

2014年8月9日(土)

夏休み研究体験コース

のう

せま

さいぼう

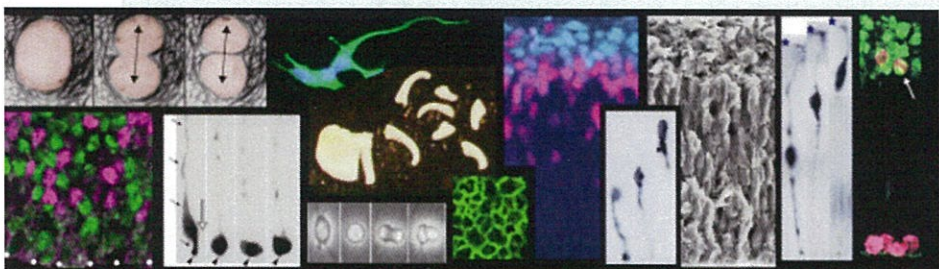
たんけん

脳づくりのしくみに迫る 細胞ジャングル探検ツアー

なごやだいがく だいがくいん いがくけい けんきゅうか
名古屋大学 大学院医学系研究科

さいぼうせいぶつがく けんきゅうしつ
細胞生物学研究室

代表： 宮田卓樹 (みやた たかき)



この企画にご応募くださり、ありがとうございます。

当日の作業がうまく進むように、また、疑問の芽が出るための「種まき」として、この冊子をお届けします。
ぜひ「予習」に使ってください。

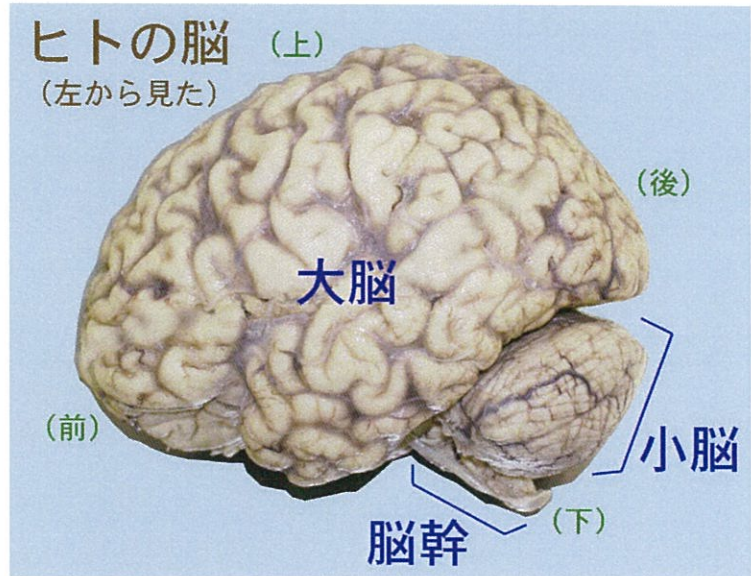
小学生の方は、保護者の方に手伝っていただいで
ご覧ください。



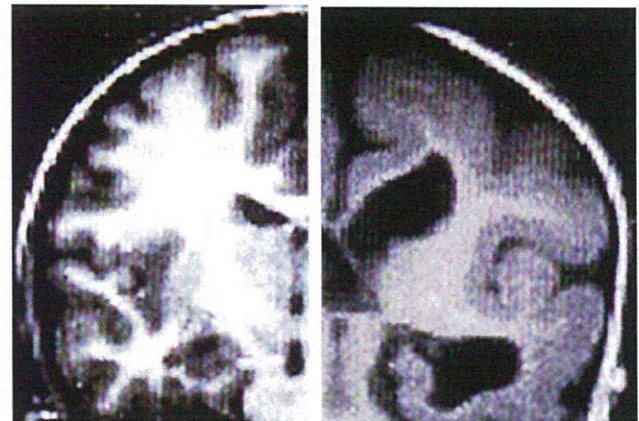
私たちは、**脳がどのようにしてできるのか**、**知りたいと願っています**。

脳の「作り方」（脳の「形成」のようす、あるいは脳の「発生」のしくみ、などとも呼ばれます）をよく知ることができれば、**完成した人間の脳の形や働きを深く理解できると考える**からです。

また、**病気の原因をつきとめ、治療への道を探すことにも役立ちたいと願う**からです。



この左右セットの写真は、
左が本来の大脳の断面、
右が、ある先天性の疾患によって
形成不全をきたした大脳の断面
（MRI という断層撮影）です。
右の大脳の持ち主は、きれいに
苦しみ、言葉や運動など多くの
ことがうまくできません。



こうした病気にはまだ原因の分からないものが多いです。しかし、マウスなどを使った基礎的な研究がヒトの病気の原因の解明につながる例が、最近、着実に増えています。

脳は、他の臓器と同様に、無数の細胞が集まってできています。そして、脳細胞には、たくさんの種類があります。

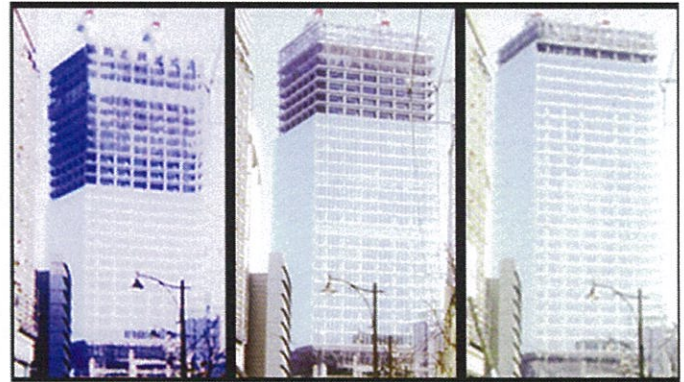
情報の発信、受信を行い、脳の中心的な働き手として活躍するのが、「ニューロン」（あるいは「神経細胞」と呼ばれる細胞です。ニューロンの仲間のなかにも多くの種類があります。

ですから、脳づくりを考えるうえで、まず、どうやって**必要な種類**のニューロンが、しかも**必要な数**だけそろうのか、知りたいところです。この、ニューロンの**誕生**の問題は、少しずつ分かってきてはいますが、まだまだ謎だらけです。

