずる実験として“動物個体を

用いる実験”、“植物を用いる実験”に関しての規定が定められている。ごく普通の実験を行う場合、cDNA クローニングは“組換え体作製実験”であって機関の承認を必要とし、物理的封じ込めレベルは P2、生物学的封じ込めレベルは B1 である。またクローン化された DNA を用いる実験は“組換え体増殖実験”であり、機関の承認を得ると、物理的封じ込めレベルを“組換え体作製実験”よりも一段階下げた P1 で行うことができる。

指針やその他の規定は、組換え体の拡散を防止することを目的としているので、その趣旨を理解し“組換え DNA 実験”で生じる廃棄物は必ずオートクレーブにかけることが大切である。水道のアスピレーターなどで廃液をオートクレーブせずに流すことがないようにしなければならない。

また注意すべきことは、科学研究費補助金で組換え DNA 実験を行う場合には、交付申請を行うまでに組換え DNA 実験の承認を得なくてはならない。

## 2. 分子生物学的実験をはじめの場合の基本の方針に関して

分子生物学的実験を考える場合、クローン化した cDNA を得ることが基本である。いったんクローン化された cDNA は様々な用途に使用される(図1)。まず cDNA の塩基配列が決定されるとタンパクの一次構造(アミノ酸配列)が推測され、さらにアミノ酸配列から構造の予測が可能となる。またファミリーを形成するタンパクの一次構造を比較することにより、類縁関係や進化過程を推測することができる。アミノ酸配列から合成ペプチドをデザインし抗体の作成が可能となる。cDNA そのものあるいは cDNA を鋳型として合成した RNA (cRNA とも呼ばれている)を用いて、DNA プロットイング、RNA プロットイング、in situ ハイブリダイゼーションを行うことが出来る。cDNA を手にする有利な点は、cDNA をそのまま発現させて機能を解析するだけではなく、cDNA に部位特異的

表1. 物理的封じ込めレベル(施設・設備による外界への拡散の防止)

| レベル | 主 な 設 備                                                        |
|-----|----------------------------------------------------------------|
| P1  | 整備された通常の微生物学実験室と同じ程度の設備を備え、かつ、設計が施されていること                      |
| P2  | 安全キャビネットの使用が好ましい<br>高圧滅菌機を建物内に備える<br>P2レベル実験中の表示を実験室の入り口に掲げること |
| P3  | 安全キャビネットの設置<br>前室を備えている<br>高圧滅菌機を建物内に備える<br>ろ過装置を備えた空気の出排換気装置  |
| P4  | P3に加え、更衣室・シャワー・燻蒸消毒室などを必要とする                                   |

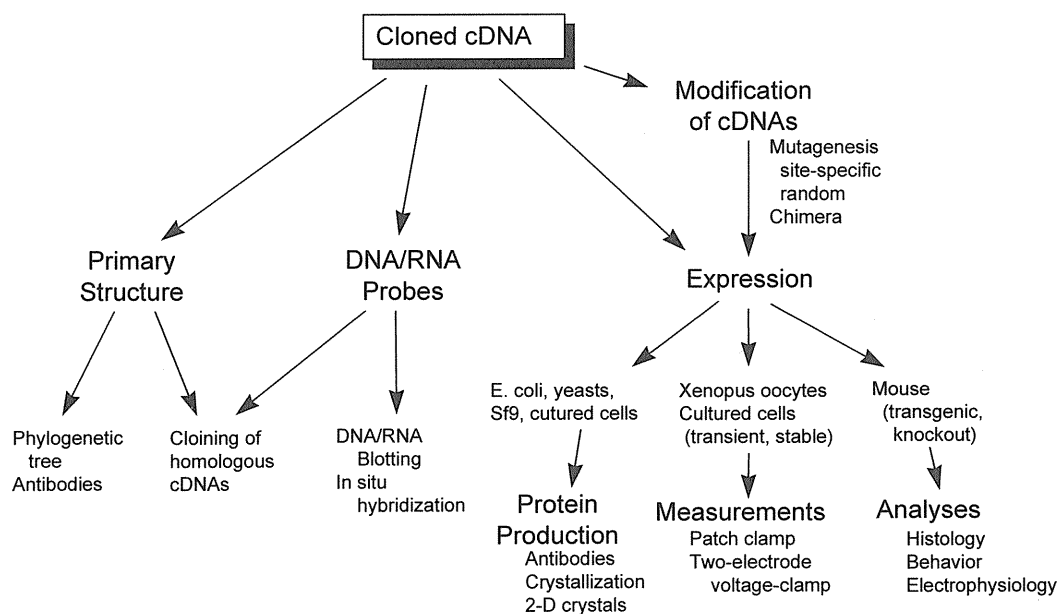


図 1.

変異導入などを行い改変したタンパクを発現させて機能を解析することができる点にある。cDNA の発現には種々のホストが用いられる。たとえば単に抗原用にタンパクを作らせるためには大腸菌、酵母やカイコ由来の Sf9 細胞がよく用いられる。イオンチャネルのように電気生理学的解析を行いたいものにはアフリカツメガエルの卵母細胞へ cRNA を注入する方法が簡便である。また細胞株に cDNA を導入し発現させることもよく行われる。トランスジェニックマウスやノックアウトマウスの作成には遺伝子を得ることが必要であり、cDNA をプローブとして遺伝子ライブラリーのスクリーニングを行う。

このようにいったん cDNA を得ると可能な実験の幅が広がるが、分子生物学的技術に過分の期待をすることは禁物である。分子生物学的な実験は、cDNA を得てやっとスタートといった面があり、期待するデータを得るまでには、かなり長期にわたって労力と資金をつぎ込まなければならないことが多い。

分子生物学的実験のいろいろな基本的手技は、いずれも多くの人々の経験と努力の結果

築き上げられてきたものであり、分子生物学的な実験を始める際にはできるだけ基本的な手技に忠実に行う方が無難である。可能であれば、分子生物学的な実験が普通に動いているところでトレーニングを受けることが好ましい。

### 3. 基本的な設備・機器

電気生理の実験機器と異なり、分子生物学の実験機器は一般的に単純であり、購入出るものが大部分である(表 2)。それぞれの機器の購入に際しては、経験者の意見を聴くことが重要である。たとえば、エチジウムブロマイドで染色したアガロースゲルを観察するために用いられるトランスイルミネーターの紫外線の波長は、通常 300 nm 前後であることが多いが、この波長の紫外線にさらされると DNA は損傷を受ける。ゲルの写真を撮るだけであれば問題はないが、ゲルのバンドから DNA を回収して用いる場合には、この波長は不適当であり、エネルギーの低い波長の長いトランスイルミネーターを選ぶべきである。一応そろえるとなると結構な設備投資が必要である。また遺伝子工学的操作に用いる酵素類を一通りそろえるにもかなりの額

表2. 主な分子生物学用機器

## ☆☆ 一般機器 ☆☆

(超)純水製造装置  
分光光度計  
天秤  
pH メーター  
インキュベーター・ヒートブロック(酵素反応用)  
冷蔵庫  
冷蔵庫(−20度, 酵素・DNA の保存)  
超低温槽(−80度; RNA, ライブラリー, Competent cell の保存)  
乾熱器(180度)  
オートクレーブ  
電子レンジ(溶液の加熱やアガロースゲルの作製)  
マイクロピペット(ピペットマンなど)  
チューブ立て  
ホモジェナイザー  
スターラー  
ボルテックスミキサー

## ☆☆ 分離精製など ☆☆

(冷却)微量遠心器(1.5 ml チューブ用)  
中速遠心器  
高速冷却遠心器  
凍結乾燥機  
電気泳動装置, 電源  
トランスイルミネーター(365 nm)  
インスタント写真装置  
サーマルサイスラー(PCR)

## ☆☆ 培養関係 ☆☆

安全キャビネット  
振とう培養器  
インキュベーター(プレート用)

## ☆☆ ガラス器具 ☆☆

試薬瓶(ふたを含めてオートクレーブ・乾熱可能なもの)  
試験管(ねじ口試験管は少量の培養に使える)  
三角コルベン(大腸菌の培養に用いる三角コルベンは、フィンのついたものを用いる, 培養時の栓には, シリコンゴム通気栓が便利)  
メスピペット(滅菌缶に入れて乾熱)  
コーレックス管(遠心機用)

## ☆☆ プラスチック類 ☆☆

マイクロピペット用チップ  
マイクロチューブ(貴重なサンプルを保存する容器でもあるから, 信頼できるものを購入すること)  
ポリスピッツ  
シャーレ

の投資が必要である(表3).

DNA シーケンスは, 自動シーケンサーで行う方が長く読め労力も少なくて済む. しかし長期にわたって DNA シーケンスを行うのでなく

表3. 分子生物学で用いる主な酵素

1. 制限酵素  
ある塩基配列を認識して DNA を切断する.  
100種類以上の制限酵素が市販されている.
2. T4 DNA Ligase  
DNA 断片をつなぐ
3. T4 DNA Polymerase  
DNA 末端の平滑化に使用
4. Alkaline phosphatase  
DNA 末端のリン酸基を取り除く
5. Reverse transcriptase  
RNA を鋳型として DNA をつくる
6. Taq DNA polymerase  
耐熱性の DNA ポリメラーゼ, PCR 反応に用いる.

れば, 高価な自動シーケンサーを自分のラボに購入する必要はないであろう.

ライブラリーのスクリーニングや RNA プロット(Northern プロット)などを行う場合には, 感度の問題からアイソトープの使用が避けられない. いろいろな non-RF の方法が開発されているが, 信頼性のあるデータを得るためにはまだ不十分である.

DNA 合成, ペプチド合成, DNA シーケンスなどを受託で行う会社がいろいろあり, 経済的な面を考えるならこのようなカスタムサービスを利用した方がかえって有利な場合もある.

#### 4. 核酸(DNA と RNA)の性質, 分離方法, 定量

核酸を扱う操作を十分に理解するためには, 核酸の物理化学的性質を知っておくと役立つ. 多様な性質を持つタンパクと異なり, 核酸の物理化学的性質はほとんど均一であるため, 分子生物学的実験に必要な操作の種類は限られている(表4).

核酸の精製の第一段階はタンパクとの分離である. タンパクはフェノールで変性し凝固してしまうのに対して, 核酸はフェノールに耐性であることを利用して, タンパクを取り除くことができる. 核酸は塩類とアルコール(エタノールやイソプロパノールが用いられる)の存在により不溶化し析出する. この性質を利用して, 核酸溶液を濃縮したり, 塩類やその他の水溶性

表 4. タンパクと核酸の比較

|          | タンパク | 核酸(DNA とRNA) |
|----------|------|--------------|
| 性質       | 多様   | 均一           |
| フェノール    | 変性   | OK           |
| 70%エタノール | ?    | OK           |
| 凍結       | ?    | OK           |
| 増幅       | 不可   | 可能(DNA)      |
| 変異導入     | 不可   | 可能(DNA)      |
| タンパクの存在  | 存在   | ?            |

物質を取り除くことができる。これらの2つの操作が、DNA・RNAを扱う上でのもっとも基本的な操作である。

DNAとRNAの分離は、DNAとRNAのわずかな溶解度の差を利用して行われる。DNAとRNAが混ざりあったものからRNAを取り除くには、RNAをRNaseで細断しておき、ポリエチレングリコール溶液でDNAを凝集させ沈殿させるという方法が用いられる。RNAは2位の水酸基の分だけ親水性でありこの条件では凝集しない性質を利用したものである。またRNAを分離するにはAcid-Phenol法が用いられる。フェノール溶液が酸性であるとDNAは水相からフェノール相へ移行するのに対して、RNAは水相に留まる性質を利用したものである。エタノール沈殿の際に通常用いられる酢酸ナトリウムの代わりにLiClを用いるとRNAが選択的に沈殿する。

プラスミドDNAを高純度に精製するには、超遠心機を用いてCsClの密度勾配で精製する方法が一般的であったが、最近ではカラムを用いたプラスミドを精製する方法が幅広く用いられ、超遠心機の必要性は少なくなっている。RNAの分離には、GTC(guanidium thiocyanate)溶液を用いて超遠心でRNAを沈殿させる方法がよく用いられたが、最近はAcid-Phenol法がよく用いられている。この方法を改変したRNA分離キットが多数市販されている。またmRNAの分離には、オリゴdTが付いたラテックスを用いる方法が一般的である。

## 5. DNA・RNAを扱う実験

実験に用いるDNAやRNAの量は、マイク

ログラムの量なので、天秤で量ることはできない。DNA・RNAの定量は分光光度計を用いて260nmの吸収を測定して行う。2本鎖のDNAの場合、1ODの濃度は50 $\mu$ g/mlと換算する。サンプルにタンパクが混入している場合には、実際の核酸の量よりも高い値が得られてしまうので、そのような恐れのある場合には、分光光度計で得た値とゲルを流してバンドの濃さから推測される核酸量とを比較しておくことが好ましい。

DNAもRNAも化学的には安定な物質であるが、通常環境ではDNAを切断するDNaseやRNAを切断するRNaseが存在している。したがってDNAやRNAの実験にあったっては、DNaseやRNaseの混入がないように心がけなくてはならない。DNaseは活性のためにマグネシウムイオンを必要とするため、EDTAが十分存在していればDNaseは働かない。またオートクレーブによりDNaseは失活する。

これに対して、RNaseはマグネシウムイオン依存性がなく、オートクレーブで加熱しても失活することはない。RNaseを失活させる方法は、乾熱をかけるか、フェノール処理を行わなくてはならない。したがっていったんRNaseが混入するとRNaseを取り除くのは困難であるため、RNAを扱う実験ではRNaseが混入しないように心がけることが大切である。RNAの実験に用いる器具は、可能な限り180度(数時間)の乾熱をかける。水は“ミリQ水”を(前もって乾熱しておいたガラス瓶に入れ)オートクレーブして用いる。チップ・試薬は未開封の物をRNA用として用いる。試薬を測る時にスパーテルなどは使わないようにする。またpHをあわせる必要のある溶液を調整する場合には、一度pHメーターを用いて溶液を調整し、同じ量の試薬を混ぜあわせて溶液を作るか、pHの正確さがあまり大切でない場合には、pH試験紙を用いてpHを合わせる。RNaseはアルコール溶液中では働かないという事なので、RNAのサンプルはエタノール沈殿の形で保存する。

RNAse は組織・細胞の中にはもちろん、汗の中にも含まれているので、RNA 実験中は手袋をはめて出来るだけ RNAse が混入しないようにする。また実験台まわりをきれいにしてから実験に取り掛かることも大切である。

## 6. データベース

既知の塩基配列の大部分はデータベースに登録されている。主要なデータベースは、Gen Bank, EMBL, DDBJ の3つでありインターネットでアクセスし利用することができる。これらのデータベースは登録された核酸の塩基配列のデータを提供するだけではなく、ホモロジーの検索などのサービスも行っている。インターネットのアドレスは下記のとおりである。

GenBank <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

EMBL <http://www.ebi.ac.uk/>

DDBJ <http://www.ddbj.nig.ac.jp/>

## 7. 危険防止

分子生物学的実験は、合成化学などの分野に比較すると安全であるが、実験中の事故の可能性はいたるところに潜んでいる(表5)。したがって、安全教育、特に初心者への安全教育には十分な配慮が必要であるし、夜間あるいは休日一人で実験を行うことは避けるべきである。

## 最 後 に

分子生物学的実験をおこなう上で大切であると思われることの私見を列挙してまとめとする。

1. 他人(の失敗)に学ぶ
2. プロトコルを変えるな
3. コントロール実験を常に考える
4. 実験はあせらず慎重に

サンプル・試薬の取り違い、量の計算(暗算)間違いをなくす

5. 記録は丁寧に

表5. 安全のために

### 1. 試薬の取り扱い

メスピペットを用いる場合には、安全ピペットを用いる。

絶対に口で吸ってはならない。

試薬が飛び散る可能性は常に存在する。

飛沫から守るために防護眼鏡、実験服の着用が好ましい。

特に下記の試薬に注意

劇 薬 物：アルカリ、酸、フェノール

毒 物：アクリルアミド(神経毒である)、クロロホルム(肝毒性)

発ガン物質：エチジウムブロマイドなどの DNA を染める化合物

爆 発 物：エチルエーテル

### 2. オートクレーブ

高温で高圧の状態であつたを開けてはいけない。

100度1気圧になつても、水溶液の入ったビンに機械的な衝撃を加えると、突沸しビンが割れる可能性がある。

### 3. 電子レンジ

アガロスを溶かすために用いられるが、固く栓をしたビンを使うと爆発する。

### 4. 紫外線

イランシイルミネーターを使用する場合には、防御用の顔マスクを用いる。

培養室の紫外線灯は、入室時には消す(部屋が明るいと感じ付かないことがある)。

### 5. 高圧電源

電気泳動に用いられる。ゲル・電気泳動槽に触れる場合は、まず電源を切る。

長時間の電気泳動を行う場合には、その場所を離れないようにするのが一番である。

離れる場合は定電圧で流す方が安全である。定電流でゲルを流すと溶液もれなどで回路が途切れた場合に、過大な電圧がかかる。

### 6. 遠心機

常にバランスを取るよう気をつけることが大切。

### 7. 火災防止

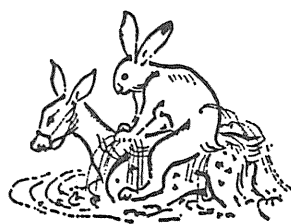
エチルエーテルなどの引火性の薬品を用いる場合は火の気がないことを確認する。

インキュベーターをオーバーナイトで用いることが多いので、機器の点検は定期的に行う。恒温水槽の水切れが無いようにしなくてはならない。

冷蔵庫・冷凍庫の後ろなどにたまったごみが燃え出して火事となることがあるので、大掃除のときは普段掃除をしない大型機器の裏も掃除をする。

## 参 考 書

1. 中山広樹, 西方敬人著: バイオ実験イラストレイテッド 1. 分子生物学実験の基礎. 細胞工学分冊, 目で見える実験ノートシリーズ, 秀潤社, 1995年  
(基本的な技術を丁寧に解説した入門書. 分子生物学的実験をはじめるに時には必読. シリーズ
2. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular cloning: A laboratory manual, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989  
(古典的マニュアルの第2版)
3. 酵素などの試薬を出している各社のカタログ  
(付録の部分にいろいろな情報が載っていることがある)



## 機能発現法による cDNA クローニング

久保義弘

(東京都神経科学総合研究所 神経生理学研究部門)

### 1. はじめに

筆者は、イオンチャネルの電気生理学のフィールドから研究を始めた。分子生物学の specialist とはとてもいえない (電気生理学の specialist とはいえないけど) が、この稿を書くにあたって、電気生理学の根っこを持っていて後に分子生物学のフィールドに足をふみ入れたという経緯が、同様な道を計画されている生理学者にとって身近なものとして参考になるのではないかと考えている。また、この稿のテーマの機能発現法によるクローニングに限っては、実験の両側面を完全にやった経験から、いくらか血の通った情報を提供できるかと思う。

機能発現法によるクローニングといった場合、その中には、多種の発現系、多種の assay 法が含まれる。この稿では、筆者の実地の経験に基づいて、「アフリカツメガエル卵母細胞を用いた機能発現法による、イオンチャネル、受容体の cDNA クローニング」に限って解説する。

この稿の構成は、以下のとおりである。まず、ほとんど分子生物学になじみのない方のために、他稿と若干重複するかも知れないが、「cDNA」「クローニング」といった言葉の意味について、解説する [2]。次に、機能発現法の特徴を明らかにする意味で、種々のクローニング法について、簡単に紹介する [3]。それから、機能発現法の概略を示し [4]、さらにその各ステップについて解説する [5]。ツメガエル卵母細胞を用いた発現実験は、機能発現法によるクローニングにおいてそのスクリーニングの柱となるばかりでなく、クローニングを離れても、構造機能連関などの機能解析系として一般的に

有用であるので、この部分については、特に詳しく記述する [6-9]。その後、代表的実例として、筆者らの行なったイオンチャネル (IRK1, 10.) および、G 蛋白質結合型受容体 (sBimR, 11.) のクローニングをとりあげ、実地の体験を通して学んだことを紹介する。そして、最後に、最重要事項を簡潔に要約する [12]。

なお、卵母細胞を用いた発現実験については、種々の秀れた総説、解説が出されているのでこれらも参考にさせていただきたい (ref. 1-9)。

### 2. 分子生物学の基礎中の基礎

#### 2-(1) cDNA とは

遺伝子の本体は、いうまでもなく、ゲノム DNA である。そして細胞内では、その DNA から、RNA が転写される。ゲノム DNA から転写されたばかりの RNA は、イントロンとエクソンの両方を含んでいるが、スプライシングというステップを経て、イントロンが取り除かれ、エクソンのみになる。このエクソンのみになった、完成した RNA から蛋白質ができる。cDNA (complementary DNA) というのは、この完成した RNA に対応するもので、取り扱いにくい RNA を、逆転写することによって得られるものである。

よって、ゲノム DNA と cDNA の間には、(1) ゲノム DNA はすべての体細胞で共通だが、cDNA は、その遺伝子を発現している細胞からのみ得られる。(Na<sup>+</sup> チャネルのゲノム DNA は、脳にも、肝臓にもあるが、cDNA (RNA) は、脳にはあっても、肝臓にはない。(2) cDNA の解析から、直接、そのコードする蛋白の一次構造がわかるが、ゲノム DNA の場合は、イントロンがふくまれているために、できてくる蛋白

の一次構造は完全にはわからない。という2つの大きな違いがある。

転写のメカニズムを知るといった目的では、ゲノム DNA の解析を行うことになるが、本章で述べるような、イオンチャネルの一次構造(イオンチャネル蛋白のアミノ酸配列)を知るといった目的では cDNA の解析を行うことになる。よって、この稿で述べる遺伝子のクローニングとは、cDNA の単離を意味する。

## 2-2) クローニングとは

ひとつの細胞には、多種多様の RNA が存在する。その中から、自分の関心のあるチャネル分子の RNA (cDNA) だけを、単離してくる過程がクローニングである。基本的には、多種多様の RNA を逆転写により、まず、cDNA (多種多様)にする。その cDNA をベクターにつなぎ(多種多様)、それを、大腸菌にいて、ふやす。全体として多種多様な大腸菌がえられるわけだが(これを cDNA ライブラリーという)、大腸菌1個が分裂して増えてきた各集団(コロニー)は、(1個の大腸菌には、1個のベクターしか入らないために)完全に均一である。すなわち、(cDNA ライブラリーはたくさんのコロニーを

含み多種多様だが)1個のコロニーを選べば、そこに入っている cDNA は一種類である。よって、クローニングとは、(cDNA ライブラリー中の、例えば100万個あるコロニーの中から)自分の目的とする cDNA が入っているコロニーはどれなのかを決定していく作業であるといえる。当てずっぽうでやってもあたるわけではなく、確実に選び出す工夫が必要となる。以下に示すのは、これまでなされてきた種々の工夫である。

## 3. イオンチャネル受容体の cDNA クローニングの方法

### 3-1) チャネル蛋白の精製からいえる方法

たとえば、ニコチン性アセチルコリン受容体はこの方法で単離された。蛋白精製の優れた腕が必要である。その手順は以下の通りである。

(a)蛋白を精製する。(b)その精製蛋白の、アミノ酸配列を一部ペプチドシーケンサーにより決定する。(c)そのアミノ酸配列をコードしうるすべての組み合わせの oligo DNA (degenerative oligo DNA)を合成する。(d)その DNA をプローブとして用いて、cDNA ライブラリーをスク

