

# RESEARCH RESOURCES DIVISION

研究基盤開発部門



RIKEN CBS  
脳神経科学研究センター

## RRD 研究技術支援案内 所外用 - 2025年発行 -



本冊子の引用や転載を禁止します。

## 目次

|  |    |
|--|----|
| 研究基盤開発部門 (RRD) の概要 .....                           | 1  |
| <b>動物資源開発支援ユニット</b>                                |    |
| 哺乳動物実験施設 .....                                     | 6  |
| 研究技術支援業務 .....                                     | 8  |
| マウスの胚操作 .....                                      | 8  |
| コンジェニックマウス作製 .....                                 | 8  |
| トランスジェニックマウス作製 .....                               | 9  |
| CRISPR/Casシステムを用いたゲノム編集マウス作製 .....                 | 9  |
| マウスのSPF化 .....                                     | 10 |
| ラットのSPF化 .....                                     | 10 |
| 子宮内エレクトロポレーション (現在受付停止中) .....                     | 10 |
| ポリクローナル抗体作製 .....                                  | 10 |
| 共用実験施設及び材料 .....                                   | 11 |
| マウス系統の共有 .....                                     | 11 |
| マウス・ラット解析施設・処置室 .....                              | 11 |
| 特殊動物飼育用レンタル室 .....                                 | 11 |
| 行動解析室一覧 .....                                      | 12 |
| 水生動物実験施設 .....                                     | 13 |
| <b>生体物質分析支援ユニット</b>                                |    |
| 研究技術支援業務 .....                                     | 14 |
| DNA配列解析 (プラスミド抽出・前処理反応・配列解析) .....                 | 15 |
| バイオアレイ解析 (バイオアナライザ) .....                          | 16 |
| 遺伝子多型解析 .....                                      | 17 |
| 遺伝子微量定量解析 .....                                    | 18 |
| 次世代シーケンス解析 (前処理・シーケンス解析) .....                     | 19 |
| FANTOM3クローンの分与 .....                               | 20 |
| 質量分析 .....   | 21 |
| ペプチド合成 .....                                       | 23 |
| タンパク質精製 .....                                      | 24 |
| アミノ酸分析 .....                                       | 24 |
| 自動細胞分取分析 .....                                     | 25 |
| 実験器具洗浄業務 .....                                     | 25 |
| 生体物質分析支援業務において使用している主要機器 .....                     | 26 |
| テクニカルパーソネルサポートセクション (TPSS) .....                   | 27 |
| TPSS: 分子生物学実験 (プラスミド作製・増幅) .....                   | 28 |
| TPSS: 分子生物学実験 (空間トランスクリプトーム解析) .....               | 28 |
| TPSS: 組織学実験 (組織染色および画像撮影) .....                    | 29 |
| TPSS: 組織学実験 (AAVマイクロインジェクション) .....                | 29 |
| TPSS: バイオイメージング (TissueCyteを用いたマルチセクション画像撮影) ..... | 30 |
| TPSS: ウイルス作製実験 (アデノ随伴ウイルスベクター, AAV) .....          | 31 |
| TPSS: ウイルス作製実験 (狂犬病ウイルスベクター, RV) .....             | 31 |
| TPSS: ウイルス作製実験 (レンチウイルスベクター, LV) .....             | 31 |
| TPSS: 科学技術プログラミング (実験システムの自動化) .....               | 32 |
| TPSS: 科学技術プログラミング (実験データ解析) .....                  | 32 |
| 共用実験施設 .....                                       | 33 |
| 共用機器コーナー (CUE) .....                               | 33 |
| 放射線管理区域 (RI棟) : CBS共用実験施設 .....                    | 38 |
| フリーザールームと共用フリーザー (レンタル) .....                      | 40 |
| 技術普及支援 .....                                       | 41 |
| 研究用器材展示 .....                                      | 41 |
| BMAクラス .....                                       | 41 |
| <b>機能的磁気共鳴画像測定支援ユニット</b> .....                     | 42 |
| <b>電子顕微鏡技術支援ユニット</b> .....                         | 45 |

# 脳神経科学研究センター研究基盤開発部門(RRD)

## 概要

研究基盤開発部門 (RRD) は、脳神経科学研究センター (CBS) を中心に研究技術開発・支援を行う組織である。現在、当部門は組織構成図 (ページ5) に示すように4つの支援ユニットから構成され、担当する技術分野は多岐にわたる。

各支援ユニットの業務内容については、下記のウェブサイトおよび本支援案内を参照いただきたい。

理研外ウェブサイト:

<https://cbs.riken.jp/jp/faculty/rrd/>

### ※注意※

外部の方への支援提供は、現段階では本支援案内の一部であることをご了承ください。支援項目は、将来拡充する予定です。



研究基盤開発部門 部門長  
上口 裕之 (M.D., Ph.D.)

### 支援業務の区分け

RRDが行う主な研究支援業務は、以下のように区分される。

#### ・研究技術支援

理研内外の研究室等(ラボ)からの依頼を受けて試料等を預かり、十分な知識と経験をもったRRDの技術者が最適な条件でこれを解析し、あるいは試料等を基に有体物を作製する。支援項目は組織構成図(ページ5)に示した。

#### ・テクニカルパーソナルサポートセクション(TPSS)によるカスタマイズ技術支援

TPSSは、ラボにより密着してサポートを行う、ラボの人手不足時に実働する、ラボが保有しない技術を提供するなど、ラボのニーズにカスタマイズしてこたえる技術支援である。また、ラボが新規開拓した先端技術の移転を受けて、他のラボに提供する。

#### ・共用実験施設の管理業務支援

RRDに設置された共用実験施設、およびその施設内の共用研究機器の維持・管理を行う。所内のラボメンバーは、事前予約を行うことでこれらを自ら使用することができる。

#### ・技術普及支援

RRDが新規研究機材の展示会や既有機器の講習会などを企画し、神経科学をはじめとする種々の研究に必要な最新技術を理研メンバーに普及支援する。

### 実験動物、試料・データの所有権

研究支援業務としてRRDがラボから預かる実験動物、試料、ならびに支援業務の結果から得られた有体物およびデータの所有権は、別途取り決めがない限り、依頼者のラボに属する。上記の試料等ならびに紙・電子媒体などのあらゆるデータは、一定期間RRDにおいて保管した後、または依頼元ラボが閉鎖された場合には、それらを廃棄抹消する(但し、ヒトゲノム・遺伝子解析をはじめヒト由来資料に関するデータは別扱いとする)。

## 支援業務、施設並びに機器などの整備

RRDの制度や設備等における大規模な変更は、CBS運営会議で審議の上、決定される。

### 研究技術支援

ラボからの要望、研究環境の変化、RRD体制の変化などに応じて適宜見直しを行う。

### 大規模な施設と共用機器などの整備

1. 必要に応じて、共用機器の購入・更新についてのアンケート調査を行う。
2. 購入希望順位をつけ、可能な限り購入候補機器のテスト試用を行う。
3. 予算額・共用性・必要性などを考慮して、CBS運営会議で購入機器を最終決定する。

## RRDの利用者

RRDはCBS内の組織であるため、主な利用者はCBSメンバーであるが、施設、機器、人員等の状況が許す限り、全理研メンバーを対象とする。また一部の研究技術支援は、理研外からの利用も可能とする。

### <理研内>

CBS外のラボに対しても、CBS内と同様の支援を提供する。  
実際に、CBS外の多くの理研メンバーがRRDの諸サービスを利用している。

### <理研外>

アカデミア・営利企業を含む外部機関への支援を提供している。

## 支援業務の利用料

### <理研内>

RRDの運用経費は、主にCBS運営交付金によって賄われる。RRD支援業務利用には、利用料（受益者負担金）が課せられる。利用料の仕組みは以下のとおりである。

### 利用料の算出根拠:

料金は支援業務に費やした消耗品費、機器などの保守費、人件費（技術費）を基本として算出する。現状では、一部の支援業務を除き、支援業務に要する総費用（但し、大規模な施設整備費、機器購入費、人件費の一部、水道光熱費等は含めない）の約46%（2024年度実績）を受益者負担金として回収している。

### 利用料の外部資金による支払い:

支援業務の殆どの料金は外部資金で支払うことができる。

### 利用料の請求:

理研内と外部連携（共同研究）については、四半期毎（動物飼育費および1月～3月は月毎）に各ラボの担当者にメールで通知する。各ラボの担当者は請求書と明細書をシステムより確認できる。

## <理研外>

外部の方がご利用の場合は、最先端研究プラットフォーム連携 (TRIP) 事業推進室が行う「TRIP外部共用・基盤研究支援」事業制度を利用する。

詳細は、下記URLにて確認。

<https://trip-r-coms-openfacility.riken.jp/guide.html>

### 利用料の算出根拠:

理研の規程により後払いで、基本料金に間接経費（一般管理費）を加算した金額を利用料とする。基本料金は、支援実施のための実費（消耗品費、器材の維持・管理費、および技術費（人件費））より算出している。これとは別に、試料、成果（データ、有体物など）の授受に要する費用（荷造り料、送料等）は全て依頼者負担となる。

### 利用と支払いの流れ:

1. 問い合わせフォームより依頼  
<https://riken-cbs.form.kintoneapp.com/public/rrd-contact>
2. RRDより依頼内容について確認後に、打ち合わせ等を行って支援実施の可否を判断
3. 支援可能と判断された依頼者は、以下のサイトの「利用案内」にある「申込書類」より必要書類をダウンロードして、TRIP事業事務局宛へ提出  
<https://trip-r-coms-openfacility.riken.jp/guide.html>
4. TRIP事業事務局の利用審査を受けて結果が可能な場合、RRDにて支援実施
5. 支援完了後、RRDより依頼者へ詳細データ等の返却
6. TRIP事業事務局より、納品書・請求書・外部共用利用確認書を受け取り、指定口座へ入金

## 成果の発表にあたってのお願い

今後もRRDの研究技術支援を継続するためには、研究成果への貢献が求められる。各ユニットの研究技術支援、共用実験施設、および共用機器を用いて得られた研究成果を発表する際には、「方法」、「謝辞」などにその旨を記載していただきたい。共同研究として技術支援を受けた場合は、共著としていただきたい。

センター、部門、および、各ユニットの英語名は下記のとおりである。

脳神経科学研究センター (CBS)  
RIKEN Center for Brain Science

研究基盤開発部門 (RRD)  
Research Resources Division

動物資源開発支援ユニット (ARD)  
Support Unit for Animal Resources Development

生体物質分析支援ユニット (BMA)  
Support Unit for Bio-Material Analysis

機能的磁気共鳴画像測定支援ユニット (fMRI)  
Support Unit for Functional Magnetic Resonance Imaging

電子顕微鏡技術支援ユニット (EMT)  
Support Unit for Electron Microscopy Techniques

(記入例)

註) ユニット名 (###) には上記の英語名を記載。

### 1. Materials and Methods [スペースに余裕がある場合]

XXX was analyzed using the YYY at the Support Unit for ### in RIKEN Center For Brain Science, Research Resources Division (RRD).

### 2. Acknowledgments [必ず記述]

#### i) Methodsに利用したユニットの記載がない場合

We are grateful to the Support unit for ###, RIKEN CBS Research Resources Division, for technical help with XXX service.

We thank the Support Unit for ###, RIKEN CBS Research Resources Division, with special thanks to Ms. YY and Mr. ZZ for XXX analysis.

#### ii) Methodsに利用したユニットの記載があり、担当スタッフの貢献度が高い場合

We thank Ms. XX for technical assistance with YYY.

#### iii) RRDのいくつかのユニットを利用した場合

We thank the staff of Research Resources Division, RIKEN Center for Brain Science, for generation of AAA mice and analysis of ZZZ.

### 3. 利用したユニットのスタッフが共著者となる場合

所属は、Support Unit for ###, Research Resources Division, RIKEN Center for Brain Science

# 研究基盤開発部門(RRD)

※現段階で外部へ提供できる支援は、☆印のみとなります。

部門長 上口裕之 (M.D., Ph.D.)

## 動物資源開発支援ユニット(ARD) ユニットリーダー 新美君枝 (D.V.M, Ph.D.)

|        |  |
|--------|--|
| 動物実験施設 | - 哺乳動物実験施設(マウス・ラット・ウサギ・マカサル・マーモセット・特殊動物)<br>- 水生動物実験施設(ゼブラフィッシュ) |
|--------|--|

### 哺乳動物

|        |  |  |  |
|--------|--|--|--|
| 研究技術支援 | <ul style="list-style-type: none"> <li>- 胚操作</li> <li>- CRISPR/Casシステムを用いた遺伝子改変マウス作製</li> <li>☆抗体作製</li> <li>- 動物健康管理</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- コンジェニックマウス作製</li> <li>- 子宮内エレクトロポレーション</li> <li>- 動物実験の実施に関わる指導・補助</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- トランスジェニックマウス作製</li> <li>- マウス・ラットのSPF化</li> </ul> |
|--------|--|--|--|

|            |                                 |                |
|------------|---------------------------------|----------------|
| 共用実験施設及び材料 | - マウス・ラット解析施設・処置室<br>- マウス系統の共有 | - 特殊動物飼育用レンタル室 |
|------------|---------------------------------|----------------|

|      |                       |
|------|-----------------------|
| 外部連携 | - 「TRIP外部共用・基盤研究支援」事業 |
|------|-----------------------|

### ゼブラフィッシュ

|        |   |  |   |
|--------|---|--|---|
| 研究技術支援 | <ul style="list-style-type: none"> <li>- 胚操作</li> <li>- CRISPR/Casシステムを用いた遺伝子改変フィッシュ作製</li> <li>- ゼブラフィッシュ健康管理</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- トランスジェニックフィッシュ作製</li> <li>- 精子凍結保存</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- ノックアウトフィッシュ作製</li> </ul> |
|--------|---|--|---|

|            |        |           |                    |
|------------|--------|-----------|--------------------|
| 共用実験施設及び材料 | - 飼育施設 | - 遺伝子注入装置 | - ゼブラフィッシュ系統の保存と提供 |
|------------|--------|-----------|--------------------|

|      |                      |
|------|----------------------|
| 外部連携 | - ナショナルバイオリソースプロジェクト |
|------|----------------------|

## 生体物質分析支援ユニット(BMA) ユニットリーダー 宮坂信彦 (Ph.D.)

|        |  |   |   |
|--------|--|---|---|
| 研究技術支援 | <ul style="list-style-type: none"> <li>☆ DNA配列解析(プラスミド抽出, 前処理, 配列解析)</li> <li>☆ 遺伝子微量定量解析</li> <li>- FANTOM3クローンの分与</li> <li>☆ ペプチド合成</li> <li>- 実験器具洗浄</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>☆ バイオアレイ解析</li> <li>☆ 質量分析</li> <li>☆ タンパク質精製</li> <li>- 実験補助支援</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>☆ 遺伝子多型解析</li> <li>☆ 次世代シーケンス解析</li> <li>☆ アミノ酸分析</li> <li>☆ 自動細胞分取分析</li> </ul> |
|--------|--|---|---|

|                           |   |  |   |
|---------------------------|---|--|---|
| テクニカルパーソネルサポートセクション(TPSS) | <ul style="list-style-type: none"> <li>☆ 分子生物学実験</li> <li>- ウイルス作製実験</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>☆ 組織学実験</li> <li>- 科学技術プログラミング</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>☆ バイオイメージング実験</li> </ul> |
|---------------------------|---|--|---|

|        |   |   |   |
|--------|---|---|---|
| 共用実験施設 | <ul style="list-style-type: none"> <li>- 放射線管理区域 ラジオアイソトープ実験棟CBS共用実験室</li> <li>- 共用機器コーナー <ul style="list-style-type: none"> <li>・分子生物学実験室</li> <li>・組織標本作製室</li> <li>・クロマト分析室</li> </ul> </li> <li>- フリーザールーム(レンタル)</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>・遺伝子定量解析室</li> <li>・画像撮影・解析室#1, #2</li> <li>・生化学実験室</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>・P2/レベル2実験室</li> <li>・超解像顕微鏡室#1, #2</li> <li>・フローサイトメトリー室</li> </ul> |
|--------|---|---|---|

|        |              |                      |
|--------|--------------|----------------------|
| 技術普及支援 | - RRD研究用機器展示 | - 研究技術教育セミナー(BMAクラス) |
|--------|--------------|----------------------|

|      |                       |
|------|-----------------------|
| 外部連携 | - 「TRIP外部共用・基盤研究支援」事業 |
|------|-----------------------|