この「種類と数」に加えて、とても重要な問題があります。

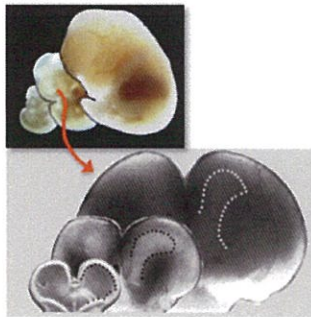
仮にニューロンが 種類・数 とともにちゃんとそろったとしても、それらが皆、きちんと「正しい場所」に並ばないと、脳は完成しません。

ビル建築現場に、「材料」がそろっていても、きちんと「組み上げる」ということが果たされないかぎり、決してビルにはならないようなものです。

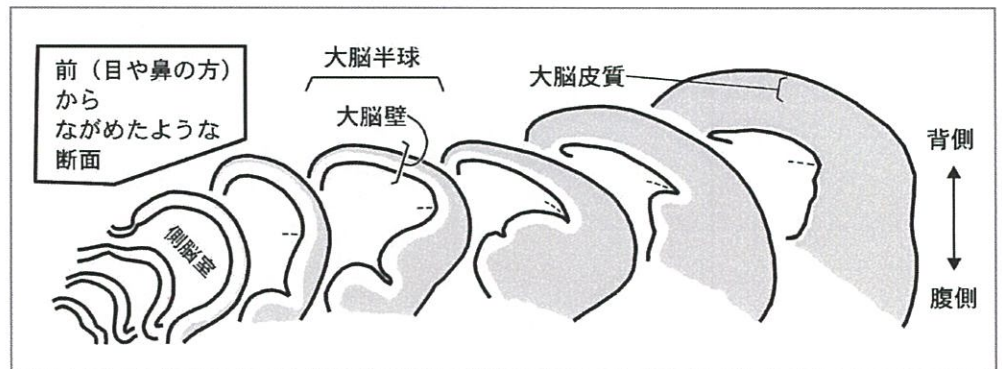


つまり、ニューロンの適切な「配置・組み立て」が、大切 なのです。きちんと組み立てられた脳は、ニューロンが何階だてもビルディングを作っているようなものです。

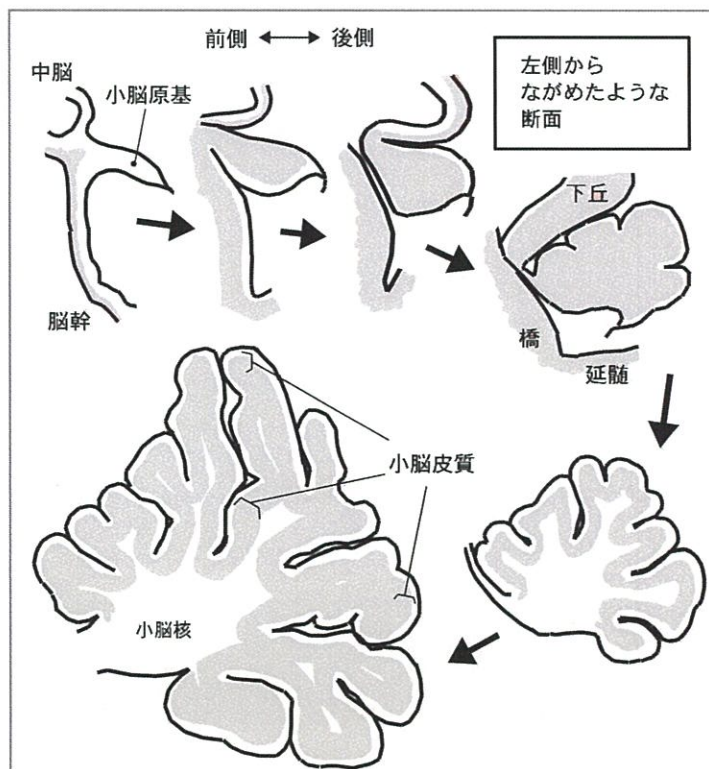
そうした「脳ビル」の「高層化」の度合いがとくに強いのが、大脳（だいのう）や小脳（しょうのう）という場所です。そこでは、とても複雑で、しかし一方でとてもきれいな「ニューロンによる層（そう）」が見られます。どちらも、膨大（ぼうだい）な量の情報の処理が行われることで知られています（ご存知でしょうか、こうした文章を読むこと、文字を眼で追うこと、ページをめくること、何でも、脳のおかげで達成できています...）。



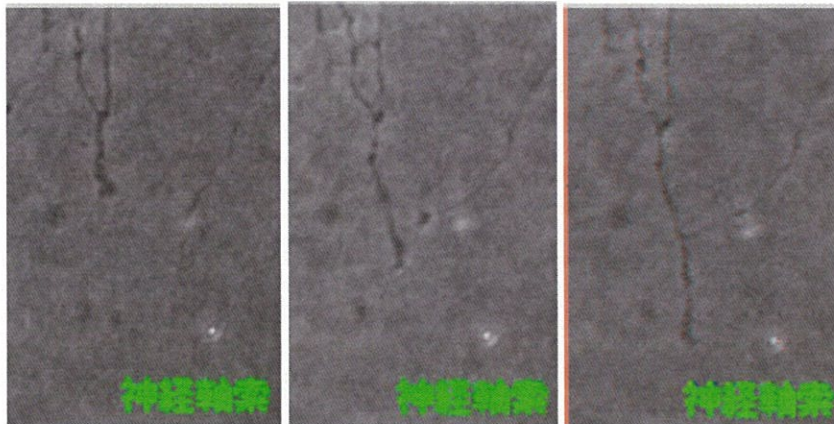
マウスの大脳の形成過程



マウスの小脳の形成過程



そして、さらに、次のステップとして、並んだニューロンが、お互いに **情報を伝え合う「配線」**を行うことも、とても重要です。軸索（じくさく）という長い線を伸ばし、つながりあうのです。階段・エレベーター・電話線のないビルは、パスのつながらないサッカーチームみたいなもので、全く役に立ちません。