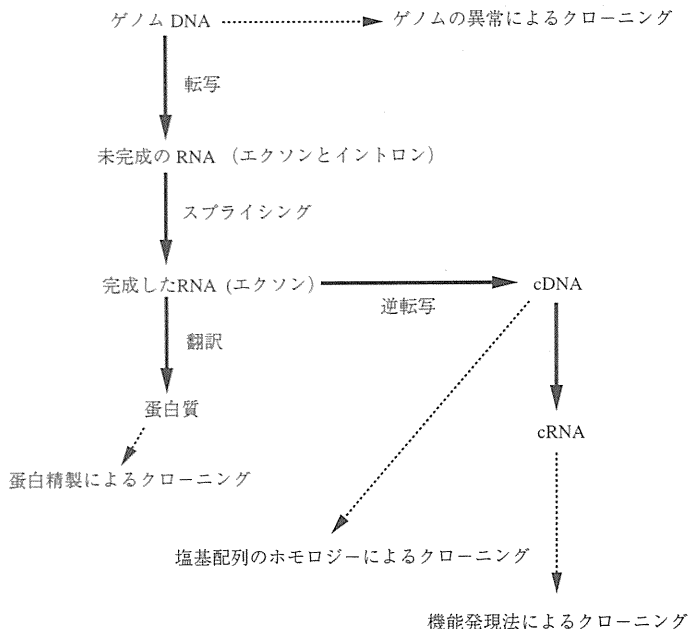


図1. 種々の cDNA クローニング方法

リーンする。

このストラテジーで、肝心なのは、まちがいになく目的とするチャネル蛋白をできるだけ高純度に精製することである。そのため、(a)そのチャネル蛋白を非常に高度に発現している組織を用いること、(b)精製の際の tag として使える、生物毒や薬剤等があることである。ニコチン性アセチルコリン受容体の場合には、シビレエイの電気器官という、格好のソースがあり、また、 $\alpha$ -bungarotoxin という、精製の際に非常に役に立つ、この分子に特異的に結合する生物毒があった。その結果、cDNA の単離が可能となったのである (ref. 10)。

### 3-(2) 異常を持つ動物のゲノムのスクリーニングからはいる方法

行動異常を示す動物のストレインをみつけることから始まる。イオンチャネルの異常が疑われた場合、例えば、その筋組織から、電気生理学的記録を行い、ある種のチャネルの欠如、異常等を確認する。その後、そのストレインのゲノムのどこに異常があるのかを、莫大な作業の後に、決定し、ゲノム DNA を単離する。その後、そのゲノム DNA をプローブとして用いて cDNA を単離する。この方法により、単離されたのは、最初の膜電位依存性  $K^+$  チャネルのクローンで、ショウジョウバエの、羽根が震える変異体、Shaker から単離された (ref. 11)。この方法のデメリットは、とにかくすごい労働力があること、それから、長い努力の末単離されるものが、チャネルそのものではなくて、その調節因子等である可能性があることが挙げられる。

### 3-(3) 機能発現法によるクローニング

この方法が本稿の主眼である。4. 以降に詳述する。

### 3-(4) ホモロジーによるクローニング

上記の方法のいずれかで、全く新しい遺伝子が単離されたら、その遺伝子に類似性を持つ種々の遺伝子の単離が、塩基配列のホモロジーにより行われる。多くの場合、チャネルの種類は、ひとつではなく、ほぼ必ず、同じファミリー

に属するものが存在する。方法的には、(a) degenerative oligonucleotide primer を用いた PCR 法により、新規遺伝子の断片を単離し、それをプローブとして、high stringency で cDNA ライブラリーをスクリーンし、新規遺伝子をひろう。PCR 法で得られた断片はもちろんゴミかもしれないし、また、すでに得られているものと全く同じものである可能性もあるので、塩基配列を決定して、同じファミリーに属する類縁の遺伝子であり、かつ、新規のものであることを確かめてから先に進むことになる。(b)すでに単離されている遺伝子そのものをプローブとして、low stringency で cDNA ライブラリーをスクリーンし、新規遺伝子をひろう。この際、もろもろのゴミももちろんひっかかってくるので、塩基配列決定により、確かめることが必要となる。この際も、目的は、同じファミリーに属する類縁のもので、かつ新規の遺伝子を単離することである。

## 4. 機能発現法による cDNA クローニングの大筋

### 4-(1) 概要

蛋白を精製するに足るソースもなく、適当な異常個体もない状況で、全く、これまでに遺伝子の単離されていないチャネルの遺伝子を単離する際に有効な、全く機能的発現のみを指標にしてスクリーニングを進めていく方法である。具体的には、アフリカツメガエルの卵母細胞を発現系として用い、細分割した cDNA ライブラリー由来の cRNA を注入し、目的とする電流が出るかどうかを電気生理学的にスクリーニングしていく。ライブラリーの、あるプールがポジティブであれば、そのプールをさらに細分割していくという過程を繰り返し、最終的に単一クローンを得るものである。電気生理と分子生物の両方を確実に進めることが必須だが、(例えば、筆者のところのような)極く小さい研究室でもやっていける性質のものである。アフリカツメガエル卵母細胞が、蛋白発現系として非常に有用であるということを示したの

表1 機能発現法によるクローニングの概要

## スクリーニング法

カエル卵母細胞に RNA を注入し、電気生理学的にスクリーンする。

## ステップ

(1) 様々な組織や、細胞株から抽出した RNA をテストし、どれが、最もよいソースかを決定する。



(2) RNA を大きさで分画し、各分画を試し、目的とする RNA の存在する分画を決定する。



(3) その RNA 分画から、小さいサブプールよりなる cDNA ライブラリーをつくる。



(4) 各サブプール由来の cRNA を合成して試し、どのサブプールに当りがあるか決定する。



(5) あたりのサブプールを、さらに細分割して、同じようにしほり込みをすすめる。



(6) 最終的に単一クローンに到達する。

## メリット

- (1) 塩基配列の情報や、精製蛋白なしに、全く新規の遺伝子の単離が可能。
- (2) 機能を指標にスクリーンしていくので、取れるときには、必ず機能をもつ遺伝子の全長が取れる。
- (3) 小さい研究室でも、実行可能

## デメリット

- (1) 2つのサブユニットがそろわないと機能しないような分子のクローニングは、(理論的には可能だが)実際的には不可能。
- (2) 機能しうる完全長の遺伝子しか取れないので、完全長の逆転写が難しい、長い分子はとりにくい。
- (3) カエルの卵母細胞にもともと似たチャネルがある場合は、cRNA による発現の有無の判定が難しいので、実際的には困難。
- (4) 電気生理のアッセイが唯一の指標なので、そのアッセイがあやふやだとどつぼにはまる。わずかな発現があるのを見逃すのも、ありもしない発現があるのと思ってしまうのも、どちらもまずい。
- (5) 卵母細胞の調子に依存しているの、卵母細胞が良好でないときには、どう工夫してもうまくいかない。

は、1971年の Gurdon らの論文 (ref.12) で、この発現系を用いたイオンチャネル型受容体の電気生理学的記録を示したのは、1983年の Miledi らの論文 (ref.13) である。そして、この発現系を利用して、電気生理学的スクリーニングに

表2 これまでに機能発現法で単離されたイオンチャネル、受容体の例(網羅的なものではない。)

## (a) G蛋白質結合型受容体

substance K 受容体 (ref. 14)  
5-HT<sub>1c</sub> 受容体 (ref. 17)  
PAF 受容体 (ref. 18)  
metabotropic glutamate 受容体 (ref. 19)  
oxytocin 受容体 (ref. 20)  
細胞外 Ca<sup>2+</sup> 受容体 (ref. 21)  
ATP 受容体 (ref. 22)  
bifunctional metabotropic Ca<sup>2+</sup>/glutamate 受容体 (ref. 23)

## (b) イオンチャネル型受容体

kainate type glutamate 受容体チャネル (ref. 24)  
NMDA type glutamate 受容体チャネル (ref. 25)  
5-HT<sub>3</sub> 受容体チャネル (ref. 26)  
ATP 受容体チャネル (ref. 27)

## (c) イオンチャネル

1 回膜貫通型外向き K<sup>+</sup> チャネル (ref. 28)  
膜電位依存性 K<sup>+</sup> チャネル (ref. 29, drk 1)  
ATP regulated K<sup>+</sup> チャネル (ref. 30, ROMK 1)  
内向き整流性 K<sup>+</sup> チャネル (ref. 31, IRK 1)  
G protein coupled K<sup>+</sup> チャネル (ref. 32, KGA)  
弱い内向き整流性を示す K<sup>+</sup> チャネル (ref. 33, sWIRK)  
2 回膜貫通型 Na<sup>+</sup> チャネル (ref. 34)  
Cl<sup>-</sup> チャネル (ref. 35)  
Cl<sup>-</sup> チャネル (ref. 15, by suppression cloning)  
Ca<sup>2+</sup> チャネル (ref. 16, by suppression cloning)

による cDNA クローニングを世界で最初に行なったのは、京都大学の中西重忠先生と久野宗先生のグループである (ref.14, Masu, Nakayama, Tamaki, Harada, Kuno & Nakanishi, 1987)。実行可能かどうかかわからない時に挑戦して、成功し、方法を確立したことに筆者は感動をおぼえる。この substance K 受容体のクローニング以来、機能発現法は、生理学的に存在が知られているチャネルや受容体の新規の遺伝子の単離に広く用いられるようになった(表2)。とられた種々の cDNA の impact 以前に、この画期的な系の発見および手法の開発自体の価値と意義を、(いまさら筆者がいうまでもないとは思いますが)あえてここで強調したい。

## 4-(2) そのメリット

- (a) 全く塩基配列やアミノ酸配列などにさわからないで一番最後までクローニングが進む。
- (b) 全く塩基配列の情報のない、全く未知の、新しいクローンを得ることが可能である。

(c) 蛋白の精製をしたり, 変異動物を解析したりといった特殊な技術は要求されない. ただガラス電極さえあればよい.

(d) なによりも大きな特徴は, とれるときには, まちがいなく機能を持つ full length のクローンがとれる. この点において, 塩基配列のホモロジーで釣った fragment を combine したりするクローニングとは随分違う. ピタリときまればすばらしく強力である.

#### 4-(3) デメリット

しかし, イオンチャネル, 受容体であるならなんでもこのやりかたでとれるかというと, そういうわけではない. 以下に困難が予想される例を示す.

(a) 「nicotinic ACh 受容体」は, 複数の sub-unit が発現に必要なから不可能. nicotinic ACh 受容体は4種のサブユニットが集まってはじめて機能する. 複数の分子が機能発現に要求される場合は, 分割したライブラリーのスクリーニングを行う際, すべてのコンビネーションをつくさなければならない. 実際上, ほぼ不可能に近い.

(b) 「 $\text{Na}^+$  チャネルや  $\text{Ca}^{2+}$  チャネル」は非常に長い分子なので, 不可能. 機能でスクリーニングして, とれるときには full length という事は, うらを返せば, 長い分子のほとんどがはいっていても, ほんのちょっとでもはしっこが欠けていれば, (機能しなくなるために)絶対に

みつからないことになる. 長い分子の場合, 一発で完全長というのは難しいので, 実際上不可能に近い.

(c) 「 $\text{Ca}^{2+}$  依存性  $\text{Cl}^-$  チャネルや stretch-activated チャネル」は, 卵母細胞自身に性質の似たチャネルがあるから不可能. スクリーニングの最初のころは, ごく小さい電流がでるに過ぎない. よって, 発現してくるものと良く似たものが卵にあると, 発現した分大きくなっているかといったとてつもなく微妙な判断をしなければならない. よって実際上不可能に近い. この際, しかし, あるブロッカーが卵の内因性の電流には効かないけど, 発現してきたものには効くといった質的な違いがあれば, やれる.

#### 4-(4) よって適用できるもの (ねらいうるもの) は

- (a) ひとつのサブユニットで機能しうるもの
- (b) あまり長くないもの (腕によるけど 6 Kb ぐらいが限界か)
- (c) カエル卵に内因性の似たような電流がないこと

これまでに機能発現法により単離された cDNA のごく一部を表 2 に示した. この中で, チャネルや, チャネル型受容体の解析は自明と思うが, G 蛋白質結合型受容体の解析について, 若干説明を加えたい. 図 2 に示したように, 卵母細胞には  $\text{Gq}$  protein-phospholipaseC- $\text{IP}_3$ - $\text{Ca}^{2+}$  store からの  $\text{Ca}^{2+}$  release-細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の

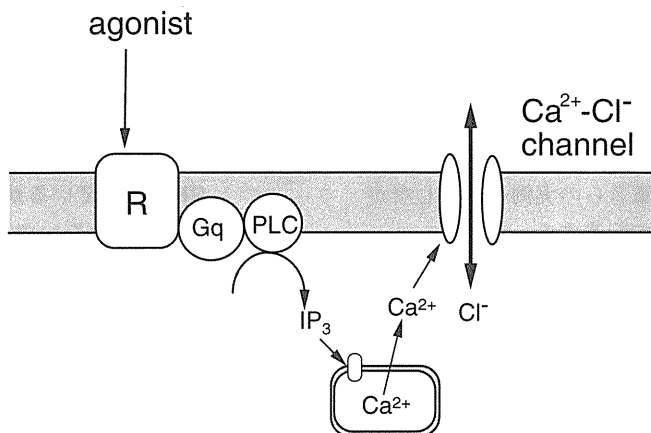


図 2. 卵母細胞を用いた Gq 蛋白質結合型受容体発現の検出のメカニズム

上昇- $\text{Ca}^{2+}$  activated  $\text{Cl}^-$  channel の活性化という機構が備わっている。よって Gq protein に couple する受容体の発現は、 $\text{Cl}^-$  電流の増加としてモニターできるわけである。この 2 次メッセンジャー系による増幅があるため、この種の受容体の単離は、うまくいった例が非常に多数ある。

(注)4-(3)で、長いものはとれないと述べたが、じつは巧妙な方法がある。目的とするチャネルを発現している細胞からとった RNA を注入すると、チャネルが発現する。その RNA から、ライブラリーをつくと、長すぎる分子は、中途半端な長さになってしまっている。しかし、その、antisense 側を読んで、細胞の RNA と共発現させると、その発現をおさえることになる。抑えるのには、full length でなくてよいというところがみそである。ここから、antisense 鎖が抑える力をもっているプールをしばらくこんでいくと、ついには、目的とする遺伝子の partial fragment 得られることになる。これを、プローブとして、全長の cDNA を最終的にはとることができる。この方法は、実際にすでに成功例がある (ref. 15, 16)。

## 5. 機能発現法によるクローニングの各ステップ

以下の方法が best というわけではないと思うが、筆者自身はこのやり方でたしかにうまくいったし、ここがよかったんだという思い込みもあるので、それを紹介する。なお、イオンチャネルの場合に specific な問題点および、G 蛋白質結合型受容体の場合に specific な問題点、特にその電気生理学的スクリーニングで考慮すべき点については、筆者らの実例を紹介しながら、10, 11. において記述する。

### 5-(1) 何をとるかを決める。

4. で述べたことを考えて無理でないかよく考える。また機能発現法が方法として best か? も良く考える。ホモロジーでとれるものならホモロジーの方が楽。既にとられているものを、異種の動物から取ったりする場合は、ホモロ

ジーでとる方を選ぶべきである。

とりあえず、組織や細胞から抽出した RNA を注入して、発現するかどうかまで、やってみて、結果をみて進むか退くかを決めるというのは、ひとつの手である。しかし、ここで、進む、つまり、その先の RNA のサイズ分画等に進むときは、重い決心をするべきであると思う。道は平坦ではないし、泥沼にはまることは多いし (おそらく publish されているものより、数倍は多い?)、そして、クローニングはとれなければ、結果としては、何もやらないのといっしょである。だから、やるからには必ずとるという覚悟と目算で望むべきであると思う。

### 5-(2) 卵母細胞の preparation と RNA の注入、電気生理学的記録

これらは、スクリーニングのすべてのステップで必須の、肝要な点なので、6, 7, 8, 9. に、詳述する。ここでは、注入にも記録にも、順調に進むためには、ガラス電極の太さが重要であるということを強調しておく。

ところで、卵母細胞から、上手に記録がとれるということと、きっちりスクリーニングができる (自信をもって、発現の有無を判定できる) というこの間には、深い河がある。記録をとるのは簡単でも、「どういう条件が、小さい発現電流を内因性の電流と区別してまちがいに検出するのに best か」ということを決めるのは、容易ではない。筆者の場合、いろいろやってだんだんわかってきて、終わるころに、これからもう一度やるのならばずっと上手にやれたのになあ…と覚えることが多かった。この実例を 10, 11. で紹介する。

### 5-(3) どのような細胞株もしくは組織にその RNA が出ているか検討

ケチなことを言わないで、網羅的に調べて、出ている可能性のある、手にはいるすべての組織、細胞株から、poly A<sup>+</sup> RNA を抽出する。よいソースにあたると、後々楽に進むし、あまりよくないソースにあたると、結局うまくいかないの、best のソースをあくまで探し求めるべきである。まず 10  $\mu\text{g}$  程度の polyA<sup>+</sup> RNA

をそれぞれとる。RNA の抽出には、細胞株からなら、圧倒的に Fast Track Kit (Invitrogen) をすすめる。なにより操作が楽だし、はじめてやってもこわれていない長い RNA がとれる。また、筆者は、acid phenol 法によって total RNA を単離した後、poly A<sup>+</sup> selection をかける場合に比べ、Fast Track による場合は、格段に rRNA の混在が低い (poly A<sup>+</sup> の割合が高い) という印象を持っており、この点も気にいっている。ただ、組織から単離する場合には、(Fast Track Kit はグアニジンでなく SDS による lysis なので) 組織の RNase のおさえが足りなくて、RNA の quality が下がることがある。この際には、1 kit につきこむ組織の量を減らす。収量は減るが、こわれてないものがとれる。機能発現法において、こわれた RNA はゴミ以外の何物でもない。この RNA を卵母細胞に注入し、スクリーンしてどれが best か決定する。

#### 5-(4) RNA のサイズによる分画

概要をまず説明する。large scale で RNA をとる。poly A<sup>+</sup> RNA で 100~200  $\mu$ g とる (培養細胞だとものすごい dish の数になる)。そして sucrose gradient で分画する。RNase には充分注意するとともに sucrose solution には SDS をいれておく。fraction は 30 ぐらいにわけける。スクリーンし best のものをきめる。スクリーンと同時に各分画をほんの少量ゲルに流して oligo-dT プローブで northern hybridization を行ない、分画がうまくいっていることと、各分画の RNA の長さ、電流を発現した分画の RNA の長さを知っておく。

目的とする RNA が集まっていて、いらなもの少ない best の分画のみでライブラリーを作成するために、量が少ないからといって、となりと混ぜたりしない。そのためにも充分量の poly A<sup>+</sup> RNA をとるところから始めるべきである。

大量の培養細胞から精製した 100  $\mu$ g 以上の poly A<sup>+</sup> RNA を全量投じるのは、非常に緊張の高まる瞬間である。そのプレッシャーから、(分画前の poly A<sup>+</sup> RNA で結構な大きさの電

流が見えた場合など特に) RNA がこわれたら、もともこもないので、危なっかしい分画なんかない方がいいのではないかという気になることもある。しかし、ライブラリー後の最初の電流は格段に小さくなるので、(小さくなくても何とか判定できるようにするために) 目的とする RNA を濃縮するための操作である、分画は絶対に必要である。また、短い RNA が混ざっていると、長い RNA の逆転写が、うまくいきにくくなるという話もあるので、それを防ぐ意味でも、分画は必要である。

筆者は、RNA の分画は次のような条件で行なった。ちょうどうまく分離するために、gradient 液の組成と遠心の条件は大切である。なおすべて RNAase free ですすすめることはいうまでもない。

#### (a) gradient solution 作成

|       |                  |
|-------|------------------|
| 5 % 液 | 5 % sucrose w/v  |
|       | 0.1 M NaCl       |
|       | 10 mM Tris pH7.3 |
|       | 0.5 % SDS        |
|       | 1 mM EDTA        |
| 25% 液 | 25 % sucrose w/v |
|       | 0.1 M NaCl       |
|       | 10 mM Tris pH7.3 |
|       | 0.5 % SDS        |
|       | 1 mM EDTA        |

を、RNAase (ー) grade で作成し、小型の gradient maker の奥の方に 5 % 液を 6.5 ml, 手前の方に 25 % 液を 6 ml いれる。両液が混ざりながらでてくる (濃い液が先にでてくる) のを 12 ml の超遠心のチューブに受ける。(まずチューブの下に受け、その後、たまった液面に波紋を作らないように、一滴ずつそっと重層していく。)

(b) RNA は 65℃で 5 分処理し、即氷上で冷却してから、gradient にそっとのせる。

(c) 遠心は、22℃, 21 K rpm で、15.5 hour 行ない、blake slow で止める。

(d) 上から 400  $\mu$ l ずつ eppendorf tube に分注していく。

(e) エタノール沈殿し、100  $\mu$ l の DEPC 処理水に suspend する。5  $\mu$ l を oligodT northern 用にとり、残りをもう一度エタノール沈殿し、10  $\mu$ l の injection water に suspend する。

(f) このうち、各分画 1  $\mu$ l を卵母細胞注入に使い、判定する。(虎の子の RNA なので、この判定のための実験には失敗は許されない。だから、この実験の時は、卵母細胞を 3 batch 程度出して、最も良さそうなものを使う)

(g) 残りの 9  $\mu$ l が、次のライブラリー作成の基となる。

#### 5-5) cDNA ライブラリーの作成

Electroporation により効率のいい transformation ができるようになったので、もはや packaging のメリットはない。つまり、ファージのライブラリーにする必要はなく、後のステップ(繰り返す DNA 抽出)を考えるとプラスミドのライブラリーの方がいい。

そのプラスミドベクターの満たすべき点は、uni-directional にはいること、sense-strand の cRNA が T7 polymerase か、T3 polymerase で読めること。(SP6 は途中下車した短い RNA ができるのでさける)その点をみたすものとしてファルマシアの time saver cDNA library kit と uni-directional cloning tool box の組み合わせはすすめられる。ただ、完全長 cDNA を作るための最大のキモである reverse transcriptase については、筆者は Gibco/BRL の Superscript 2 に強い強い信仰を持っていて、上の kit の内、reverse だけはこれに置き換えてる。(10. で紹介する IRK1 の時はすべて手製でやったが、11. で紹介する sBimR の時はこの kit の組み合わせでやって問題なくうまくいった)

cDNA ができたら、できているべきサイズに従い、必要なところ以下をすてる。kit では、カラムをつかうことになっているが分離が悪いので、筆者は、cDNA をゲルに流して切出しをかけている。量が少ないため、どっとロスしやすいので、単なる低融点ゲルの溶解でなく、積極的にゲルをこわして cDNA を分離する酵素、gelzyme (Invitrogen) を使用している。

キモは、完全長でないやつは目的とするものを希釈しているごみにすぎないということである。ごみを混ぜて、大きいライブラリーをつくることは、必要でないだけでなく、避けなければならない。極論するなら、当り(完全長の目的 cDNA)がはいってれば、ライブラリーのコロニーの数はひとつでもよい。(頭ではわかっていてもついつい余計にとろうとしてしまいがちなので、注意が必要である。)この点、総合図書館のような、hybridization 用のライブラリーの作成とは全く異なる。

得られた精鋭の cDNA を、ベクターにつなげて、electroporation で大腸菌にいれる。Electro-competent cell は作ろうなんて考えず、Gibco/BRL の DH12B を使う。厳しい fractionation をかけているので、10万もコロニーがでれば充分。通常このぐらいいは楽勝で出る。これを例えば5000かける20プールにわけると、1プールあたりいくつのコロニーを含むかさえ、きちんとわかっていれば(タイターが決めてあれば)、別にプレートにまく必要はない。いきなり liquid culture してよい。各プールの菌のストックは必ず作る。

#### 5-6) DNA 抽出, RNA 合成

各プールから wizard miniprep (Promega) により DNA をとる。linearize し in vitro での RNA 合成を行う(この詳細は、この稿の 6. で述べる)。Injection してスクリーンする。

ライブラリー由来の DNA からつくった RNA を発現させてでまちがいない電流ができれば、もう完全長の機能的クローンは手中にある。ライブラリーの細分割が進んでいくと、どんどん電流は大きくなるのでスクリーニングはどんどん容易になり、時間の問題で必ずとれる。

実際は、細胞の RNA では電流がでても、ライブラリーに、full length の機能的クローンがなかなかはいらない。そのため、電流がみえない。小さすぎて見落としてしまう。見落とすまいとして、ありもしないものがそれっぽく思えてしまう。等のトラブルがおき、あきらめる、やりなおす、先へ進んであとでまちがいに気づ

く、といったことになることも多々ある。

とにかくここで、信頼できる電流がでたら上がり!! 内向き整流性チャネルの場合、この最初のシグナルを得るまで14カ月かかり、このシグナルが出てから、単一クローンにするまでは20日(誇張ではありません)だった。