## 機能的磁気共鳴画像測定支援ユニット(fMRI) ユニットリーダー 岡田 知久 (M.D., Ph.D.)

|        |  |  |
|--------|--|--|
| 研究技術支援 | <ul style="list-style-type: none"> <li>☆ ヒト用MRIを用いたヒトを被検体とする測定</li> <li>- fMRI測定予備実験、トレーニング</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- 同サルを被検体とする測定</li> <li>- 倫理審査</li> </ul> |
|--------|--|--|

|      |        |                       |
|------|--------|-----------------------|
| 外部連携 | - 共同研究 | - 「TRIP外部共用・基盤研究支援」事業 |
|------|--------|-----------------------|

## 電子顕微鏡技術支援ユニット(EMT) ユニットリーダー 齊藤知恵子 (Ph.D.)

|        |  |
|--------|--|
| 研究技術支援 | <ul style="list-style-type: none"> <li>☆ アレイトモグラフィ法または集束イオンビーム加工観察によるボリュームEMデータの取得と解析</li> <li>☆ 高圧凍結法による神経微細構造解析</li> </ul> |
|--------|--|

|        |                      |          |          |              |           |
|--------|----------------------|----------|----------|--------------|-----------|
| 共用実験施設 | - Focus Ion Beam-SEM | - FE-SEM | - 高圧凍結装置 | - ウルトラマイクローム | - 画像解析用PC |
|--------|----------------------|----------|----------|--------------|-----------|

|      |        |                       |
|------|--------|-----------------------|
| 外部連携 | - 共同研究 | - 「TRIP外部共用・基盤研究支援」事業 |
|------|--------|-----------------------|

動物資源開発支援ユニット（ARD）は、信頼度が高く、質の良い実験動物を研究者に提供するために、動物実験施設の維持管理を行っている。また、その施設を利用して、動物実験に関わる諸技術や材料を研究者に提供している。動物実験に関わる様々な事務手続きに関しても支援を行う。

### 哺乳動物実験施設

#### 動物の飼育管理

動物実験施設においてはマウス、ラット、ウサギ、マカク属サル、マーモセットを飼育している。マウスおよびラット、マカク属サル、マーモセットについては微生物コントロールを行っている。なお、原則として動物の所有者はラボである。動物の飼育管理はARDが定めた動物種毎の標準操作手順書に従って行う。飼育担当者は専門業者に外部委託するが、これは競争入札によって決定される。

#### 動物実験施設

動物実験施設はARDが維持管理を行っているが、CBS外の研究者も利用している。施設利用者には、施設利用方法についてのガイダンスを実施している。

#### CBSのマウス系統の他機関への提供

CBSの各ラボにて作出された遺伝子組換えマウスは、他機関の脳科学研究にとっても有用である。そのため国内外の研究者からの要請に応じて、これらのマウス系統を外部の研究機関に提供している。

#### マウス・ラットの検疫

ARDの獣医師によって事前に導入可能と判断された外部施設由来のマウス・ラットについて検疫室で検疫を行う。検疫室では、導入した動物自身の微生物検査は1週間飼育後に、同居させたモニター動物の検査は4～6週間飼育後に実施し、その成績によって検疫結果を判定する。汚染マウスについては、受精卵移植または子宮摘出によるクリーン化を行う。汚染ラットについては、子宮摘出によるクリーン化を行う。

#### 動物実験実施に関わる指導

実験計画書作成、特に、麻酔法・外科手術法・安楽死法・使用動物数の適正化などについての指導および助言を行う。また、施設利用者の教育、訓練、施設利用マニュアルの整備、飼育マニュアルの整備、国及び県のサル飼育条令への対応、動物実験に関わる諸規定への対応などを行う。

#### 動物の健康管理

動物実験施設における動物の健康管理には、動物個体の体調を毎日見とどけるほか、動物の搬入、検疫、飼育管理など様々な角度からの注意が必要である。この観点から、ARDでは実験動物健康管理セクションを設けている。このセクションには現在獣医師4名が配置され、以下の業務を担当している。

##### 動物実験施設の獣医学的管理

マウス・ラットの健康モニタリング、マカク属サル・マーモセットの定期的健康診断、動物の疾病診断と治療・予防、動物の国内・外からの搬入並びに購入に当たっての健康証明書等の事前調査、搬入動物の検疫、動物の搬出（輸出を含む）のための健康証明書作成などを行う。

##### 動物実験施設の整備・維持・管理

飼育・実験施設の整備・管理、飼育管理面の監督、ラボの施設利用調整および利用許可（動物ケージの割り振りを含めて）、施設訪問者の資格審査などを行う。

### マウス・ラットの健康モニタリング

ARDが実施しているマウス・ラットの健康モニタリング方法は以下の通りである。モニタリングはマウス・ラットの健康維持のために極めて重要である。また、この方式はマウス・ラットを搬出する場合、搬出先に問われることがある。

マウス：各飼育室に、モニタリング用ケージを3～7個置き、各ケージに1～3匹のマウスを飼育している。モニタリングケージには、同室で飼育していた複数のケージから床敷を入れ、2週間毎に行われるケージ交換の時も同様に汚染床敷を入れる。検査には、各飼育室で3ヶ月以上飼育されたマウスを使用する。

ラット：各飼育室に、モニタリング用ケージを3～6個置き、各ケージに1～3匹のラットを飼育している。モニタリングケージには、同室で飼育していた複数のケージから床敷を入れ、毎週行われるケージ交換の時も同様に汚染床敷を入れる。検査には、各飼育室で3ヶ月以上飼育されたラットを使用する。

モニタリング動物の検査：

内部検査はARDが3ヶ月毎に行い、外部検査は（公財）実験動物中央研究所（International Council for Laboratory Animal Science Monitoring Center）に依頼し、6ヶ月毎に行う。飼育室毎のモニタリングマウス、ラット数を以下に示す。

|              |  |
|--------------|--|
| <b>内部検査：</b> | マウス：各飼育室の2個のモニタリングケージから2匹ずつのマウスをモニタリングする。<br>ラット：各飼育室の2個のモニタリングケージから1匹ずつのラットをモニタリングする。 |
| <b>外部検査：</b> | 飼育室のモニタリング用ケージで6ヶ月以上飼育されたマウス、ラットから無選択的に1匹を選んで検査に供する。                                   |

### 健康モニタリング検査成績の判定

モニタリング成績については、ARDの実験動物健康管理セクションの獣医師が検討して判定結果を出す。問題があれば飼育管理者をはじめ、関係者に指示を与えて対策を講じる。

ARDは以下の技術支援を行っている。

## マウスの胚操作

**体外受精**：成熟精子と未受精卵を培地内で受精させる。受精卵は、凍結胚にして保存または仮親に移植して産仔を得ることに用いる。

**顕微授精**：約4週齢の幼若マウスから取り出した未成熟精子を未受精卵に顕微鏡下で注入して、受精卵を得る。精子の運動能に障害がある場合でも、受精が可能である。

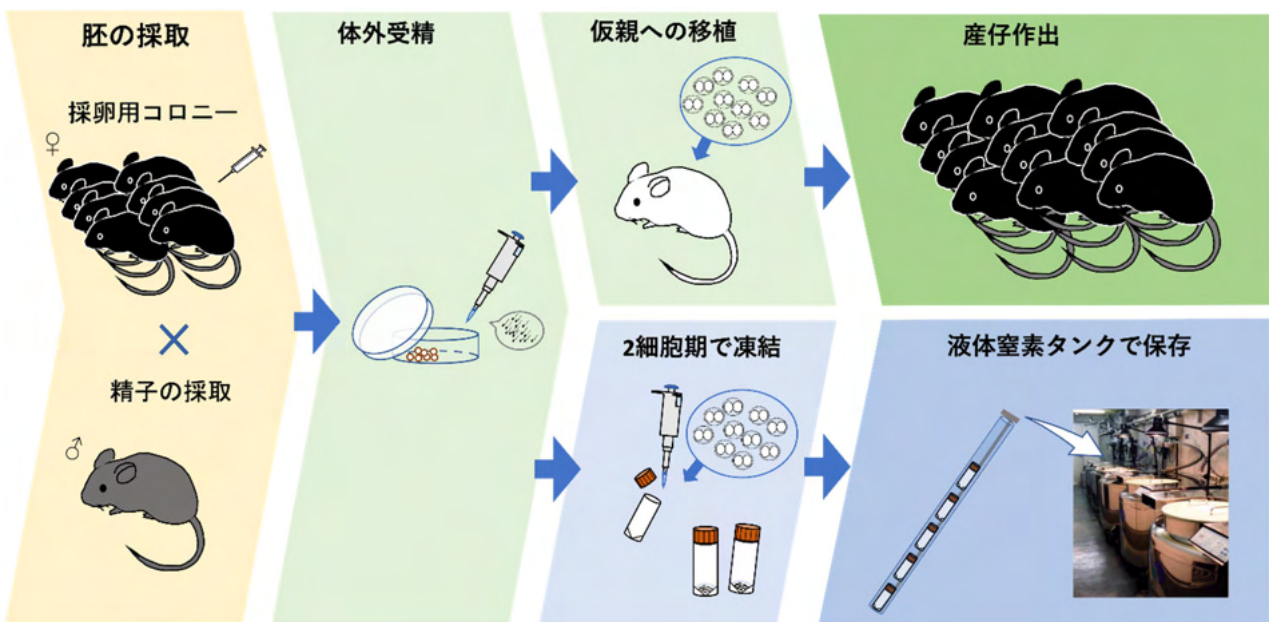
**受精卵移植**：産仔を得る為に仮親の卵管内に受精卵を移植する。これにより、SPF化や多数の個体を計画的に得ることが可能となる。

**胚の凍結保存**：個体で維持繁殖する必要がなくなった系統から得た受精卵を凍結保存する。

**精子の凍結保存**：個体で維持繁殖する必要がなくなった系統の精子を凍結保存する。

**凍結胚の個体化**：凍結保存している胚または他機関より送られてきた凍結胚を融解し、仮親へ移植して産仔を得る。

**凍結精子の個体化**：凍結保存している精子または他機関より送られてきた凍結精子を融解し、体外受精により得られた受精卵を仮親へ移植して産仔を得る。

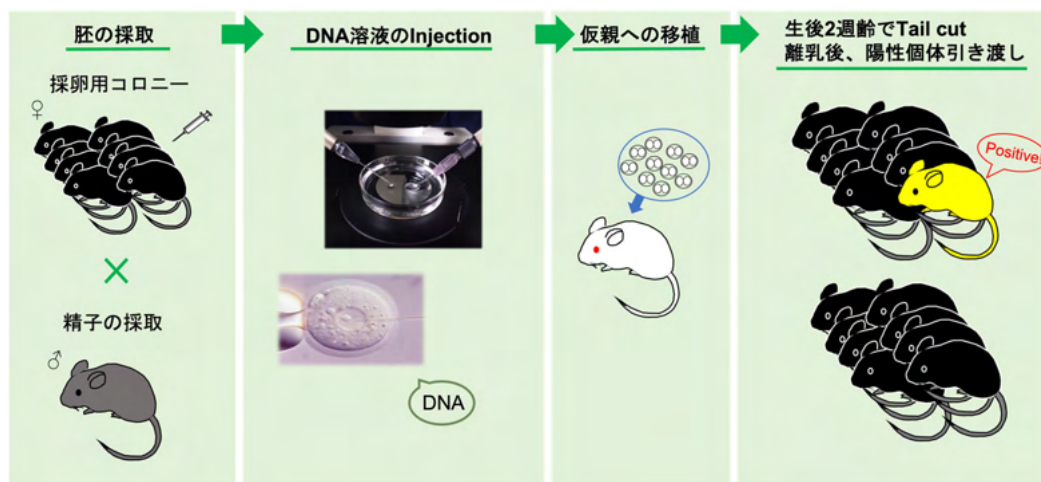


## コンジェニックマウス作製

遺伝子改変マウスの遺伝的背景をB6/J系統などに置き換えたい場合に、体外受精を行うことで自然交配の場合よりも短時間で次世代の産仔を得ることができる。依頼者の希望する世代数分の戻し交配を行うことが可能である。

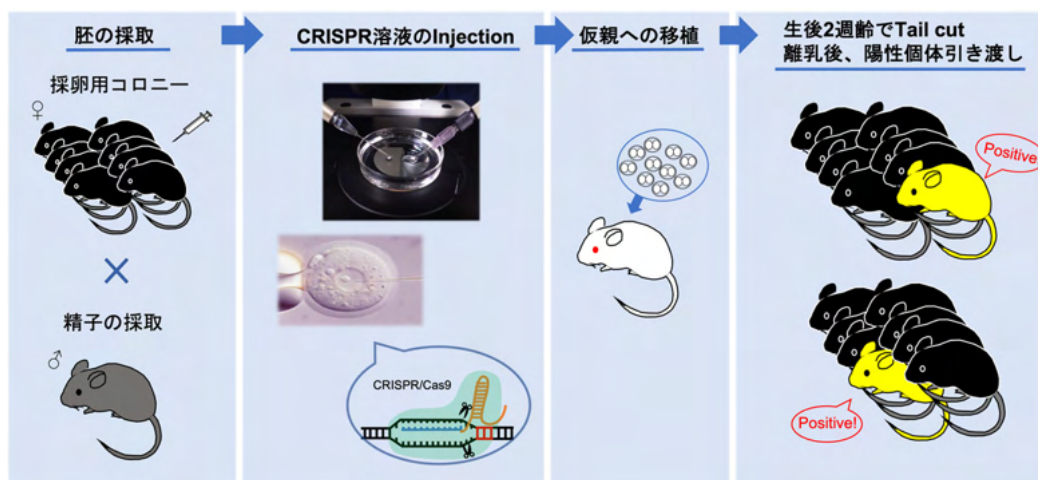
## トランスジェニックマウス作製

依頼者は、キアゲン社plasmid kitと同等以上の精製度で抽出したプラスミドを制限酵素で消化後、アガロースゲルで泳動し、導入遺伝子（トランスジーン）のみを切り出す。導入遺伝子は、キアゲン社のQIAquick Gel Extraction kitで精製しelution bufferで溶出し、最終濃度が20~50ng/μlとした溶液50μl（BACトランスジーンの場合は、1~10ng/μl濃度の溶液50μl）を用意する。ARDスタッフは、導入遺伝子を受精卵雄性前核へ顕微注入して仮親へ移植し、得られた2~3週齢仔の尾片を依頼者へ届ける。依頼者によるgenotypingの結果を受け、陽性個体を依頼者に提供する。導入遺伝子の受け取りから陽性個体の引渡しまで、おおよそ2ヶ月である。



## CRISPR/Casシステムを用いたゲノム編集マウス作製

依頼者が作製した標的配列と相補的なguide RNAとCas9 mRNA（あるいはCas9タンパク質）をマウス前核期受精卵にインジェクションし、これを偽妊娠マウスへ移植する。これにより得られた2週齢仔の尾片を依頼者に渡す。依頼者によるgenotypingの結果を受け、陽性個体を依頼者に渡す。guide RNAとCas9 mRNAの受け取りから陽性個体の引き渡しまで、おおよそ2ヶ月である。2014年度からこのサービスをスタートした。



## マウスのSPF化

受精卵移植によるSPF化: SPF化を行う系統の受精卵をSPFの仮親に移植し離乳まで哺育させる。

子宮摘出によるSPF化: 無菌的に子宮から摘出した胎児齢18～19日の胎仔をSPFの里親のもとで離乳まで哺育させる。

## ラットのSPF化

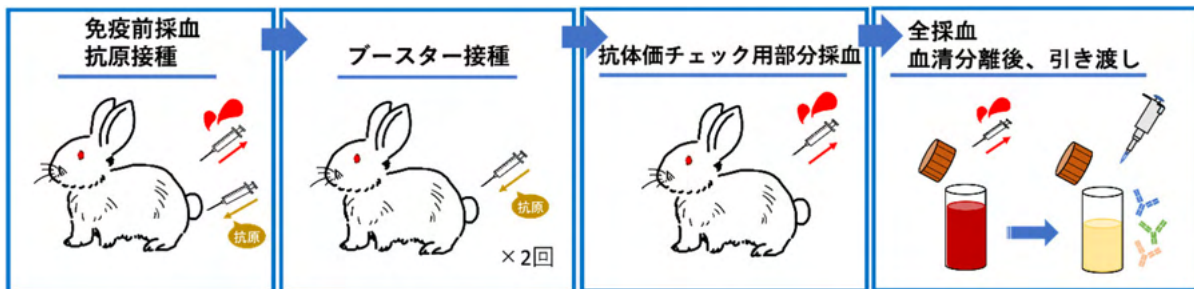
子宮摘出によるSPF化: 無菌的に子宮から摘出した胎児齢21～22日の胎仔をSPFの里親のもとで離乳まで哺育させる。