培養したニューロンが軸索を伸ばす様子。

こうした「配線」を経て、脳は、全体としてまとまった正しい仕事をする事ができるのです。脳のあちこちでばらばらに働くのではなく、つながって、情報のバトンタッチをすることができるのです。

そういうわけで、**3つの局面・ステップ**が、「脳づくり」にあります。

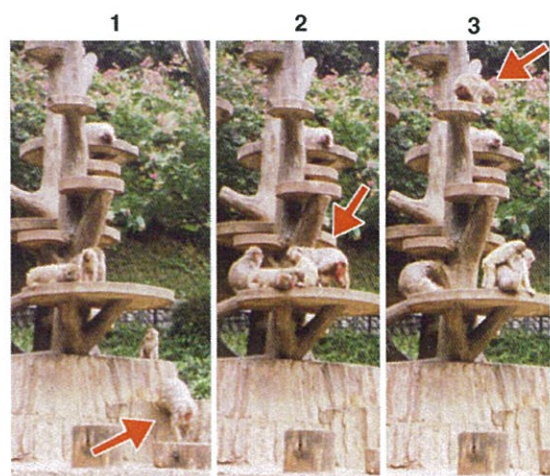
ニューロンの「生まれ」、「並び」、「つながり」という営みが、「脳ビル」づくりの「材料そろえ」、「組み立て」、「配線」というステップのように、それぞれ大切なのです。

私たちは、マウスを使って、「脳づくり」の原理を解明しようと研究しています。

細胞たちのどんな「知恵・工夫」が脳をうまく組み立てるのか、細胞たちに尋ねています。

私たちが特に注目しているのは、ニューロンの**誕生**のステップと、**配置**のステップです。配置に際してはニューロンがふるさとから最終目的地まで**移動**するということが知られているのですが、その「移動」の原理にも深い関心を持っています。

生きている「個」が動いていって、「集団」としての「ビル」を作る、という点において、「サル山」は、ちょっと「脳形成」と似ていると言えるかもしれません。

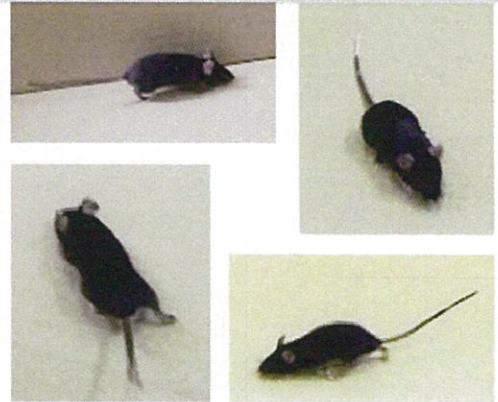


上で紹介した3つのステップに関する問いに答えるためには、どんな研究方法をとればいいのでしょうか？
この企画では、皆さんに、研究体験をしてもらいます。

じつは、60年以上前の研究者が「将来研究役立つかも」と考えて報告した、「リーラー」という種類のマウスがいます。60年間、皆が大切に維持し、世界中でそれを使った研究が行われて来ています。昔の人は、このマウスをなぜそれほど貴重な存在として扱ったのでしょうか？

企画の第一部では、このリーラーマウスの歩く様子を診断してもらいます（体験ステップ1）。

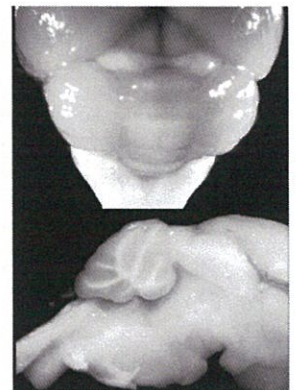
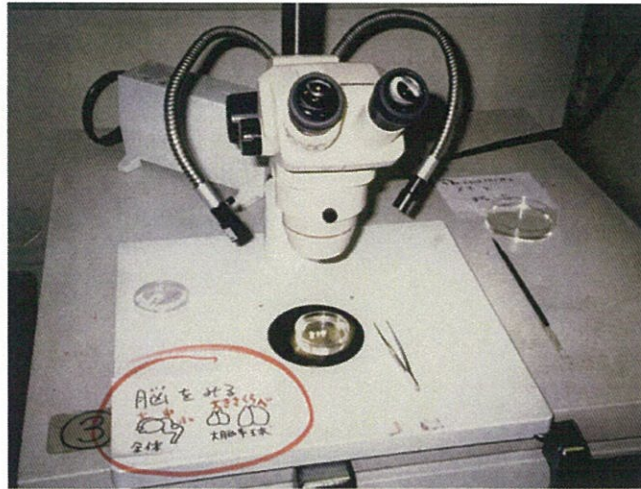
普通のマウスとこの「リーラー」マウスとを、比べてもらいます。自分の眼で、じっくりと見つめ、歩き方に違いがあるか、あるとしたら、どう違うのかを、推理して下さい。