#### 5-(7) ライブラリーの細分割

あるひとつの5000コロニーのプールにあたりがでたら、そのプールを分割する。菌のストックがつくってあるので、まずどのくらいの量でどのくらいの数のコロニーがでるか調べる(タイターを決める)。その上で、ほとんどのクローンが間違いなくはいるように、1000コロニーかける15プール作る。(1000かける5プールでは不十分である。)これも、プレートに撒く必要はない。次に、この15プールの中のどれに当たりがあるか調べる。見つかったら、1/5000から、1/1000に絞り込めたことになり、実際、電流も大きくなる。あとは、全く同じことを繰返していく。このスクリーニングを行う際、卵の発現力を確かめるために、ひとつ前の round の RNA プールは必ずポジコンとして打ってやる。5-6ラウンド程度繰り返すと、単一クローンが得られる。

### 6. 繰り返し行なう実験の詳細(A) *in vitro* における RNA 合成

#### 6-(1) 試薬、溶液類

エタノール(封を切ったばかりのものを、50 ml チューブに分注する)

DEPC 処理したミリQ水

DEPC 水-70%エタノール

5 M NH<sub>4</sub> OAc

クロロホルム/イソアミルアルコール=24:1  
フェノール/クロロホルム/イソアミルアルコール=25:24:1

proteinase K (5 mg/ml) (Boehringer Mannheim 社)

RNA polymerase (Stratagene 社のキット)

RNA polymerase バッファー (Stratagene)

DTT (0.75 M) (Stratagene)

AGCU 2122 溶液 (rATP, rCTP, rUTP 各 5 mM, r GTP 2.5 mM) (Stratagene)

メチル化 CAP analogue (2.5 mM) (Pharmacia 社 # 27-4635)

RNase Inhibitor (Promega 社, N 251 A)

注射用蒸留水 (日本薬局方)

#### 6-(2) プロトコール

(1) Wizard miniprep (Promega) により、プラスミド DNA を精製(注1)

(2) DNA を制限酵素で直鎖化する

|                 |            |
|-----------------|------------|
| DNA (3 $\mu$ g) | 15 $\mu$ l |
| TE              | 25 $\mu$ l |
| 10x 制限酵素用バッファー  | 5 $\mu$ l  |
| 制限酵素            | 5 $\mu$ l  |
| 計               | 50 $\mu$ l |

を37℃で3時間処理

(3) proteinase K で、もろもろの蛋白を分解  
上記に proteinase K 1  $\mu$ l を加え37℃で30分処理

(4) フェノール/クロロホルム抽出(注2)

上記に

|           |            |
|-----------|------------|
| TE        | 40 $\mu$ l |
| 3 M NaOAc | 10 $\mu$ l |

を加え計100  $\mu$ l にしてから、

フェノール/クロロホルム抽出 1 回目

フェノール/クロロホルム抽出 2 回目

クロロホルム抽出

(5) エタノール沈殿

上記に

エタノール 250  $\mu$ l を加え

-70℃で30分

遠心20分(注3)

RNA 用70%エタノールでリンス

ペレットを乾燥

(6) RNA 合成反応

上記のペレットを下記の反応液で溶解

RNA ポリメラーゼ反応液

|               |              |
|---------------|--------------|
| 5x バッファー      | 20 $\mu$ l   |
| メチル化 CAP アナログ | 20 $\mu$ l   |
| AGCU(注4)      | 17.5 $\mu$ l |
| 0.75 MDTT     | 10 $\mu$ l   |
| DEPC 処理水      | 24 $\mu$ l   |

|              |              |
|--------------|--------------|
| ポリメラーゼ(注5)   | 2 $\mu$ l    |
| RNase インヒビター | 4 $\mu$ l    |
| 計            | 97.5 $\mu$ l |

37°Cで30分

rGTP 溶液 2.5  $\mu$ l を足して計 100  $\mu$ l とする。

37°Cで1.5時間(注6)

- (7) フェノール／クロロホルム抽出 1 回目  
フェノール／クロロホルム抽出 2 回目  
クロロホルム抽出

- (8) エタノール沈殿

上記に

5 M NH<sub>4</sub>OAc(注7) 68  $\mu$ l

RNA 用エタノール 430  $\mu$ l を加え

-70°Cで30分

遠心20分

RNA 用70%エタノールでリンス

ペレットを乾燥

- (9) 30  $\mu$ l の注射用水で溶解(注8)

- (10) 1  $\mu$ l をアガロースゲルに流して、濃度、quality をチェック(注9)

- (11) 残りを-70°Cで保存

### 6-(3) 注意点

(1) Bluescript 系のプラスミドと大腸菌 TG 1 を用いると、1.5 ml の 2YTmedia から約 10  $\mu$ g の DNA が得られる。

(2) ここから RNAase(-) world という意識をしっかりとって。

(3) この遠心は長く慎重にやる。はじめてやる人が一番しくじりやすいのがここ。pellet をよくみてなくさないようにやる。

(4) 最初、G だけうすい AGCU 溶液をいれるのは、RNA の頭に、G ではなくて、cap analogue をとりこませるためである。しばらくしてから、G のうすさが yield をさげないように、G だけ足してやる。これが、必ずしもいいのかどうかかわからないが、上記の気分でこのようにやっている。もっと極端に G の濃度のみを最初から最後まで 1/10 程度にする方法もあるが、yield は下がるようである。

- (5) T7, T3 polymerase は問題ないけど、

SP6 polymerase は yield も上がらないし、できた RNA も途中でとまった短いのが、多い感じがする。できれば、T7 か T3 を使うようにサブクローニングの際 arrange したい。

(6) RNA 合成が終わった後、RNase-free DNase で、template の DNA を分解するやりかたが一般的である。しかし、DNA がのこっていても別に害はなく、むしろ、RNase-free DNase に微量に混在する RNase のためか、DNase 処理すると、しない場合よりも発現は下がるという結果が得られた。だから、DNase 処理は全く行っていない。

(7) NH<sub>4</sub>OAc を使うのは、取り込まれなかった AGCU の沈殿をいくらかでも避けるため。

(8) 最後に溶解するのは、TE や DEPC 処理水ではなくて、注射用水。RNase(-) であるだけでなく、生き物にとって害がないことが大切。ここで言う注射用水とは、外科手術などで人間の体にいれることが認められている水である。

(9) できた RNA は必ず gel に流して、濃度と integrity をチェックすること。ペレットの大きさは、必ずしもあてにできない。とりこまれなかった AGCU が効いてくるためか、O. D. もあてにできない。絶対に、ゲルに流して確かめること。

## 7. 繰りかえし行なう実験の詳細(B) アフリカツメガエルの飼育、卵母細胞の単離

カエルは大きくて色の黒いものを用いるようにしている。例えば、浜松生物教材、北日本生物教材などからいれている。卵母細胞の condition は、非常に大切である。卵母細胞が良ければ楽勝だし、卵母細胞が悪いときにはどうやってもうまく行かない。カエルを健康に維持すること、卵母細胞を無菌的に飼うことなどが大切である。しかし、どうしてもどのカエルから卵母細胞をだしてもうまくない、全体が低調のときもある。そういう時は、違う業者からカエルをいれてみるとか、しばらく、卵母細胞の実験を止めて、vacation にするといった、思い切っ

た対応も必要である。手足や口の先が赤くなったり、皮膚に潰瘍状のものがみられることがあるが、多くは、感染によるもので、放っておくと、同じ水槽の中のカエルが全滅することもある。よって、感染を疑われるカエルは sacrifice するべきである。

カエルの水槽は、浅めで広めのものを使っている。狭くて泳げないのは不健康な気がする。底に drain を付けて、汚れた水が簡単にかえられるようにしている。水は大きなバケツに数日汲みおいてカルキをとばしてから使っている。すごく気になるときは、さらに金魚用の脱カルキ剤(ハイポ)をいれてもよい。水槽は、1 回使ったら傷が癒えるまで数カ月休ませるために、使える状態のもの、術後すぐのもの、回復期のもの A、回復期のもの B、などに仕切でわけている。

餌は、カエル用の固形のペレットを与えている。週 2 回、夕方与えて、翌朝、水を換えるようにしている。

#### 7-1) 試薬溶液類

collagenase type 1 (Sigma)

MBSH 溶液

|         |                    |       |
|---------|--------------------|-------|
| stock A | NaCl               | 128 g |
|         | KCl                | 2 g   |
|         | NaHCO <sub>3</sub> | 5 g   |
|         | Hepes              | 89 g  |

1 l 弱のミリ Q 水にとかす。

pH を 1 M NaOH で 7.6 にあわせる。1 l にし、フィルターして、50 ml チューブに 40 ml ずつ分注する。

|         |                                        |       |
|---------|----------------------------------------|-------|
| stock B | Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>      | 1.8 g |
|         | CaCl <sub>2</sub> , 2 H <sub>2</sub> O | 1.5 g |
|         | MgSO <sub>4</sub> , 7 H <sub>2</sub> O | 5.0 g |

1 l にし、フィルターして、dispo の 50 ml チューブに 40 ml ずつ分注する。Ca を溶かしてから Mg を加えること。

|         |               |          |
|---------|---------------|----------|
| stock C | penicillin    | 10 mg/ml |
|         | streptomycin  | 10 mg/ml |
| 1 ml    | ずつエッペンドルフチューブ |          |

に分注し、-20℃ 保存

つくりかた

|                      |        |
|----------------------|--------|
| autoclave した miliQ 水 | 919 ml |
| stock A              | 40 ml  |
| stock B              | 40 ml  |
| stock C              | 1 ml   |

あわせて 1 l になる。17℃ で短期保存。

#### 7-2) プロトコール

(1) カエルを 0.1% Tricaine 液、もしくは、氷水に 20 分つけて麻酔する。

(2) 皮膚層、筋層をメスであける(注 1)。

(3) 卵母細胞をとりだし、MBSH を入れた培養皿にいれる。

(4) 針と糸でぬって、常温の水にもどす(注 2)。(回復してから水槽にもどす。)

(5) 卵母細胞の房をピンセットで適当に裂き開き、かつ適当な大きさにわける。

(6) 10 ml 程度の MBSH に 2 mg/ml になるよう collagenase を溶かし、フィルターしたものを、ふたのしめられる無菌のバイアルに用意する。

(7) collagenase 溶液に卵母細胞をいれて、rotary shaker につけて 2 時間室温で incubate する。

(8) 2 時間後にまだあまりばらばらになっていないようなら、新しい collagenase 溶液に移し、さらに 1 時間処理する。

(9) MBSH で 5 ~ 6 回リンスして、collagenase 溶液を完全に取り除き、MBSH を入れた培養皿にいれて、17℃ 保存する。翌日までに injection を行う(注 3)。

#### 7-3) 注意点

(1) 完全な無菌操作を意識する必要はない。しかし、腹腔内にはいる手術なので、メス、ピンセット等は滅菌しておく。メスをいれるのは、正中部をはずし、肝臓、膀胱をはずすようにする。傷口は 5 mm から 10 mm 程度いれる。あまり小さい傷ですませようとすると、卵塊を取り出すときにつぶしてしまうのであるていどのおおきさは必要。卵塊を引っ張り出すときは片側が引っかかっているときは逆側からといった

ように、だましだまし出していくようにする。メスで開いたところに卵塊が見つからないときは、よくみえないままでピンセットで腹腔内をまさぐったりしない。腹腔内出血をおこしたりして、結局うまくいかないことが多い。卵母細胞を得られないまま、傷口を閉じて水槽にもどすか、覚悟を決めて、大きく傷口を拡げて、卵母細胞を得た後、sacrifice するかしたほうがよい。

(2) 縫うのは、まず筋層を3針、続いて、皮膚を3針と縫うようにする。きちんと筋や皮膚がよっていればいかなる形でもかまわない。

(3) 大事な実験の時は、複数のカエルを用いて、良い方の卵母細胞を使う。卵母細胞自体の内因性の電流の有無などが鍵となる実験の際には複数の種類の卵母細胞を使った方がいいこともある。

## 8. 繰りかえし行なう実験の詳細(C)卵細胞への RNA の注入

カエルの卵母細胞は非常に大きいので、微小操作といった感じはあまりなく、そういった困難さはあまりない。デリケートな生き物相手だと言う気分を持つことがなにより大切である。1回で決められるのはすごく実験の sense のいい人で、しかし、5回やってみてうまくいかないのは相当下手という、その程度の感じの難しさである。気楽に3回ぐらいやってみると感じがわかって上手にやれるようになるのが普通である。

### 8-(1) 器具機器類

手術用のガーゼ

大きなスポンジと鉄板(簡易防震台として使う。なくてもやれる。)

粗動のマニピュレーター(ナリシゲ社)

ネジ式の injector (Drummond 社, Digital micro-dispenser 10  $\mu$ l 用)

実体顕微鏡

コールドライト (HOYA-SCHOTT 社, PLO 75)

ガラスピペット(ヘマトクリット管)

ガラスピペットのプレー(ナリシゲ社, PN 3)  
ミネラルオイル(Aldrich社)

パラフィルム

17℃の incubator (加熱, 冷却の両方ができるもの)

卵母細胞の transfer 用のパストールピペット(卵母細胞が通る太さに先端を直角に折り, fire polish して先端を丸めたもの, いろいろな太さのを試して使い易いものを選ぶ)

### 8-(2) プロトコール

(1) 1回の injection に使う分だけ, RNA を分注し, 氷上にて凍る。

(2) 卵母細胞(注1)をガーゼ mesh の上に適当に並べ(注2), 良いもののみ残す。

(3) ガラスピペットにミネラルオイルをつめる(注3)。

(4) ガラスピペットを injector に装着する(注4)。

(5) RNA をパラフィルムにとり, ピペットの先端から吸い上げる(注5)。

(6) 卵母細胞に RNA を注入(注6)。

(7) 卵母細胞を17℃数日培養。毎日液換え(注7)。

### 8-(3) 注意点

(1) 卵母細胞の操作は, すべて, 先端を折ってから熱で丸めたピペットにニップルをつけたものを用いて行う。全く collagenase 処理等してない卵母細胞は, 強い follicle cell が残っていて injection がやりにくい。そこで, 事前に collagenase 処理によりばらばらにしておくわけである。卵塊がばらけてくるほど, collagenase 処理をかけると, follicle cell は卵母細胞をおおってはいるが, もはや intact ではなく, 楽に injection ができる。follicle cell をピンセットで完全にむいてしまう方法も major である。電気生理学的実験を厳密に行うためには, この方がもちろん望ましいが, follicle cell を完全に取り除いた卵母細胞は, 乾燥に非常に弱い点など, やや取扱が面倒な点があることと, たくさんの卵母細胞を用意するのは大変であることの問題点がある。follicle cell を剥かない方法

では、簡単にたくさんの卵母細胞が用意できるし、取扱も容易で、チャンネルや受容体の発現の有無の判定を行うのには全く問題がない。したがって、機能発現法によるクローニングのスクリーニングの際などには、follicle cell を剥かないやり方のほうが適している。follicle cell を剥かないやり方で、定量的な電気生理学の実験を行う時には、follicle cell がほとんどはげかかっているような卵母細胞を選ぶ。follicle cell がびっしりはりついているのが観察されるような卵母細胞は、follicle cell が拡散の障害となるので、チャンネルや受容体のブロッカーの効き方を定量的に調べるような実験には適さない。

(2) 卵母細胞をきちんと並べる必要はない。culture dish にガーゼをしいて、卵母細胞が丁度頭のとっぺんまでつかる程度に MBSH 溶液をいれて、そこにバラバラッと卵母細胞をいれる。そして、いびつな卵母細胞、小さい卵母細胞などを取り除きながら、残った使える卵母細胞を大雑把に 3 列縦隊程度にならべ、端からうっていけばよい。ガーゼをしくのは、injection しようとしたときに卵母細胞がコロコロ逃げるのを防ぎ、おさえこむためである。multi-well のプレートに一個ずつ並べてから打つ等の方法もあるが、そこまで手をかけなくても充分キチンと打てる。ガーゼを使うやり方を強くすすめる。MBSH 溶液の深さは大切なポイントである。ぎりぎり卵母細胞が水没する程度が丁度いい。

(3) ピペットは横引きのプラーでひいたものを用いている。熱を強く、マグネットを弱く設定すると、すーっと長いものがひけて、ヒーターを弱くマグネットを強く設定すると、テーパーの短い腰の強いものがひける。これは、実際にやりながら try and error で決める。まずピペットの先を少しだけピンセットでつまんで折る。その後、ミネラルオイルをシリンジに細い注射針をつけたものを用いて先端まで fill する。抜くときにいれかわりに空気が入りがちなので、シリンジを押しオイルを出しながらゆっくり引

抜き、ピペット全体に空気がないようにする。

(4) そのピペットを、injector の金属シリンジに装着する。この時も、injector の金属のシリンジとオイルの間に空気はいらないようにする。装着できたらダイヤルをねじり、シリンジをすすめて先端からオイルを出す。200目盛分進めると、2  $\mu$ l の RNA をすいあげる余裕ができる。

(5) RNA をパラフィルムにとる。こい RNA だと、1  $\mu$ l 程度をおしだすのは、チップからすっと切れてくれずに、大変な時がある。先の細いチップを使うのが肝。2.5  $\mu$ l 程度なら楽勝で切れる。injector のダイヤルを逆回しして、RNA を吸い上げる。ピペットの中のオイルと RNA の境界が順調に上がってくるのが目安になる。RNA が全くすえなくてもダイヤルはもちろん動く(この場合、シリンジとオイルの間に空気が後ろからもれはいつてきている。)ので、ダイヤルの目盛はあてにならない。一旦空気がはいると、injection するときにエアークッションとなるので、injection が不確実になる。よって空気がはいるのはさけなければならない。そのため、RNA が吸えてこない時は、無理して空気が後ろからはいつてしまう前に、ほんの少しずつピペットの先を折ってみる。また、ピペットの先端に RNA 溶液中のゴミがふたのようにおおいかさっていることもあるので、すったりはいたりして、だましだましやるとうまくいくことも多い。いうまでもなく、ピペットは細ければ細いほど卵母細胞のダメージが少なく、よい。しかし RNA が吸い上げられず、後ろから空気がはいつてばかりというのは最悪。よって RNA がぎりぎり上手に吸い上げうるなるべく細いピペットがよいといえる。全く try and error の世界。

(6) 打つときは、これもダイヤルの目盛はあてにならない。先端がつまってしまうても目盛は進む(この際は、オイルが後ろからもれている)のであてにならない。50 nl いれるには、どのくらいダイヤルを回せばいいのかをつかんだら、いつもその程度まわすようにすればよい。

そして、打つときに見るのは、目盛ではなくて、RNA とオイルの境界が前進していることと、打たれた卵母細胞がプツとふくらむことである。なれてくると、ピペットがつまって RNA が出なくなったら、即気づくようになる。打っているか自信が持てない時は、ピペットを卵母細胞にささないで空でうって RNA 溶液がでくるかどうかみればよい。途中でしくじったくさい卵母細胞や傷ついた卵母細胞は、transfer pipette でとり除く。

(7) 17℃ 培養中は必ず毎日液換え (culture dish も新しいものにとりかえる) する。不健康に見える卵母細胞は捨てる。怪しいものは罰する。無菌操作とはもちろんいえないが、できるだけ無菌的に culture する。皿は、無菌の culture dish を使う。injection の時の mesh も毎回とりかえる。transfer pipette は最も汚れやすいので、使わない時はエタノールに完全にしずめておく。うまくいっていた時に、どんどん手を抜いていったら、全くだめになってしまったことがあり、その原因が bacteria の感染であった。以来気をつけるようにしている。死にそうな卵母細胞をどんどん処分するのも、死んで卵黄がでてくると、bacteria が繁殖しやすくなるからである。dish の蓋を開けたとき臭うなと思ったら感染を疑い、高倍の顕微鏡下でみてみたほうがよい。MBSH が栄養のない塩溶液なので濁るほど増殖することはない。でも、ウヨウヨしていることはあり、それは、必ず、卵母細胞の condition を悪くする。

## 9. 繰りかえし行なう実験の詳細(D) 2本 刺膜電位固定法による電流記録

この部分は、むしろ、分子生物学の実験を主に行なっている人のために記す。全く電気生理学的実験の経験のないラボで、ゼロから set-up するのは楽しみや喜びも多いけれど、遠回りになることが多いと考えられる。一旦 set が出来上り、きちんと使えるようになれば、簡単なスクリーニングは簡単にできるので、set-up までは、まわりにいる経験のある人を捕まえて、

実際にその人の set をみせてもらったり、自分達の set を見てもらったりすることをすすめる。ここでは、助言してくれる経験者がいるものとして、必要な器具、機器類のリストと、いくつかの注意点を示すのに留める。

### 9-(1) 器具機器類

防震台

シールドケージ

粗動のマニプレーター 2 台 (ナリシゲ社, MN 153)

実体顕微鏡

コールドライト (HOYA-SCHOTT 社, PLO 75)  
膜電位固定用アンプ (Warner 社, OC 725 C-HV)

AD/DA コンバーター (Axon 社, Digidata 1200)

IBM 互換のコンピューター

刺激、データ取込みプログラム (Axon 社, pCLAMP 6)

### 9-(2) 注意点

(1) 卵母細胞は、腹 (batch) により、その発現力、内因性の電流等、びっくりするぐらいの違いをみせる。よって、ポジティブコントロールとしてよく発現することがわかっているものを、そして、ネガティブコントロールとして RNA を含まない単なる注射用水を、打った卵母細胞を必ず用意すること。

(2) アンプとしては、最もコンプライアンス (膜電位固定する腕力みたいなもの) の高いこのアンプを勧める。単機能で値段も安いけれど、卵母細胞の膜電位固定にかぎっては、すごくよい。

(3) 膜電位固定をうまくやるには、とにかく電極抵抗を下げる。特に電流を流し込むための電極の方の抵抗が大切で、2 Mohm を越えるようではよくない。できれば、0.2 Mohm ぐらいにしたい。ただ、抵抗を下げるということは太くするということで、卵母細胞のダメージによるもれ電流が増えたり、電極内の 3M KCl がポタポタれたりすると、トラブルも多くなる。その 2 つのファクターのかねあい。できるだけ

太くてできるだけ細い(!!!)もの。

(4) Digidata, IBM computer, pCLAMP のシステムは非常に便利である。これがあれば、オシロスコープも刺激装置も記録装置もいらない。ただコンピューターの key にふれるだけですらすらいく。一度使ったら、なしではやってられないほど楽。お金はかかるけど、初めてやる人にこそ勧めたい。

## 10. 実例1 内向き整流性 $K^+$ チャネル

ユニークな整流性を示す、内向き整流性  $K^+$  チャネルの存在は、電気生理学的に古くから知られていたが、その一次構造は、1991年の時点では、全く知られていなかった。そこで、筆者らは、その機能発現法によるcDNAのクローニング(ref.31)を行なうことにした。以下にこのクローニングで体験したトラブルと、それをのりこえるために行なったことについて記す。

### 10-(1) 有効なメッセージの濃縮

下記のG蛋白質結合型受容体の場合には、細胞内情報伝達系による増幅がかかるが、イオンチャネルの場合には、発現したチャネル蛋白とおおる電流そのものを観察するのだから、高い発現が必須である。そのためには、とにかく、目的とするRNAがenrichされていなければならない。そのために行なった工夫は以下のとおりである。

(a) 最初に、内向き整流性  $K^+$  チャネルが発現していることがよく知られている心筋、骨格筋、脳などに由来するRNAを試していた。その中で、脳由来のRNAは若干の内向き整流性  $K^+$  電流を発現したので、これをソースとして用いることにして、RNAのサイズによる分画、cDNAライブラリーの構築へと進んだ。しかし、どうしてもcDNAライブラリーサブプール由来のcRNAからは、電流が検出できなかった。これで、相当長い時間を費やした後、別なソースを用いることにして、種々の細胞株由来のRNAを試した。その結果、マクロファージ由来の細胞株で、非常に大きな電流が検出されることがわかり、これをソースとして、用い

ることにし、結局これが功を奏した。最初から、このRNAを使っていたらもっとずっとはやくとれていただろうと思う。このことから、ソースの決定は慎重にやるべきであるということがいえる。目的とするものが存在する可能性があるソースは、有名、無名にかかわらず、すべて試すべきだと思う。full lengthのreverse transcriptionの効率が必ずしも高くないので、細胞由来のRNAを試しているときに比べると、ライブラリーのスクリーニングの際には、うまくやっても電流はゆうに一桁は小さくなる。だから、最初に試した、細胞のRNAで小さな電流がでても、安易にとびついてはいけない。手にはいるもののなかで、bestのソースを決定するまでこらえるべきである。