## 子宮内エレクトロポレーション(現在受付休止中)

子宮内エレクトロポレーションは、in vivoで神経前駆細胞に外来遺伝子を導入するための有力な方法である。電極をあてる脳部位および胎児の発生時期のどのタイミングでエレクトロポレーションを行うかに応じて、特定のサブセットの神経細胞を標的とすることが出来る。

## ☆ポリクローナル抗体作製

依頼者によって調製された抗原を用い、ウサギ・マウス・ラットのいずれかの動物種でポリクローナル抗体を作製する。動物種や免疫計画などは、依頼者と協議の上決定するが、免疫期間、試験採血日程など、依頼者の希望に沿うよう柔軟に対応する。オプションでELISAでの抗体価チェックを行っている。



### マウス系統の共有

CBSのラボがThe Jackson Laboratory (JAX)からこれまでに直接購入したマウス (JAX®Mice) は、CBS内で共有して使用することができる。CBSに存在するJAX®Miceの系統一覧を作成し、CBS内HPに公開している。

### マウス・ラット解析施設・処置室

行動解析施設は下記A, Bの2つに区分けされ、それぞれ利用目的、利用方法が異なる。

#### A. 共用行動解析室・処置室

**定義**：共同利用を目的とし、ARDが解析機器や処置室を整備、維持・管理する。利用は時間単位もしくは日数単位とする。

**適用場所**：脳中央棟8階、脳遺伝学棟2階および3階

**利用調整**：予約申し込み制とする。1回の予約制限は原則として15日以内

(休日は除外) とする。機器によっては長期の利用を認めるが、この場合は機器担当者  
と事前に協議する。

**料金**：時間単位ないしは日数単位で課金する。

**その他**：一部エリアでは、マウスへのウイルスベクター (P1A/P2Aレベル) の接種と、ウイルス  
接種マウスを用いた行動解析実験が可能である。

#### B. レンタル解析室

**定義**：ラボが一定期間ARDから貸与を受けて利用する (例えば、3ヶ月、6ヶ月、1年)。  
室内で利用する機器は持ち込みを含めてラボで準備する。利用期間並びに利用方法はPIと協議の上決める。

**適用場所**：脳遺伝学棟2階の共用行動解析スイート3および3階301b室

**利用調整**：利用ラボのPIとARDで協議する。

**料金**：原則はスペース料金に動物実験施設としての運用上の経費を加算する。

### 特殊動物飼育用レンタル室

脳東棟5階506室に特殊動物飼育用レンタル室を設けている。ここではマウス、ラットに加えて特殊な動物 (フェレット、ハタネズミ等) を飼育できる。飼育管理は全て利用者自身が行う。ARDにない飼育器材はラボで準備する。飼育動物は飼育室と研究室間を自由に移動できる。

マウス・ラット行動解析室一覧

| 棟          | 部屋番号    | R-COMS<br>機器ID | 行動解析機器名・施設名                    | 防音室の<br>有無         |    |
|------------|---------|----------------|--------------------------------|--------------------|----|
| 脳中央棟       | N810-1  | WC0535         | マウス長期行動リズム解析装置 (30 ch)         | なし                 |    |
|            | N810-2  | WC0536         | モーリス水迷路                        | なし                 |    |
|            | N810-3  | WC0543         | 恐怖条件付け実験装置 (2 ch)              | なし                 |    |
|            |         |                | 受動的回避反応実験装置 (8 ch)             | なし                 |    |
|            | N810-4  | WC1176         | バーンズ円形迷路                       | なし                 |    |
|            |         |                | 8方向放射状迷路                       | なし                 |    |
|            | N810-6  | WC0959         | 3-chambers 装置                  | なし                 |    |
|            |         |                | オープンフィールド実験装置 600 x 600 (4 ch) | あり                 |    |
|            | N811-1  | WC1177         | 明暗往来実験装置 (4 ch)                | あり                 |    |
|            | N811-2  | WC0544         | 驚愕反応実験装置 (4 ch)                | なし                 |    |
|            | N811-3A | WC0545         | テールサスペンション&強制水泳実験装置 (2 ch)     | なし                 |    |
|            | N811-3B |                | 高架式十字迷路 (two-maze)             | あり                 |    |
|            |         |                | Y字型迷路                          |                    |    |
|            | N811-4  | WC0547         | 超音波解析装置                        | なし                 |    |
|            |         |                | ローターロード (5 ch)                 | なし                 |    |
|            |         |                | ホールボード実験装置                     | なし                 |    |
|            | N811-5  | WC0548         | オープンフィールド実験装置 500 x 500 (4 ch) | あり                 |    |
|            |         |                | 恐怖条件付け実験装置 (2 ch)              | なし                 |    |
|            | N812    | WC0551         | 強制水泳実験装置                       | なし                 |    |
|            |         |                | 代謝ケージ                          | なし                 |    |
| 5-choice装置 |         |                | なし                             |                    |    |
| N814       | WC0552  | スキャネット12 ch    | あり                             |                    |    |
| N810-5     | WC0539  | (解剖室)          | なし                             |                    |    |
| N811-6     | WC0550  | (処置室)          | なし                             |                    |    |
| N815       | WC0554  | (処置室)          | なし                             |                    |    |
| 脳遺伝学棟      | 301c    | WC0528         | 驚愕反応実験装置 (4 ch)                | なし                 |    |
|            | 301c    | WC0541         | ローターロード (1 ch) x 2 sets        | なし                 |    |
|            | 301c-1  | WC0526         | テールサスペンション&強制水泳実験装置 (2 ch)     | あり                 |    |
|            | 301c-2  | WC0531         | モーリス水迷路                        | あり                 |    |
|            | 301c-3  | WC0532         | 恐怖条件付け実験装置 (2 ch)              | あり                 |    |
|            | 311c-1  | WC0530         | 高架式十字迷路 (single-maze)          | あり                 |    |
|            |         |                | 明暗往来実験装置 (4 ch)                |                    |    |
|            | 311c-2  | WC0527         | オープンフィールド実験装置 500 x 500 (4 ch) | あり                 |    |
|            | 311e    | WC0529         | アクティビティーセンサーシステム               | あり                 |    |
|            | 202e    | WC1016         | インテリケージ A (4 ch)               | なし                 |    |
|            |         |                | WC1017                         | インテリケージ B (4 ch)   | なし |
|            |         |                | WC1018                         | 5-choice装置 (12 ch) | なし |
|            | 309f    | WC0561         | (処置室)                          | なし                 |    |
|            | 310e    | WC0562         | (処置室)                          | なし                 |    |
|            | 311f    | WC0559         | (処置室)                          | なし                 |    |
| 202b       | WC0556  | (処置室)          | なし                             |                    |    |

### ゼブラフィッシュ実験施設の規模

この施設は2004年3月、脳池の端棟に設置された。

飼育施設は872m<sup>2</sup>であり、ここに特大タンク40個、大型タンク4,320個、中型タンク2,160個、小型タンク4,120個を備え、約20万尾のゼブラフィッシュが飼育できる。当施設では徹底した水質管理がなされ、水温は28.0～28.5℃に保たれている。

また、当施設には365m<sup>2</sup>の実験室があり、ここは胚操作室、顕微鏡室、系統保存室、遺伝子資源保存室に別れ、それぞれの目的に応じた器材が設置されている。

なお、当施設はナショナルバイオリソースの代表機関となっており、CBSの岡本客員主管研究員を代表として、我が国における有用なモデルゼブラフィッシュの収集、保存、提供などを行っている。

2018年4月から、支援業務を一部変更し、受益者負担にて支援を行っている。

### 研究技術支援業務

ゼブラフィッシュ実験施設では以下の研究技術支援を受託としてあるいは指導として行う。

#### ゼブラフィッシュの飼育管理

施設におけるゼブラフィッシュの飼育管理は、定められたマニュアルに従ってARDスタッフが行う。2018年度からは受益者負担となり、初めて水生動物実験施設を利用する際には、オリエンテーションを受講し、申請書の提出が必須である。また、飼育については別途申請書が必要。

#### ゼブラフィッシュ精子凍結

2018年度より新たに受益者負担のサービスとして開始した。系統保存等のために精子を凍結する。凍結保存の場合、1系統3～5匹の保存を推奨して行う。

#### トランスジェニック・ノックアウト・ノックイン ゼブラフィッシュ作製

インジェクション用プラスミドの構築からトランスジェニックフィッシュ作製さらには選別、系統維持までを行う。

プラスミド構築：インジェクション用プラスミドはTol2 elementを持ったベクター上にて構築する。また、改変BACs (Bacterial Artificial Chromosomes)を用いたトランスジェニック系統作成のためのベクター構築やCRISPR/Casシステムを使ったノックイン、ノックアウトのためのguide RNA及びCas9 mRNAの合成等。

インジェクション：構築したプラスミドや改変BAC・guide RNA/Cas9 mRNAをゼブラフィッシュ受精卵に注入し、飼育室にて生殖可能時（約4-5ヶ月）まで管理する。

識別：陽性個体の選別はPCR法か各種トランスジェニックフィッシュとの掛け合わせによって行う。選別後、陽性個体を維持する。

系統維持：陽性個体の系統維持、継代方法についてはARDスタッフと相談の上、実施願う。

#### 機器利用支援

施設には上記の技術支援を行うための各種機器類(行動実験, 電気生理, イメージングなど)が整備されているが、これらの機器は申し出により自由に利用できる。利用に当たってはスタッフが指導あるいは補助を行う。

## 生体物質分析支援ユニット

生体物質分析支援ユニット（BMA）では、ラボから依頼された細胞および生体物質（タンパク質・核酸・アミノ酸など）の分析・解析やペプチド合成などを研究技術支援として、またテクニカルパーソネルサポートセクション（TPSS）のスタッフによる分子生物学実験、組織学実験、バイオイメーキング実験、ウィルスベクター作製実験などをカスタマイズ技術支援として提供する。さらに理研のメンバーがいつでも利用できる共用実験施設（共用機器コーナー、放射線管理区域）の維持・管理および技術指導を担当している。共用機器コーナー（CUE）には、種々の研究に利用できる汎用性の高い研究機器、利用に専門技術が必要な研究機器、ラボでは購入が難しい高額研究機器などを用途ごとに分けて設置している。これらの共用機器を円滑に利用するため、また生体物質分析についての基礎技術普及のために、保有の研究機器の原理とその応用や関連解析ソフトウェアについての講習会、最新の研究機器および器材の展示会も開催している。

## 研究技術支援業務

### BMAにおける研究技術支援の利用に際して

#### 利用手順

利用希望者は、当ユニットのホームページから希望する業務案内を読み、支援内容、使用機器、費用などを確認すること。依頼には、「理研コアファシリティ管理システム R-COMS」を利用する。なお、必要に応じて担当者と実験計画についての事前打ち合わせを行う。

#### 稼働日

理化学研究所の就業日に稼働する。機器のメンテナンス、公式行事、年末年始などで稼働を停止する場合は、emailやホームページにて適時連絡する。

#### 解析データの保存

解析データは、原則として解析終了後5年間保管する（例外：一部の技術支援においては、ヒト由来試料の解析結果は保管しない。また5年以内でもラボが閉鎖する場合は、保管データの全てを消去する）。

#### 成果発表にあたって

BMAによる研究技術支援で得られたデータなどを研究論文などに公表する際には、「方法」や「謝辞」に当ユニットを利用した旨を記述する。また特殊な分析・解析や合成を行うなど支援の貢献度が高い場合は、担当スタッフへの謝辞や共著者とする事も考慮すること。業績登録システム（RARS）に登録後、研究成果のPDFを添えて支援担当者まで連絡する。

### 技術支援業務項目

- ・ DNA配列解析（プラスミド抽出、前処理、配列解析）
- ・ バイオアレイ解析（バイオアナライザ）
- ・ 遺伝子多型解析
- ・ 遺伝子微量定量解析
- ・ 次世代シーケンス解析
- ・ FANTOM3クローンに分与
- ・ 質量分析
- ・ ペプチド合成
- ・ タンパク質精製
- ・ アミノ酸分析
- ・ 自動細胞分取分析
- ・ 実験器具洗浄

## ☆DNA配列解析(プラスミド抽出・前処理反応・配列解析)

脳中央棟 N010/011

### 1. 支援の内容

#### プラスミド抽出

植菌済の培地容器を受領し、一晚培養後にプラスミド抽出作業を行う。

抽出はBiomek i7 (Beckman Coulter) を用い、NucleoSpin Plasmid抽出キット (Macherey-Nagel) によるアルカリ-SDS法およびシリカメンブレン法で行う。抽出フォーマットは96-wellタイプと8-wellタイプの2種類である。また、384 wellから96 wellへの分注作業も受けている。



Biomek i7  
(Beckman Coulter)

#### 前処理反応 (サイクルシーケンス反応)

プラスミドやPCR productなどをテンプレートとしてサイクルシーケンス反応を行う。GCリッチ・高次構造をもつ配列を含むサンプルの処理 (アルカリ処理) やPCRプロダクトの精製処理 (ExoSAP酵素処理) も受けている。

#### DNA配列解析 (サンガー法)

サイクルシーケンス反応後のサンプルから、過剰なBigDye Terminatorを磁気ビーズCleanSEQ (Beckman Coulter) を用いて除去する。その後、DNAアナライザ 3730xl (Applied Biosystems) を用いて泳動を行う。

3730xl  
(Applied Biosystems)

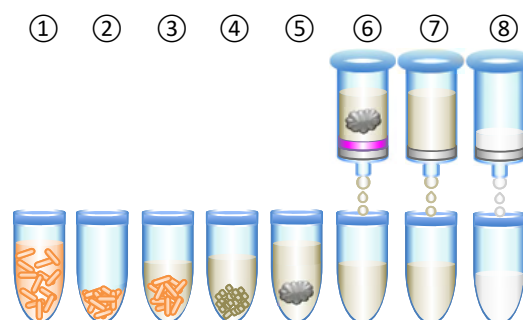


DNA配列解析業務として、プラスミド抽出からDNA配列解析までの依頼が可能である。

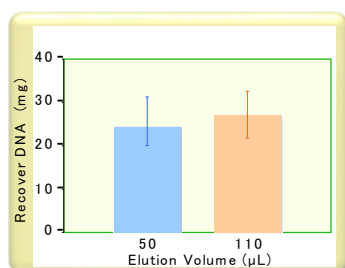
### 2. 支援の流れ:方法・結果

#### プラスミド抽出方法

- ① 植菌された培地を37°C、17時間培養。
- ② 遠心により集菌。
- ③ 菌体をResuspension Bufferに懸濁。
- ④ Lysis Bufferを加え溶菌。
- ⑤ Neutralization Bufferを加え中和。  
アルカリおよびSDSにより変性した大腸菌ゲノムDNAおよびタンパク質は不溶物となる。(アルカリ-SDS法)
- ⑥ 除去フィルターにより溶解液から不溶物を除去。
- ⑦ シリカメンブレンフィルターにプラスミドDNAを吸着。
- ⑧ Wash Bufferでシリカメンブレンフィルターを洗浄後、Elution BufferによりプラスミドDNAを溶出。



#### 抽出プラスミドの収量



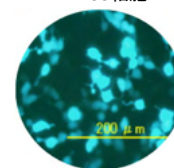
#### 抽出プラスミドの用途

- ・ DNA配列解析: 約800 bpの解析が可能
- ・ 培養細胞へのトランスフェクション

例)

大腸菌 DH5α株から96-wellキットを用いて蛍光タンパク発現プラスミドpmCyan-N1を抽出。Lipofectamine 2000 (インビトロジェン) を用いてHEK293細胞へトランスフェクションした (右図)。

HEK293細胞



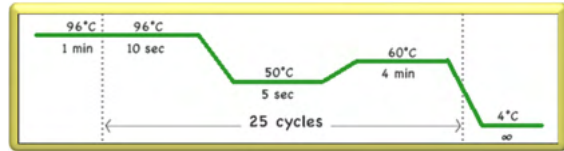
蛍光顕微鏡写真

### 前処理反応 (サイクルシーケンス反応)

#### [反応液組成]

|                                |                               |
|--------------------------------|-------------------------------|
| Sample (Template DNA + Primer) | 5.0 $\mu$ l                   |
| BigDye Terminator v3.1         | 1.0 $\mu$ l                   |
| 5 x Sequencing Buffer          | 3.5 $\mu$ l                   |
| Deionized Distilled Water      | 10.5 $\mu$ l                  |
| <b>Total</b>                   | <b>20.0 <math>\mu</math>l</b> |