昔の人は、ホルマリン標本にした正常マウスの脳と「リーラー」マウスの脳とを見比べました。

これを皆さんにもやってもらいます（体験ステップ2）。

どこか違うのか、違えばどこが違うのか、頑張ってつきとめてください。



こんな感じの顕微鏡を使ってもらいます。

脳がこんな風に見えるはずですが。

続いて、昔の研究者が開発し、今では誰もが使えるようになった手法を、少しずつですが、皆さんの手で実行してもらいます。

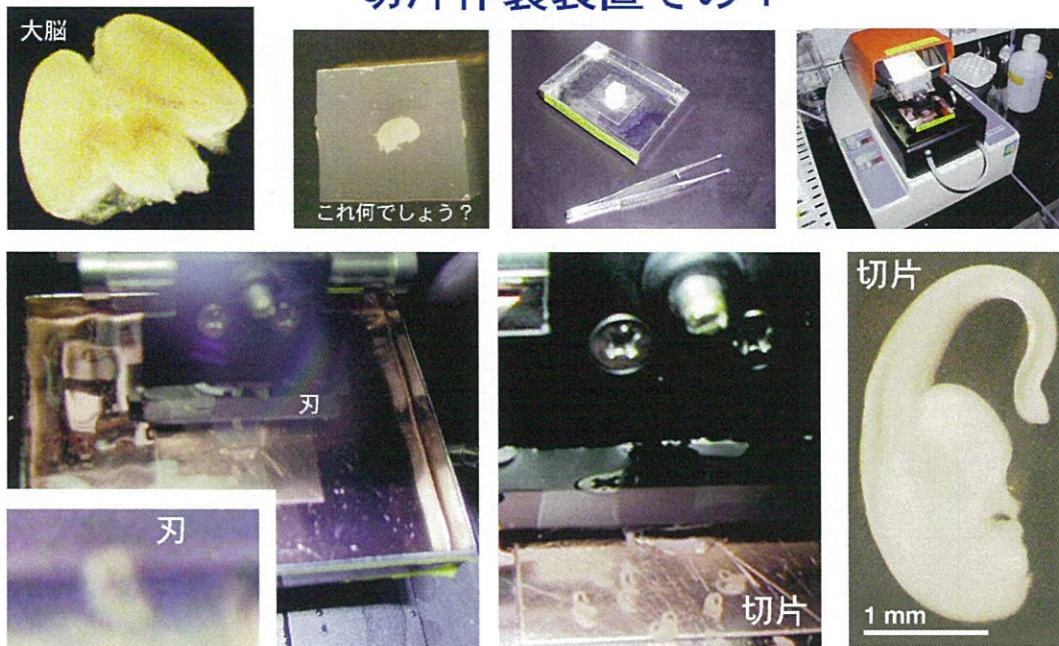
現代において、脳の「なかみ」をのぞいてみたい場合、人間の脳を相手にするなら、MRIやCTなど「断層撮影」（だんそうさつえい）装置の力を借ります。昔は、ホルマリン標本とした脳に対してその断面をみられる

よう「薄切りを作る」技術の開発と進歩が、脳研究を支えました。

「薄切り」標本は「切片（せつぺん）」と呼ばれます。肉屋でハムやベーコンなどの薄切りの作業を見たことがある人はいるでしょうか。それと、ちょっと似ているかもしれません。本ツアーでは、私たちが日ごろよく使う切片作製法2つのうち1つ（切片作成装置1号）を皆さんに体験してもらい、マウス（オトナ）の脳の切片を作ってもらいます（体験ステップ3）。

「切片作成装置1号」は、0.1ミリ（100マイクロメートル）くらいの厚さの切片づくり用です。じつは、もう一つの装置「切片作成装置2号」は、0.01ミリ（10マイクロメートル）くらいの厚さの切片を作ることができます。どういうしかけで、そんなに薄く切ることができるのでしょうか。2つの装置でとれてくる切片の厚さが違うのはなぜでしょう？

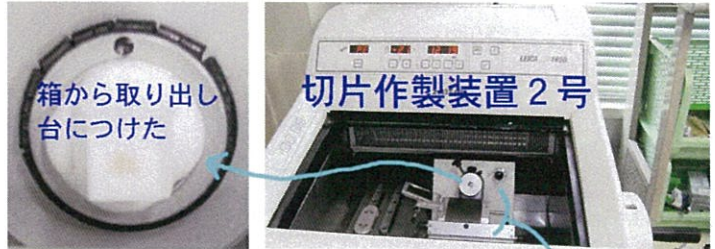
切片作製装置その1



「切片作成装置1号」（上の写真）では、ボタン一つで機械が自動的に切ってくれます。できた切片が、液中にただよってきますので、それを「金魚すくい」の要領ですくいあげて、別の容器に移してもらいます。そして、顕微鏡で観察してもらいます。大脳の切片を作りましょう。うまく捕まえられるでしょうか？そして、「層」（そう）がわかるでしょうか？

もう一つの装置「2号」では、「1号」よりもはるかに薄い切片をつくることができます。

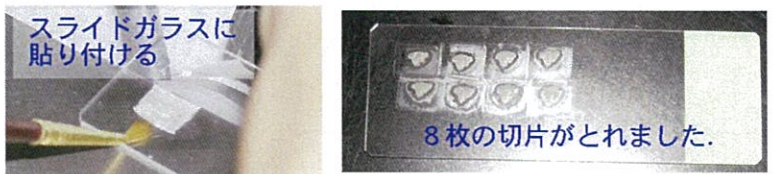
右に、脳（発生期のマウス）の標本がどのように処理されるかを示します。特殊な「透明な液体（ドロドロしてます）」に脳を入れ、次に、ある処理をします（当日、実演しますのでご覧いただけます）。すると、（写真をご覧下さい）透明だったものが白くなっていきますますが、何が起きたかわかりますか？



この2号では、刃の上に寝そべっている切片を、そっと「スライドガラス」に貼（はり）付けたいといけません。指を切らないように慎重に、スライドガラスを近づけると、意外と簡単に、切片がくっついてきてくれます。このステップは、あらかじめ、私たちが進めておきます。



皆さんに「切片の貼付いたスライドガラス」を1枚ずつお配りします。どのスライドガラスにも、正常なマウスの小脳の切片と、リーラーマウスの小脳の切片 が貼付けられています。



切片は、そのままながめるだけでなく、いろいろな「染め」を施す（ほどこす）ことで、情報を多く引き出すことができます。この「染め」の作業は「組織染色（そしきせんしょく）」と言われます。皆さんに、これを体験してもらいます（体験ステップ4）。

昔から世界中の多くの研究者たちが使い続けている「トルイジンブルー」という紫色の色素を使います。

①スライドガラス上の切片が貼り付いたところにトルイジンブルー液をたらし、1~2分待ちます。

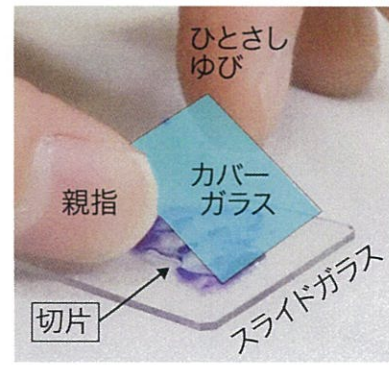
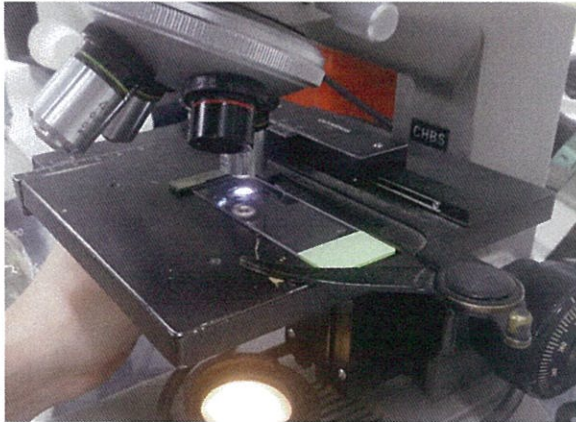