(b) 電流を大きくするためには、厳しいサイズ分画が必要である。そのため、細胞から得るRNAは十分な量がなければならない。全体の量が少ないから30分割はできないといって、わけたプールをまとめてしまったりするのは、よくない。30分画程度にわけて、very bestの分画のみで、ライブラリーをつくるべきである。そのため、細胞からのRNAは十分量とる必要がある。100  $\mu$ g程度のpoly A<sup>+</sup> RNAを得ようと思うと、培養細胞の場合だと、莫大な培養皿の数になるが、それでもとるべきである。

(c) RNAを分画して、できたcDNAを分画してから、cDNAライブラリーをつくっても、依然として、短いクローンは混じってくる。そこで、本命の長さのものだけを選択するために、ライブラリー由来のDNAを製し、Not1でone cutしてlinearizeし、ゲルに流して、8kb以上(インサート5Kb以上)のDNAだけを精製し、re-ligate, re-transformするという操作を行なった。この操作により、5倍程度の濃縮をかけることができた。増えやすいクローンと増えにくいクローンのabundancyのへだたりが激しくなる等の理由により、常識的には決して行なわないことであるが、用のない短いものを切り捨てて、長いものだけをとるという目標を達成するには有効である。実際、このやり方

で、長いものを濃縮したライブラリーから筆者らははじめて、発現を観察することができたのである。

#### 10-(2) 内因性の電流との区別

卵母細胞には、高  $K^+$  液中で、過分極パルスを与えると、いくらか内向き電流が記録される。これが、非常に有害であった。内向き整流性  $K^+$  電流に似通った電流が内因性にあると、RNA 注入により、その電流がふえたかどうかを判定することになる。これは、発現電流が大きい場合には何も問題ないが、ライブラリースクリーンの第一歩の時には、非常に問題となる。(10が30になれば、はっきりとわかるが、10が11になっても、自信を持って結論はできない。) この状況を救ったのは、発現電流が、 $Ba^{2+}$  により非常によくブロックされるという性質であった。2 mM の  $Ba^{2+}$  を用いると内因性の電流も、発現電流もブロックされたが、100  $\mu M$  の  $Ba^{2+}$  によっては、内因性の電流はほとんどブロックされないのに対し、発現電流は非常によくブロックされた。よって、100  $\mu M$   $Ba^{2+}$  によりブロックされる内向き電流成分の有無ということで、発現が自信をもって確定できた。このことから、内因性の電流と、量的な差で判定を下すのは非常に困難なので、なんとか質的な差異を見いだす努力をするべきであるということを実感した。

### 11. 実例 2 G蛋白質結合型受容体

アフリカツメガエル卵母細胞は、Gq 蛋白質、PLC、IP3/ $Ca^{2+}$  の情報伝達系を備えているばかりでなく、細胞内  $Ca^{2+}$  によって活性化される  $Ca^{2+}$ - $Cl^-$  チャネルを持っているため、Gq 結合型の7回膜貫通型の受容体の活性化を、非常に鋭敏に電気生理学的にとらえることができる。このため、非常に多くの受容体が、機能発現法によりクローニングされてきた。

筆者らも、細胞外  $Ca^{2+}$  と glutamate のどちらによっても活性化される Gq 結合型受容体を単離した(ref. 23)。ここでは、その仕事を通して体験的に会得した optimal なスクリーニング

法について記す。

#### 11-(1) これまでの conventional なスクリーニング法

これまでの、Gq 結合型の受容体の機能発現法によるクローニングでは、-80 mV 程度に膜電位を固定し、ligand を投与することによっておこる受容体の活性化を、内向き  $Ca^{2+}$ - $Cl^-$  電流の増加として観察している例がほとんどである。しかし、この  $Ca^{2+}$ - $Cl^-$  チャネルは非常に強い外向き整流性を示す。すなわち、過分極電位で内向き電流として観察するよりも、脱分極電位で外向き電流として観察するほうが、ずっと大きな電流として記録できる。筆者らは、その膜電位依存性(外向き整流性)の強さをまのあたりにして驚き、これまでの(過分極に hold しっぱなしという)スクリーニングは感度の点で optimal とは言えないと思った。(なお、この膜電位依存性(外向き整流性)の強さについては、もちろん、以前から知られていなかったわけではない。しかし、なぜか、機能発現法によるクローニングでは、あまり、着目されていなかった。)

#### 11-(2) 用いたスクリーニング法

過分極に固定して脱分極パルスを与えると、このチャネルに特徴的なゆっくりとした活性化過程が観察され、過分極電位に戻すと、脱活性化過程が観察された。そこで、筆者らは、この方法をスクリーニングに用いることにした。すなわち、-80 V に膜電位固定し、2 s おきに +60 mV への、200 ms の脱分極パルスを繰り返し与えながら、その途中で ligand を投与するという方法である(図3)。受容体が活性化されると、 $Ca^{2+}$ - $Cl^-$  電流の増加が、膜電位依存的な遅い活性化を示す電流の出現としてとらえられる。別にどうってことのない、ごくごく自然なやりかたである。このスクリーニングの merit は次の3点である。

(a) 電流が大きく出るので、小さい応答も見逃しにくい。すなわち、sensitivity が高い。

(b) 特徴的な膜電位依存的活性化に着目するので、単にリークが増えたりした場合は明確

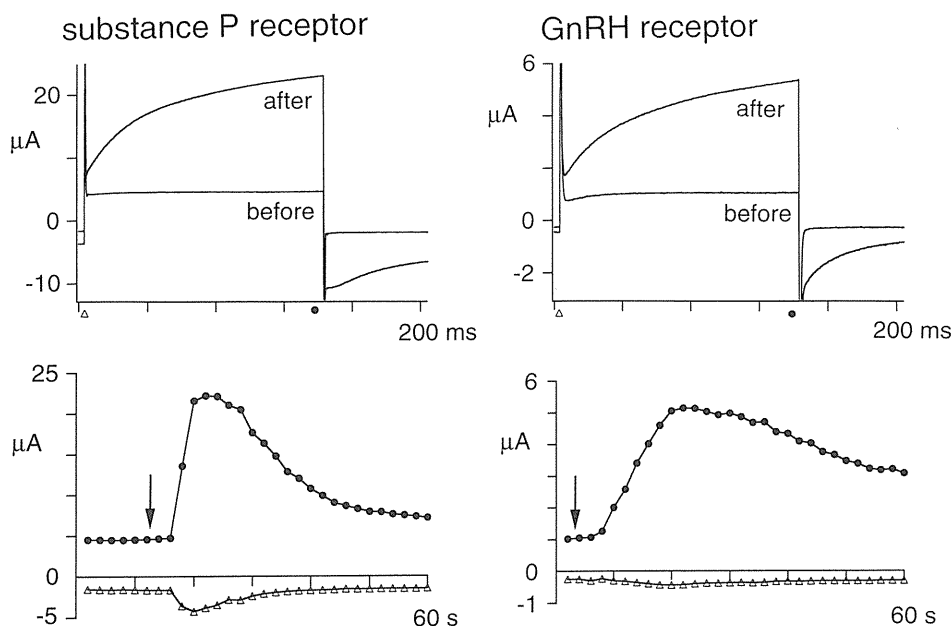


図3. 卵母細胞の  $\text{Ca}^{2+}\text{-Cl}^-$  チャネルの膜電位依存性

(左) rat substance P 受容体 (ref. 36) を発現させた卵母細胞に, substance P 10 nM を投与した時に観察された  $\text{Ca}^{2+}\text{-Cl}^-$  電流. (右) sheep Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) 受容体 (ref. 37) を発現させた卵母細胞に, GnRH 20 nM を投与した時に観察された  $\text{Ca}^{2+}\text{-Cl}^-$  電流. どちらの場合も,  $-80\text{ mV}$  に膜電位固定し,  $+60\text{ mV}$  への脱分極パルスを, 2 s おきに繰り返し与えながら, アゴニストを投与した. 上段はアゴニスト投与前の記録と, 応答のピークでの記録を重ね書きしてある. アゴニスト投与により, 緩徐な膜電位依存的活性化を示す,  $\text{Ca}^{2+}\text{-Cl}^-$  電流があらわれるのがわかる. これらの記録から,  $-80\text{ mV}$  での電流値(時間軸上に  $\Delta$  で示した時点)と  $+60\text{ mV}$  での電流値 ( $\bullet$  で示した時点)を測定し, 下段に 2 s おきに経時的にプロットした. 矢印は, アゴニスト投与のタイミングを示している. 左右どちらも,  $-80\text{ mV}$  では電流はごくわずかしき観察されないが,  $+60\text{ mV}$  では, はっきりと観察される. 応答が小さい時(右側)には, この傾向がより顕著である.

に区別できる.

(c) agonist を投与する前から base level として  $\text{Ca}^{2+}\text{-Cl}^-$  電流が増加している場合に (i. e. 細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の上昇が起きている場合に), それを検出する.

以上(a)(b)の理由から,  $\text{Ca}^{2+}\text{-Cl}^-$  電流増加として, 受容体発現を検出するためには, 脱分極パルスを与えることを強くすすめたい.

ところで, (c)の点についてだが, base level で  $\text{Ca}^{2+}\text{-Cl}^-$  電流が増加していても, 通常の過分極電位に hold しっぱなしの場合には, 若干 holding current が大きい, いわゆるリークが大きめの卵母細胞だと思うだけで, 全く気づく余地はない. しかし, 脱分極パルスをふれば, 特徴的な活性化過程を示す電流が見えるので,

base level で  $\text{Ca}^{2+}\text{-Cl}^-$  チャネルが活性化している, すなわち, 細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  の上昇がおきているということに気づきうるのである. 筆者らが, 以下に紹介する sBimR と名付けたクローンを単離した時には, この3つの長所のうち, この(c)の点が非常に幸いした. この点について, 以下紹介する.

### 11-(3) sBimR のクローニング

筆者らは, サケ科魚類の脳の cDNA ライブラリーより, とあるホルモン受容体の機能発現法によるクローニングを試みていた(これは現時点でまだうまくいっていない). ライブラリーのサブプール由来の cRNA を注入した, 卵母細胞をスクリーニングしていたら, 「 $\text{Ca}^{2+}\text{-Cl}^-$  チャネルが開きやすい脱分極電位へのパルスを

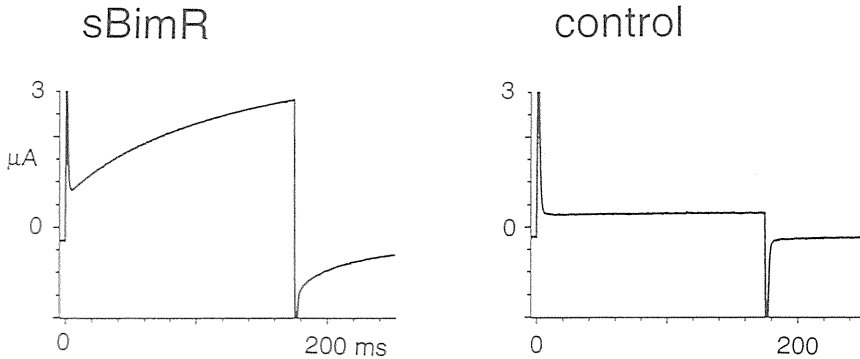


図4. frog ringer 中で観察される sBimR の base level の  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Cl}^-$  電流  
 図3と同じパルスを与えると, sBimR (salmon bifunctional metabotropic receptor, ref. 23) を発現させた卵母細胞では, 何のアゴニストをも投与することなく,  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Cl}^-$  電流が増加していた. 後に, frog ringer 中に含まれていた 2 mM 程度の  $\text{Ca}^{2+}$  がこの受容体を刺激していたということがわかった. water injected の negative control の卵では, この電流は, 全く観察されない. なお,  $-80$  mV での電流では, 両者で, ほとんど区別できない (パルスを与えなければ区別できない) ことに注意して欲しい.

与えると, 何のリガンドをも投与することなく basal に  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Cl}^-$  電流を示す」プールの存在に気付いた. いったいなんだろうと考えつつ, その原因となるクローンを単離した(図4). 得られたクローンは, 7回膜貫通型の代謝型受容体の構造を示し, アミノ酸レベルで, ラット代謝型グルタミン酸受容体(mGluR 1)と69%, ヒト副甲状腺の細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  受容体(CaR)と24%の identity を示した. basal に  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Cl}^-$  電流を示す性質は, (グルタミン酸を全く投与していないので)mGluR 1としての性質では説明ができない. そこで, このクローンが, 細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  の受容体としての機能を有しており, bath 溶液中に含まれている  $\text{Ca}^{2+}$  によって刺激されて,  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Cl}^-$  電流を示したのではないかと考え, 種々の実験を行なった. その結果, 単離したクローンが確かに細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  受容体としての性質を持つことが明らかになった. さらに, rat mGluR 1 との高い類似性から当然予測されるように, このクローンはグルタミン酸受容体としての機能も持つことが確認された. よって, このクローン(sBimR: salmon Bifunctional Metabotropic Receptor)は, 細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  とグルタミン酸の両方感知する代謝型受容体であると結論した. また, sBimR と rat

mGluR 1 のホモロジーから, rat mGluR 1 も, (これまで全く知られていなかったけれど, 実は)細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  の受容体としての機能を持つのではないかと考え, 実験を行なった. その結果, これまで, 代謝型グルタミン酸受容体とよばれてきた mGluR 1 が, 細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  センサーとしての機能をも併せ持つということが明らかになった(ref. 23).

#### 11-(4) Gq 蛋白質結合型受容体のケースについてのまとめ

(a) この系でスクリーニングする場合には, second messenger 系によりシグナルの増幅が起こるので, 発現している受容体の数は少なくてもなんとかなるという点は有利に働く.

(b) しかし, だからこそ, いい卵母細胞を使うことが必須になる. イオンチャネル型の場合は, 発現力がすべてという感じであったが, この場合は, それにまして, もっともっと要求度が高い. イオンチャネルの発現は問題なく検出できる batch でも,  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Cl}^-$  電流応答はしばしばしていることは, 多々ある. Gq, PLC, IP3,  $\text{Ca}^{2+}$  store,  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Cl}^-$  チャネルと, 要求される役者が多いからであろう. 必ず, 毎回, positive control をおき, 発現力だけでなく,  $\text{Ca}^{2+}$  応答がしっかりした batch であることを

確認すべきである。

(c) また、batch によって何も発現させていないコントロールの卵母細胞で、 $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Cl}^-$  電流がふらふら、ふえたり減ったりしていることもある。恐らく、 $\text{Ca}^{2+}$  ストアからの  $\text{Ca}^{2+}$  放出が、spontaneous に起こっているのだと思われる。(どのような batch でこういうことが起きやすいか系統的に調べたことはないが、動物極の頂点の黒色が薄くなりはじめている、過熟気味の卵母細胞で、多く起こるような印象がある)。このような状況下で、アゴニストを投与した時にたまたま起こった自発放出を、応答だと誤認してしまうと、結局ゆきづまる。よって、injection していない negative control の卵では、応答もどきがみられないことを確認しなければならない。

(d) スクリーニングのやり方としては、既に詳述したように、脱分極パルスを繰り返し与えながら、リガンドを投与するというやり方が、すすめられる。

## 12. 最重要事項のまとめ

すでに記したことの中から特に肝要と思われる点を以下に再確認する。

(1) 全体を通じて、電流があるのかないのか、みきわめをきびしく！ ありもしないのにあると思って前に進むと時間をロスするだけ。あるところにはある。ないところにはない。あれば必ずとれる。なければ絶対とれない。とれる日まで希望は決して捨てないが、希望的観測は絶対しない。

(2) RNA ソースの決定には十分な時間をかける。ちょっと出ると、ガーンと出るのでは後々の苦労がまったく違う。手に入るあらゆるものを調べて、best のものを選択する。

(3) RNA のサイズ分画は必ずやる。分画しなくても大きい電流がでていても、有効なメッセージをできる限り濃縮するために、やる。当たりじゃない(長さの違う)RNA は、当たりの RNA を希釈しているゴミに過ぎない。ライブラリーを作るときに完全長のものはぐっと減る

から、できるだけ濃縮しておくことが必要。

(4) ライブラリー構築の時も、たくさんコローニをだす必要は全くないとキモに銘じる。ごみはいらない。厳しいカットオフして、少数精鋭で勝負。

(5) 特にライブラリースクリーニングの最初の段階では、シグナルが非常に小さいのが普通なので、どんなに小さなシグナルも見落とさないようにする。しかし、もちろん、根性だけでは正解にたどり着けないので、熟考して、最適なスクリーニングを行う。

(6) どんなに小さいシグナルも見落としてはいけないが、そう思うあまり、有りもしないものが見えてきてしまうことが(信じられないかも知れないけど)よくある。なんか変だなと感じたらなんか変なことが多い。無理して前にすすんでも結局もとがえりになってしまう。

(7) 卵の発現力を確かめるために、なんでもいいから確実に出るものと、前ラウンドの positive を control として注入する。

(8) 卵母細胞の内因性の電流ではないことを確かめるために水をうった卵を negative control として毎回用意する。卵母細胞は、腹によって全く別物のような振舞うことを肝に銘じること。

(9) 卵母細胞の調子がすごく大切で、すべての鍵を握る。特に卵母細胞の感染に注意。

(10) injection および膜電位固定記録の実験の肝はガラスピペットの太さ。できるだけ太くてできるだけ細いもの!!

(11) スタンダードにやれるところは、「工夫しないこと」。生理学の実験では、正確に測定するために、自分自身でシステムを工夫するという側面が多々あると思う。同じことは、新しい特別な分子生物の手法の開発ではもちろんあると思う。しかし、この章ででてくるような分子生物学的操作のほとんどは、すでに確立されているものであり、普通にやっとうまくいく。そこで、「工夫好きの生理学者」に対しては、あえて、なるべく工夫しないで、うまくいくことがわかっているプロトコルのとおりにやる

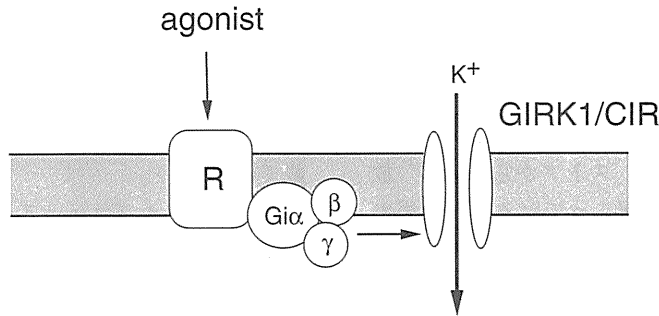


図5. GIRK1/CIR を effector として用いた, 卵母細胞発現系における Gi/Go 結合型受容体の発現の検出のメカニズム

ということをお勧めしたい。とっておきの工夫をいろんなところからひっばってきつてくつたりすると、思わぬところで足をすくわれる。普通のことをやるには工夫しないで、確立されている通りにやる。

### 13. お わ り に

これまで、卵母細胞による機能発現法によるクローニングの対象は、イオンチャネル分子か、Gq 蛋白質 (IP 3/Ca<sup>2+</sup> 系) にリンクする受容体に限られてきた。今後、どのような新展開がおこる可能性があるだろうか。

まず、新たな、鋭敏な生理学的スクリーニング法を開発することで、適応できる範囲を拡大できる可能性があるだろう。例えば、Gi/Go 蛋白質で活性化される内向き整流性 K<sup>+</sup> チャネル GIRK1/CIR (ref. 38, 39) を reporter として、共発現させることで、Gi/Go 蛋白質に結合するタイプの受容体の発現がスクリーニングできるかもしれない(図5)。また例えば、高発現するチャネルのコード領域の上流に、転写因子を同定したい cis-element をつなげた DNA の construct を、転写因子を発現している細胞のライブラリー由来の RNA と共導入すれば、転写因子クローンの有無を、reporter channel 電流の増加として捕えられるかも知れない。

次に、このクローニング法において、大量に RNA を精製する必要があることは大きな障害となっているが、この点も克服されていく可能性があると思われる。現時点では、生理学的に

ある特殊な細胞に非常に興味深いチャネルがあることがわかっていても、その細胞がごく少量しかとれない場合は、そのクローニングはこの方法では非常に難しい。しかし、ごく少量の細胞から high quality の library をつくる技術が進歩して、まれな分子にいたるまで full length ではいっているような library さえつくれば、増やした library DNA の insert 部分を厳しくサイズ分画し、re-ligate, re-transform して、目的とするクローンを検出可能なレベルまで濃縮することは可能と考えられる。

これまでの筆者の経験からいうと、(クローニングはなんでもそうだと思うが、)機能発現法によるクローニングでは、特に「見極め」が非常に大切だと思う。そこに、電流が見えていとも見えていないとも結論できないようなあやふやなスクリーニングでは、いい結果は生まれ得ない。電気生理学的な判定を確信をもって下せるなら、分子生物学の部分はそう困難ではない。電気生理学的に観察してきた興味深いチャネルや受容体があれば、憶せず、かつ深く考えつつ、挑戦してみるとよいと思う。RNA のよいソースがあれば、成功の可能性は十分あると思われる。

なお、この稿の内容の不明な点等についてのご質問、また、より詳細な点についてご質問がある場合は、ご連絡下さい。わかることであれば、お答えさせていただきます。誤った点等についてもご指摘下されば幸いです。

(fax: 0423-21-8678, email: ykubo@tmin. ac. jp).