#### [サイクルシーケンス反応条件]



### DNA配列解析

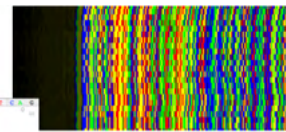
#### [サイクルシーケンス反応物の精製]

サイクルシーケンス反応により未反応BigDye TerminatorをCleanSEQを用いて除去する。

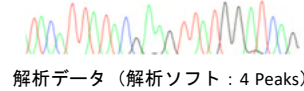


#### [泳動結果]

ACGCCGGACTTGTCC  
CTTGCGCGGAACGTA  
GAGGAG~



泳動図 (ABI3730xl)



解析データ (解析ソフト: 4 Peaks)

## ☆ バイオアレイ解析 (バイオアナライザ)

脳中央棟 S004

### 1. 支援の内容

Agilent 2100バイオアナライザを使用して、各種サンプルのDNA、RNA解析を行う。  
次世代シーケンス解析用のサンプルの品質チェック (QC) にも用いる。

### 2. 支援の流れ: 方法・結果

各ウェルにサンプルを1 $\mu$ l加える。

#### サンプル濃度

RNA Nano Chip: 25-500 ng/ul,  
RNA Pico Chip: 200-5,000 pg/ul  
DNA1000 Chip: 0.1-50 ng/ul  
高感度DNA Chip: 5-500 pg/ul

バイオアナライザーで泳動する。

**結果: Total RNAチェック**

| Overall Results for sample 3: _3D_1_fw_CP_1_Hip |  |
|---|--|
| RNA Area: 636.6                                 | RNA Integrity Number (RIN): 8.5 (8.02-8.7)                 |
| RNA Concentration: 279 ng/ul                    | Result Flagging Color: <span style="color: blue;">■</span> |
| rRNA Ratio (28S / 18S): 1.2                     | Result Flagging Label: <span style="color: blue;">■</span> |
| RIN: 8.50                                       |  |

| Fragment Table for sample 3: _3D_1_fw_CP_1_Hip |                 |               |       |                 |
|--|-----------------|---------------|-------|-----------------|
| Name   | Start Size [nt] | End Size [nt] | Area  | % of total Area |
| 18S  | 1,624           | 2,188         | 350.6 | 15.8            |
| 28S  | 3,325           | 4,371         | 136.5 | 18.3            |

自動的に18S、28S等からRIN(RNA Integrity Number: RNA品質の指標)を算出。通常7以上(Max10)で実験に用いる。

1. 支援の内容

フラグメント解析 \*

蛍光ラベルされた対象となるDNA断片をジェネティックアナライザ 3130x1または3730x1 (Applied Biosystems) を用いて電気泳動し、移動度やサイズを検出する。

ジェノタイピング

①前処理 (ゲノムDNA抽出)

Agencourt DNAdvance Kit (ベックマン・コールター)を使用し、マウスあるいはラットの尾または耳からゲノムDNA抽出を行う。その他のサンプル (セブラフィッシュの尾やヒトの爪など) のジェノタイピングにも対応している。

②前処理 (PCR) \*

蛍光標識プライマーを用い、目的DNA断片を増幅する。

③サイジング \*

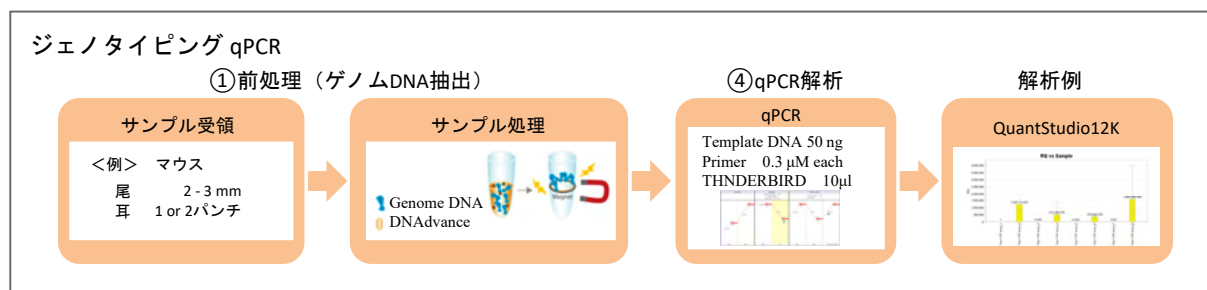
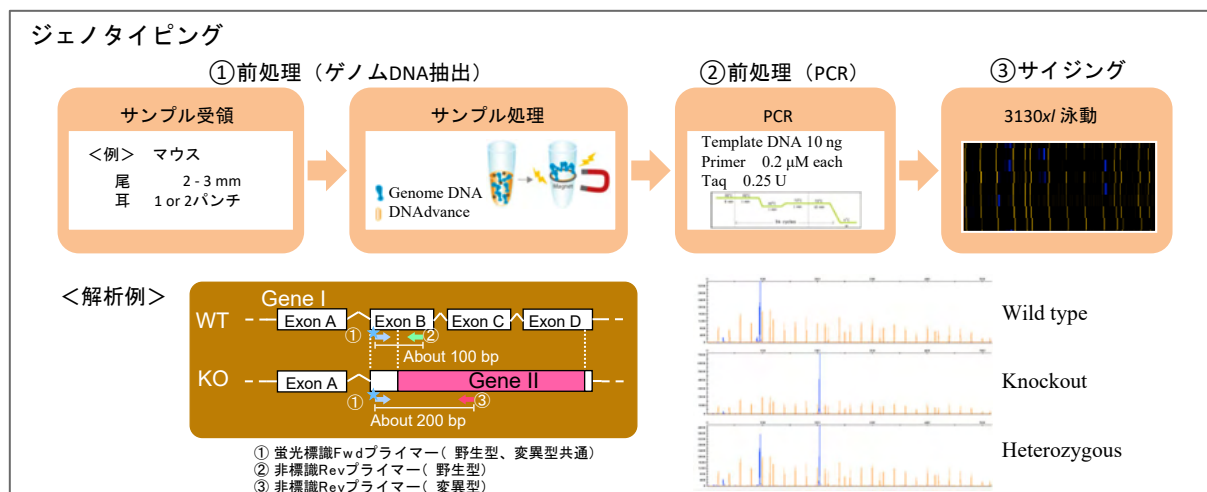
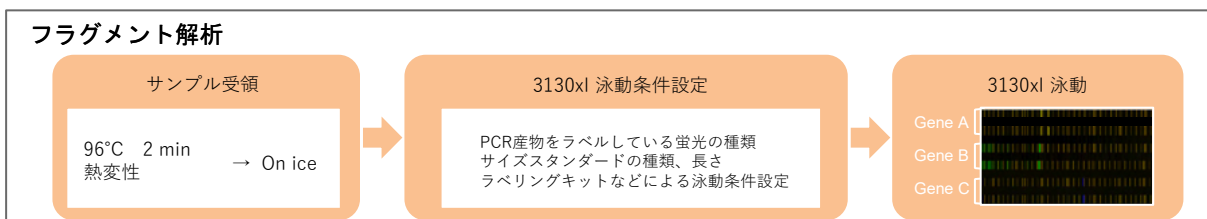
3130x1または3730x1により増幅DNA断片の泳動を行う。

④ジェノタイピング qPCR

マウステイルなどの生体試料から抽出したゲノムDNAをテンプレートとし、リアルタイムPCRシステム QuantStudio 12K Flex (Applied Biosystems) を使用してジェノタイピングを行う。

\* 解析条件が定まっていない場合は条件検討も行なっている。(有償)

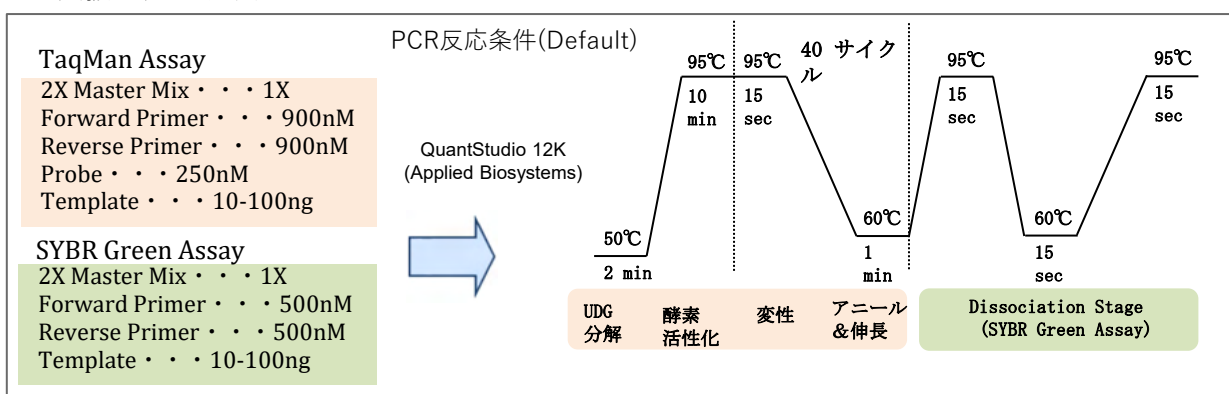
2. 支援の流れ:方法・結果



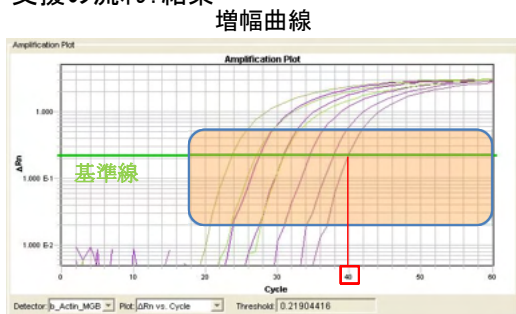
1. 支援の内容

- 標的遺伝子の発現量を定量  
cDNAサンプル、プライマー、プローブ (TaqMan Assayの場合)、Master Mixを混合した後、PCR反応で発現値を算出する。TaqMan Assay、SYBR Green Assayに対応。
- SNPのジェノタイピング  
cDNAサンプル、プライマー、2種類のプローブ、Master Mixを混合した後、PCR反応でSNPを検出。
- マウスジェノタイピング  
gDNAサンプル、プライマー、プローブ (TaqMan Assayの場合)、Master Mixを混合した後、PCR反応で発現値を算出する。TaqMan Assay、SYBR Green Assayに対応。
- SYBR Green Assayの条件検討  
ユーザーの作製したプライマーセットの非特異的産物の有無、濃度条件を検討する。

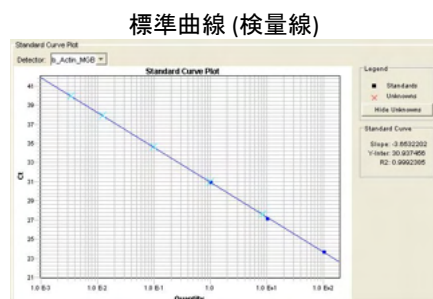
2. 支援の流れ: 方法



3. 支援の流れ: 結果



対数増殖期の中に引いた基準線との接点時のサイクル数をもとにCt値を算出する。



検量線は、増幅曲線より得られたCt値とQuantityに入力した標準サンプルの定量値の値を使用して作成する。

Result Table

| Well | Sample Name   | Detector Name | Reporter | Task     | Ct    | Quantity    |
|------|---------------|---------------|----------|----------|-------|-------------|
| 1    | Control_1/100 | GAPDH_MGB     | VIC      | Standard | 25.7  | 1           |
| 2    | Control_1/10  | GAPDH_MGB     | VIC      | Standard | 28.02 | 10 標準サンプル   |
| 3    | Control_1     | GAPDH_MGB     | VIC      | Standard | 31.68 | 100 の定量値    |
| 4    | Sample A      | GAPDH_MGB     | VIC      | Unknown  | 28.37 | 11.02 検量線より |
| 5    | Sample B      | GAPDH_MGB     | VIC      | Unknown  | 30.27 | 2.924 算出された |
| 6    | Sample C      | GAPDH_MGB     | VIC      | Unknown  | 28.02 | 10 定量結果     |

増幅曲線より算出されたCt値をもとに検量線から各サンプルのQuantityを計算。

解析例

|          | GAPDH |         | Probe A            |                    | Probe Aの相対値        |
|----------|-------|---------|--------------------|--------------------|--------------------|
|          | 測定結果  | 相対血 (X) | 測定結果 (Y)           | 補正した定量結果 (Y/X)     |                    |
| Sample A | 6384  | 1       | 0.981              | 0.981              | 1                  |
| Sample B | 8584  | 1.34    | 44.2               | 33                 | 33.6               |
| Sample C | 7430  | 1.16    | $1.93 \times 10^4$ | $1.66 \times 10^4$ | $1.69 \times 10^4$ |

1. GAPDH (内部標準) の定量結果からRNA量の誤差を求める。
2. ProbeAの定量結果を1で求めた誤差で補正する。
3. 補正されたProbeAの定量結果をもとに、サンプル間の相対値を計算する。

反応後のPCR産物を熱処理し解離させ、その後冷却しアニールさせる。ゆっくり温度を上げてゆき、その間の蛍光をモニタリングする。非特異的な産物が含まれると複数のピークが生じるので、産物の特異性を確認することができる。(SYBR Green Assayのみ)

1. 支援の内容

・前処理

Agilent社製SureSelectなどを用いて Genome DNA からExonなど解析に必要な部分を濃縮し、次世代シーケンス用ライブラリー(Illumina用)を作製する。他のアプリケーションにも対応している。  
(実績例: Whole Genome、ChIP-Seq、Methyl-Seq、RNA-Seq、1細胞シーケンス[Quartz-Seq2]等)

・MiSeqを用いたシーケンス解析

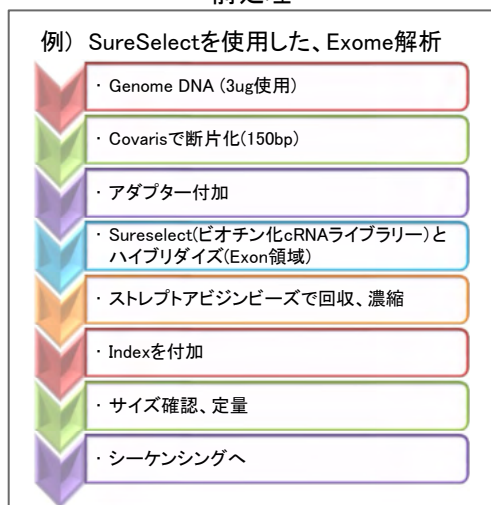
BMAでは、MiSeqを用いたシーケンスのみを行う。Illumina用シーケンスライブラリーをMiSeqでクラスター形成、シーケンス、FASTQファイル作成をする。

・連携支援 次世代シーケンス解析支援

打ち合わせからQCまでをRRDで行い、シーケンスは外部委託する。NovaSeq、HiSeq Xに対応している。

3. 支援の流れ: 方法・結果

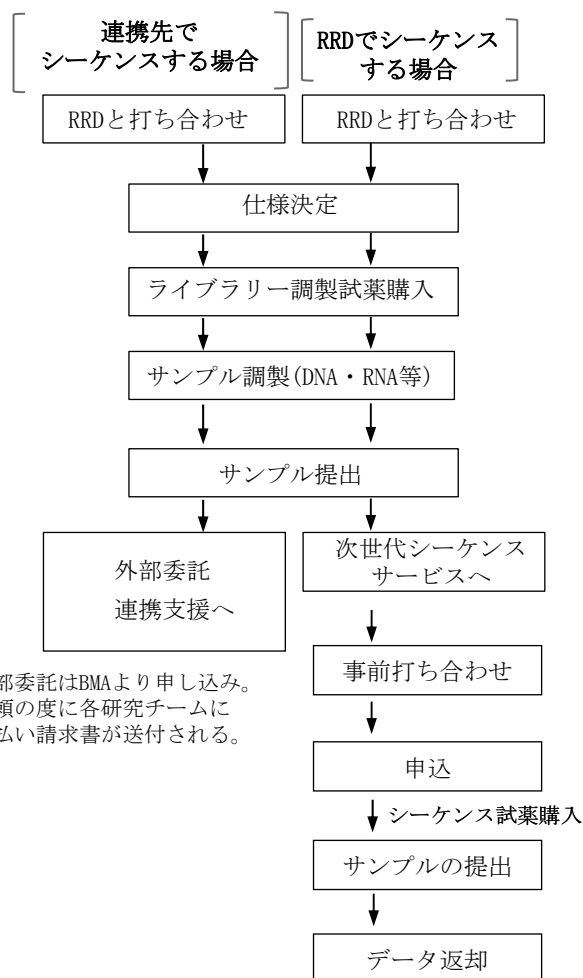
・前処理



・シーケンス解析 (BMAでシーケンスする場合)



