



## 国立大学法人豊橋技術科学大学 *Press Release*

平成27年1月14日

### 平成26年度第8回定例記者会見のお知らせ

日時：平成27年1月21日（水） 11:00～12:00

場所：豊橋技術科学大学事務局3階 大会議室

<記者会見項目予定>

- ① 概日リズムを上手に維持するために  
脳細胞を局所的に刺激し、  
性質を変えることができる新しい方法の開発（別紙1参照）
- ② 歴史文化復興への挑戦  
2011年東日本大震災で被災した天雄寺観音堂の修理工事監修  
被災地自治体文化財担当部局の技術顧問として、文化財建造物  
の修理基本計画を作成し、工事の指導監修を行う。（別紙2参照）
- ③ 次回の定例記者会見の開催日程について（別紙3参照）

多くの方々のご出席をお待ちしております。

<本件連絡先>

総務課広報係 萩平・高柳・梅藤

TEL:0532-44-6506 FAX:0532-44-6509



## 国立大学法人豊橋技術科学大学 *Press Release*

平成27年1月14日

### 概日リズムを上手に維持するために

### 脳細胞を局所的に刺激し、 性質を変えることができる新しい方法の開発

地球上に住むかぎり、24 時間周期の概日リズム（体内時計）を維持し、健全で効率的な生理活動を営むことが大切です。われわれを含めた哺乳類の概日リズムは、脳の一部の視交叉上核（SCN）という神経細胞の集合体に存在する中枢時計が体全体のリズムを統制しています。中枢時計のような多種類の神経細胞が複雑な回路を形成する脳の機能を調べるには、できるだけターゲットを絞り、1 神経細胞程度での機能調査・観察を実現する神経外部調節機構が必要です。今回、1 細胞レベルをターゲットにした本学独自の刺激方法を新規に開発すると共に、観察に供する細胞に遺伝子導入する手法として液滴形質転換法を新規に開発しました。これを用いて、SCN の神経細胞を外部から局所的に刺激し、そのリズム変化を観察することで、リズム発振の動作機序を解明し、その知識を生かして外部から概日リズムを調節したり、回復させることをめざして研究を行っています。

#### <研究経緯・研究組織>

##### 研究経緯

哺乳類の概日リズムを決めている時計遺伝子 *Period1* (*Per1*) の機能的な変化を、ホタルが光る蛋白ルシフェラーゼやクラゲが緑に光る蛋白 GFP レポーターとしてそのシグナル変化として観察できる *Per1:luc* や *Per1:GFP* 遺伝子組み換えマウスの組織を用いたリアルタイム観察する実験系を確立しています。SCN 脳の中枢時計と末梢組織の時計のリズムを、同時に、同個体からリアルタイム測定でき、個体レベルの代謝、行動などのアウトプットもモニターできます。これらのモニター法を用いて、神経細胞の局所的な刺激後、概日リズムに変化をきたすかを生きた細胞や組織で解析できます。今回、神経細胞の局所的な刺激や形質転換できる3つの手法、①豊橋プローブによる電気刺激、②光反応性化合物とグルタミン酸受容体よるピンポイント光照射刺激系、③液滴エレクトロポレーション法を独自で開発しました。

##### 研究組織

- 概日リズムの測定、各手法の開発：  
環境・生命工学系・エレクトロニクス先端融合研究所 沼野利佳准教授
- 豊橋プローブ開発：  
電気・電子情報工学系 石田誠教授 河野剛士准教授
- 液滴エレクトロポレーション法開発（ネッパジーン株式会社）：  
環境・生命工学系 水野彰教授 栗田弘史助教

## <研究内容・今後の展開>

本研究は、生物の生理活動の動作機序を解明し、その知識を生かして外部から生理機能を調節するために、1細胞レベルをターゲットにした新規の神経細胞を刺激し、形質転換を観察する実験系を開発しました。

具体的には、①本学内で作成された直径数 nm の微小刺入型電極プローブをアレイ状に並べたセンサーチップにより、プローブ先端付近の1細胞の細胞の電気刺激を行う系、②照射する光の波長によって光異性化構造をもつ化合物にリガンドを結合し、細胞膜蛋白であるグルタミン酸受容体のイオンチャネルの結合ポケットにリガンドを出し入れすることで、イオンチャネルを開閉するピンポイント光照射刺激系を新規に確立しました。これらの刺激系で、培養細胞レベル、野生型動物の組織、脳スライスなどで、細胞の刺激応答が観察され、概日リズムを変化させるべく、時計遺伝子 *Per1* について機能発現を誘導させました。また、③液滴中に少量の細胞と DNA を封入し、絶縁体であるオイルの中で電圧をかけ、効率よく外来性 DNA を特定の細胞に導入して形質を変える実験系を新規に確立しました。この方法は、これまで形質転換が困難であった哺乳類神経細胞への遺伝子導入や安定的形質転換株の作成も可能で、また並列処理による多数サンプルへの同時形質転換が可能となります。