②そのあと、液をティッシュペーパー（「こより」のようにして）で吸い取ります。

③次に、透明なネバネバの液体-----封入剤（ふうにゆうざい）と呼びます-----をたらしませます。



④そして、その上から、カバーガラスをかぶせます。



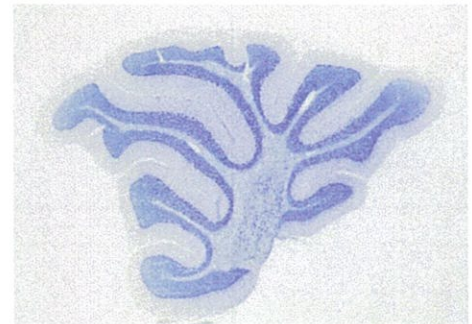
このようにしてご自分で染色した脳切片を、顕微鏡（けんびきょう）で観察してもらいます（体験ステップ5）。

拡大の度合いの小さい（倍率の低い）レンズ（右の写真はそうした「低倍率」のレンズで撮影したもの）から少しずつ 拡大度・倍率を高めていくと、細胞ひとつひとつが見えてきます。

かわりばんこで、全員が見られるようにご協力ください。スマホやデジカメで撮影することも可能です。

肉眼では塊（かたまり）としてしか見えなかった脳ですが、その断面を顕微鏡でながめることを通じて、それが「細胞のジャングル」であることを理解できるはず。あちらもこちらも細胞だらけです。

じっくり見れば、大きさや形の違う細胞たちが区別できるかもしれません。小脳には、何種類のニューロンがいるでしょうか？ また、リーラーの小脳のなかみはどうなってるでしょう？



ちなみに、切片づくりと特殊な染色法（せんしょくほう）と顕微鏡を使つての観察による成果に対して、ほぼ100年前（20世紀の初め）にノーベル賞が、与えられました。

染色した切片は、持ち帰ってもらいますので、家に顕微鏡のある人は、帰ってから観察してみてください。もし家に顕微鏡がなくても、学校で使わせてもらえるかもしれませんね。また、大きな虫眼鏡があれば、それだけでもかなりきれいに見えますよ。

さて、「体験ステップ5」では、明るいところで、明るい白い光をあてながら顕微鏡を使った観察をしました。

実は、当日の会場には、「暗いところで、ミドリやアオの光をあてながら観察を行なう」という別の顕微鏡-----「蛍光顕微鏡（けいこうけんびきょう）」-----も用意します（体験ステップ6）。

暗やみの中にきれいな色が浮かび上がります。どんなところにどんな色が見えるでしょう？

さて、もうひとつの体験コーナーは、**生きた細胞の観察です（体験ステップ7）**。



企画の当日、会場には、あらかじめ培養をしておいた「細胞 X」を連れてきています。「細胞 X」は生きています。当日まで、この細胞は「インキュベーター」と呼ばれる金属の箱の中で育てられますが、当日とりだして会場に運ばれます。「インキュベーター」の中は、



暗くてじめじめしており、ガスの濃度が自動的に調節できるようになっています。つまり、**体の中と似た環境**にしているわけです。脳組織は**プラスチックの皿**（直径 3.5 センチ）に入っています。その皿には、いろいろな物質が混ぜ込まれた「**培養液**（ばいようえき）」が満たされており、「**体液**」の代わりをしてくれています。培養液にいろいろな薬品を加えて細胞の反応を見ることもできます。

「細胞 X」の入った皿を、「**実体顕微鏡**」（じったいけんびきょう）で見えますか？
どんなもの・ことが見えますか？

さらに、「細胞 X」に関連の深い「**サプライズ**」も用意します。いったい何が見えるでしょう？

当日、会場では、**研究の基本についてまとめたビデオ**（2002 年作成）の上映も行ないます。「**脳づくり**」研究のありようについて分かっていたくのに役立つと思います（**体験ステップ8**）。

「**体験ステップ1～8**」を終えたら、**最後に、全員に、「脳づくり」の謎に挑む最新の研究のようすをご紹介します（最終ステップ）**。いくつかの**最先端の動画**をお見せします。どんな細胞たちの暮らしぶりが飛び出すでしょう？

当日は、研究室の教官、研究員、技術スタッフ、大学院生、学部学生などが手伝うことになっています。何でも**気軽にご質問下さい**。

ほぼこの冊子に書いた手順で当日の作業は進みますが、現場でお教えしますので、**丸暗記する必要はありません**。

当日のスケジュールと補足

1. 開会あいさつ・注意事項説明など（1～2分程度）
2. 小グループ（A～H、それぞれが12～13人）に分かれて、各「体験ステップ（1～8）」を回ってもらいます。（13分程度×8＝104分？）

それぞれのステップには13分ずつを割り当てます。13分ごとにベルを鳴らしますので、それぞれの「小グループ（A～H）」は、ベルが鳴ったら「次」のステップへ移動してください（そうじ当番や給食当番の「割り当ての移り変わり」のように「回って」いきます）。

少しあわただしいですが、頑張ってください。ただ、ステップごとに時間のかかりぐあい異なり、渋滞（じゅうたい）するステップがでてくるかもしれません。合計120分ですので、少しの遅れは大丈夫です。全員が十分に観察できるように配慮します。逆に、「早くに終わって、次のステップに動くのを待つ」という場合もあるかもしれません。そんな時間をぜひ質問にあててください。