2. 支援の流れ: ユーザーの手順



外部委託はBMAより申し込み。依頼の度に各研究チームに支払い請求書が送付される。



断片化装置(Covaris)



次世代シーケンサー MiSeq

・シーケンス解析 (連携支援でシーケンスする場合)

- ・ 打ち合わせ時に使用するキット等を決める。
- ・ BMAでライブラリー調整。各種アプリケーションに対応。  
(Exome、RNA-Seq、ChIP-Seq、Methyl-Seq等)
- ・ QCはBioanalyzer、MiSeqを使用して行う。
- ・ 定量にはKAPAを使用。
- ・ 外部委託先でQC後にシーケンス

1. 支援の内容

理研の生命医科学研究センターが中心となり全世界11ヶ国/45ヶ所の研究機関が共同で行ったマウスゲノムの研究展開『FANTOM (Functional ANnotation Of the Mouse)』において、完全長cDNAを網羅的に収集したマウスの約102,000個のFANTOM3クローンが作製された。これらをRRDで維持し、各ラボに分与する。

利用上の注意点

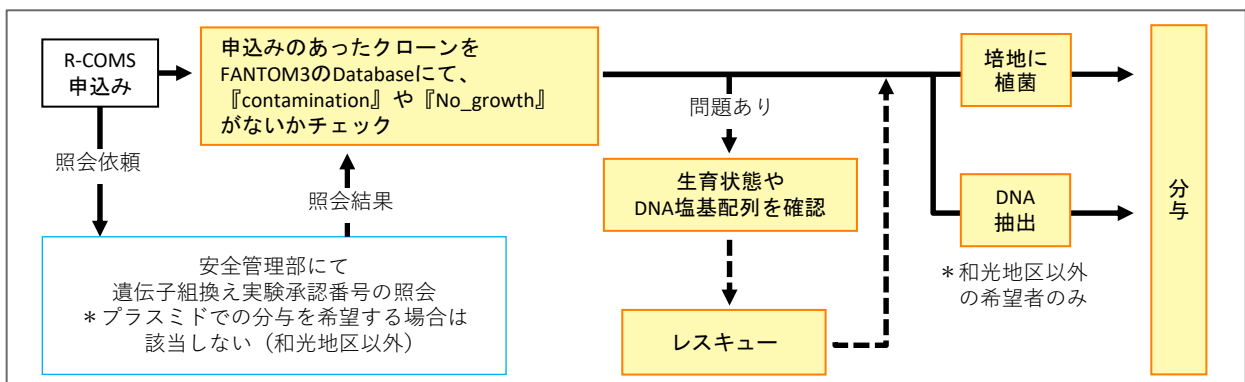
2021年4月より同意書・誓約書は不要となった。  
以下を遵守のこと。

- (1) FANTOM3クローンを利用した研究の成果を発表する場合には、FANTOM3クローンを利用したことを記載し、参考文献として下記の論文を投稿しようとするジャーナルの指定する形式で引用して、謝辞を表明する。

The FANTOM Consortium, P. Carninci et al, The Transcriptional Landscape of the Mammalian Genome, Science, 309, 1559-1563 (2005).

- (2) FANTOM3クローンの使用目的は、理研内の研究に限定する。
- (3) FANTOM3クローンを第三者に移転してはならない。
- (4) 理研の使用者が、以下の①又は②の形態でFANTOM3クローンを使用する場合は、理研からFANTOM3クローンの外部ユーザーへの頒布に係るライセンスを受けている、株式会社ダナフォームより、有償にて入手するものとする。
  - ① 理研に身分を持つが、本務先は他のアカデミア機関（大学、研究機関）や企業である者が、理研の事業所外で、FANTOM3クローンを使用する場合
  - ② 理研の使用者が、他のアカデミア機関（大学、研究機関）や企業と共同研究を行い、その枠組みの中でFANTOM3クローンを使用する場合

3. 支援の流れ:方法・結果



1. 支援の内容

各種化合物の質量測定

マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析計 (MALDI-TOF)、またはエレクトロスプレーイオン化 Orbitrap 型質量分析計 (ESI-Orbitrap) を用いて、低分子化合物からタンパク質まで幅広い化合物の質量測定を行う。

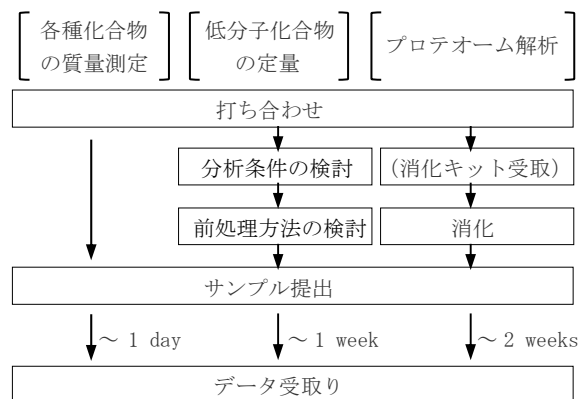
低分子化合物の定量

LC-MS/MS (三連四重極型質量分析計) を用いた Multiple Reaction Monitoring (MRM) 法により、多様な低分子化合物 (代謝物、医薬品、有機酸、アミノ酸など) を高感度かつ高選択的に定量する。

プロテオーム解析

nanoLC-MS/MS (Orbitrap 型質量分析計) を用いて、タンパク質の網羅的同定および翻訳後修飾解析を高感度・高精度に行う。さらに、安定同位体標識法やラベルフリー法による比較定量解析にも対応しており、各種手法を用いたタンパク質間相互作用および複合体解析も行う。

2. 支援の流れ:ユーザーの手順



3. 支援の流れ:方法・結果

各種化合物の質量測定

ESI mass spectrum of Myoglobin (QExactive)

MALDI mass spectrum of peptide mixture (autoflex)

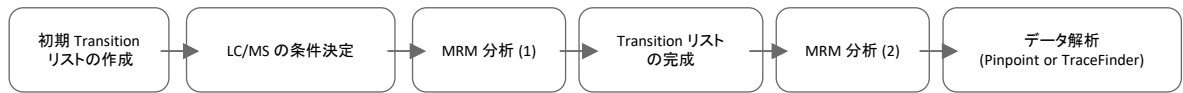
QExactive

autoflex

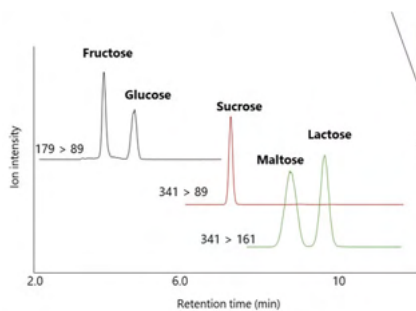
- 検出感度は、fmol-pmol オーダーが目安である。
- 塩、界面活性剤等の使用は極力避ける。必要に応じて、濃縮脱塩チップによる処理を行う場合がある。

低分子化合物の定量

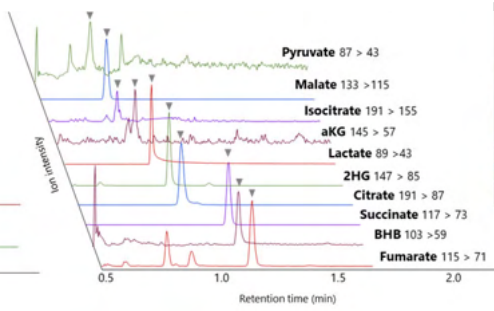
-Multiple Reaction Monitoring (MRM) 法-



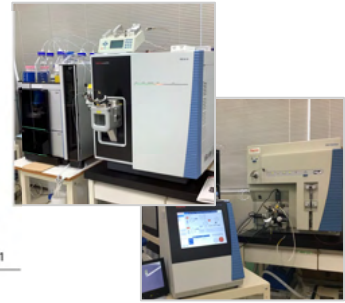
Saccharides



TCA cycle metabolites



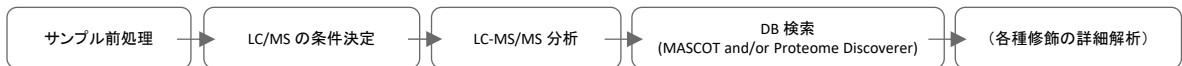
Vanquish UHPLC + TSQ Altis



Easy-nLC 1200 + TSQ Vantage

- 定量対象化合物のみを選択的に検出をするため、大変感度の高い手法である。
- メソッド作成済みの化合物はすぐに定量が可能。
- 新規化合物の定量には、試料の前処理方法や測定条件の検討 (Transition の決定を含むMethod 開発 など) が必要である。

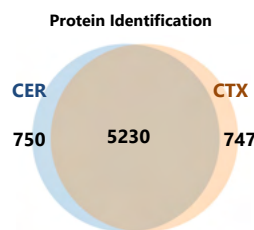
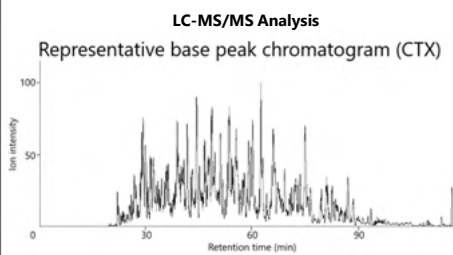
プロテオーム解析



- 網羅的タンパク質同定 (DDA によるグローバルプロテオーム解析)
- 各種修飾解析 (アセチル化、メチル化、リン酸化、ユビキチン化、脂質修飾などの翻訳後修飾、蛍光標識、化学修飾など)
- 多検体間の比較定量解析 (安定同位体標識法: iTRAQ/TMT、SILAC、<sup>18</sup>O/ラベルフリー法: DDA、DIA)
- タンパク質間相互作用および複合体解析 (免疫沈降などのアフィニティ精製法、近位依存性ビオチン化法、クロスリンク法)

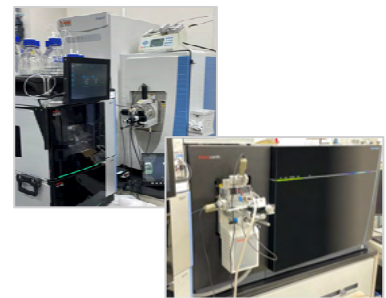
- 網羅的タンパク質同定 -

Comparison of Specific and Ubiquitous Protein Expressions between Mouse Brain Regions, Cerebral Cortex (CTX) and Cerebellum (CER)



Total of 6727 proteins were identified from triplicate samples of the two brain regions.

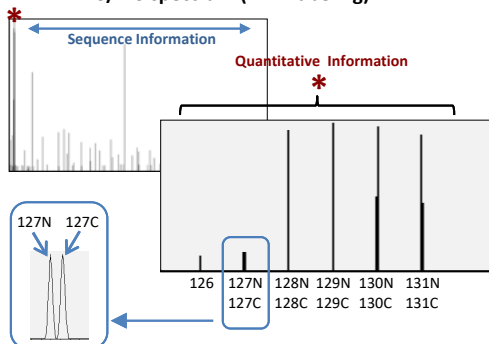
Vanquish Neo + QExactive



Vanquish Neo + Orbitrap Eclipse

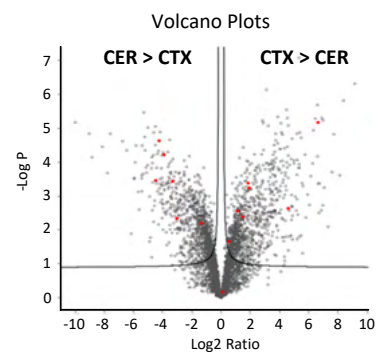
- 比較定量解析 -

Stable isotope labeling method  
MS/MS spectrum (TMT labeling)



Label-free method (LFQ)

Comparison of Protein Expression between CTX and CER



1. 支援の内容

ペプチド合成

自動ペプチド合成装置を用いて固相合成法によりペプチドを合成する。品質は逆相液体クロマトグラフィーおよび質量分析 (MALDI-TOF/MS) により測定する。粗ペプチドまたは凍結乾燥した精製ペプチドを依頼者に提供する。ペプチド精製のみの依頼も可能。

修飾

キャリアタンパク質 (KLHまたはBSA) を架橋する事により、抗原ペプチドを作製する。

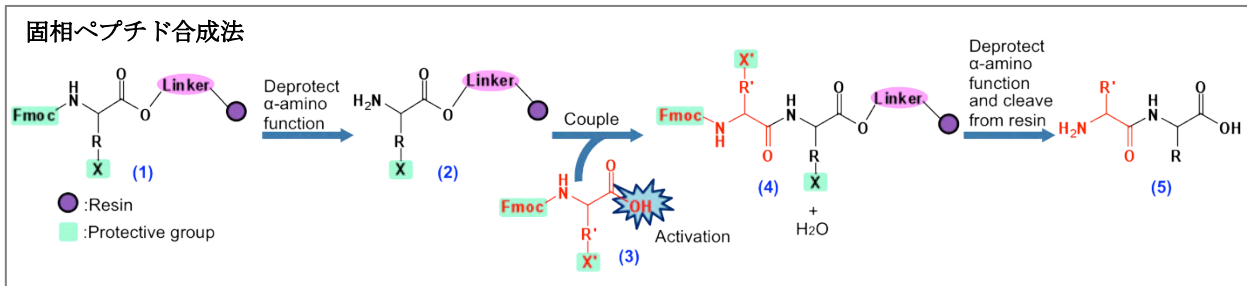
N末端 : Free, Ac, Fmoc 等

C末端 : Free, NH<sub>2</sub>, Resin 等

特殊合成

31残基以上の長鎖ペプチド、250 μmol合成、ペプチドのビオチン化、蛍光化、環状化、または非天然アミノ酸、リン酸化アミノ酸などを多数含むペプチドを合成する。

2. 支援の流れ: 方法・結果



**合成**

自動ペプチド合成装置を使用し、C末端側から順番にアミノ酸を伸長して、ペプチドを合成する。合成スケールや配列により装置を使い分ける。

433A

Liberty Blue

MultiPep CF & MicroColumn

**ペプチド分析**

目的のペプチドは、HPLCで分離・分取して精製品とする。粗ペプチドおよび精製ペプチドの品質は、HPLCとMALDI-TOF/MSを用いて確認する。

**Chromaster**

**microflex**

Crude peptide

HPLC

MS

MS

Purified peptide

HPLC

MS

MS

**HPLC conditions:**  
 Column, Inertsil ODS-3 (250 x 4.6 mm I.D.)  
 Mobile phase, 1-51% CH<sub>3</sub>CN (contg. 0.1% TFA)  
 Flow rate, 1.0 mL/min

Column temp., 25°C  
 Analytical time, 50 min  
 Detection, UV at 215nm

## ☆タンパク質精製

脳中央棟 C013

### 1. 支援の内容

#### 抗体精製

AKTA(Cytiva(旧GEヘルスケア))を用いて、ペプチド抗体の精製を行う。

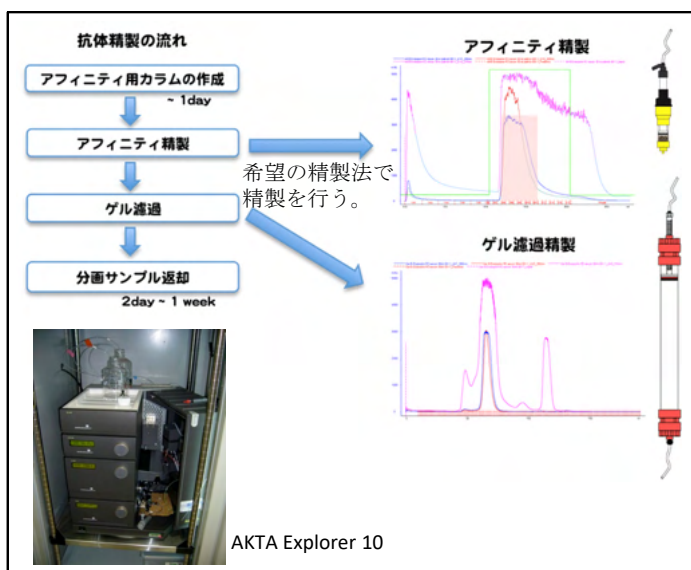
#### 生体内タンパク質の精製

生体試料(脳、細胞、血清など)から特定のタンパク質精製を行う。タンパク質は精製データと共に返却する。

#### 標的タンパク質の精製

組み換えタンパクの分離、His-tag融合タンパク、GST融合タンパク、IgG抗体、セリンプロテアーゼ精製も可能である。

### 2. 支援の流れ:方法・結果



## ☆アミノ酸分析

### 1. 支援の内容

アミノ酸組成分析や神経伝達アミノ酸およびモノアミンの定量分析を高速液体クロマトグラフ装置とそれぞれに最適な手法と検出器を組み合わせる。クロマトグラムと分析結果を返却する。脳透析液中のアミノ酸やモノアミン測定にも対応する。