## 謝 辞

この稿で紹介した、筆者らの IRK1 のクローニングは、University of California, San Francisco の Lily Jan 先生の暖かい励ましのもと、機能発現法のエキスパートの David Julius 先生に貴重なアドバイスをいただきながら、行なったものです。また、sBimR, sWIRK のクローニングは、東大海洋研分子生物の窪川かおる先生、東京都神経研の宮下知之氏といっしょに行ないました。尊敬する先生やよき仲間「改めて」深く感謝したいと思います。

この稿を書きながら、機能発現法によるクローニングを行っていた時の苦しかった日々や、成功した時の感激など、なつかしく思い出しました。(振り返るには、まだ早すぎるけれど。)この稿を執筆する機会を下さった企画編集者の高田明和先生、井本敬二先生、小幡邦彦先生、また、そのきっかけになった、1995年の生理研における技術トレーニングコースで講演する機会を下さった、井本敬二先生、岡田泰伸先生に心より感謝いたします。

## 参 考 文 献

- 1) Stuhmer, W. & Parekh, A. B. (1995) Electrophysiological Recordings from *Xenopus* oocytes. In *Single-Channel Recording* Sakmann, B. & Neher, E. (eds), Plenum, New York, pp 341-356.
- 2) Frech, G. C. & Joho, R. H. (1992) Isolation of ion channel genes by expression cloning in *Xenopus* oocytes. *Methods in Enzymology* **207**, 592-604.
- 3) Dascal, N. (1987) The use of *Xenopus* oocytes for the study of ion channels. *Crit. Rev. Biochem.* **22**, 317-387.
- 4) 中村元直, 清水孝雄 (1993) アフリカツメガエルの卵母細胞を用いたレセプター遺伝子の発現クローニング. 横田 崇, 新井賢一(編) バイオマニュアルシリーズ 3 遺伝子クローニング実験法 羊土社, 東京, pp 138-156.
- 5) 久保義弘 (1997) アフリカツメガエル卵母細胞を用いたクローン化遺伝子の機能分析法. 吉川和明(編) ニューロサイエンスラボマニュアル 2 遺伝子導入発現研究法. シュプリンガーフェアラーク. 東京, pp 347-357.
- 6) 山田隆太郎 (1993) アフリカツメガエル卵母細胞. 横田 崇, 新井賢一(編) バイオマニュアルシリーズ 4 遺伝子クローニング実験法. 羊土社. 東京, pp 151-159.
- 7) 塩川光一郎, 中村寿士 (1994) アフリカツメガエル卵への DNA および RNA 注入による遺伝子機能解析. 中辻憲夫編, 実験医学増刊, 発生工学実験法. 羊土社. 東京, pp 160-172.
- 8) 澄川勝美 (1990) レセプター mRNA 導入方法. 御子柴克彦, 畠中寛編. 実験医学別冊. 神経生化学マニュアル. 羊土社. 東京, pp 10-19.
- 9) 高橋智幸 (1990) 発現レセプターの電気生理学的検出法. 御子柴克彦, 畠中寛編. 実験医学別冊, 神経生化学マニュアル. 羊土社. 東京, pp 20-25.
- 10) Noda, M., Takahashi, H., Tanabe, T., Toyosata, M., Kikuyotani, S., Furutani, Y., Hirose, T., Takashima, H., Inayama, S., Miyata, T. & Numa, S. (1983) Structural homology of Torpedo californica acetylcholine receptor subunits. *Nature* **302**, 528-532.
- 11) Papazian, D., M., Schwarz, T. L., Tempel, B. L., Jan, Y. N. & Jan, L. Y. (1987) Cloning of genomic and complementary DNA from Shaker, a putative potassium channel gene from *Drosophila*. *Science* **237**, 749-753.
- 12) Gurdon, J. B., Lane, C. D., Woodland, H. R. & Marbaix, G. (1971) Use of frog eggs and oocytes for the study of messenger RNA and its translation in living cells. *Nature* **223**, 177-182.
- 13) Miledi, R., Parker, I. & Sumikawa, K. (1983) Recording of single gamma-amino-butyrate- and acetylcholine-activated receptor channels translated by exogenous mRNA in *Xenopus* oocytes. *Proc. R. Soc. Lond. [Biol.]* **218**, 481-484.
- 14) Masu, Y., Nakayama, K., Tamaki, H., Harada, Y., Kuno, M. & Nakanishi, S. (1987) cDNA cloning of bovine substance-K receptor through oocyte expression system. *Nature* **329**, 836-838.
- 15) Jentsch, T. J., Steinmeyer, K. & Schwarz, G. (1990) Primary structure of Torpedo marmorata chloride channel isolated by expression cloning in *Xenopus* oocytes. *Nature* **348**, 510-514.
- 16) Gunderson, C. B. & Umbach, J. A. (1992) Suppression cloning of the cDNA for a candidate subunit of a presynaptic calcium channel. *Neuron* **9**, 527-537.
- 17) Julius, D., MacDermott, A. B., Axel, R. & Jessell, T. M. (1988) Molecular characterization of a functional cDNA encoding the serotonin<sub>1c</sub> receptor. *Science* **241**, 558-564.
- 18) Honda, Z., Nakamura, M. et al. (1991) Cloning by functional expression of platelet-activating factor from guinea-pig lung. *Nature* **349**, 342-346.
- 19) Masu, M., Tanabe, Y., Tsuchida, K., Shigemoto, R. & Nakanishi, S. (1991) Sequence and expression of a metabotropic glutamate receptor. *Nature* **349**, 760-765.
- 20) Kimura, T., Tanizawa, O., Mori, K., Brownstein, M. J. & Okayama, H. (1992) Structure and expression of a human oxytocin receptor. *Nature* **356**, 526-529.
- 21) Brown, E. M., Gamba, G. et al. (1993) Cloning and characterization of an extracellular  $Ca^{2+}$ -sensing receptor from bovine parathyroid. *Nature* **366**, 575-580.
- 22) Lustig, K. D., Shiau, A. K., Brake, A. J. & Julius, D. (1993) Expression cloning of an ATP receptor

- from mouse neuroblastoma cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**, 5113-5117.
- 23) Kubokawa, K., Miyashita, T., Nagasawa, H. & Kubo, Y. (1996) Cloning and characterization of a bifunctional metabotropic receptor activated by both extracellular calcium and glutamate. *FEBS letters* **392**, 71-76.
  - 24) Egebjerg, J., Bettler, B., Hermans-Borgmeyer, I. & Heinemann, S. (1991) Cloning of a cDNA for a glutamate receptor subunit activated by kainate but not AMPA. *Nature* **351**, 745-748.
  - 25) Moriyoshi, K., Masu, M., Ishii, T., Shigemoto, R., Mizuno, N. & Nakanishi, S. (1991) Molecular cloning and characterization of the rat NMDA receptor. *Nature* **354**, 31-37.
  - 26) Maricq, A. V., Peterson, A. S., Brake, A. J., Myers, R. M. & Julius, D. (1991) Primary structure and functional expression of the 5HT<sub>3</sub> receptor, a serotonin-gated ion channel. *Science* **254**, 432-437.
  - 27) Brake, A. J., Wagenbach, M. J. & Julius, D. (1994) New structural motif for ligand-gated ion channels defined by an ionotropic ATP receptor. *Nature* **371**, 519-523.
  - 28) Takumi, T., Ohkubo, H. & Nakanishi, S. (1988) Cloning of a membrane protein that induces a slow voltage-gated potassium current. *Science* **242**, 1042-1045.
  - 29) Frech, G. C., VanDongen, A. M., Schuster, G., Brown, A. M. & Joho, R. H. (1989) A novel potassium channel with delayed rectifier properties isolated from rat brain by expression cloning. *Nature* **340**, 642-645.
  - 30) Ho, K., Nichols, C. G., Lederer, W. J., Lytton, J., Vassilev, P. M., Kanazarska, M. V., Hebert, S. C. (1993) Cloning and expression of an inwardly rectifying ATP-regulated potassium channel. *Nature* **362**, 31-38.
  - 31) Kubo, Y., Baldwin, T. J., Jan, Y. N. & Jan, L. Y. (1993) Primary structure and functional expression of a mouse inward rectifier potassium channel. *Nature* **362**, 127-133.
  - 32) Dascal, N., Schreinemayer, W. et al. (1993) Atrial G protein-activated K<sup>+</sup> channel: expression cloning and molecular properties. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**, 10235-10239.
  - 33) Kubo, Y., Miyashita, T. & Kubokawa, K. (1996) A weakly inward rectifying potassium channel of the salmon brain. *J. Biol. Chem.* **271**, 15729-15735.
  - 34) Canessa, C. M., Horisberger, J. D. & Rossier, B. C. (1993) Epithelial sodium channel related to proteins involved in neurodegeneration. *Nature* **361**, 467-470.
  - 35) Paulmichl, M., Li, Y., Wickman, K., Ackerman, M., Peralta, E. & Clapham, D. (1992) New mammalian chloride channel identified by expression cloning. *Nature* **356**, 238-241.
  - 36) Yokota, Y., Sasai, Y., Tanaka, K., Fujiwara, T., Tsuchida, K., Shigemoto, R., Kakizuka, A., Ohkubo, H. & Nakanishi, S. (1989) Molecular characterization of a functional cDNA for rat substance P receptor. *J. Biol. Chem.* **264**, 17649-17652.
  - 37) Brooks, J., Taylor, P. L., Saunders, P. T. K., Eidne, K. A., Struthers, W. J. & McNeilly, A. S. (1993) Cloning and sequencing of the sheep pituitary gonadotropin-releasing hormone receptor and changes in expression of its mRNA during the estrous cycle. *Molec. Cell. Endocrinol.* **94**, R23-R27.
  - 38) Kubo, Y., Reuveny, E., Slesinger, P. A., Jan, Y. N. & Jan, L. Y. (1993) Primary structure and functional expression of a rat G-protein-coupled muscarinic potassium channel. *Nature* **364**, 802-806.
  - 39) Krapivinsky, G., Gordon, E. A., Wickman, K., Velimirovic, B., Krapivinsky, L. & Clapham, D. E. (1995) The G-protein-gated atrial K<sup>+</sup> channel IKACH is a heteromultimer of two inwardly rectifying K<sup>+</sup>-channel proteins. *Nature* **374**, 135-141.

## 単一ニューロンの mRNA 解析

都 筑 馨 介・小 澤 滯 司

(群馬大学医学部第二生理学教室)

### I. は じ め に

生理学的機能が生ずるためには、必ず構造を必要とする。構造とは、顕微鏡を使って観察できる狭義の形態学的構造ばかりでなく、生物を構成する分子レベルからの構造を意味する。現在の科学では構造がどのようにして生じたかということについてはわからないことが多いが、構造を構成する個々の要素についての知見は深まっており、各要素間の相互関係も徐々に明らかになりつつある。

端的な例は遺伝子である。核酸が遺伝物質であることが分かってから半世紀もたたないうちに、個々の細胞が、個体を形成するために必要な遺伝情報をそっくり保有していることが明らかになった。例えば分化した乳腺上皮細胞の染色体 DNA は完全な個体を作るために必要な遺伝情報を一式もっている。ヒトの染色体には、塩基として A, C, G, T をもつ 4 種類のデオキシリボヌクレオチドがポリマーを形成し、総数  $3 \times 10^9$  塩基対 (bp) の二本鎖 DNA として遺伝情報が貯蔵されている。この染色体上に、約  $10^5$  種類の遺伝子がコードされている。

分化した細胞においては、この  $10^5$  種類の遺伝子の発現様式の違いが、その細胞の特性の大枠を決めている。このうち、一つの細胞に同時に mRNA として発現している遺伝子は約  $10^4$  種類であるといわれている。そして、どの細胞で、どの遺伝子が、どれだけの量発現するかによって、その細胞の特性が現れてくる。

逆に、細胞の機能の差異は発現している mRNA の種類と量に反映されている、とも考えられる。本稿では、この単一細胞レベルで発現している mRNA を解析する手法について述

べる。

単一ニューロンに発現している mRNA を解析できるのであろうか。ニューロンは通常サイズのもので細胞体の直径が  $10 \sim 20 \mu\text{m}$ 、大型のものでも  $100 \mu\text{m}$  以下である。仮に一辺が  $10 \mu\text{m}$  の立方体、ないしは直径  $12.5 \mu\text{m}$  の球状のニューロンを考えてみると、その重さは  $1 \text{ ng}$  前後であると推測される。RNA が重量比で 1% 存在し、mRNA の存在比を RNA の 5% とすると、細胞あたり  $0.5 \text{ pg}$  の mRNA が存在する。すなわち、一個の細胞に、平均 2000 塩基 (base) の mRNA が、 $5 \times 10^5$  個存在することになる。一個の細胞には  $10^4$  種類の mRNA が発現し、それらが均等に発現しているならば各 50 コピーずつの mRNA が発現していることになる。これは次に述べる RT-PCR 法を用いて検出可能な量である。しかし、検出可能限界に近いレンジにあるので、慎重な計画のもとに、綿密な実験を行う必要がある。

### II. RT-PCR 法

組織中にどの種類の mRNA がどれだけ発現しているかを調べる方法として、最も一般的なのはノーザンブロット法である。この方法は、RNA を電気泳動し、ナイロン膜にトランスファーする。そして、知りたい mRNA に特異的に結合する放射性同位元素などで標識されたプローブをハイブリダイズする。この方法により、発現している mRNA の種類と量がわかるばかりでなく、RNA を電気泳動によって分離するので、mRNA の長さについての情報も得ることができる。しかし、ノーザンブロット法は多量の試料を必要とする。mRNA の発現量によるが、 $10 \sim 20 \mu\text{g}$  の RNA を一回の電気泳

動に必要なとする。このために必要な試料は、グアニジン酸性フェノール法<sup>4)</sup>で RNA を調製した場合、組織量として 1~10 mg が必要となる。mRNA の長さに関する情報が不要なら、試料を節約できる RNase 保護アッセイ法を適用できるが、それでも、 $10^3$  個の細胞が必要である。

Polymerase Chain Reaction (PCR) 法<sup>13)</sup> は DNA の一部を大幅に増幅する方法である。二本の合成 DNA プライマーを増幅したい DNA 断片を挟むように設計する。一本は目的とする部分の上流におくフォワードプライマー(センスプライマー)で、センス鎖の配列の一部をもつ。他の一本は目的とする部分の下流におくリバースプライマー(アンチセンスプライマー)でセンス鎖に相補的な配列を持つ。PCR によって増幅されるのはフォワードプライマーとリバースプライマーに挟まれた部分で、標準的には 100~1000 bp を増幅する。スタート物質である鋳型 DNA、DNA 合成の基質となる dATP, dCTP, dGTP, dTTP の 4 種のデオキシリボヌクレオチド(dNTPs)、耐熱性 DNA 合成酵素を加えて、PCR 装置で反応させ、増幅する。最初に必要なスタート物質は、ごく微量でもよく、液層に一分子あれば増幅可能であり、一個の細胞に 4 分子しか存在しない染色体 DNA の断片でも、電気泳動で十分検出可能なレンジにまで増幅できる。また、増幅産物を再びスタート物質として用いれば無限に増幅産物を得ることができる。しかし、標準的な PCR では  $10^4$  分子以上のスタート物質を用いて行われる。

スタート物質として用いる DNA は、RNA を逆転写して合成した cDNA でもよい。この逆転写反応(reverse transcription, RT)に引き続き PCR を行う方法を RT-PCR 法という。原理的には、液層に一分子の cDNA があれば、無限に増幅できるわけで、この方法を用いれば、単一細胞に発現している mRNA を検出することも不可能ではない。

単一細胞に発現している mRNA を回収するためにパッチ電極を用いるのがパッチクランプ RT-PCR 法である<sup>10,18,19)</sup>。図 1 にその概略を

記す。パッチ電極に回収した mRNA をスタート物質として、逆転写反応により第一鎖 cDNA を合成し、PCR 法によりその特定部分を増幅する。この方法を用いると、単一細胞に発現している mRNA を解析できるばかりでなく、通常のホールセル・パッチクランプ記録を行って単一ニューロンの機能を解析した上で、その細胞に発現している mRNA を検索することができる。

### Ⅲ. ホールセル記録

パッチクランプ RT-PCR 法を行う場合のホールセル記録において、注意を払うべき点を述べる。

#### A. 標 本

RNA は細胞の状態に非常に影響される。細胞の状態が悪いときは、mRNA の発現が少ない。筆者らは分散培養したラット海馬ニューロンと PC12 培養株細胞、ラット海馬、小脳、大脳皮質の急性スライス標本についてパッチクランプ RT-PCR 法の経験がある。いずれの場合も、単層培養細胞や 200~400  $\mu\text{m}$  前後の薄切スライスを用い、顕微鏡下に個々の細胞を直視し、ホールセル記録を行っている。

培養ニューロン、培養株細胞を対象とする場合は倒立位相差顕微鏡を用い、細胞に厚みがある細胞を選び、細胞質に空胞を生じていたり、細胞膜が歪んだ細胞は避ける。

スライス標本を用いる場合は、手早く脳を取り出し、できるだけ樹状突起を痛めないようにスライス面を合わせ、堂阪 Microslicer DTK-1000 などを用いて薄切スライスを作る。スライサーの刃がブレると標本の状態は著しく悪くなる。Zeiss Axioskop FS などの鏡筒上下式の正立顕微鏡で、ノマルスキー微分干渉下に細胞を観察し、立体感のあるどっしりとした細胞を選び、膨化した細胞や組織から浮かび上がった細胞は避ける。

いずれの場合も、電気生理学的に、静止電位、膜抵抗、膜容量を測定しておき細胞の状態の目

## Patch clamp RT-PCR

### A. Patch clamp

Whole-cell patch clamp recording

### B. Harvest of cytoplasm

mRNA

RT-primer, dATP, dCTP, dGTP, dTTP,  
reversetranscriptase(M-MLV)

### C. Reverse transcription (RT)

mRNA

3' ← RT-primer  
1st strand cDNA

PCR-primers (FOR, REV), Taq pol.

### D. Polymerase chain reaction (PCR)

5' FOR → 3' 2nd strand cDNA  
3' ← 5' FOR  
3' ← 5' REV  
Amplified product

図1 パッチクランプ RT-PCR 法

パッチクランプ RT-PCR 法の手順を記す。(A)まず、ホールセルパッチクランプ記録を行う。(B)次に、パッチ電極内に mRNA を含む細胞質を吸引し、これを電極内液ごとマイクロチューブに移す。(C)逆転写プライマー、基質となるデオキシリボヌクレオチド、逆転写酵素を混ぜ、逆転写反応により mRNA に相補的な第一鎖 cDNA を合成する。(D)PCR プライマー、耐熱性 DNA 合成酵素を加えて、遺伝子増幅反応を行う。最初のサイクルでは、第一鎖 cDNA に FOR プライマーがアニールし第二鎖 cDNA ができる。次のサイクルで、この第一鎖 cDNA と第二鎖 cDNA をスタート物質にして増幅された遺伝子産物ができ、以後のサイクルでは、第一鎖 cDNA、第二鎖 cDNA、増幅された産物をスタート物質にして FOR と REV 両プライマーに挟まれた部分が、指数関数的に増幅されていく。

安とする。パッチ電極内液に後述の KCl 電極内液や K-gluconate 電極内液を用いた場合は静止電位は -40 から -70 mV となる。膜抵抗と膜容量は、大型のニューロンで 300~500 MΩ, 20~50 pF 程度である。

#### B. 電極内液

以下の 3 種類の電極内液を電気生理学的に何を観察したいかによって使い分けている。これ

らの電極内液の間で、少量の RNA をスタート物質にした RT-PCR 反応の効率に差は認められていない。

- (1) KCl 電極内液 (140 mM KCl, 3 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM HEPES, 5 mM EGTA, pH 7.2).

ホールセルパッチクランプに用いる古典的な電極内液。

- (2) CsCl 電極内液 (140 mM CsCl, 3 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM HEPES, 5 mM EGTA, pH 7.2).

外向きのカリウム電流をブロックしたボルテージクランプの実験に用いる。GABA<sub>B</sub> レセプターを介する応答もブロックされる。チャネル電流の膜電位依存性の解析などの場合に用いる。

- (3) K-gluconate 電極内液 (145 mM K-gluconate, 3 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM HEPES, 0.2 mM EGTA, pH 7.2)。

カレントクランプの実験に用いる。スパイク発火頻度を観察する場合は Cl<sup>-</sup> 濃度と二価イオンキレート剤濃度が低いこの溶液を用いる。また、GABA<sub>A</sub> 受容体チャネルなどを介する Cl<sup>-</sup> 電流の関与を制限したい場合もこの溶液を用いる。

電極内液を作製するのに用いる試薬、水、容器、pH電極等は、DNA や RNA が混入しないように注意する。特にプラスミド DNA を扱っている研究室では注意が必要である。筆者らは調製した液を、フィルターを通してからオートクレーブしている。しかし、これらの操作では、RNA 分解酵素 (リボヌクレアーゼ, RNase) を除去できないので、水、試薬は RNase free のものを用いる<sup>19)</sup>。RNase は混入しやすく、不活化しにくく、除きにくい酵素なので、注意深く試薬を調製する。

### C. 電極ホルダー

筆者らはパッチクランプアンプとして List の EPC-7 を使用している。RT-PCR 専用に電極ホルダーを 1 組用意し、清潔に使っている。電極内液に浸す銀線に対しては、電極内液同様の諸注意を払い、Ag/AgCl コートは塩化銀粉末を坩堝で熱して融解し、銀線を浸すことにより行っている。

ガラス管は洗浄し滅菌したものを用いる。ガラス電極は Sutter 社の P97 などのプレーを用いて、開口部の大きいもの (1 μm 以上, KCl パッチ電極内液を用いた場合、3 MΩ 以下の電極抵抗のもの) を作製する。電極内液は一定量を後部より詰める。この量は後述の逆転写反応の液量が 10 μL となるように調節する。

### D. 細胞質 mRNA の回収

電気生理学的記録を終了後、電極内を陰圧にし、顕微鏡下で観察しながら丁寧に細胞質を電極内に回収する。細胞が徐々に痩せ、電極にオルガネラなどの細胞質成分が吸いこまれていくのが観察される。しばしば、核が電極開口部に栓をしてしまい細胞質の回収に失敗する。

細胞質を吸引し終わったら、ホルダーから電極を外し、マイクロチューブに細胞質を含む電極内液を移す。Monyer らはガスボンベにパッチ電極を取り付け、電極内液をマイクロチューブに移している<sup>12)</sup>。筆者らは、注射筒にパッチ電極を繋ぎ、ガラス電極の先端部をマイクロチューブの内壁につけて折り、陽圧により完全に電極内の液を排出している (図 1 参照)。

## IV. 逆転写反応

このステップで、PCR のスタート物質となる第一鎖 cDNA を合成する。逆転写酵素 (RNA 依存性 DNA 合成酵素) がその主役をなす。逆転写酵素は、RNA と DNA のハイブリッドを認識し、そこを起点に第一鎖 cDNA を合成する。そこで、まずランダムヘキサマー (dN 6) などの逆転写プライマーとなる合成 DNA を加え、RNA と DNA のハイブリッドを作らせ、次に逆転写酵素を働かせる。

### A. 逆転写プライマー

合成 DNA としてランダムヘキサマー (dN 6) を用いると、全ての RNA について第一鎖 cDNA を作ることができる。cDNA を後述するマルチプレックス RT-PCR に用いる場合は dN 6 を使う。

dN 6 は、6 量体の合成 DNA で、AAAAAA, AAAAAC, AAAAAG, AAAAAT, . . . , TTTTGT, TTTTGT の 4<sup>6</sup>=4096 種類の配列を含む。これは、mRNA を含むあらゆる RNA と衝突し、会合したり離れたりを繰り返している。RNA に dN 6 が会合した RNA と DNA のハイブリッドに逆転写酵素が結合すると、基質を取り込み、RNA の配列に相補的な DNA が逆転

写酵素と共に伸長していく。ある程度以上 DNA 鎖が伸びれば、ハイブリッドは安定化し、逆転写反応の温度では、解離しなくなる。

dN6 は少ない方が長い cDNA ができるが、収量が下がる。数百 bp の増幅産物を得られればよいのであれば、dN6 が過剰であっても、収量が多い条件を選んだ方がよい。

また、PCR の際に使うリバースプライマーなどの配列特異的な合成 DNA を使うと、作る cDNA の種類を選ぶことができる。しかし、逆転写プライマーが長いと、逆転写反応の温度での非特異結合が起こり、スミアな PCR 産物が得られてしまうこともある。

### B. 逆転写酵素

逆転写酵素に Superscript II などの Molony Leukemia Virus 由来の酵素を使う。反応にはジスルフィド結合を防止するジチオスレイトール (DTT) などの還元剤が必須である。この酵素は脆弱な酵素で、熱により容易に失活する。37℃ で 30 分で酵素活性は半減すると考えられている。また、バッチによる差があるので、何らかの方法で、自分の研究室で逆転写酵素の活性を調べる方法を用意しておく。

Superscript II はタンパク量あたりの活性が低く、高濃度で用いると PCR を阻害する。DTT も酸化してしまうと PCR の阻害物質となる。いずれも通常の濃度レンジでは、PCR に影響を与えない。

反応温度を 37℃ ではなく、42~55℃ で行うほうが、RNA の高次構造が緩み、cDNA ができるという考え方もあるが、筆者らの経験では 37℃ で反応させたほうが、cDNA の収量が多い。

### C. 逆転写反応の実際

マイクロチューブに予め、最終濃度 5  $\mu$ M の逆転写プライマーと最終濃度 0.5 mM の基質となる dNTPs を入れておく。そこへ、細胞質を含む電極内液を移し、最終濃度 10 mM の DTT と 100 U の Superscript II を加える。また、

RNase を阻害するために、RNase inhibitor を 20 U 加える。10  $\mu$ L の反応系で 37℃ 1 時間反応させ、第一鎖 cDNA を合成する。

## V. 遺伝子増幅

PCR 法では、二本鎖 DNA を熱変性して二本の一本鎖 DNA とし、温度を冷やして大過剰に加えてあるプライマーをアニールさせ、次に耐熱性ポリメラーゼの働きやすい温度にして、伸長し二本の二本鎖 DNA を合成するというサイクルを、何度も何度も繰り返して、標的遺伝子の一部分を増幅する。

標準的な PCR と単一細胞からの RT-PCR が異なる点は、後者ではスタート物質量が極端に少ないことである。本実験では 1 分子でも液層中に DNA が存在すれば、検出するような実験系を組む。スタート物質量が少ない場合は、PCR 装置の不安定さや PCR 反応前の Taq ポリメラーゼの活性など、標準的な PCR には影響を与えない小さな擾乱が増幅効率に大きく影響を与える。また、通常 40 サイクル以上の多サイクルの PCR を行うので、手袋に付着した DNA や、ピペットにエアロゾルとして吸い込まれた程度の微量の DNA も増幅してしまう。このテンプレートの混入は、正しく実験系をセットアップすれば確実に除ける。また、DNA や RNA を持ち込まない実験区域を用意する必要がある。