ステップ1：マウス歩行観察。

ステップ2：マウス脳を顕微鏡（タイプA）で観察。「タイプA顕微鏡」は3～4台あります。かわりばんこで見ます（一人あたりの時間は3～4分）。

ステップ3：切片作成 & 顕微鏡（タイプA）で観察。「切片作成」は「作成装置」を使ってすぐ（数秒程度）できます。すくいあげも数秒で可能。合計一人あたり1分程度の作業で切片ができ、それを「タイプA顕微鏡」（3～4台あります）で、かわりばんこで見ます。

ステップ4：切片の染色。全員にスライドガラスとカバーガラス1枚ずつが配られます。このステップで、切片づくりの準備としての「脳を白く封じ固める」技も実演します。

ステップ5：染色した切片を顕微鏡（タイプB）で観察。「タイプB顕微鏡」は、グループの人数分あります。グループのめいめいが独占的に使えます。

ステップ6：蛍光を見るための「顕微鏡C」の観察。蛍光顕微鏡は1台のみです。かわりばんこで見ます（一人あたりの時間は1分程度）。

ステップ7：生きた細胞を顕微鏡（タイプA）で観察。「タイプA顕微鏡」は3～4台あります。かわりばんこで見ます（一人あたりの時間は3～4分）。

ステップ8：研究紹介ビデオを見ます。

どの「小グループ（A～H）」に皆さんが入るのかは、ご連絡済みですが、当日も、「整理番号」と「A～H」の対応表を貼り出します。

グループA：ステップ1 → 2 → 3 → 4 → 5 → 6 → 7 → 8 の順に体験
グループB：ステップ2 → 3 → 4 → 5 → 6 → 7 → 8 → 1 の順に体験
グループC：ステップ3 → 4 → 5 → 6 → 7 → 8 → 1 → 2 の順に体験
グループD：ステップ4 → 5 → 6 → 7 → 8 → 1 → 2 → 3 の順に体験
グループE：ステップ5 → 6 → 7 → 8 → 1 → 2 → 3 → 4 の順に体験
グループF：ステップ6 → 7 → 8 → 1 → 2 → 3 → 4 → 5 の順に体験
グループG：ステップ7 → 8 → 1 → 2 → 3 → 4 → 5 → 6 の順に体験
グループH：ステップ8 → 1 → 2 → 3 → 4 → 5 → 6 → 7 の順に体験

3. 最先端研究紹介（動画など）。「ステップ1～8」がうまく進んで時間が残れば、先端的な研究の例をご紹介します。

4. 閉会あいさつ

<補足1>

★ 確実にきちんと顕微鏡での観察ができるためのコツ ★

なるべくたくさんの皆さんにできるだけいろいろなものの観察をしていただけるようにと、すこしあわただしいスケジュールになっています。そこで、私たちは、顕微鏡を使った皆さんの観察がうまく進むように、お手伝いします。

「顕微鏡タイプA（実体顕微鏡）」（ステップ2,3,7で使用）も「顕微鏡タイプB（組織観察用、ステップ5で使用）」も「顕微鏡タイプC（蛍光観察用、ステップ6）」も、すべて、「片目」ではなく、「両目」で見る（つまり「双眼鏡」のような）接眼レンズです。「両目で見る」ということのおかげで、立体感をもたせた観察ができます（脳の観察や生きた細胞などの観察でとても役に立ちます）。「双眼鏡を手にして、片目をつぶって、もうひとつの目だけで見る」というような「もったいない」ことになってしまわないように、以下のようなポイントに気をつけます。

- ①自分の目の高さがちょうど接眼レンズの高さになるように**しっかりとイスに座る**（もし高さが調節できるタイプのイスであれば高さ調整を行なう）,
- ②自分の**目の左右の幅（はば）**に**左右の接眼レンズの間隔（かんかく）**を合わせる（どの

顕微鏡でも自由に動かさず).



よくテレビドラマやニュースなどで、

「白衣を着た研究者（とくに教授）が、顕微鏡を立っただまのぞきこむ」というシーンが放映されますが、皆さんは決して真似しないで下さい。体がぐらぐらして、せっかくの標本に対してきちんと向き合うことができません。標本に対してとても失礼です。また、うっかり腰砕けになり目を接眼レンズにぶつけるなどの危険もあります。

<補足2>

★ 顕微鏡の基本構造・使い方 ★

ご自身で使う時間が長い2つのタイプを紹介します。

「タイプA」実体顕微鏡（じったいけんびきょう）

ステージ上に、標本（脳の入った容器や、スライスの入ったシャーレや、生きた細胞のいるプラスチック皿）をのせて、のぞき込む（あらかじめ、標本に光があたるようにしてあります）。



「タイプB」 組織観察用 顕微鏡

スライドガラス（すでに切片の上にカバーガラスが貼付いている）をステージにのせ、接眼レンズからのぞきこみます。

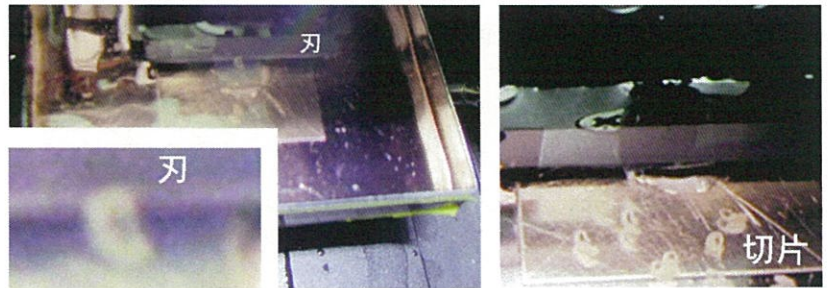


<補足 3>

★ 安全な作業のための注意 ★

けがの危険性がごくごくわずかにあると考えられるステップは、「刃（は）」を持つ「スライサー」を使う「ステップ3」、ガラスを扱う「ステップ4」ですが、いずれも指示に従って慎重に作業をすれば全く問題はありません。安全に体験を進められるようお手伝いします。