#### ・ニンヒドリン法- アミノ酸成分分析

ポストカラム法を用いて、遊離アミノ酸、アミノ糖、タンパク質の加水分解物の分析を行う。

#### ・蛍光法-神経伝達アミノ酸分析 (OPA法, カラムスイッチング法)

プレカラム法を用いて、脳組織抽出液、髄液、血液、および脳透析液からグルタミン酸、アスパラギン酸およびGABAなどアミノ酸の定量分析を行う。

#### ・電気化学検出法-モノアミン分析

電気化学検出法を用いて、脳組織抽出液、髄液、血液、および脳透析液からモノアミン(ノルアドレナリン、ドーパミン、セトロン)とその代謝物などの定量分析を行う。



ニンヒドリン法 アミノ酸成分分析



蛍光法 神経伝達アミノ酸分析 (OPA法, カラムスイッチング法)

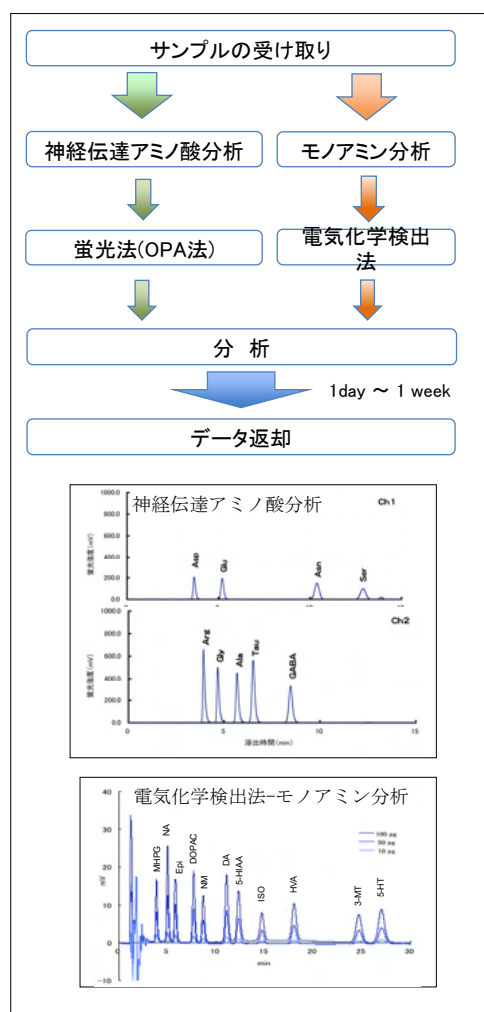


電気化学検出法 モノアミン分析

### 2. 支援の流れ

脳中央棟 C013

蛍光法-神経伝達アミノ酸分析  
電気化学検出法-モノアミン分析

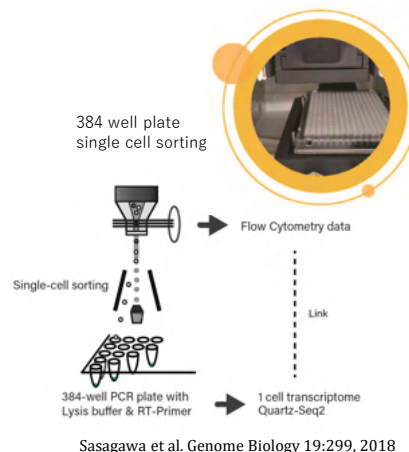


## ☆自動細胞分取分析

### 1. 支援の内容

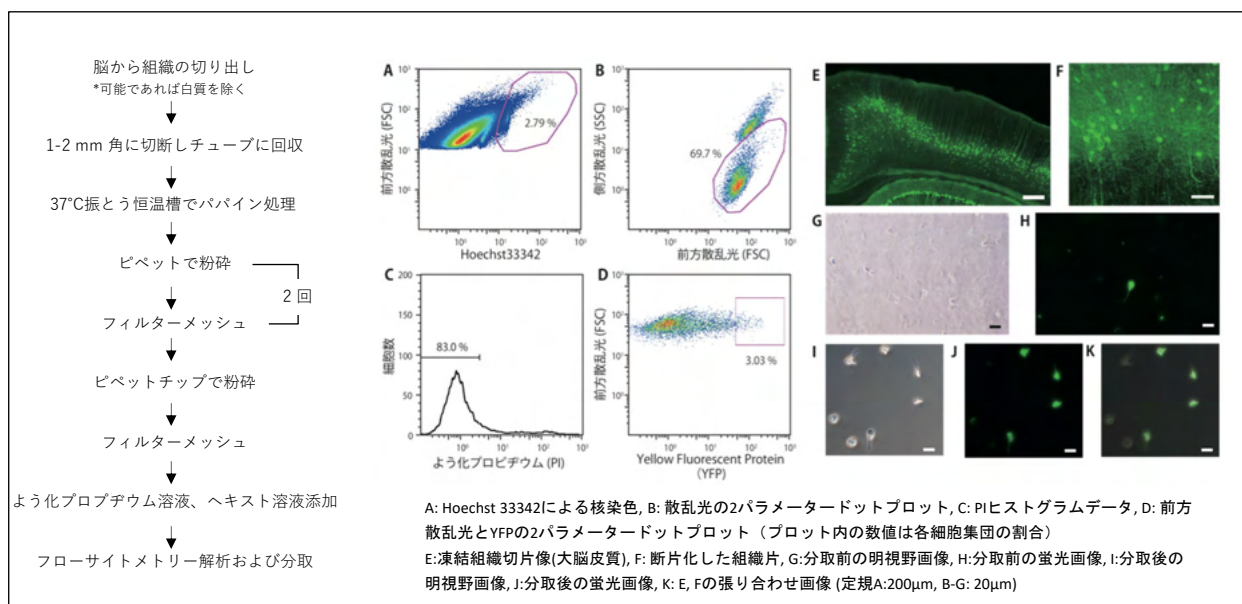
- ・混在する細胞群の中から、蛍光標識された特定の細胞をセルソーター FACSria (BD社製) を用いて分取分析し、分取した細胞を返却する（必要に応じ、蛍光顕微鏡で撮像した画像データも返却する）。1度に4種類の細胞集団を分取することが可能である。
- ・一細胞解析に有用なインデックスソーティングに対応可能。
- ・分取後の純度など得られたデータは、フローサイトメトリー (FCM) 解析専用ソフトウェア FlowJo (BD社製) にて解析する。

脳中央棟 S008



### 2. 支援の流れ:方法・結果

脳組織を用いたFCM用サンプル調整の流れとYFP発現マウスを用いたFCM分取分析例（文献より転載）



文献) 生体の科学 62(2) 165-170, 2011

## 実験器具洗浄

脳中央棟 S001

### 1. 支援の内容

- ・CBS脳中央棟：研究に使用したガラス器具の洗浄を行う。実験をよりスムーズに進められるように乾熱滅菌、高圧蒸気滅菌（オートクレーブ）も行う。
- ・CBS全棟：ピペットのチップ詰め替えおよび高圧蒸気滅菌(オートクレーブ)を行う。

### 2. 支援の流れ:方法・結果

- ① 洗剤液を用いて超音波洗浄を行う。洗剤には、無リン中性洗剤(2%スキヤット20X-N)を使用する。
- ② 手作業(市水)に続き、自動洗浄機による流水水洗(市水→セントラル純水\*)を行う。  
\*セントラル純水とは、活性炭→逆浸透膜(R0モジュール)→イオン交換(EDI装置)処理した純水である。
- ③ 洗浄した器具類を乾燥させ、アルミホイルで口栓をする。
- ④ 乾燥後、以下の何れかの条件で滅菌を行う。  
註：熱処理を必要としない場合は、申込時に知らせてください。

## 技術支援業務において使用している主要機器

2025年6月25日現在

| 機器名                   | メーカー                        | 型番   | 設置室            |
|-----------------------|-----------------------------|--|----------------|
| DNA配列解析               |                             |  |                |
| DNAシーケンサー             | アプライドバイオシステムズ               | 3730xl   | 脳中央棟 N011      |
| 自動分注ロボット              | ベックマン・コールター                 | Biomek i7  | 脳中央棟 N010      |
| 遺伝子微量定量解析             |                             |  |                |
| リアルタイムPCRシステム         | アプライドバイオシステムズ               | 7900HT, QuantStudio 12K                            | 脳中央棟 C011      |
| 遺伝子多型解析               |                             |  |                |
| 遺伝子解析システム             | アプライドバイオシステムズ               | 3130xl, 3730xl                                     | 脳中央棟 N011      |
| 自動分注ロボット              | ベックマン・コールター                 | Biomek i7  | 脳中央棟 N010      |
| バイオアレイ解析              |                             |  |                |
| バイオアナライザ              | アジレント                       | Agilent 2100 Bioanalyzer                           | 脳中央棟 S004      |
| 次世代シーケンス解析            |                             |  |                |
| 次世代シーケンサー             | イルミナ                        | MiSeq  | 脳中央棟 C011      |
| 質量分析                  |                             |  |                |
| MALDI TOF/TOF型質量分析装置  | ブルカーダルトニクス                  | autoflex   | 脳中央棟 S002      |
| Orbitrapトライブリッド質量分析装置 | サーモフィッシャー<br>サイエンティフィック     | Orbitrap Eclipse                                   |                |
| Orbitrap質量分析装置        |                             | Q Exactive   | 脳中央棟 S002/N008 |
| 三連四重極型質量分析装置          |                             | TSQ Altis/Vantage                                  |                |
| 微量分析用高速液体クロマトグラフ      |                             | Vanquish Neo                                       |                |
| 超高速液体クロマトグラフィー        |                             | Vanquish UHPLC                                     |                |
| ロボットイオン源              | Advion Interchim scientific | TriVersa NanoMate                                  | 脳中央棟 N008      |
| ペプチド合成                |                             |  |                |
| ペプチド合成機               | サーモフィッシャー<br>サイエンティフィック     | 433A Peptide Synthesizer                           | 脳中央棟 S003      |
|                       | CEM Corporation             | Liberty Blue                                       |                |
|                       |                             | MultiPep CF  |                |
| 高速液体クロマトグラフ           | 日立ハイテクノロジーズ                 | L-7450他  |                |
|                       | GLサイエンス                     | Chromaster, UV702他                                 |                |
| MALDI TOF型質量分析装置      | ブルカーダルトニクス                  | microflex  | 脳中央棟 C013      |
| タンパク質精製システム           | Cytiva                      | AKTA explorer10S Frac-950,<br>AKTA prime           |                |
| アミノ酸分析                |                             |  |                |
| 高速アミノ酸分析計             | 日立ハイテクノロジーズ                 | L-8900   | 脳中央棟 C013      |
| 高速液体クロマトグラフ           | 島津製作所                       | LC-10Avp   |                |
|                       | エイコム                        | 700 シリーズシステム                                       | 脳中央棟 N004      |
|                       | エイコム                        | HITEC-500  |                |
| 自動細胞分取分析              |                             |  |                |
| フローサイトメトリーシステム        | ベクトン・ディッキンソン                | FACSaria II SORP,<br>FACSaria SORP, FACSymphony A3 | 脳中央棟 S008      |

## テクニカルパーソネルサポートセクション (TPSS)

BMAでは、2018年10月より新たにカスタマイズ技術支援を提供するテクニカルパーソネルサポートセクション (TPSS) を発足し、専門技術員を配置した。本支援では、従来の研究技術支援よりもさらにラボの要望に寄り添った技術サポートを目指している。例えば、ラボにおけるルーティン実験では、ラボの実験プロトコルを用いて実験を代行する。また、ラボに備えがない実験技術ではアドバンスド技術支援として、その実験技術に精通したTPSSスタッフが実験および測定装置のオペレーターなどを行う。さらに、ラボが新たに開発した技術を他のラボへ普及するために、ラボから技術移転を受けた新規の支援を他のラボへ提供することも試みる。

### TPSSによるカスタマイズ技術支援の利用に際して

#### 利用手順

1. 初めてTPSSによる支援を利用する場合は、利用者とTPSSの担当者およびBMAユニットリーダーが参加する支援内容や実験スケジュールなどを含む実験計画の打ち合わせから開始する。
2. 依頼には「理研コアファシリティ管理システム R-COMS」を利用する。アップロードする申込書は、上記のウェブサイトからダウンロードが可能である。

#### 稼働日

完全登録制で、理化学研究所の就業日に稼働する。

#### 解析データの保存

解析データは、原則として解析終了後5年間保管する。但し一部の技術支援においては、ヒト由来試料の解析結果は保管しない。また5年以内でもラボが閉鎖する場合は、保管データの全てを消去する。

#### 成果発表にあたって

TPSSを用いて得られたデータなどを研究論文に公表する際には「方法」や「謝辞」に当支援を利用した旨を記述する（ページ3参照）。また研究成果への貢献度が高い場合は、担当スタッフへの謝辞や共著者とする事も考慮すること。

### 技術支援業務項目

#### 分子生物学実験

- ・新規プラスミドの作製と増幅
- ・空間トランスクリプトーム解析

#### 組織学実験

- ・脳定位固定下でのAAVマイクロインジェクション
- ・各種組織染色および画像撮像

#### バイオイメーjing

- ・TissueCyteを用いたマルチセクションング画像撮影

#### ウィルスベクター作製

- ・アデノ随伴ウィルスベクター作製
- ・レンチウィルスベクター作製
- ・狂犬病ウィルスベクター作製

#### 科学技術プログラミング

- ・実験装置の自動化
- ・実験データの解析

## ☆TPSS: 分子生物学実験 (プラスミドの作製と増幅)

脳中央棟 C010

### 1. 支援の内容

- プラスミド作製  
新規プラスミドの構築をサポートする。元になるプラスミドDNAを提出してもらい、希望の方法で遺伝子の組換え、再構築をおこなう。デザインからの相談も受け付ける。
- プラスミド増幅  
大腸菌からプラスミドDNAを必要量増幅・精製する。  
精製はQIAGENのキットを使用。カラムサイズ別の収量の目安は以下の通り。  
Miniprep : ~20  $\mu$ g Midiprep : ~100  $\mu$ g Maxiprep : ~500  $\mu$ g

### 2. 支援の流れ:方法・結果

<手順>

依頼者から提出してもらった挿入遺伝子とベクターを依頼者の希望した組換え方法で組換える  
↓  
依頼者の希望した方法でセレクションをおこなう  
↓  
必要に応じてシーケンス解析をおこなう (BMA技術支援DNA配列解析に依頼)  
↓  
希望した収量に増幅・精製する  
↓  
希望があればグリセロールストックを作製する  
↓  
DNA濃度を測定  
↓  
作業報告書と最終産物の受け渡しをする

## ☆TPSS:分子生物学実験 (空間トランスクリプトーム解析)

脳中央棟 C011

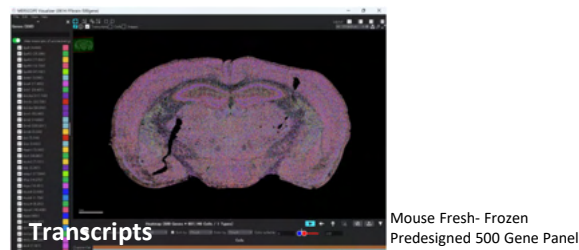
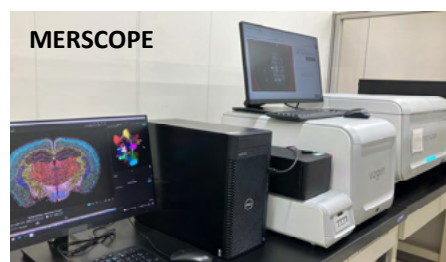
### 1. 支援の内容