### A. PCR 装置

PCR 装置は温度を上げて、一定時間ホールドし、温度を下げて一定時間ホールドし、これを繰り返すだけの装置であるが、PCR 装置にコンピュータを接続し、各サイクルごとの運転状況をモニターしてみると、マシン毎のばらつきも、試行毎のばらつきもあることがわかる。筆者らは、宝酒造の TP 2000 などの PCR 装置を用いて、以下の点をチェックしている。(1) 温度ディスプレイは正しい温度 (誤差 1℃ 以内) を表示しているか。(2) オーバーシュート 0.5℃、アンダーシュートが 2℃ の規格内にあ

るか。(3) 各サイクルあたりの所用時間がばらついていないか。

また、増幅反応のモニターとして、10分子のプラスミド DNA および、10 pg の脳 cDNA をスタート物質に PCR を行い、電気泳動上でバンドが検知できること、テンプレートがなければバンドが検知できないことを頻繁に確認している。

## B. PCR チューブ

筆者らは Perkin Elmer の Gene Amp reaction tube などの容量 0.5 mL の並厚の PCR チューブを用いて 100  $\mu$ L の反応系で PCR を行っている。その理由は、最初の条件設定をこのチューブを用いて行ったためである。各温度サイクルの温度と時間の条件は、DNA とプライマーだけによって決まるのではなく、チューブの形状と、反応量も大きな影響を与える。例えば、薄手のチューブを使った場合、並厚の PCR チューブで設定した温度サイクルの条件では、標的遺伝子の増幅効率が落ち、非特異産物が増す。それは、薄手のチューブでは熱のまわりが速すぎて、耐熱性ポリメラーゼが失活しやすくなり、また伸長反応の時間が長すぎて非特異産物が増すためである。逆に、薄手のチューブで設定した条件では、並厚のチューブでは全く増幅されないことがある。実際に用いるチューブと反応量にあわせて条件を設定する必要がある。

近年、容量 0.2 mL の薄手の PCR チューブが利用されるようになり、Perkin Elmer 9600 など、このチューブ用の PCR 装置が広く普及しだした。筆者らも RI 区域で PCR を行うときにこのチューブを使っているが、各温度サイクルの時間を半分に減らし、良好な結果を得ている。ただ、このチューブは小さくて取り扱いにくく、後述するマニュアル法によるホットスタート PCR が事実上不可能であるという欠点がある。

また、熱変性、プライマーのアニール、合成された DNA 鎖の伸長をそれぞれ独自の温度で

行う 3 サイクル PCR を行うか、アニールと伸長を同じ温度で行う、2 サイクル PCR を行うかも好みにより、2 サイクル PCR が 3 サイクル PCR に勝るものでもない。

## C. PCR プライマー

PCR 法においては、熱変性-プライマーのアニール-DNA 鎖の伸長という 1 サイクルで最大 2 倍に遺伝子は増幅される。実際には、増幅効率の高いプライマーを用いても 1.6 倍前後の増幅効率である。プライマーが悪いと、増幅効率が悪かったり、非特異的産物が生じたり、場合によっては全く増幅されないこともある。プライマーが悪いといった場合、配列が悪い場合と、化学物質としての品質が悪い場合の二つの場合が考えられる。

まず、プライマーの配列を設計するにあたっての注意点を述べる。PCR は、標準的な 25~30 サイクルより多くのサイクル数(40 サイクル以上)行う。スタート物質量が少ない条件下で多サイクルの PCR を行くと、プライマーの 3' 端同士がアニールし、プライマーダイマーが生じやすい。また、鋳型 DNA が少ない場合は、通常のアニール温度ではプライマーが DNA に十分に結合していない<sup>14)</sup>。筆者らは、標準的な PCR を行う場合には、(プライマーのアニール温度と、増幅産物の解離温度の 7:3 の内分点より 15℃ 低い温度)でアニールさせているが、10 分子レベルでは、それよりも 5℃ 低い温度でアニールさせているので、プライマーダイマーはますます生じやすくなる。このプライマーダイマーは、高効率で増殖し、激しくプライマーを消費し、増幅産物を減らす。そこで、Gibbs の自由エネルギーを調べ、できるだけ 3' の  $\Delta G$  の不安定なところを選び、プライマー相互の 3' 端に相補的な配列を持たないように注意して設計している。

プライマーが DNA にアニールする温度と、二本鎖 DNA が熱変性によって解離する温度が 25℃ 以上離れていると、熱変性によって解離した DNA にプライマーがアニールする前に既に

増幅されている相補鎖の DNA が結合してしまい、増幅効率が下がる。この点で、増幅産物の長さは短いもののほうが有利である。

同じ配列のプライマーであっても化学物質としての品質が悪い場合がある。極端な場合では、外注したプライマーで様々なサイズの混じったものが送られてきたこともある。増幅がうまくいかない場合は、ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE) や、陰イオン交換カラムを用いた高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を行って分析し、品質が悪い場合は再合成する。

プライマーの量は PCR に大きく影響を与える。増幅産物を増すために、プライマーを多くすると、プライマーダイマーが生じやすくなる。プライマーダイマーが生じると、できる増幅産物の量は減る。結局のところ、プライマーの量は実験的に決めていくしかないが、筆者らは、 $0.1\sim0.2\ \mu\text{M}$  の濃度で PCR プライマーを用いている。

#### D. 耐熱性 DNA ポリメラーゼ

PCR 法が広く使用されるようになったのは二本鎖 DNA が熱変性によって解離する温度でも失活しない耐熱性 DNA ポリメラーゼが発見され、利用できるようになったことによる<sup>15)</sup>。古細菌から精製された、Taq DNA polymerase は  $94^\circ\text{C}$  で 30 分処理しても、活性の半分は残っている。現在は、遺伝子工学的に大腸菌で作られたリコンビナントの Taq polymerase が高品質で安価に手に入る。

Taq polymerase は、DNA と DNA のハイブリッドを認識し、3' 末端がひっこんでいる場合、これを埋めるように相補鎖を伸長する強力な DNA 合成酵素で、 $70\sim80^\circ\text{C}$  で最大活性を示す。この温度では 1 秒間に 100 塩基以上を合成するので、数十秒あれば PCR 産物を伸長させるのに十分であるばかりでなく何度も回転して利用される。 $55^\circ\text{C}$  でも、1 秒間に 20 塩基以上を合成するので、アニール温度が  $55^\circ\text{C}$  以上の場合、アニールと伸長を同じ温度で行う 2 サイクル PCR も可能である。この強力な DNA 合成

能を利用して、少量のスタート物質でおこなう PCR は、ほとんどが Taq polymerase を用いて行われている。

Taq polymerase を使う場合の問題点は、室温でも無視できない活性が残っていることである。室温では、プライマーと鋳型 DNA、またプライマー相互は非特異的に結合している。ここへ Taq polymerase が作用すると、非特異的な DNA 合成産物ができてしまう。そこで、温度を上げて、非特異的な結合が解消された状態から PCR が開始するような実験法 (ホットスタート法) が、少量のスタート物質を用いた場合に有効である<sup>5)</sup>。なお、 $4^\circ\text{C}$  では、Taq polymerase はほとんど DNA 合成活性がない。

また、Taq polymerase は、間違った塩基を取り込んだ場合にこれを修復する機能を欠き、かつ PCR 産物の末端に一個デオキシリボヌクレオチド (主として dA) を付加する活性をもっている。これは、増幅産物をクローニングする場合には計算に入れておく必要がある。

#### E. PCR 法の実際

逆転写反応後、反応バッファー (最終濃度  $50\ \text{mM KCl}$ ,  $1.5\ \text{mM MgCl}_2$ ,  $10\ \text{mM Tris-HCl}$ ,  $10\ \mu\text{g/mL gelatin}$ , pH 8.3), 耐熱性 DNA 合成酵素 (Ampli Taq polymerase,  $2.5\ \text{U}$ ) を反応チューブに加える。基質となる dNTPs は逆転写反応から持ち込まれる。別のチューブに最終濃度  $0.1\ \mu\text{M}$  のフォワードプライマーとリバースプライマーを混ぜておく。これらを合わせると  $100\ \mu\text{L}$  となるようにしておく。

PCR 装置を  $94^\circ\text{C}$  とし、スタート物質である逆転写反応産物等を加えたチューブを暖め、蒸発を防ぐためのミネラルオイルを重畳する。1 分間暖めてから、プライマーを加え、さらに 2 分間  $94^\circ\text{C}$  に保持してから、40 サイクルの 3 サイクル PCR を行っている。

40 サイクルの PCR を行っても、単一細胞レベルでは十分な量の増幅産物を得るのは難しい。そこで、この増幅産物を泳動分離し、フラグメントを切り出して精製し、 $10\ \text{mM Tris}$ ,

0.1 mM EDTA, pH 8.3 に溶解する。これをスタート物質として、再 PCR し解析に用いている。

回収したフラグメントの再 PCR は至適レンジが広いので、ホットスタートする必要もなく、PCR 装置の調子もさほど気にせず 25 サイクルの PCR を行えば制限酵素解析に十分な量の遺伝子増幅産物を得ることができる。

## VI. PCR 産物の解析

### A. ゲル電気泳動解析

筆者らは、PCR 産物をアガロースゲル電気泳動して解析している。200~1000 bp の長さのものなら、0.5 × TBE バッファ<sup>16)</sup> 中で 1.5% アガロースで分離する。アガロースは、0.5 μg/mL の臭化エチジウムを含む。50~100 V で 10~60 分泳動し、波長 254 nm の紫外線を出すトランスイルミネーター上で検察し、ポラロイド写真を撮る。この場合、二本鎖 DNA は 2 ng から検出可能で増幅産物が 750 塩基の場合、約  $3 \times 10^9$  分子あれば検出できる。

図 2 に単一細胞に発現している AMPA 型グルタミン酸受容体遺伝子を示す。PCR プライマーは図 3 に示した 4 種類の遺伝子 (GluR 1-GluR 4) を同時に増幅するものを用いた。KCl 電極内液を用いて、培養海馬ニューロンにパッチクランプを行い、逆転写反応を 10 μL の反応系で行った後、ホットスタート法で、100 μL の反応系で 40 サイクルの PCR を行い、15 μL を電気泳動した。レーン 1 は実験開始前のコントロールで細胞を吸わずに電極内液をチューブに加えた。レーン 2, 3, 4 が単一細胞から検出した遺伝子増幅産物である。レーン 5 はこれら 3 個の細胞を回収した後、細胞を吸わずに電極内液をチューブに加えたコントロールである。細胞を回収しない場合はバンドが見られないことから、これらのバンドはニューロン由来のものであることがわかる。レーン 6 は同一の PCR プライマーを用いてラット脳の cDNA を増幅したものである。

バンドを回収する場合には、波長 254 nm の

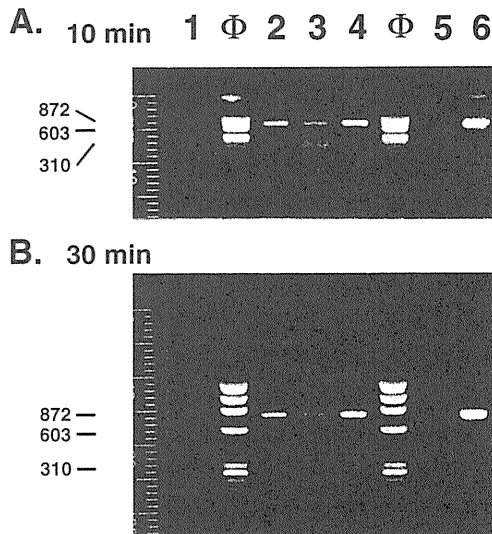


図 2 PCR 産物の電気泳動

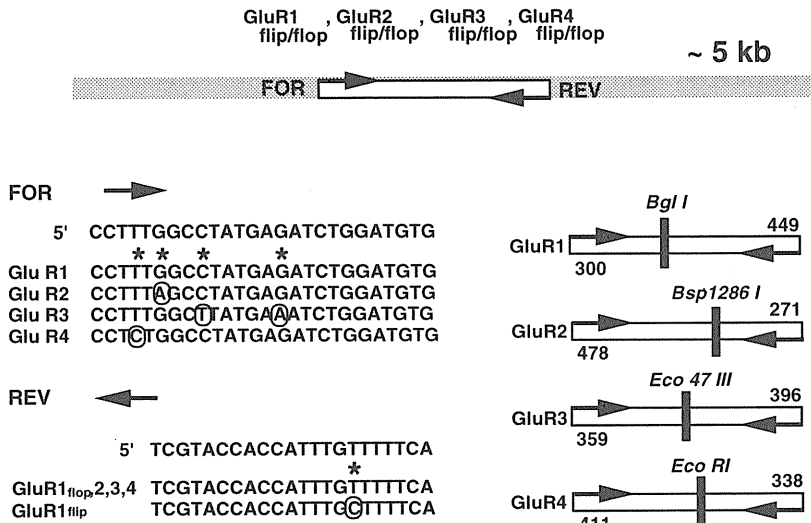
単一細胞に発現している AMPA 受容体 mRNA をパッチクランプ RT-PCR 法により検出した。標本はラット培養海馬ニューロンで、パッチ電極には KCl 電極内液を用いた。100 μL スケールで 40 サイクルの PCR を行い、15 μL を電気泳動した。1 は電極内液のみをチューブに加えたコントロール。2, 3, 4 が単一ニューロンからの PCR 産物である。3 は細胞質の回収が不十分であったが、弱いバンドが得られた。しかし、いったんバンドが得られれば、これを切り出して再増幅することにより無限に増幅産物を得ることができる。5 は細胞外液のみを回収したもの。6 はラット前脳 cDNA を増幅した陽性コントロール。Φ は分子量マーカーの Φx 174 RF, DNA, HaeIII digest (250 ng)。 (A) は、100 V で 10 分間電気泳動したものである。50 bp 近辺のところにプライマーダイマーが見られた。 (B) は、更に 20 分間電気泳動したもので、増幅産物の長さは約 750 bp であることが認められた。

紫外線をあてた DNA は傷害されているので、電気泳動をもう一度行う。ハンドヘルドの装置で 360 nm の紫外線をあて、メス刃でバンドを含む部分のゲルを切り出す。増幅されたフラグメントをゲルから回収し、再 PCR に用いる。

### B. 制限酵素解析

PCR 法では、フォワード、リバースの両プライマーによって増幅される、原則として既知の 1 種類の遺伝子を増幅する。しかし、近縁の複数の cDNA を同時に増幅する PCR プライ

### A. AMPA receptor subunits



### B. Cultured hippocampal neurons

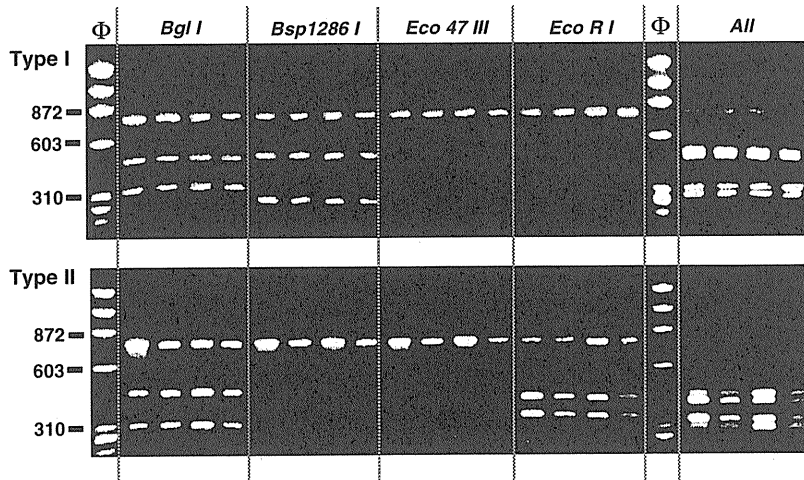


図3 制限酵素解析

複数の cDNA を同時に増幅する PCR プライマーを用いれば複数種の遺伝子を解析できる。(A) 約5000塩基の長さをもつ AMPA 受容体 mRNA は GluR1, GluR2, GluR3, GluR4 の4種からなり、それぞれにスプライシングバリエーションである flip 型と flop 型がある。これらを差のない効率で増幅する mismatches を含むプライマーを用いて増幅した。増幅された産物が、GluR1-GluR4 のいずれであるかは制限酵素解析により調べた。例えば、約750 bp の増幅産物が GluR1 mRNA 由来であるなら、制限酵素 Bgl I によって、300 bp と 449 bp の二つのフラグメントに切断される。(B) 培養海馬標本には2種類の AMPA 受容体を持異的に発現しているニューロンが存在する。ひとつは、外向き整流特性を示し、 $\text{Ca}^{2+}$  不透過性の Type I AMPA 受容体を発現している Type I 細胞である。ここに、4個の Type I 細胞を示すが、いずれの細胞でも、GluR1-GluR4 のうち GluR1 と GluR2 を発現していた。一方、内向き整流特性を示し、高い  $\text{Ca}^{2+}$  透過性を示す Type II AMPA 受容体を発現している4個の Type II 細胞では、いずれも GluR2 が検出されず、GluR1 と GluR4 を発現していた。

マーを用いれば複数種の遺伝子を解析できる。図3にその実験例を示す。AMPA 受容体 mRNA は GluR 1, GluR 2, GluR 3, GluR 4 の 4 種類からなる。これらは近縁の遺伝子で、4 種を等しい効率で増幅するプライマーを設計することにより、増幅された PCR 産物が GluR1-GluR4 のいずれであるかを、それらを特異的に消化する制限酵素で処理することによって調べることができる(図3 A 参照)。

AMPA 受容体はサブユニットの構成により整流特性と  $\text{Ca}^{2+}$  透過性が決定される。GluR 1-GluR 4 の発現実験では GluR 2 を含むサブユニット構成を持つ AMPA 受容体は  $\text{Ca}^{2+}$  不透過性であり外向き整流特性を示す。一方、GluR 2 を含まない AMPA 受容体は高い  $\text{Ca}^{2+}$  透過性を持ち強い内向き整流特性を示す<sup>7)</sup>。また、ラット海馬には  $\text{Ca}^{2+}$  透過性の異なる AMPA 受容体を選択的に発現しているニューロンが存在する。ひとつは  $\text{Ca}^{2+}$  不透過性で外向き整流特性を示す AMPA 受容体 (Type I 受容体) を発現している Type I 細胞で、もう一つは高い  $\text{Ca}^{2+}$  透過性と内向き整流特性とを示す AMPA 受容体 (Type II 受容体) を発現している Type II 細胞である<sup>8,9,17)</sup>。そこで、電気生理学的性質の異なる AMPA 受容体を発現しているこれらの海馬ニューロンにパッチクランプ RT-PCR 法を行い、AMPA 受容体のサブユニット構成の差異を調べた。図3 B の上段に電気生理学的に同定された4個の Type I 細胞の制限酵素解析の結果を示すが、いずれも Type I 細胞は GluR 2 を発現していた。一方、図3 B の下段に示した4個の Type II 細胞では、いずれも GluR 2 が検出されなかった<sup>1)</sup>。

### C. サザンブロット解析

アガロースゲル電気泳動では、上述したように、二本鎖 DNA は 2 ng から検出可能である。しかし、これをナイロンメンブランにブロットし放射性同位元素で標識したプローブをハイブリダイズさせれば、その数百倍少量の DNA を検出することができる。また、PCR によって

増幅された産物が、目的とする遺伝子であるかどうかは、その遺伝子に特異的に結合する標識プローブを用いて確認できる。図4の最下段は後述するマルチプレックス PCR 法によって得た増幅産物の確認にサザンブロット解析を行ったものである。

## VII. パッチクランプ RT-マルチプレックス PCR 法

個々のニューロンに発現している遺伝子をタンパク質レベルで調べる方法として、免疫組織化学法が広く用いられている。それぞれのタンパク質について免疫する動物の種類を変えて、複数の遺伝子の発現を見ることは可能だが、二次抗体の標識物質の制限もあって、現実には3種類までしか可能でない。

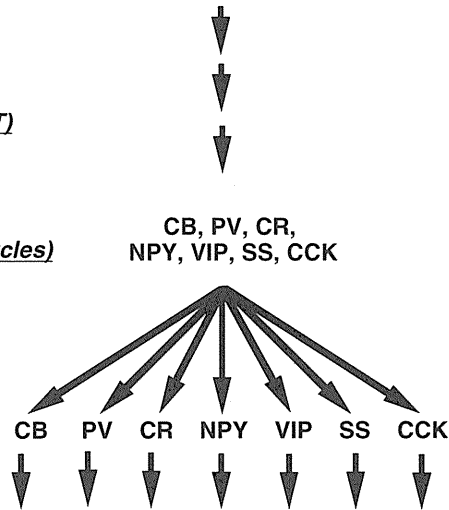
PCR 法でも、原則としては一組のプライマーによって増幅される遺伝子を増幅する。しかし、マルチプレックス PCR を行うと、少量のサンプルから同時に多種類の遺伝子を増幅できる。筆者らは、この方法を単一細胞レベルに発展させ、パッチクランプ RT-PCR 法と組み合わせたパッチクランプ RT-マルチプレックス PCR 法を開発した<sup>2)</sup>。

### A. マルチプレックス PCR 法

デュシャンヌ型筋ジストロフィーはX染色体上の遺伝子の変異によって起こるが、変異の起こりうる部位は9カ所以上あり、広い範囲にわたっている。これらを一本のチューブで同時に解析できれば、試薬の調製や電気泳動を簡便に行うことができ、迅速に診断することができる。そこで、PCR の際に18本のプライマーを同時に用いて、一本のチューブで9種の遺伝子断片を同時に増幅した。これがマルチプレックス PCR 法である<sup>3)</sup>。

スタート物質が十分ある場合には、サンプルを9本に分けて、それぞれ一種類の遺伝子断片を増幅するプライマーを加えて PCR を行ってもよい。しかし、スタート物質が少ない場合はサンプルを分けてしまうとチューブ間のばらつ

A.

Patch clampHarvest of cytoplasmReverse transcription (RT)1st multiplex PCR (20 cycles)CB, PV, CR,  
NPY, VIP, SS, CCK2nd PCR (35 cycles)

B.