将来は、無麻酔下でのマウスの SCN やそれ以外の脳組織に、豊橋プローブをアプローチして、深部の複数細胞の電気刺激や神経活動測定を継時的に長期行う、光反応性化合物と光照射の刺激系で、時計機能や様々な脳機能障害の回復や調節できるかを探究します。

また、本研究の成果は、神経組織以外の部分にも応用でき、様々な生理機能障害の細胞刺激による機能補填の可能性も示唆します。

本研究者である本学 沼野利佳准教授への個別取材も受け付けますので、ご希望の場合は下記担当までご連絡下さい。

本件に関する連絡先

広報担当：総務課広報係 高柳・梅藤 [TEL:0532-44-6506](tel:0532-44-6506)



# 脳細胞を局所的に刺激し、性質を変えることができる新しい方法の開発

沼野 利佳<sup>1,2\*</sup>

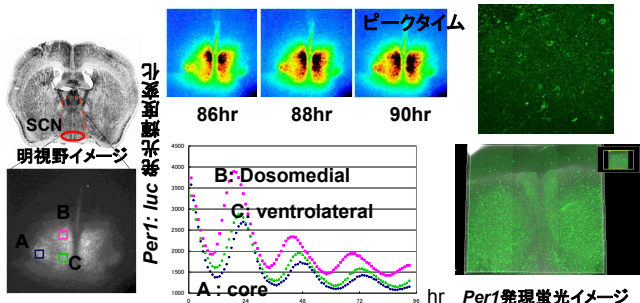
豊橋技術科学大学環境生命工学系<sup>1</sup>・エレクトロニクス先端融合研究所<sup>2</sup>

目的: 24時間周期の概日リズムを正常に維持するために、中枢時計がある脳の視交叉上核(SCN)の神経活動を、細胞レベルの外部刺激の手段を用いて、個体のリズムがどう発振されるのかを明らかにし、外部からの適切な刺激により調節・回復することをめざす。



豊橋プローブ 液滴エレクトロポレーション  
ピンポイントで脳の細胞を刺激する実験系と光刺激を受容する生体脳

導入: 地球上での生物の行動や代謝などには一日を周期とする概日リズムが存在する。時計遺伝子Period1(Per1)は、哺乳類概日リズムの中核であるSCNで昼間に強く機能発現する、24時間周期の発現振動を示す。概日リズムを決めている時計遺伝子Per1の機能的な変化をホタルが光る蛋白ルシフェラーゼやクラゲが緑に光る蛋白GFPレポーターとしてそのシグナル変化として観察できる遺伝子組み換えマウスの組織を用いたリアルタイムで観察する実験系を確立している。



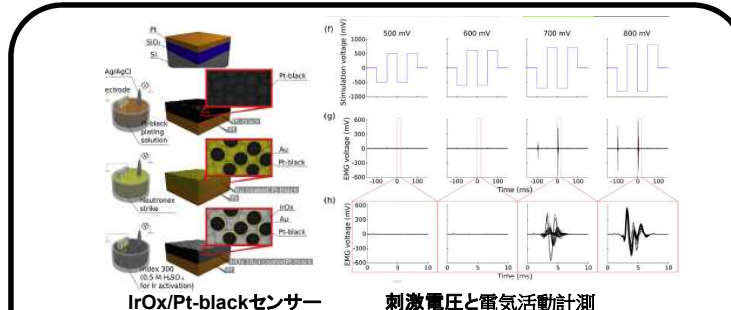
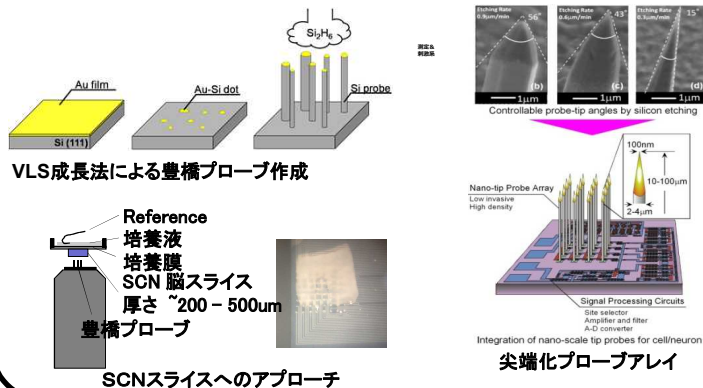
Per1発現発光イメージ 昼夜昼夜昼夜  
組み換えマウスのSCNスライスのPer1発現リアルタイムモニタリング