高解像度 in situ 空間ゲノミクス解析システム  
MERSCOPE を用いて、空間トランスクリプトーム解析をおこなう。

### 2. 支援の流れ:方法・結果

<手順>

組織スライドの作製  
サンプルのRNA品質チェック  
↓  
MERSCOPEサンプル検証  
↓  
プローブの設計・注文  
↓  
プローブハイブリダイゼーション  
↓  
ゲル包埋・クリアリング  
↓  
DAPI/PolyT染色  
↓  
MERSCOPEイメージング  
↓  
データ処理・クラスター解析  
↓  
データ返却



## ☆TPSS: 組織学実験(組織染色および画像撮像)

脳中央棟 C005

### 1. 支援の内容

1. 灌流固定
2. 切片作製 (凍結サンプル、未凍結サンプル)
3. 各種染色  
(免疫染色、In situ ハイブリダイゼーション、Nissl、Hematoxylin/Eosin染色など)
4. スライドガラスへのマウンティング
5. 観察、撮影 (RRD CUE デジタルスライドスキャナー等使用)

### 2. 支援の流れ:方法・結果

<切片作製時の様子>



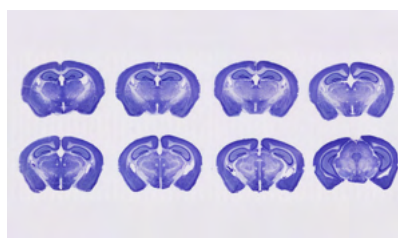
YAMATO  
リトラトーム  
REM-700

フリージングマイクロトーム

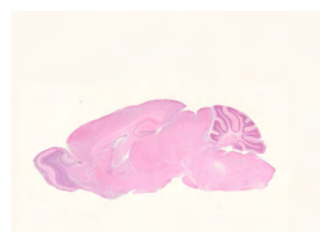
<手順>

依頼者から受け取ったサンプル、試薬、プロトコールを使用し、中央棟C005で実験、もしくは依頼を受けた研究室で実験。

<染色例>



Nissl 染色



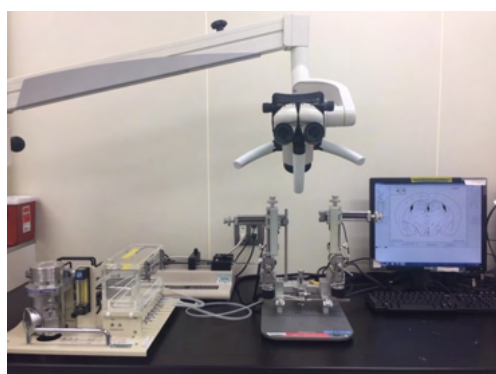
HE 染色

## ☆TPSS: 組織学実験(AAVマイクロインジェクション)

脳中央棟 N815, 遺伝学棟311f

### 1. 支援の内容

Angle Two Dual Stereotaxic/ Mouse (Leica) を使用し、マウスの脳内に AAVインジェクションを行う。(AAV以外のウイルスベクター、神経トランスフェクター、薬物などの注入も可能)



Leica Angle Two Dual Stereotaxic/ Mouse

### 2. 支援の流れ:方法・結果

<手順>

ガラスキャピラリー作製 (Sutter, Micropipette puller P-97)  
↓  
テフロンチューブ片側にガラスキャピラリーを装着し、Angle Twoのアームにセット。反対側をハミルトンシリンジに装着し、シリンジポンプにセットする  
↓  
マウスを麻酔にかけ、脳定位固定装置に固定  
↓  
マウスの頭部を切開し、頭蓋骨を露呈  
↓  
Angle Two を起動する  
↓  
顕微鏡下で確認しながら、脳の高さを調節  
↓  
Targetの位置を確認し、頭蓋骨に穴を開ける  
↓  
AAVをキャピラリー先端から吸い上げ、Targetに合わせる  
↓  
AAV注入  
↓  
キャピラリーを引き抜き、縫合  
↓  
麻酔を止め、固定装置から外し、ケージに戻す

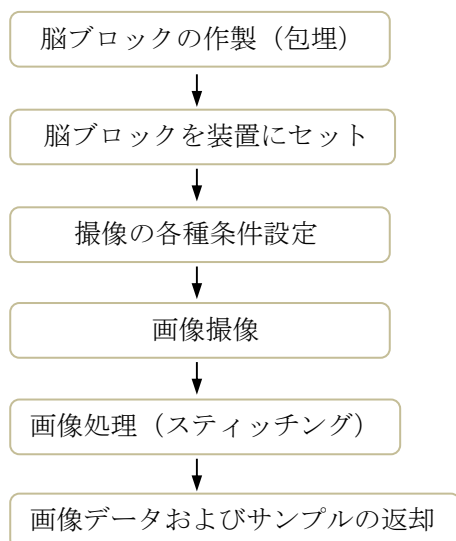
## 1. 支援の内容

TissueVision社 TissueCyte 1400FC を使用し、マウス、ゼブラフィッシュなどの小動物の脳を高性能ビブラトームでXY方向に自動セクションングしながら、各断面を二光子レーザー顕微鏡で広範囲の蛍光画像として撮像を行う。

Ragan, T., et al. (2012). Serial two-photon tomography for automated *ex vivo* mouse brain imaging. *Nat. Methods* 9, 255-258.

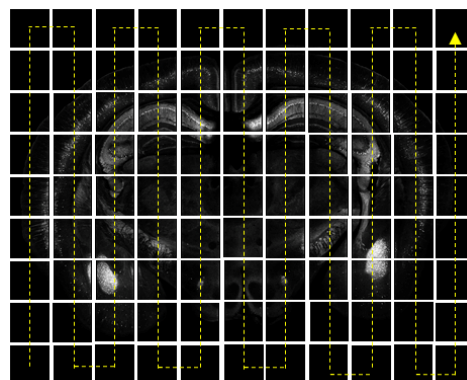
## 2. 支援の流れ: 方法・結果

<手順>

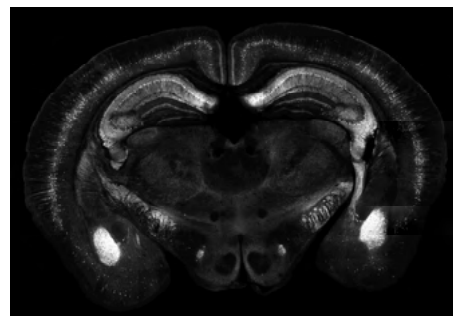


TissueCyte 1400FC

<撮像例: B6.Cg-Tg(Thy1-YFP)HJrs/J >



↓ TissueCyte  
スティッチングソフトウェア



↓ 3D 構築  
(Image J)



## ・アデノ随伴ウイルスベクター (AAV)

### 1. 支援の内容

- ・カスタムメイドのAAVを提供する (P1レベル)。
- ・AAV作製に関する技術相談に応じる。

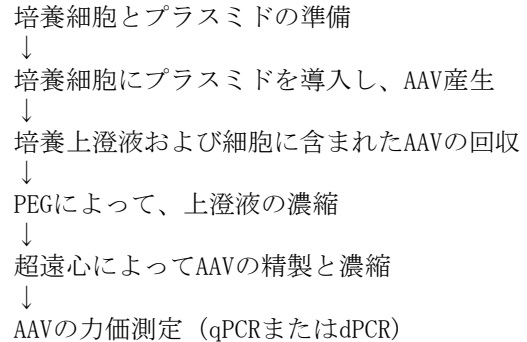
依頼者が希望するAAVの受託作製を行う。

- AAVのセロタイプ
- AAVに発現させる遺伝子
- 力価 (gc/mL)と分量(μL)

※AAVに発現させる遺伝子を持つプラスミドは、依頼者が用意する。  
希望するセロタイプによっては、必要なプラスミドを依頼者が用意する。

### 2. 支援の流れ:方法・結果

AAV作製実験は、安全キャビネット内で操作を行う。



## ・狂犬病ウイルスベクター (RV)

### 1. 支援の内容

- ・カスタムメイドのRVを提供する (P2レベル)。
- ・RV作製に関する技術相談に応じる。

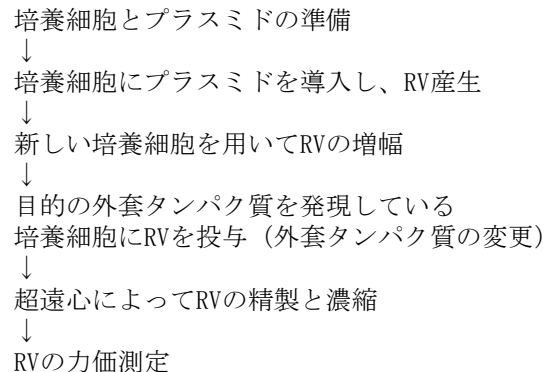
依頼者が希望するRVの受託作製を行う。

- RVの株および外套タンパク質
- RVに発現させる遺伝子
- 力価 (IU/mL)と分量(μL)

※全ての培養細胞とプラスミドは、依頼者が用意する。

### 2. 支援の流れ:方法・結果

RV作製実験は、安全キャビネット内で操作を行う。



## ・レンチウイルスベクター (LV)

### 1. 支援の内容

- ・カスタムメイドのLVを提供する (P2レベル)。
- ・LV作製に関する技術相談に応じる。

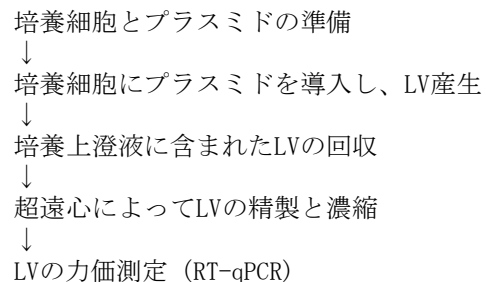
依頼者が希望するLVの受託作製を行う。

- LVの外套タンパク質
- LVに発現させる遺伝子
- 力価 (gc/mL)と分量(μL)

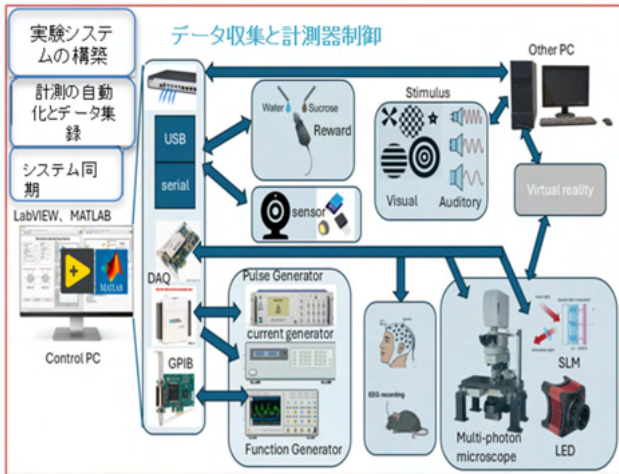
※全てのプラスミドは、依頼者が用意する。

### 2. 支援の流れ:方法・結果

LV作製実験は、安全キャビネット内で操作を行う。



データ収集と計測器制御 : ヒトや動物実験などで使用されるさまざまなデバイス (数値や画像データ収集、電気、光や音などの刺激を出力するデバイス、計測器、信号発生器、光学顕微鏡など) をコンピュータによって制御することによる連動した実験システムの構築にあたり、特にLabVIEWやMATLABを用いる実験システムのプログラミングにサポートを提供。また、**実験用バーチャルリアリティシステム**の制御プログラムやスクリプトの作成や実験システムとデータ集録システムとの同期に関するサポートを行う。



### 実験用バーチャルリアリティシステム

東部固定状態での光学イメージング  
 現実には作成することが困難な刺激や空間の作成  
 様々な形、装飾、テクスチャーや光条件を安易に変更  
 様々な種類の動物に対応  
 様々なゲームエンジン (Unity など) によるバーチャル空間の作成  
 VR用の制御プログラムやスクリプトの作成  
 光学顕微鏡やその他の実験装置との同期と連動

Linear tracks for mouse and adult zebrafish  
 Takamura et al., Journal of Neuroscience, 2021  
 Torjoe et al., Nature Communications, 2021

実験データ解析 対処トピック例 (相談によりこれら以外にも対応可能)

### 顕微鏡画像から細胞の自動検出とトラッキング

### 行動実験データ

動物追跡 (リアルタイムあるいはオフライン)  
 マーカーなしの位置推定 (深層NNIによる)  
 軌道解析  
 タスク学習率 (学習グラフ)  
 行動データとイメージングデータの同期  
 Transfer Entropyによる因果関係の解析  
 動物間のアトラクションの計算によるソーシャルな行動の解析  
 ナビゲーション、ゴールへの持続性などの計算

Cheng et al., Cell Reports, 2020

### カルシウムイメージングデータの解析

カルシウムイメージングデータのプレ修正 (Registration)  
 自動細胞検出のためのアルゴリズム開発  
 細胞の活動信号を抽出し PCA, ICA, NMF などによる集団的な活動パターンの検出  
 神経細胞の時間と空間的な特徴を検出 (場所細胞、リワード細胞、Time Cell など)

Sato et al., Cell Reports, 2020  
 Kobayashi et al. Scientific reports, 2019  
 Torjoe et al., Nature Communications, 2021

### 脳波 (EEG) データ

EEG データの前処理 (フィルタリング、イベントプロセッシング、Epoch 分割、アーチファクト検出など)  
 周波数領域での解析 (周波数バンド) 時間周波数解析、ウェーブレット変換  
 事象関連電位 (ERP) 解析  
 特徴抽出と機械学習による分類

Valenzi et al., Journal of Biomedical Science and Engineering, 2014  
 Esposito et al., Behavioral Brain Research, 2015

## 共用実験施設

BMAでは共用実験施設として、脳中央棟B1Fおよび1Fに設置した共用機器コーナーの維持・管理、および施設と共用機器利用に関する初期教育や利用説明を行っている。

### 共用機器コーナー(CUE)

#### 1. 支援の内容

脳中央棟に共用機器コーナー(CUE)が設置されている。ここには汎用あるいは専門性の高い共用機器がその用途によりまとめられ、整備されている(B1F:10室、1F:1室)。利用はオンラインによる予約制であり、利用者登録をするとこれらの実験室にアクセスし、共用機器と作業スペースを利用できる。作業スペースには、シェーカー、パーソナル遠心機、ボルテックスミキサーなど汎用小型機器も用意されている。

#### 2. 利用手順および支援の流れ

##### ・利用者

利用者は、理研IDカードを持ち、管理者であるRRD生物物質分析支援ユニットリーダー（以下「UL」）が許可した者とする。

##### ・利用申請の手順

R-COMS（理研コアファシリティ管理システム）にて共用機器コーナー利用登録が必要である。また利用開始にあたり、施設管理担当者によるガイダンスを実施する（原則として毎週木曜日）。なお、安全管理に特別な注意を払う必要がある実験を行う場合は、事前に安全管理部への手続きをすること。

##### ・利用期間

利用申請者は、新規申請の承認日より次年度の年度更新承認日の前日まで利用を許可される。年度更新手続きはBMAからラボの予算管理者および利用者へ連絡する。

##### ・利用条件

1. 承認後、利用者は同施設にあるすべての機器を利用できる。ただし、安全管理に注意を払う必要のある実験を行なう場合は、安全管理部へ申請又は届け出を行い、それが承認又は受理されている必要がある。また、実験実施にあたっては、各自で該当する安全管理上のルールを厳守することが求められる。詳細は利用登録申請についてのHPを参照。
2. 機器は利用者自らが操作する（機器の利用説明および維持管理は、BMAの機器アドバイザーが担当する）。機器利用者は機器が共同利用であることを認識し、各機器の利用マニュアルに従って利用すること。一部の機器は機器アドバイザーあるいはメーカーによる初期講習が必要である。詳細は機器アドバイザーに相談すること。
3. 利用は年間登録制(有料)である。また、年間保守契約を結んでいる機器や高価な共用消耗品を用意している機器に関しては別途受益者負担金を課している。その他の利用料が無料の機器に関しては、試薬などの消耗品は利用者のラボ負担となる。
4. 各実験室には、サンプル調製等の作業スペースが設置されている。また、使用中の試薬や溶媒の一時保管が可能である。ただし、実験廃棄物は利用者へ各ラボへ持ち帰ってもらう（クロマト分析の廃液、P2/レベル2実験の培養液廃液など例外を除く）。
5. 実験室内にあるPCには各自のデータを保存せず、BMAが用意した記録媒体でラボへ持ち帰る。その記録媒体は必ずWindows PCで初期化して返却すること。
6. 機器の故障があった場合は、速やかに担当機器アドバイザーへ連絡すること。故障の原因が明らかに利用者にある場合は所属ラボに弁償してもらう。