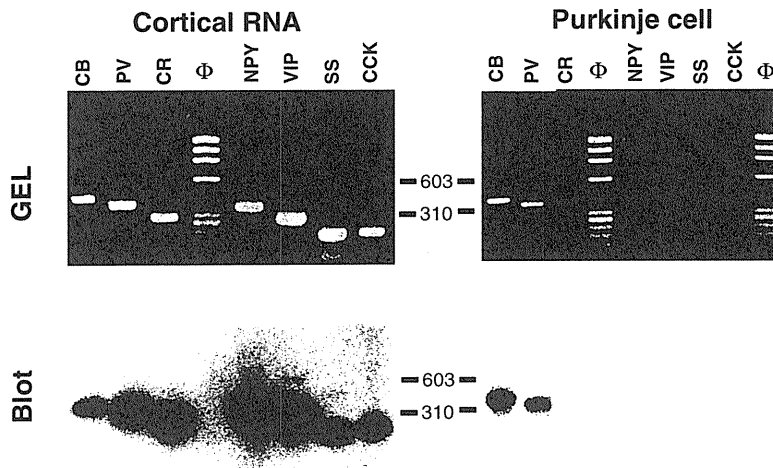


図4 パッチクランプ RT-マルチプレックス PCR

少量の RNA から同時に他種類の遺伝子を検出するために RT-マルチプレックス PCR を行った。ランダムプライマーを用いて逆転写し、カルシウム結合タンパク 3 種(カルビンジン(CB), パルプアルブミン(PV), カルレチニン(CR)), 神経ペプチド 4 種(ニューロペプチド Y, (NPY), パゾアクティブ・インテスティナル・ポリペプチド(VIP), ソマトスタチン(SS), コレシストキニン(CCK))を増幅するプライマーを加え、20サイクルの第一次 PCR を行った。次に、この PCR 産物を 7 本に分け、それぞれ一種類の遺伝子を増幅するプライマーを用いて 35 サイクルの第二次 PCR を行い、電気泳動した。(A)ラット大脳皮質 RNA 0.5 ng を用いたコントロール実験。上段はゲル電気泳動、下段はゲルをナイロン膜にプロットし、これら 7 種類の  $^{32}\text{P}$  標識プローブを混合してハイブリダイズしたもの。これら 7 種類の mRNA は大脳皮質で発現していることが知られており、0.5 ng 程度の少量の RNA を鋳型にしてもマルチプレックス PCR が機能することがわかる。(B)小脳プルキンエ細胞にパッチクランプ RT-マルチプレックス PCR を行った。このプルキンエ細胞からはカルシウム結合タンパク 2 種(CB, PV)のみが検出された。

きが生じる。筆者らの経験でも、鋳型 RNA が 100 分子以下のレンジでは、サンプルを分けるのは危険である。このレンジでは、マルチプレックス PCR 法を行わないと再現性よく少量のサンプルから多数の種類の遺伝子を増幅できない。単一細胞レベル程度の量の遺伝子は、まさにこのマルチプレックス PCR 法の対象となる。

#### B. RT-マルチプレックス PCR のプライマー

逆転写反応の際に用いるプライマーは、PCR のスタート物質となる cDNA が多種類にわたるので、上述の dN6 を用いる。

PCR に用いるプライマーは、マルチプレックス PCR の場合でも、上述のパッチクランプ RT-PCR のプライマー同様、高効率に遺伝子を増幅するプライマーを用いた。しかし、プライマーの種類が多くなると、プライマー相互の 3' 端に相補的な配列をもたないものを設計することは事実上不可能である。この場合、40 サイクル以上の PCR を行うとプライマーダイマーが生じるのは避けられず、単一細胞レベルのスタート物質では一回の PCR で増幅産物を得ることはできない。そこで、筆者らは、PCR を 2 回に分け、第 1 次 PCR でサンプルを分けることができる程度までマルチプレックス PCR 法で増幅し、第 2 次 PCR で目的とする遺伝子を解析可能な量まで増幅した。

第 1 次 PCR の反応後、LTI の Glass MAX spin cartridge システムを用いて、プライマーダイマーと未反応のプライマーを除いた。これは 200 bp 以上の長さの DNA はヨウ化ナトリウム存在下で酸化ケイ素に結合するのに対し、短いプライマーダイマーや未反応のプライマーは酸化ケイ素に結合しないという性質を利用したものである。

#### C. パッチクランプ RT-マルチプレックス PCR 法の実際

筆者らは、単一ニューロンに発現するカルシ

ウム結合タンパク 3 種(カルビンジン(CB), パルブアルブミン(PV), カルレチニン(CR)), 神経ペプチド 4 種(ニューロペプチド Y(NPY), バゾアクティブ・インテスティナル・ポリペプチド(VIP), ソマトスタチン(SS), コレシストキニン(CCK))の mRNA をパッチクランプ・マルチプレックス RT-PCR 法によって調べた。図 4 に筆者らの行った方法を示す。mRNA を含む細胞質を回収して逆転写反応を行った。まず 7 種類の遺伝子を増幅する 14 本のプライマーを同時に用いて、20 サイクルのマルチプレックス PCR を行った。次いで、PCR 産物を精製して 7 本のチューブに分注し、それぞれに 1 種類のプライマーを加えて 35 サイクルの再 PCR を行った。目的のものが増幅されていることはサザンブロットによって確認した。図に示した小脳プルキンエ細胞ではカルシウム結合タンパクであるカルビンジンとパルブアルブミンを同時に発現していることがわかった。

### VIII. お わ り に

本稿では、単一細胞レベルで mRNA を解析する実験技術として、パッチクランプ RT-PCR 法を紹介した。本稿で紹介しなかった単一細胞での mRNA 解析法として、アンチセンス RNA 法<sup>11)</sup>と RACE 法<sup>6)</sup>があり、どちらの方法も欠点もあるが、パッチクランプ RT-PCR 法にないユニークな特徴を持っており、本法を補完する方法として発展していくと考えられる<sup>18)</sup>。

中枢神経系では、多種類の興奮性ニューロン、抑制性ニューロンが混在し、これらは神経回路網のなかでユニークな特性をもっている。従来、これらのニューロンの機能的特性の解析は電気生理学的手法によって行われてきたが、パッチクランプ RT-PCR 法をはじめとする単一細胞の mRNA の測定法の開発により、細胞の機能的特性の分子の基盤をきわめて直接的な形で調べることが可能となった。今後は、単一細胞の mRNA 解析を脳機能の解明に役立てていきたい。

最後に、生理学実験と分子生物学実験の違い

についての感想を述べてみたい。歴史的に、生理学者は実験器具を工夫し、実験技術を磨いて、新しい世界を開いてきた。しかし、しばしば生理学者の実験では、「私が熟達した実験技術を駆使して、この実験条件で行う限り…という結果を得る」という留保条件がつくことが多い。一方、分子生物学では、実験は誰がやっても同一の結果が得られるべきである考えられていて、それを可能にするために莫大なエネルギーが使われている。多くの分子生物学者は生理学に夢を感じつつも、時にはデータの信憑性に疑いをもつことがある。筆者らは生理学者として、分子生物学的手法を利用するだけでなく、分子生物学的な発想法も生理学の研究に導入していきたいと考えている。

## 文 献

- Bochet, P., Audinat, E., Lambolez, B., Crépel, F., Rossier, J., Iino, M., Tsuzuki, K. & Ozawa, S. (1994) Subunit composition at the single-cell level explains functional properties of a glutamate-gated channel. *Neuron* **12**, 383-388.
- Cauli, B., Audinat, E., Lambolez, B., Angulo, M. C., Ropert, N., Tsuzuki, K., Hestrin, S. & Rossier, J. (1997) Molecular and physiological diversity of cortical nonpyramidal cells. *J. Neurosci* **17**, 3894-3906.
- Chamberlain, J. S., Gibbs, R. A., Ranier, J. E. & Caskey, C. T. (1990) Multiplex PCR for the diagnosis of Duchenne muscular dystrophy. in "PCR protocols" eds. M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky & T. J. White, Academic press, San Diego, CA, pp 272-281.
- Chomczynski, P. & Sacchi, N. (1987) Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.* **162**, 156-159.
- Chou, Q., Russell, M., Birch, D. E., Raymond, J. & Bloch, W. (1992) Prevention of pre-PCR mispriming and primer dimerization improves low-copy-number amplifications. *Nucleic Acids Res.* **20**, 1717-1723.
- Dulac, C. & Axel, R. (1995) A novel family of genes encoding putative pheromone receptors in mammals. *Cell* **83**, 195-206.
- Hollmann, M., Hartley, M. & Heinemann S. (1991)  $\text{Ca}^{2+}$  permeability of KA-AMPA-gated glutamate receptor channels depends on subunit composition. *Science* **252**, 851-853.
- Iino, M., Ozawa, S. & Tsuzuki, K. (1990) Permeation of calcium through excitatory amino acid receptor channels in cultured rat hippocampal neurones. *J. Physiol. Lond.* **424**, 151-165.
- Isa, T., Itazawa, S., Iino, M., Tsuzuki, K. & Ozawa S. (1996) Distribution of neurones expressing inwardly rectifying and  $\text{Ca}^{2+}$ -permeable AMPA receptors in rat hippocampal slices. *J. Physiol. Lond.* **491**, 3, 719-733.
- Lambolez, B., Audinat, E., Bochet, P. & Rossier, J. (1995) Patch-clamp recording and RT-PCR on single cells. in "NEUROMETHODS 26, Patch-clamp application and protocols" eds. A. A. Boulton, G. B. Baker & W. Walz, Humana press, Totowa, NJ, pp 193-231.
- Mackler, S. A. & Eberwine, J. H. (1993) Diversity of glutamate receptor subunit mRNA expression within live hippocampal CA1 neurons. *Mol. Pharmacol.* **44**, 308-315.
- Monyer, H. & Jonas, P. (1995) Polymerase chain reaction analysis of ion channel expression in single neurons of brain slices. in "Single-channel recording, second edition", eds. B. Sakmann & E. Neher, Plenum, New York, NY, pp 357-373.
- Mullis, K. B. & Faloona, F. A. (1987) Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol.* **155**, 335-350.
- Rychlik, W., Spencer, W. J. & Rhoads, R. E. (1990) Optimization of the annealing temperature for DNA amplification in vitro. *Nucleic Acids Res.* **18**, 6409-6412.
- Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stoffel, S., Scharf, S. J., Higuchi, R., Horn, G. T., Mullis, K. B. & Erlich, H. A. (1988) Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* **239**, 487-491.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F. & Maniatis T. (1989) "Molecular cloning, second edition", Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, NY.
- 都筑馨介 (1996) AMPA 型受容体とカルシウム透過性, *精神神経薬理*, **18**, 453-457.
- 都筑馨介, 小澤壽司 (1996) パッチクランプと単一細胞 RT-PCR 法, 岡田泰伸編, パッチクランプ実験技術法, 吉岡書店, 京都, pp 167-172.
- 都筑馨介 (1997) パッチクランプ RT-PCR 法, 吉川和明編, ニューロサイエンスラボマニュアル 2 神経生物学のための遺伝子導入発現研究法, Springer-Verlag 東京, 東京, pp 224-237.



## 編集後記

7・8号合併号をお届け致します。今年は6月後半から7月にかけて台風が立て続けに3度も上陸しました。このような確率は70年に1度と気象庁は話していましたが、8月には超大型の13号が沖縄をかすめ中国大陸に上陸するなど、これからの秋の台風シーズンを迎え、大災害をもたらす台風の日本上陸確率は平年並にと願うところです。

さて、本合併号には来年3月に金沢市で開催される第75回生理学会大会の第2報が掲載されています。演題の締切は11月4日(火)となっています。前回大会と大きく違う点は、大会当日のシンポジウムを含む口演発表が全てOHP利用になる事です。これらの点をお忘れなく準備してください。また、Charles Edwards先生からの“Suggestion on the Writing of Scientific Abstracts”が添付されていますので、英文抄録を書く前に是非お読みください。これとは別に、Neurology 1995;45:199-201に“Suggestions to authors”があります。これはこの雑誌に投稿するための suggestions というよりは、英文論文の書き方を簡単に紹介したもので、とても示唆に富む内容ですので一読をお薦めします。

本合併号は大変盛り沢山の内容となっています。「人

材をもっと活用せよ」と巻頭言は富田先生。浜松医科大学の森田先生等による「第74回日本生理学会大会を開いて」は大会の準備・運営の記録。「千葉は寒かった」といまだに言われる10年まえの生理学会大会をお手伝いしたものとして、この記録を読むとご苦労が身にしみて実感できます。この記録は次回大会に、またそれ以降の大会に役立つことと思います。それに続く第19回コンピューター研究会の山口先生による報告では大分、苦言を頂きました。今後の研究会の運営に活かされると思います。Profile の小林先生、高木先生、それぞれのお立場での益々のご活躍を祈念致します。Opinion では、第74回生理学会・教育シンポジウムの報告を取り上げました。学生の motivation を高めるべく努力している我々を学生は余り理解してくれない気がしなくもありません。「生理学者のための分子生物学技術講座」全14題の連載が始まります。本号ではその内の3題が掲載されております。どれも力作で、強い意気込みを感じました。

ここに本号に御執筆頂いた先生方にあらためて感謝申し上げます。本号には生理学会の活動記録の他、まだまだ沢山の情報が載っております。どうぞお見逃しのないように。

(中島祥夫)

## 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)  |
| 小野田 法 彦(中 部) | 福 田 淳(近 畿)   | 日 地 康 武(中・四国) |
| 河 南 洋(九 州)   |              |               |

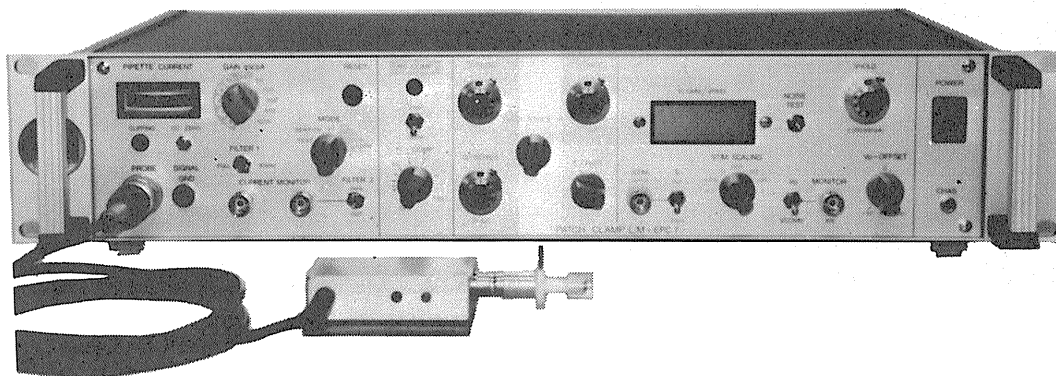


# 実績 No.1!!

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 (50G $\Omega$ ), 20nA (500M $\Omega$ )
- 周波数応答 : 100KHz (500M $\Omega$ )
- 電位増幅度 : X10
- 測定モード : VC, CC, CC+COMM
- Rs補償 : 1-100M $\Omega$
- 容量補償 : 0-10pF (First)  
: 0.2-10pF, 2-100pF (Slow)
- ホールド電位 :  $\pm 200$ mV
- オフセット電位 :  $\pm 50$ mV
- 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

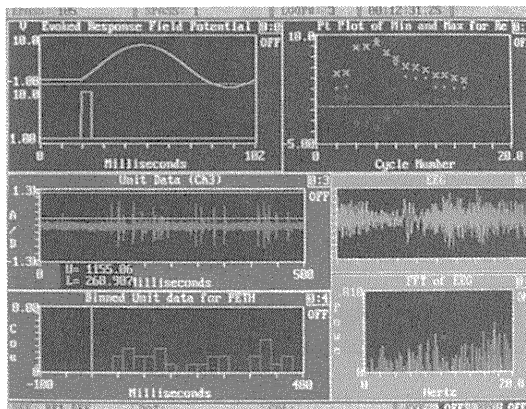
アナログ信号リアルタイム解析システム

DataWave社製

# WorkBench & Discovery

生体シグナルリアルタイム解析装置

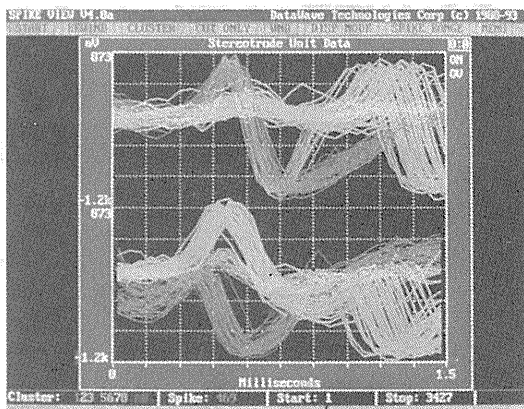
すべての作業を完全に自動化



ワークベンチシステムは、EEG、ECG、EMG、ERG等のあらゆる生体信号を取り込み、リアルタイムで多種多様な演算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組み合わせるだけで、サンプリング調整、画面表示、データ記録、演算・解析処理、印刷等が簡単に自動化できます。

マルチ・シングルユニットオンライン解析装置

クラスターカッティング解析



ディスカバリーは、多種多様のスパイクが含まれるアナログ信号から、あるパターンを持つスパイクのみを取り出したり、数種類のスパイクパターンに分類（クラスターカッティング）したりする、スパイク信号解析専用に開発されたシステムです。

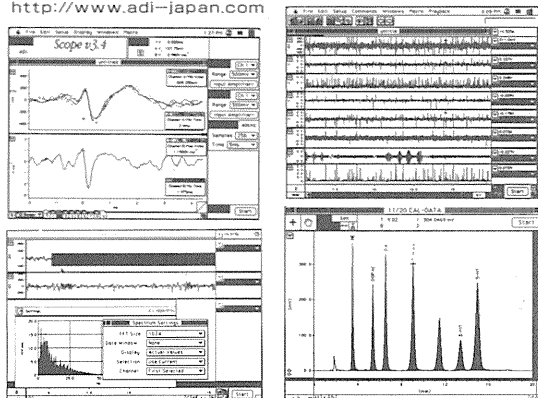
Macintosh 及び Windows 対応シグナルプロセッサ

**Mac Lab** (Mac 対応ソフト: Chart/Scope)  
**Power Lab** (Windows 95/NT 対応ソフト: Win Chart)

マルチプラットフォーム化を実現!!

Mac 専用のデータ収録解析システム MacLab に新しく Windows 対応型の PowerLab シリーズが加わりクロスプラットフォーム化を実現しました。Mac 上でも PC 上でも高性能なチャートレコーダ、ポリグラフ、XYレコーダ、デジタルオシロスコープとして機能し、従来の煩雑な作業を一挙に短縮します。

<http://www.adi-japan.com>



Mac Lab/Power Lab は……

特殊なプログラミングを必要とせず、ユーザーの既存の記録作業をシステム化します。現在、幅広い分野で測定、記録、解析、シミュレーション、教育用に活躍しています。

演算

- 微分、積分……平均、加算平均
- 波形態の Subtract 等、四則演算
- 最大、最小(振幅、スロープ、タイム)
- ピークホールド、カウント
- スティムレーダ、シグナルジュネレータ
- レートメータ、ペリオドメータ
- FFT (Real, dB, ハミング処理他)、整流
- スムージング、オートベースライン
- リアルタイム X-Y プロット
- 単位変換、キャリブレーション、演算表示
- タイムベース外部機器コントロール
- ベースライントラック

記録

- ハードディスクレコーディング
- 圧縮記録で長時間記録が可能です。(EEG で 1MB あたり約 2 時間 / 100Hz / 1CH)
- SCSI 接続により 1 台のコンピュータで複数台数同時記録が可能。(例 32ch 等)
- ClassicII から Power Book、Power Mac まで接続可能。
- オンメモリーレコーディング

日本総代理店

**BRC**

**バイオリサーチセンター株式会社**

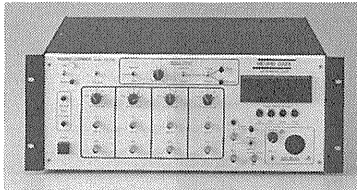
本社 名古屋市東区泉 2-28-24 (ヨコタビル4F) ☎052(932)6421 FAX052(932)6755  
東京 東京都千代田区岩本町 2-10-1 (オカジマビル) ☎03(3861)7021 FAX03(3861)7022

# NeuroData社生理学機器

キャンペーン価格実施中

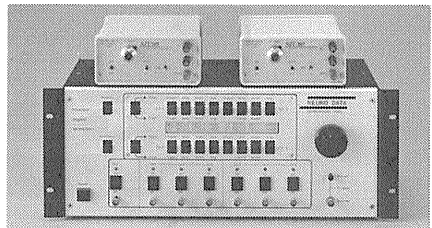
バイオリサーチセンターは、生理学機器の総合メーカーNeuroData社の日本総代理店として販売を開始しました。カタログ等のご請求は下記までご連絡下さい。

## 4/8チャンネル用PCMデジタイザー DR-484/DR-890 (¥1,060,000/960,000)



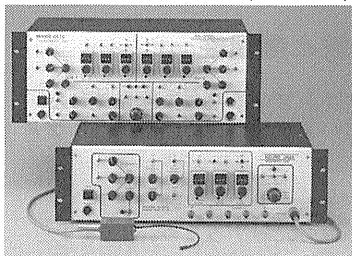
〈DR-484の主な仕様〉  
デジタル処理 14/12bit  
メモリーバファ 16K  
ダイナミックレンジ 84/72db  
サンプリング速度 88/44/22K  
ボイスチャンネル 1  
トリガーチャンネル 1  
ビデオ形式 NTSC

## デジタル刺激装置/アイソレータ PG4000A/SIU90 (¥780,000/180,000)



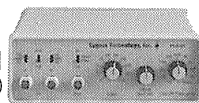
\*4CH独立してパルス幅、パルス間隔、トリガースourceが設定できます。  
\*CH1とCH2、及びCH3とCH4の加算出力が得られます。  
\*内部メモリーに8種類のセッティングがメモリー可能。  
\*任意のパルスレインモードが導入できます。  
\*パルスパラメータは設定キーから直接入力でき、ディスプレイに表示します。

## シングル・デュアル微小電極増幅器 IR-183/IR-283 (¥580,000/750,000)



〈IR-183/283の主な仕様〉  
3モード・セルバネトレーションシステム内蔵  
ブリッジバランス ~500Mオーム  
ポーラリゼーション X1, X2, 最大±100nm  
オシロスコープビームファインダー内蔵  
入力容量補償 Fine, Coarseコントロール  
トランジェントサブプレッション機能内蔵  
色素注入機能 最大50nA, 200ms ON/OFF

## フィルターアンプ



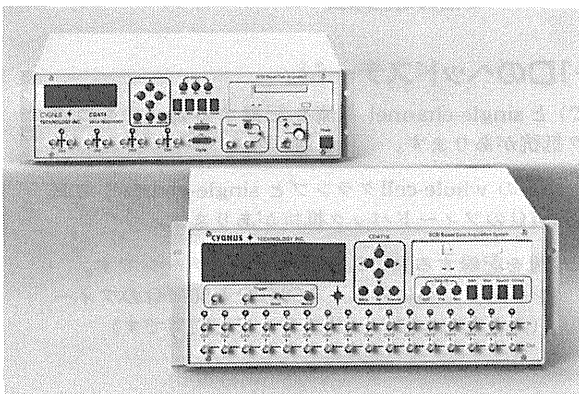
FLA-01  
(¥135,000)

\*8極ベッセルフィルター内蔵  
\*差動入力モード・AC/DCカップリング  
\*入力オフセット補正機能内蔵  
\*周波数レンジ 10Hz~10KHzの10段切り替え  
\*ゲイン X1~X1000の10段切り替え  
\*Notchフィルター内蔵  
\*2CHK加算モード内蔵

## SCSIベース DAT/DDSデータレコーダ Cygnus Technology

16チャンネル用CDAT-16 (¥2,360,000)

4チャンネル用CDAT-4 (+音声/デジタル/Och内蔵)  
(¥1,330,000)



CDATシリーズはSCSIベースのデータレコーダです。

\*コンピュータと互換性のあるDAT/DDSフォーマットです。  
\*チャンネル設定とサンプリング速度は、28種類の組み合わせモードから選択します。  
\*連続記録モードとスタート/ストップのバーストモードがあります。  
\*リニアフェーズのアンチエイリアシング入力設計です。  
\*16bitで、各チャンネル個別にアナログ信号をデジタル変換します。  
\*直接コンピュータとSCSIでインターフェースできます。  
\*記録時間に応じて任意にサンプリング速度は設定できます。  
\*バーストモード用に2MBのメモリーを提供します。  
\*ゲイン設定: 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100  
\*サンプリング周波数: DC~10KHz, DC~5KHz, DC~10KHz, DC~20KHz  
\*データの最後を、高速サーチするEODモードが設定できます。

### ■高速サーチ機能

CDATはヘッダーに沿ってデータをテープファイルに記録します。情報は各ヘッダー内に、日時、チャンネルのゲイン設定、サンプリングモードと一緒に記録します。高速サーチには、標準テープ速度の200倍の速さで対応します。

サーチ(検索)には次の三種類のモードがあります。

#### ●1ファイルの検索(Search for File)

ユーザ側で特定のファイルやインデックス番号を指定し、CDATがそれに該当するテープポジションを検索します。

#### ●2次ぎを検索(Search Next)

プレイバックでのデータ再生時には、CDATはいつでもファイル残をスキップして、自動的に次ぎに続くファイルを検索しプレイバックします。

#### ●3EODサーチ(Search EOD)

記録した末端を検索し、未収録部分にデーターを追加します。

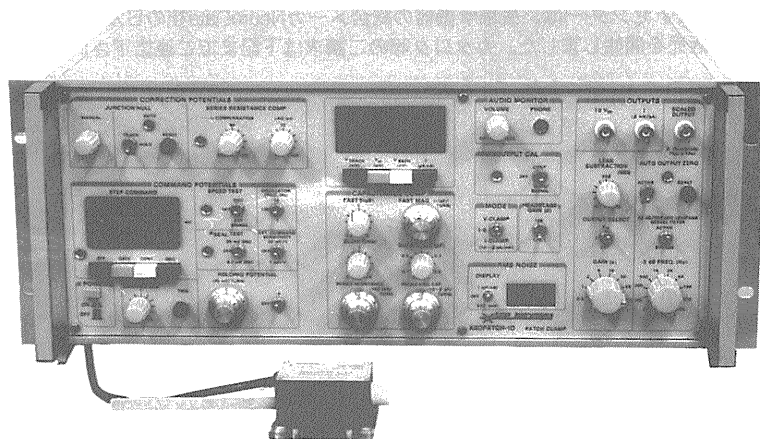
日本総代理店

**DRc**

バイオリサーチセンター株式会社

本社 名古屋市中区東2-28-24(ヨコタビル4F) ☎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