今回開発された、(神経)細胞の局所的な刺激や形質転換ができる3つの手法

- 1) 豊橋プローブによる電気刺激
  - 2) 光反応性化合物とグルタミン酸受容体によるピンポイント光照射刺激系
  - 3) 液滴エレクトロポレーション法
- を独自で開発した。

### 1) 豊橋プローブによる電気刺激

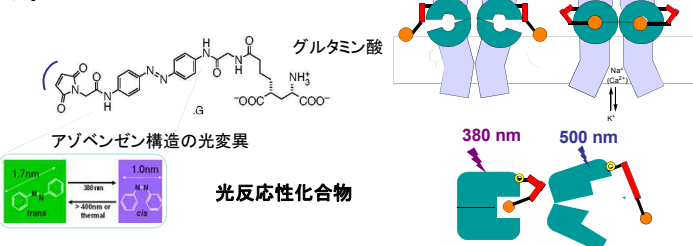
直径1 μm以下、数nmの微小刺入型電極プローブをアレイ状に並べたセンサーチップにより、プローブ先端付近の1細胞の細胞の電気刺激を行う



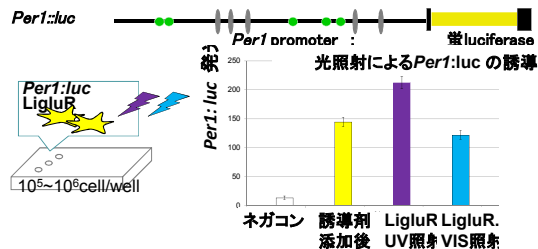
IrOx/Pt-blackセンサー 刺激電圧と電気活動計測

### 2) 光反応性化合物とグルタミン酸受容体によるピンポイント光照射刺激系

照射する光の波長によって光異性化構造をもつ化合物にグルタミン酸リガンドを結合し、細胞膜蛋白であるグルタミン酸受容体のイオンチャネルの結合ポケットにリガンドを出し入れできる。そこで、様々な波長の光で、イオンチャネルを開閉し、細胞の膜電位を変化させるピンポイント光照射刺激系を確立した。これらの刺激系で、培養細胞レベル、野生型動物の組織、脳スライスなどで、細胞の刺激応答が観察され、概日リズムを変化させるべく、賠償細胞の時計遺伝子Per1について機能発現を誘導させた。



### 化合物と組み換えグルタミン酸受容体LiGluRによるUV-ONタイプ

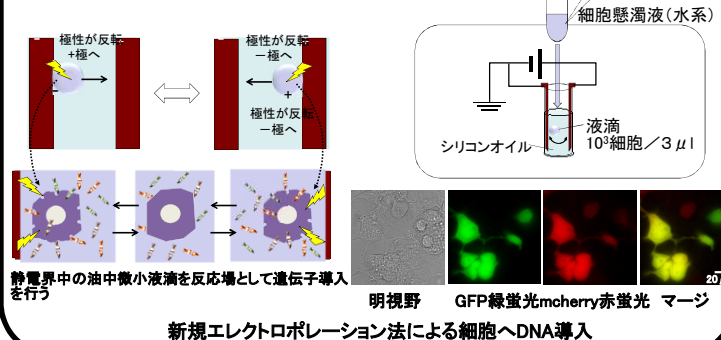


化合物添加とUV照射による時計遺伝子Per1の機能発現誘導

### 3) 液滴エレクトロポレーション法

液滴中に少量の細胞とDNAを封入し、絶縁体であるオイルの中で電圧をかけ、効率よく外来性DNAを特定の細胞に導入して形質を変える実験系を新規に確立した。

10E+3個の神経初代培養細胞やヒト線維芽細胞株へ2種類の蛍光蛋白を作るDNAを本法で導入し、蛍光蛋白の発現を観察できた。



新規エレクトロポレーション法による細胞へDNA導入

### 結果:

細胞レベルをターゲットにした新規の刺激、形質を変える方法、1) 豊橋プローブを用いた方法、2) 光照射による細胞膜電位変化、3) 液滴形質転換法、を新規に開発した。これらを用いて、例えばSCNの神経細胞などを外部から局所的に刺激し、そのリズム変化を観察している。





## 国立大学法人豊橋技術科学大学 *Press Release*

平成27年1月14日

### 歴史文化復興への挑戦

2011年東日本大震災で被災した天雄寺観音堂の修理工事監修  
被災地自治体文化財担当部局の技術顧問として、文化財建造物  
の修理基本計画を作成し、工事の指導監修を行う。