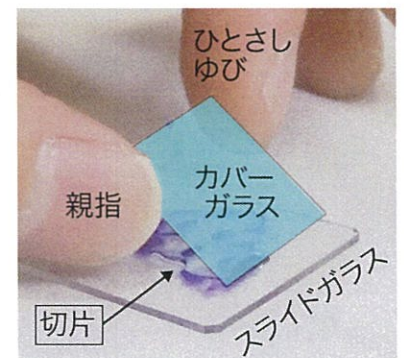
ステップ3での注意：スライスされた切片は、生理食塩水（水のような液体）に浮かんでいます（右の写真）。それを、小さなプラスチックスプーン（コーヒーをかき混ぜたりするのにつかう100円ショップに売っているもの）を



使ってすくいあげ、シャーレ（あらかじめ生理食塩水を入れてあります）に移してください。近づけるのは「スプーン」の先のみ。指を「刃（は）」に近づけないで下さい。目をそらしたり、ふいにはずみで手を動かしたりすることがないように注意して下さい。

ステップ4での注意：

カバーガラスを「ぎゅっ」と強い力で持つと割れてしまう可能性がありますので、「そっ」と軽く持ちます。たとえば、「正方形をしたとても薄いチョコレート板」を割らないように親指と人差し指でどれか「一辺」の両はしをはさむ、という感じです。



ステップ1での注意：

マウスの歩行診断のコーナーでは、基本的には、マウスの自由な行動にまかせての観察都なりますが、歩行をうながすなどの目的で少し手を触れることを試みることも可能です。マウスは、「触れる」程度の私たちの働きかけに対しては何の抵抗もしません。かみ付いたり決してしません。ただし、わしづかみにしようとする、たたく、など暴力的な行為には別の反応を示す可能性があります。かみつくこともあるかもしれません。そうした行為は、まずマウスに対する虐待にあたりますので絶対にしないでください。

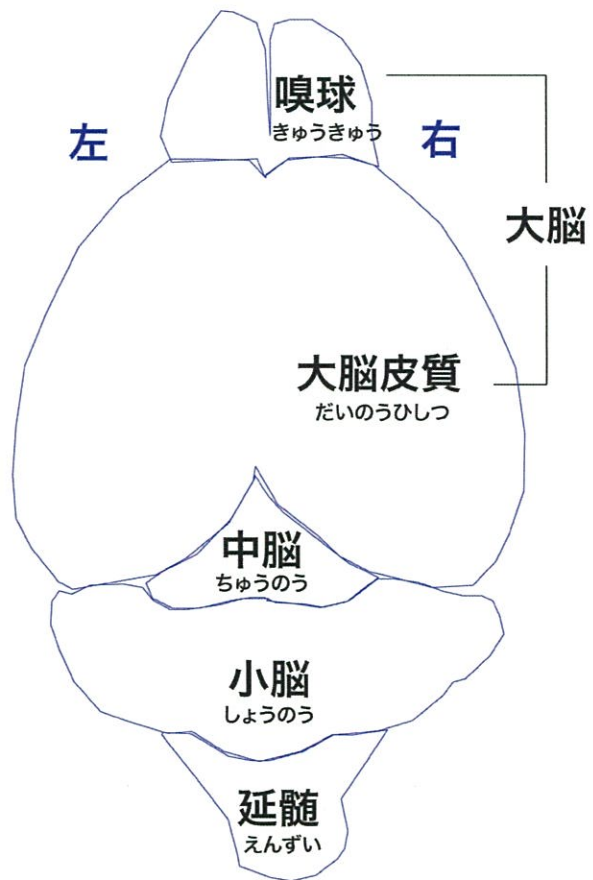
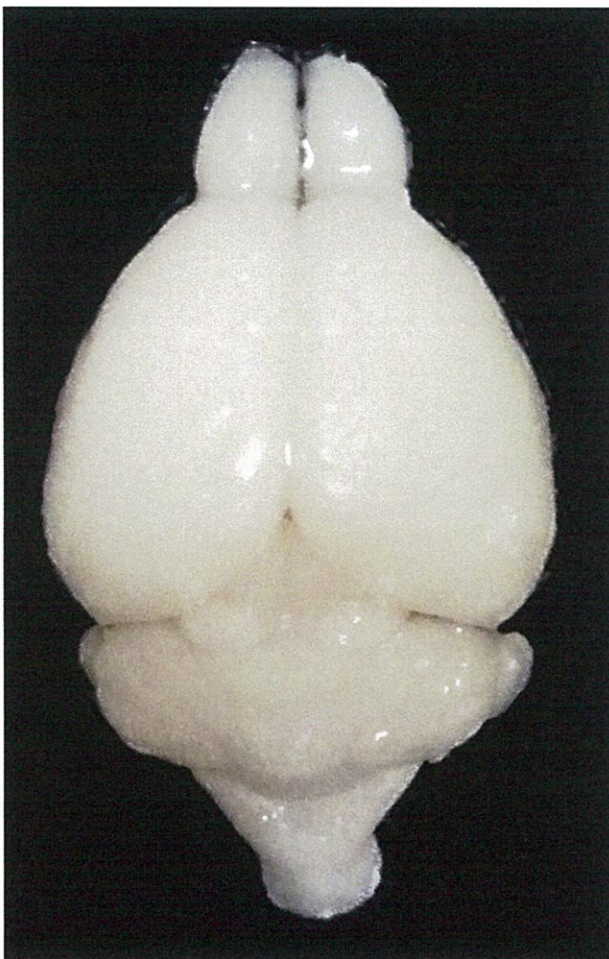
<補足 4 >

★正常マウスの脳のように★

「タイプ A 顕微鏡」で、このような脳のすがたが見えるはずです。

マウスの大脳は、ヒトの大脳のような「しわ」はありません（それで正常です）。小脳には、マウスでも、「きれこみ・みぞ・すじ」が走って（左右に）います。延髄、中脳などは（写真では大脳皮質でかくされて見えない「間脳（かんのう）」とともに）「脳幹」の一部です。

脳は、それぞれの場所に固有の役割があります。たとえば小脳は、運動の調整、体のバランスのために働いています。嗅球（きゅうきゅう）は「におい」の中樞です。ヒトではとても小さいですが、マウスでは大きいです。延髄には、呼吸など生命活動の中樞があります。大脳はあらゆる感覚の情報を受け取りとりまとめるとともに、感じる、考える、しゃべるなど、さまざまな複雑で高度な働きをします。また運動の命令を発する役割も持っています。中脳には、視覚の情報を伝える、体の姿勢を調節するなどの働きがあります。