# 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。極めて低いノイズ・レベルと素早い応答力を特徴としています。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
- シールドテスト
- 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 名古屋市東区葵一丁目25番1号  
TEL (052) 937-7060 FAX (052) 937-5423  
TLX 444-3603 WDMEC J  
東京支社/〒157 東京都世田谷区粕谷三丁目32番16号  
製造営業部 アビタシオン千歳島山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

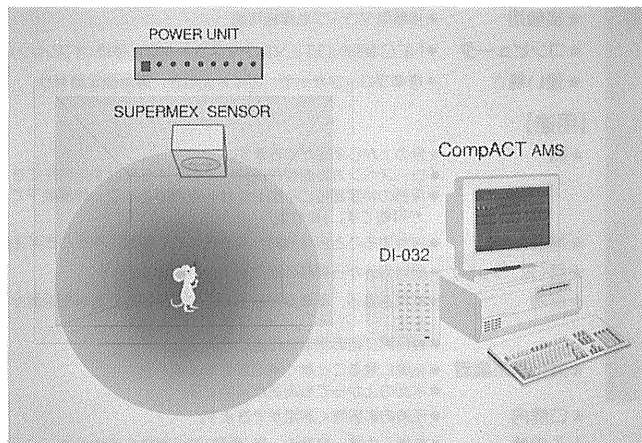
〒101 東京都千代田区内神田2丁目6番11号  
若松ビル2F  
TEL (03) 3258-1641 (代)

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<sup>®</sup>

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できます。
- 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できます。
- 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できます。
- 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粗悪な類似品には充分ご注意下さい。

**Muromachi**

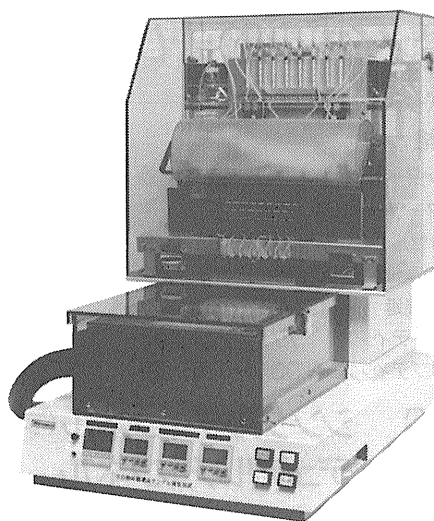
総発売元

**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刺激及び、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レセプター結合実験(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**

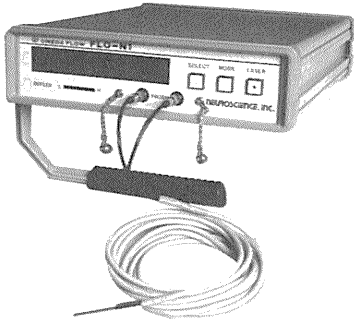
本社: 〒103 東京都中央区日本橋室町4-2-1 大辻ビル  
TEL 03(3241)2444 FAX 03(3241)2940  
大阪営業所: 〒532 大阪市淀川区木川東4-5-3長谷興産新大阪ビル  
TEL 06(302)1277 FAX 06(302)5026

OMEGA FLOW

## 非接触型レーザー血流計

FLO-N1

組織血流量が測定部位に  
触れることなく測定できます。



承認番号：07日第0805号

接触型FLO-O1も用意しています。

製造元

オメガウェブ

日本総代理店

株式会社  
ニューロサイエンス

### 【特徴】

- ★非接触
  - ★広範囲
  - ★再現性
  - ★アーチファクト軽減回路
  - ★豊富な出力
  - ★接触用
  - ★コンピュータ
  - ★使い易さ
- 3cm程度離して測定可能
  - 最大直径15mm程度円内のサンプルボリューム
  - 接触の影響が無く、広範囲に平均化された再現性を実現
  - 被測定部の微妙な動きによる影響を軽減
  - FLOW, MASS, VELOCITY, REFLEX
  - 接触用プローブも接続可能
  - NEC製98NOTE又はデスクトップに接続(オプション)
  - 標準プローブが小型、ガイド光付き、専用固定器有り

### 【用途】

- ★脳
  - ★神経、脊髄
  - ★目(兎、ラット)
  - ★皮膚
  - ★消化器系臓器
  - ★口腔内
  - ★その他
- 骨の上から測定ができます。
  - ローズベンガル血栓作成時に光の干渉を受けずに測定できます。
  - 深部の特定部位に小型センサーを埋め込んで、無麻酔下で測定が可能です。(接触型)
  - 接触すること自体問題が有る部位でも簡単に測定できます。
  - 眼球の外から網膜の血流測定が可能です。
  - 軟膏を塗る、薬液をたらす等の今まで困難であった処置ができます。
  - 経日的変化の測定も可能です。
  - 粘膜に触ること無く測定ができます。
  - 水面の上からでも測定が可能です。
  - 圧迫の影響無く測定ができます。
  - 筋肉、内耳、鼻腔内、骨(骨髄)等の測定が可能です。

本社 ■〒110 東京都台東区台東2-29-12 サンケイホワイトビル4F  
TEL.(03)5688-1061 FAX.(03)5688-1065  
大阪支店 ■〒532 大阪市淀川区西中島6-1-19  
TEL.(06)307-7311 FAX.(06)307-7727  
福岡支店 ■〒812 福岡市博多区博多駅南4-3-9 アバント86  
TEL.(092)414-0251 FAX.(092)414-0125

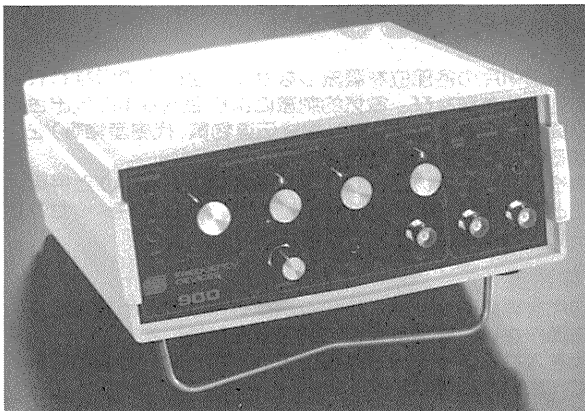


FREQUENCY  
DEVICES

米国フリークエンシー・デバイス社製

## 周波数可変・アクティブフィルター

お困りの信号ノイズを除去します



- コンパクトな設計
- 低価格
- フィルターモジュール6種類を用意
- パターワース
- ベッセル
- 一定遅延 (-80dB)
- 一定遅延 (-100dB)
- エリプティック、1.77 (-80dB)
- エリプティック、2.00 (-100dB)

◀900 シングルチャンネル(写真)  
9002 デュアルチャンネル

フリークエンシー・デバイス社  
日本輸入販売総代理店

日本総代理店

株式会社  
ニューロサイエンス

AMTEC アムテック株式会社

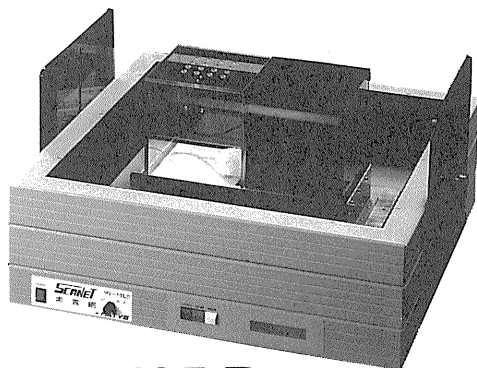
本社 ■〒110 東京都台東区台東2-29-12 サンケイホワイトビル4F  
TEL.(03)5688-1061 FAX.(03)5688-1065  
大阪支店 ■〒532 大阪市淀川区西中島6-1-19  
TEL.(06)307-7311 FAX.(06)307-7727  
福岡支店 ■〒812 福岡市博多区博多駅南4-3-9 アバント86  
TEL.(092)414-0251 FAX.(092)414-0125

# 小動物行動測定王者

# SCANETのTOYO

## 《スキャネットシリーズ》

● 薬物依存測定

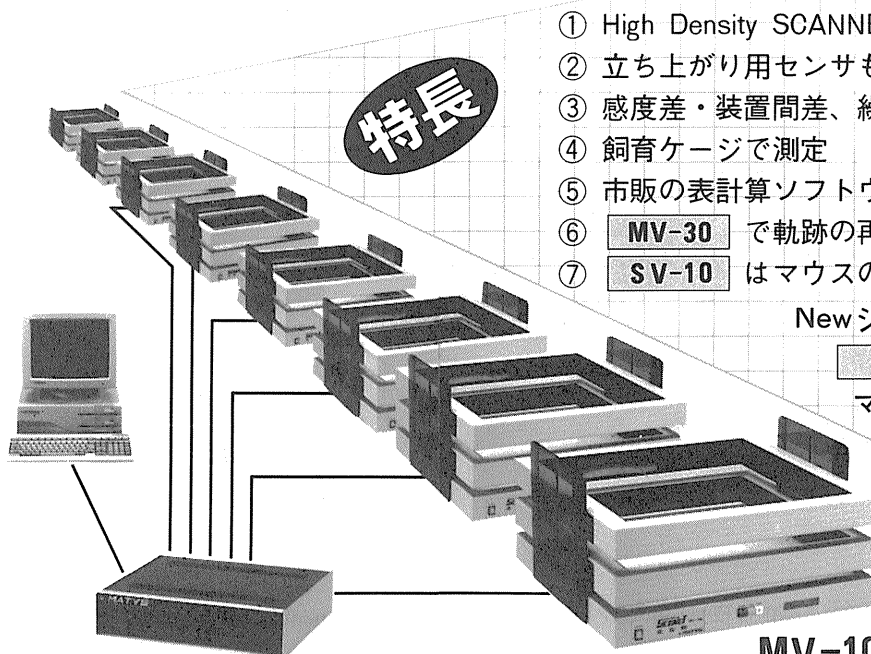


**MV-10 LD**

● 抗うつスクリーニング測定



**MV-10 AQ**



**特長**

- ① High Density SCANNER
- ② 立ち上がり用センサも高密度配置
- ③ 感度差・装置間差、繰り返し誤差なし
- ④ 飼育ケージで測定
- ⑤ 市販の表計算ソフトウェア使用可能
- ⑥ **MV-30** で軌跡の再現
- ⑦ **SV-10** はマウスの測定に最適

Newシステム

**MV-10 MT**

マルチタイプは  
最高です。

**MV-10 システム**



**MATYS**

メイティス

製造元 **東洋産業株式会社**  
医用機器事業部

本社・工場／〒930-02 富山県中新川郡舟橋村舟橋415  
TEL (0764)62-1881代・FAX (0764)64-1500  
(医用機器事業部直通)

TEL (0764)64-1577 ・ FAX (0764)64-1477

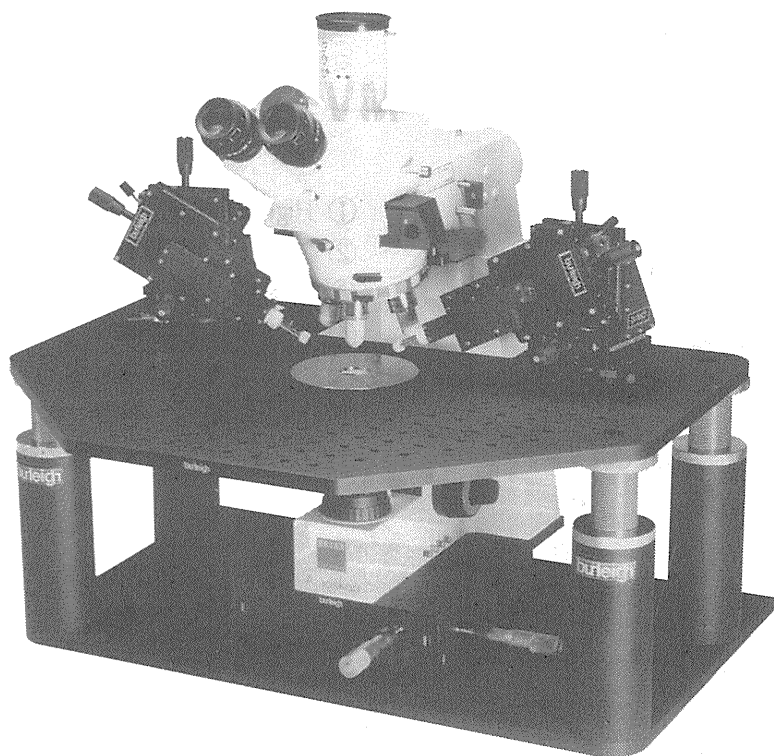
● 東京営業所／TEL (03)3401-6596・FAX (03)3478-5369

● 大阪営業所／TEL (06)309-1231・FAX (06)309-1250



The Power of Precision  
in Life Science.

# スライスパッチリサーチに最適な GIBALTAR™ Platforms & Micromanipulators



写真は: GIBALTAR™ プラットフォームと新型 Piezoelectric micromanipulator PCS-5400 型

◆詳しい資料をご請求下さい

バーレイ社 日本代理店:  
 ショーシンEM 株式会社

〒444-02 愛知県岡崎市赤浜町蔵西1番地14  
Tel.0564-54-1231 Fax.0564-54-3207

# 新鮮切片作製装置

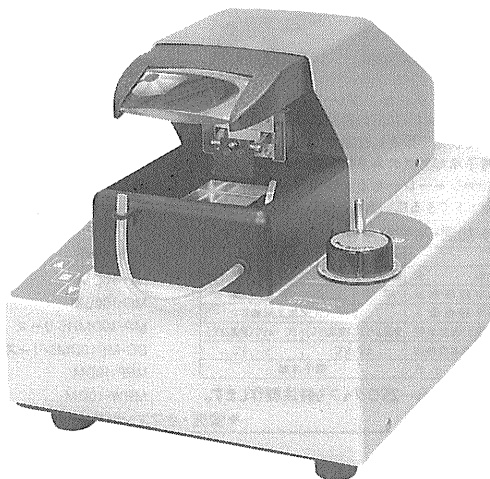
NEW

DSKマイクロスライサー® DTK-1000

さらなる進化! より薄く、よりダメージの少ない新鮮切片を

## ●旧タイプとの違い

- ①ボディを樹脂で覆ったことにより生理食塩水、バッファ等の浸透を防ぎボディを腐食させることがなくフレームを強化し強震をより少なくしました。
- ②刃ホルダーは波の立たない静かな形状により切断面のダメージが著しく少なく、また刃角度調整に手間取らないワンタッチ方式を採用しました。
- ③刃の作動部の改良により振動を抑え耐久性を高めました。
- ④試料台が最大20mmまで上下作動するようになりました。
- ⑤蛍光灯付拡大鏡が収納式になりました。



## ■仕 様

|           |                           |
|-----------|---------------------------|
| 電 源       | AC100V 1A 50/60Hz         |
| 照 明       | 4W蛍光灯・ルーペ付                |
| 試 料 サ イ ズ | W30×D30×H20mmまで           |
| 切 片 の 厚 み | 10~500 $\mu$ m(固定した試料を含む) |
| 刃 の 往 復 数 | 0~15サイクル/sec 可変式          |
| 刃の前進速度    | 0~5mm/sec 可変式             |
| 外 寸       | W300×D430×H295mm          |
| 重 量       | 24kg                      |

## 主 な 研 究 用 途

- 生理学・薬理学  
電位差測定、電極位置確認
- 脳神経外科学
- 組織化学・細胞学  
特に電顕レベルの酵素組織化学
- 植物組織学

\* 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。

DOSAKA EM CO., LTD.

**D.S.K.** 堂阪イーエム株式会社

〒601-11 京都市左京区静海市原町1032-3  
TEL. 075-741-3069 FAX. 075-741-3026

# 生体細胞や物性の研究に!!

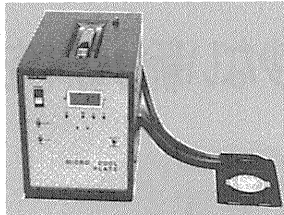
低価格実現!

新発売

冷却タイプ

加温・冷却  
兼用タイプ

マイクロクール・プレート<sup>®</sup> PAT.P  
(顕微鏡用透明加温冷却板)



マイクロクール・プレートは、室温から-25℃(MC-100)の範囲で霜(曇り)を防止した状態で設定した温度に自動制御します。電子冷却方式の為液体窒素が不要で、更に60mmシャーレーあるいはスライドガラスがセットできる広い透明冷却面となっています。

※加温・冷却兼用タイプもあります。

|        | 冷却タイプ                       | 加温・冷却兼用タイプ    |
|--------|-----------------------------|---------------|
| 形 式    | MC-10F MC-10R MD-10F MD-10R |               |
| 冷却板形状  | 平型 丸型                       | 平型 丸型         |
| 冷却板厚さ  | 2mm (穴開加工可能)                |               |
| 設定温度範囲 | 室温より3℃(室温22℃)               | 3℃~45℃(室温22℃) |
| 制御温度精度 | ±0.5℃                       | ±1.0℃         |
| 冷却方式   | 電子冷却                        |               |

※室温から-25℃タイプも特注製作します。

新発売・蛍光/ホフマン対応型

小形コントローラーに  
広い視野

加温タイプ

マイクロウォーム・プレート<sup>®</sup> PAT.P  
(顕微鏡用透明加温板)



新タイプ

フラットステージタイプ  
倒立顕微鏡 MPF-10HF ホフマン対応型

透明なガラス板の面全体が発熱体ですので、むらのない均一な表面温度を保ちます。透明プレート面は、設定した温度に自動制御されますので安定した至適温度で組織や細胞等の生体試料又、精子の活動度や卵子、授精卵等の細胞を直接観察したり、操作のできる画期的な万能型顕微鏡用透明加温板

|               |                     |
|---------------|---------------------|
| 新 MPF-10HF    | ホフマン対応 倒立型・中座セットタイプ |
| MP-10DM       | 汎用タイプ               |
| MP-10DDM      | //                  |
| MP-30DMHシリーズ  | 高温タイプ               |
| DC-MPI0DMシリーズ | 精密・ノイズフリータイプ        |
| MPF-10DM      | 倒立型 丸型・中座セットタイプ     |
| MPW-10DM      | マイクロプレートタイプ         |

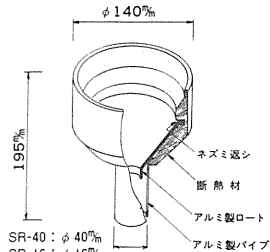
●蛍光・ホフマン対応型やノイズフリータイプは新カタログをご請求下さい。

KITAZATO<sup>®</sup>

新発売

凍結実験を安全に!

セーフティー・ロート<sup>®</sup> PAT.P  
(液体窒素用安全ロート)



液体窒素を保存用タンクへ安全に移し替える事ができます。アルミ製ロートを断熱材で被覆し、更に、ネズミ返しの機能付きですので、液体窒素の蒸散逆流の危険がなく、安全性・操作性にきわめて優れております。液体窒素保存用タンクの口径により2種類あります。

SR-40: φ40mm (アルミ製パイプ外径)  
SR-16: φ16mm ( // )

お問い合わせ及びご要望は営業部をお願いします。

販売 株式会社 北里サプライ  
本社・営業部 静岡県富士宮市三番平1429 7418  
TEL:0544(27)8831 FAX:0544(27)6080  
東京出張所 TEL:03(3903)7410

# 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

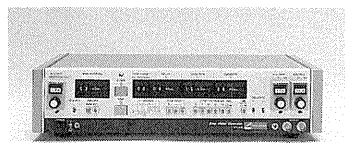
## パッチ／ホールセルクランプ用増幅器 CEZ-2400

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50GΩ／500MΩ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。

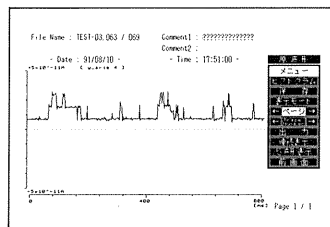
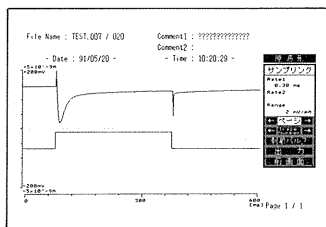
## ステップパルスジェネレータ SET-120J

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

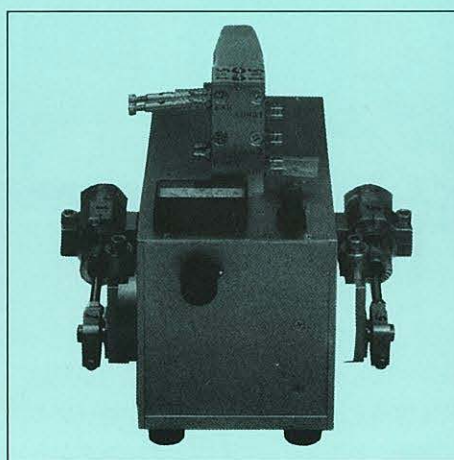
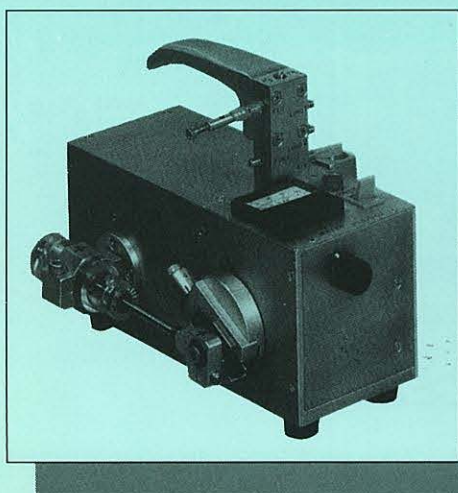
パッチクランプ法及びホールセルクランプ法により測定された微小イオン電流のデータを、パーソナルコンピュータ（PC-98シリーズ）を使用して、保存・解析するためのプログラムです。



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

カタログをご希望の方は当社までご請求下さい。

# KN-55 KN式 小動物人工呼吸器



## 特長

- 従来のもより小型でコンパクトに設計された呼吸器です。
- スピードコントロールモーターの採用で呼吸回数は、無段階に連続可変が行なえます。
- タイミング弁の採用で、呼吸気量を正確に設定できます。
- 4種類のシリンダーを交換することにより、呼吸気量を更に精密に設定できます。  
 （標準器には希望シリンダー1本付、他はオプション）
- シリンダーが1連式と2連式の2機種があります。

## 仕様

| シリンダーサイズ | 内寸×長さ     | 容量     |
|----------|-----------|--------|
| L        | φ24×L57mm | 約25ml用 |
| M        | φ20×L57mm | 約17ml用 |
| S        | φ14×L57mm | 約8ml用  |
| SS       | φ10×L57mm | 約4ml用  |

## 本体寸法

W95×D215×H120mm

※実用容量はストローク20mmです  
 ので異なります。

理化学器械・基礎医学器械・実験動物飼育機械器具・薬学研究器械・医科器械一般



株式会社 夏目製作所

〒113 東京都文京区湯島2丁目18番6号  
 電話 03(3813)3251 FAX 03(3815)2002  
 千里技術開発室(千里ライフサイエンスセンタービル11F)  
 〒565 大阪府豊中市新千里東町1-4-2  
 電話 06(873)3251 FAX 06(873)2045

編集兼  
発行人

金子章道

印刷者  
印刷所

〒九九七  
山形県鶴岡市山王町一四一四  
平田正  
鶴岡印刷株式会社

発行所

日本生理学会

振替 電  
A 話  
替 〇〇(〇三三)五三八  
〇 〇〇(〇三三)六八五  
〇 〇〇(〇三三)四一五  
定 〇 〇(〇三三)二五三  
価 〇 〇(〇三三)六四三  
千 〇 〇(〇三三)九四  
円 〇 〇(〇三三)四