社会貢献は大学の大事な役割であり、特に災害後の復興には学生を含めた多くの人的支援が求められます。2011年東日本大震災では、地震そのものよりも津波によって多くの歴史的建物が失われ、また被害を受けました。生活の復興には文化的要素は欠かすことのできないもので、個人のものも含む文化的価値のある被災建物に手を差し伸べ、文化財関連の自治体や法人の技術顧問として修理修復の道筋を付け、工事の指導監修を行っています。宮城県内では、3件の市指定文化財、6件の登録文化財に関わっており、昨年10月、最初の事業である小野健商店土蔵の修理を完了させ、引き続き天雄寺観音堂の工事指導監修を行っています。



被災直後の天雄寺観音堂全景



同観音堂の倒壊の様子



現地での再建開始、2014年12月



軸組の組上げ、2015年1月5日

## <研究経緯・研究組織>

文化財建造物は時間とともに老朽化し、また新たな活用が求められ、修復建築士は事業主に協力し、詳細な調査の上に修理補強計画を立て、工事を指導監修します。このような通常の事業以外に、大災害の後には、建物の突然の損壊に対して修理修復よりも解体新築を志向しがちな所有者に対して、どのような手段で修理修復が可能であるのかを示すことが求められます。その都度、行政側と調整しながら、デザイン、構造、技術の専門家とチームを作り、さらに資金作りを行います。実際、2006年中部ジャワ地震後の王宮木造建築、2007年の能登半島沖地震後の輪島塗師蔵の修理修復を、地元建築士と職人、大学研究者らと実施しました。魚津社寺工務店（名古屋市）、五代目源エ右門（犬山市）、Mプロダクト（豊橋市）他。

2011年東日本大震災発生後、国立大学協会「東日本復興・日本再生」支援事業に採択され、被災地自治体の文化財関連部局と調整しながら、建築史研究学生を連れて実測調査を実施するとともに、また愛知県内の建築士や工務店と協力して損壊した文化財建造物の修理計画と工費積算を行いました。気仙沼市内湾地区には6件の登録文化財が集中していたため、これらの修理修復事業を円滑に進めるために事業団を組織し、2012年10月、本学建築・都市システム学系泉田准教授が理事に就任しました。

「ワールド・モニュメント基金」から最大の資金提供を受け、土地の区画整理事業と嵩上げ事業の対象になっていない建物から始まり、2014年9月に2年の工期をかけて「小野健商店土蔵」（気仙沼市、登録文化財）の修理工事が完了しました。2014年10月からは「天雄寺観音堂」（石巻市指定文化財）の修理が始まり、2015年1月に軸組の組み上げが行われ、3月末に完成することになっています。

## <研究内容・今後の展開>

気仙沼市内湾地区では他に5件の文化財建築があり、これらは区画整理事業と調整しながら修理を行うことになり、文化財の修理修復事業は今後2年ほどの時間を要することになります。石巻市では、市指定文化財「旧ハリストス正教会石巻聖堂」と同「観慶丸」の修理工事が2015年度に行われる予定であり、引き続き工事指導監修を担うことになっています。

関連して2014年度から4年間にわたり科学研究補助金を受けており、2011年東日本大震災による歴史的建築の修理修復事業に関わりながら、被害と修復過程を詳細に記録分析し、将来の教訓とすることが望まれています。



修復予定の旧ハリストス正教会石巻聖堂



修復予定の気仙沼市の角星酒造店舗

本研究者である本学建築・都市システム学系泉田准教授への個別取材も受け付けますので、ご希望の場合は下記担当までご連絡下さい。

本件に関する連絡先

広報担当：総務課広報係 高柳・梅藤 TEL:0532-44-6506

## 平成26年度 定例記者会見日程予定

- 第1回 平成26年 4月16日(水) 11:00～
- 第2回 平成26年 5月28日(水) 11:00～
- 第3回 平成26年 6月11日(水) 11:00～
- 第4回 平成26年 7月30日(水) 11:00～
- 第5回 平成26年 9月24日(水) 11:00～
- 第6回 平成26年10月15日(水) 11:00～
- 第7回 平成26年11月19日(水) 11:00～
- 第8回 平成27年 1月21日(水) 11:00～
- 第9回 平成27年 2月18日(水) 11:00～
- 第10回 平成27年 3月11日(水) 11:00～

場所はすべて本学大会議室（事務局3階）を予定しています。場所、日程は現時点での予定であり、都合によって変更の場合があります。定例以外に臨時で記者会見を行う場合があります。

以上