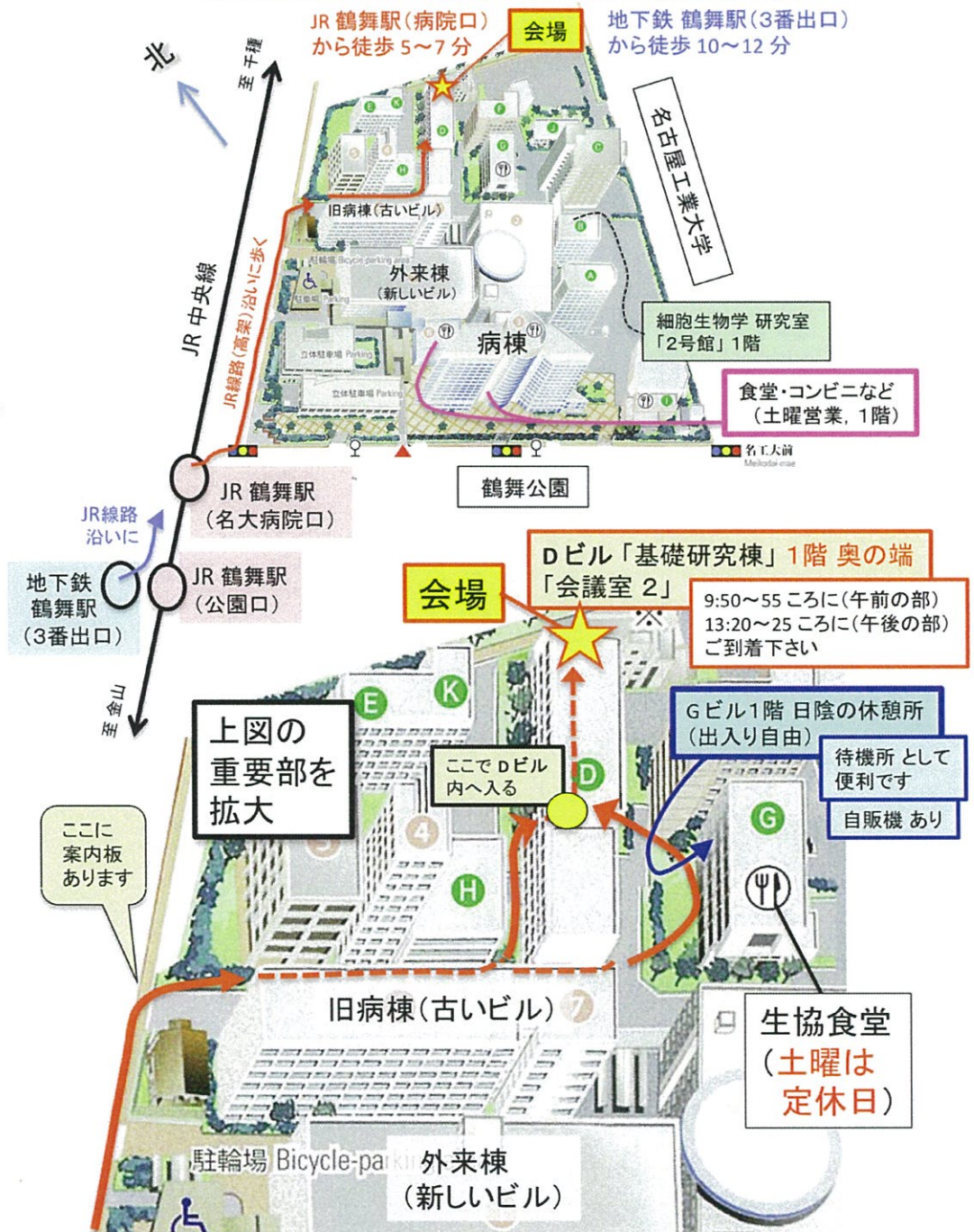
アクセス案内 (交通手段・キャンパス内地図)

病院のなかを通る道順は
(土曜日のため通行に
パスワードを必要とする
など) ので、お勧めいた
しません。

もしキャンパス内で道に
迷ったら、052-744-
2030 までお知らせさ
い (注: 開始時間の 5 分
前までは誰かが待機しま
すが、それ以降は会場に
全員が集まりますので
この番号では受信できま
せん。お困りの場合は、
どうかお早めにご連絡
下さい)。万が一、遅刻
の場合でも、残り時間で
進む「ステップ」には
すべてご参加いただけ
ます。

なお、保護者の方が付き
添われる場合には、公共
交通機関をご利用下さい
(病院の駐車場は患者
さん関係者のご使用を
優先する必要があります
ことよろしくご理解下さい)。

鶴舞キャンパス配置図

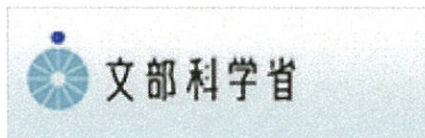
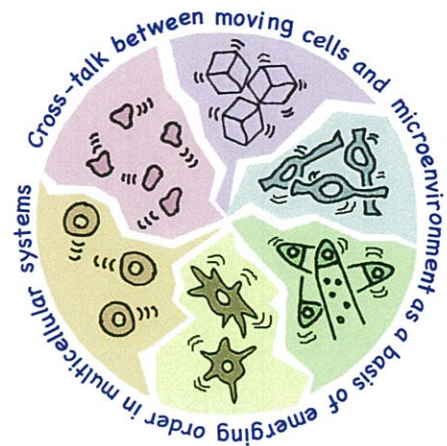


動きやすい、楽な服装でご参加下さい。❤️

お気をつけておこしてください。😊

本「体験ツアー」は、以下の研究の「国民との対話・アウトリーチ活動」のひとつとして、名古屋大学および名古屋大学医学系研究科の支援のもと、実施されます。

文部科学省 科学研究費補助金
新学術領域
「動く細胞と場のクロストークによる秩序の生成」
(H22年度～H26年度)
領域代表 名古屋大学 宮田卓樹



日本学術振興会 科学研究費補助金
基盤研究A
(研究代表 名古屋大学 宮田卓樹. H21～H24年度)