- ・利用時間  
制限はない。B1Fの各実験室の鍵はキーボックスで、1Fの各実験室の鍵はIC錠によって管理されている。
- ・利用予約  
機器利用はオンライン予約制である。理研コアファシリティ管理システム（R-COMS）を用いて、事前に利用予約すること（実験室内の共用PCでも予約・変更可能）。
- ・利用記録  
利用者は各機器に備え付けのノートに必要事項（利用者名、ラボの略名など）を記載すること。1年以上全く利用のなかった機器は、CUEから除外する対象となるので注意する。

### 3. 実験室名

2025年4月1日現在

- ・分子生物学実験室（N002）  
超微量分光光度計、バイオシェーカー、安全キャビネットが整備され、生細胞イメージング装置や遺伝子導入装置などを用いたP1、P1A（*C. elegans*に限る）、P2レベルの遺伝子組換え実験が可能である。
- ・遺伝子定量解析室（C011）  
リアルタイムPCRシステムをはじめ遺伝子を微量定量するための装置や卓上型次世代シーケンサーが整備されている。
- ・P2/レベル2実験室（S009）  
遺伝子組換え実験P1、P2レベルおよび微生物等取扱レベル1、レベル2のサンプル調整ができる。また、組み換え体やウイルス産生細胞などの長期培養が可能である。
- ・組織標本作製室（C004）  
自動あるいは手動でパラフィン包埋から切片作製まで行なえる。凍結マイクロームや遺伝子銃も整備されている。
- ・画像撮影・解析室 #1（N003）  
ベンチトップ型の蛍光顕微鏡と共焦点顕微鏡やスライドスキャナーなど汎用な画像解析装置が整備されている。ゲルやメンブレンなどのUV、蛍光、および化学発光を検出するイメージング装置もある。
- ・画像撮影・解析室 #2（C107, 1F）  
高倍率の撮像やタイリングが可能な共焦点レーザー走査型顕微鏡が整備されている。NeuroLucidaもここで利用できる。
- ・超解像顕微鏡室 #1（N005-1）  
STED光による超解像イメージングが可能な共焦点レーザー顕微鏡が整備されている。高感度検出器（HyD）と自由な波長で励起できるホワイトライトレーザーなどが利用できる。
- ・超解像顕微鏡室 #2（C012-1）  
高速ライブセルイメージングが可能なスピニングディスク型超解像共焦点顕微鏡と格子構造照明超解像顕微鏡が整備されている。CO<sub>2</sub>インキュベータとクリーンベンチも利用できる。
- ・クロマト分析室（N004）  
各種液体クロマトグラフィーが整備されている。神経伝達モノアミン一斉分析、高感度ドーパミン・セロトニン分析、アミノ酸（グルタミン酸、GABA）およびアセチルコリンの分析ができる。タンパク質やペプチドの分取・分析も可能である。

- 生化学実験室 (N005)  
マイクロプレートリーダー、凍結乾燥機、濃縮遠心機など、生化学研究に必要な汎用機器が整備されている。Biacore、NanoSightなどの目的が特殊な装置もある。
- フローサイトメトリー室 (S008)  
フローサイトメーター (FCM)と解析ソフトウェア、FCM用のサンプル前処理が可能な自動磁気細胞分離装置が設置されている。室内には、BMAの技術支援専用の機器もある。
- その他利用可能な機器  
CBS共用機器として質量分析室 (C308-2)、マイクロダイアリシスサンプリング機器など、共用機器コーナー以外で利用可能な機器もある。

#### 4. 機器リスト

- ◆ 別途受益者負担金が必要な機器には (\*)を記した。単価については、価格表を参照。
- ◆ 下記のリストに機器IDのある機器は、R-COMSを用いた利用予約が必要である。
- ◆ 安全管理に注意を払う必要のある実験(遺伝子組換え実験、動物実験、微生物等、人を対象とする研究、麻薬・向精神薬)が行える実験室には制限がある。詳細は、下記のウェブサイト「利用できる実験室と実験内容の制限について」を参照すること。

<https://rbs-common.riken.jp/rrd/cominstru/subaJpn/procedure/procomj.html>

2025年4月1日現在

| CUE実験室名<br>(部屋番号)  | 機器ID#        | 機器名                    | メーカー                            | 型式                                  |
|--------------------|--------------|------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|
| 分子生物学実験室<br>(N002) | WC0735       | 生細胞解析システム*             | Sartorius                       | Incucyte® SX5 HD/3CLR               |
|                    | WC0739       | CO2インキュベータ             | Thermo Fisher SCIENTIFIC        | Forma Steri-Cycle i160              |
|                    | WC0730       | 安全キャビネット               | Thermo Fisher Scientific        | Thermo Fisher Scientific 1300       |
|                    | WC0731       | オートクレーブ                | TOMY                            | LBS-245                             |
|                    | WC0095       | 冷却遠心機                  | Thermo Fisher Scientific        | Solvall Legend X1R                  |
|                    | WC0072       | 低速多本架遠心機               | TOMY                            | LC121                               |
|                    | WC0031       | サーマルサイクラー              | Applied Biosystems              | GeneAmp® PCR System9700             |
|                    | WC0732       | 微量分光光度計                | Thermo Fisher Scientific        | NanoDrop One <sup>®</sup>           |
|                    | WC0037       | 培養顕微鏡(倒立)              | Leica Microsystems              | DMIL                                |
|                    | WC0038       | 実体顕微鏡(可視光)             | Leica Microsystems              | MZ95                                |
|                    | WC0043       | レーザーマイクロダイセクションシステム    | Leica Microsystems              | LMD7                                |
|                    | WC0096       | マルチシェーカーオープン           | TAITEC                          | HB-100                              |
|                    | WC0039       | バイオシェーカー (卓上)          | TAITEC                          | M. BR-024                           |
|                    | WC0572       | バイオシェーカー (大型)          | TAITEC                          | BR-180LF                            |
|                    | WC0098       | 振盪恒温槽                  | TAITEC                          | パーソナル-11 EXセット                      |
|                    | WC0040       | 超音波遺伝子導入装置             | NEPA GENE                       | Sonitron2000                        |
|                    | WC0041       | 微生物用エレクトロポレーター         | Bio-Rad                         | MicroPulser                         |
|                    | WC0042       | エレクトロポレーションシステム        | Bio Rad                         | Gene Pulser Mxcell                  |
|                    | WC0668       | MALDIイメージングマス用自動前処理装置* | Bruker Daltonics                | ImagePrep                           |
|                    | WC0958       | 微量高速遠心機                | TOMY                            | MX-301                              |
|                    | WC0241       | SDS-PAGE用電気泳動槽         | Invitrogen, ATTO                | Xcell14 SureLock Midi-Cell, AE-6500 |
| WC1055             | デジタルPCRシステム* | QIAGEN                 | QIAcuity One Digital PCR system |                                     |
| -                  | 予約不要：超音波洗浄器  | AS ONE                 | VS-100111                       |                                     |
| -                  | 予約不要：電子レンジ   | PHC                    | NE-S30                          |                                     |
| -                  | 4° C 冷蔵庫     | NIHON FREEZER          | GS-5203AF311E                   |                                     |

| CUE実験室名<br>(部屋番号)  | 機器ID#  | 機器名                  | メーカー               | 型式              |
|--------------------|--------|----------------------|--------------------|-----------------|
| 遺伝子定量解析室<br>(C011) | WC0649 | リアルタイムPCRシステム (1号機)* | Applied Biosystems | ABI7900HT       |
|                    | WC0347 | リアルタイムPCRシステム*       | Applied Biosystems | QuantStudio 12K |
|                    | WC0345 | 次世代シーケンサ*            | Illumina           | MiSeq           |
|                    | -      | 予約不要：卓上遠心機           | TOMY               | LC122           |

| CUE実験室名<br>(部屋番号)     | 機器ID#                      | 機器名                             | メーカー                     | 型式                             |
|-----------------------|----------------------------|---------------------------------|--------------------------|--------------------------------|
| P2/レベル2実験室<br>(S009)  | WC0158                     | 安全キャビネット*                       | DALTON                   | ClassII TypeA2B (NSE-1500)     |
|                       | WC0644                     | 安全キャビネット (室内循環型) *              | PHC                      | ClassII TypeA2 (MHE-1301A2-PJ) |
|                       | WC0220                     | マルチインキュベータ                      | PHC                      | MC0-170MUV-PJ                  |
|                       | WC0059                     | バイオハザードタイプ超遠心機                  | Beckman Coulter          | Optima XE-100                  |
|                       | WC0217,<br>WC0710-WC0712   | CO2インキュベータ Thermo (No.1)        | Thermo Fisher Scientific | 370 T/C sensor                 |
|                       | WC0705,<br>WC0713-WC0715   | CO2インキュベータ Thermo (No.2)        | Thermo Fisher Scientific | 370 T/C sensor                 |
|                       | WC0130,<br>WC0707-WC0709   | CO2インキュベータ PHC (No.1)           | PHC                      | MC0-170AICUVD-PJ               |
|                       | WC0704                     | CO2インキュベータ PHC (No.2)           | PHC                      | MC0-170AICUVD-PJ               |
|                       | WC0140                     | 予約不要: 微量高速遠心機                   | TOMY                     | GAX-571                        |
|                       | WC0142                     | 予約不要: 小型多本架低速遠心機                | Sakuma                   | SL-IV                          |
|                       | WC0141                     | 予約不要: 倒立型蛍光顕微鏡                  | EVIDENT (OLYMPUS)        | GKX53                          |
|                       | WC0155                     | 予約不要: オートクレーブ                   | TOMY                     | BS-325                         |
|                       | WC0156                     | 卓上型振とう恒温槽                       | TAITEC                   | Personal 11-SD set             |
|                       | WC0208                     | 予約不要: アストラソン超音波細胞破砕装置           | Mizonix                  | XL2020                         |
|                       | WC0214                     | 予約不要: サンプル密閉式超音波細胞破砕装置Bioruptor | Cosmo Bio                | UCD-200TM                      |
|                       | WC0723                     | 予約不要: 超低温フリーザー (-80℃)           | Revco                    | RLE50086D-81                   |
| WC0724                | 予約不要: バイオメディカルフリーザー (-30℃) | PHC                             | MDF-MU500H-PJ            |                                |
| WC0725                | 予約不要: バイオメディカルクーラー (4℃)    | Japan Freezer                   | UKS-5410DHC              |                                |
| 組織標本作製室<br>(C004)     | WC0080                     | パラフィン包埋ブロック作製装置 (1号機)           | Sakura Finetek           | TEC-P-DC-J0                    |
|                       | WC0622                     | パラフィン包埋ブロック作製装置 (2号機)           | Sakura Finetek           | TEC-IV                         |
|                       | WC0623                     | 密閉式自動固定包埋装置 (1号機) *             | Sakura Finetek           | VIP6                           |
|                       | WC0081                     | 密閉式自動固定包埋装置 (2号機) *             | Thermo Scientific        | Excoelsior ES                  |
|                       | WC0182                     | 滑走式マイクローム (パラフィン固定用)            | Leica Microsystems       | SM2010R                        |
|                       | WC0726                     | 滑走式マイクローム (パラフィン固定用)            | Thermo Fisher Scientific | HM400                          |
|                       | WC0332                     | 滑走式マイクローム (凍結切片用)               | YAMATO                   | ROM-380                        |
|                       | WC0189                     | クライオスタットマイクローム (凍結切片用)          | Thermo Fisher Scientific | HM525 NX                       |
|                       | WC0163                     | 遺伝子銃システム (Gene Gun)             | Bio-Rad                  | Helios Gene Gun                |
|                       | WC0193                     | ピプラトーム (ホルマリン/PFA固定用)           | D. S. K                  | DTK-1000                       |
|                       | WC0716                     | ドラフトスペース (ニッスル染色など)             | DALTON                   | DFV-11SK-75ALT                 |
|                       | WC0160                     | クライオスタットマイクローム (凍結切片用)          | Thermo Fisher Scientific | CryoStar NX70                  |
|                       | WC0924                     | 簡易式クリーンベンチ                      | ASONE                    | GT-900AD                       |
|                       | -                          | 予約不要: 光学顕微鏡                     | Nikon                    | ECLIPS E200                    |
|                       | -                          | 予約不要: 生物顕微鏡 (正立)                | EVIDENT (OLYMPUS)        | BX50                           |
|                       | -                          | 予約不要: 実体顕微鏡                     | EVIDENT (OLYMPUS)        | SZ60                           |
| -                     | 予約不要: 実体蛍光顕微鏡              | Leica Microsystems              | MZFL111                  |                                |
| -                     | 予約不要: 超純水装置                | ORGANO                          | PURELAB Ultra Genetic    |                                |
| -                     | 予約不要: 超音波洗浄器               | VELVO-CLEAR                     | VS-25                    |                                |
| 画像撮影・解析室 #1<br>(N003) | WC0058                     | 卓上超遠心機                          | Beckman Coulter          | Optima MAX-XP                  |
|                       | WC0574                     | NanoZoomer*                     | Hamamatsu Photonics      | NanoZoomer S60                 |
|                       | WC0741                     | リサーチスライドスキャナー*                  | EVIDENT (OLYMPUS)        | SLIDEVIEW VS200                |
|                       | WC0733                     | 画像解析ソフトウェア/NDP.view2 Plus       | Hamamatsu Photonics      | NDP.view2 Plus                 |
|                       | WC0573                     | オールインワン蛍光顕微鏡                    | KEYENCE                  | BZ-X700                        |
|                       | WC2829                     | ペンチトップ型共焦点顕微鏡*                  | Oxford Instruments       | ANDOR BC43                     |
|                       | WC0928                     | ルミノイメージアナライザー                   | Bio-Rad                  | ChemIDoc Touch MP              |
|                       | WC0626                     | ルミノイメージアナライザー                   | FUJI FILM                | LAS-3000                       |
| 画像撮影・解析室 #2<br>(O107) | WC0019                     | 共焦点レーザー顕微鏡 (正立) *               | EVIDENT (OLYMPUS)        | FV3000                         |
|                       | WC0020                     | 共焦点レーザー顕微鏡 (倒立) *               | EVIDENT (OLYMPUS)        | FV3000                         |
|                       | WC3140                     | 共焦点レーザー顕微鏡 (正立) *               | EVIDENT (OLYMPUS)        | FV4000                         |
|                       | WC0021                     | 画像解析ソフトウェア                      | MBF                      | NeuroLucida                    |
|                       | WC0022                     | 画像解析ソフトウェア                      | Molecular Devices        | MetaMorph                      |
|                       | WC0522                     | 画像解析ソフトウェア                      | Leica Microsystems       | LAS X                          |
|                       | WC0627                     | 画像解析ソフトウェア                      | MBF                      | NeuroLucida360                 |
|                       | WC0628                     | 画像解析ソフトウェア                      | MBF                      | BrainMaker                     |
|                       | WC0629                     | 画像解析ソフトウェア                      | MBF                      | NeuroInfo                      |
|                       | WC0631                     | 画像解析用パソコン                       | Supermicro               | Viento Xeon Single CPU Model   |
| WC0632                | 画像解析用パソコン                  | DELL                            | Precision 5820           |                                |

| CUE実験室名<br>(部屋番号)         | 機器ID#             | 機器名                           | メーカー                     | 型式   |                  |
|---------------------------|-------------------|-------------------------------|--------------------------|--|------------------|
| 超解像顕微鏡室 #1<br>(N005-1)    | WC0521            | 超解像顕微鏡*                       | Leica Microsystems       | TCS SP8 STED ONE FALCON                    |                  |
| CUE実験室名<br>(部屋番号)         | 機器ID#             | 機器名                           | メーカー                     | 型式   |                  |
| 超解像顕微鏡室 #2<br>(C012-1)    | WC0023            | SpinSR10_スピニングディスク型共焦点超解像顕微鏡* | EVIDENT (OLYMPUS)        | SpinSR10                                   |                  |
|                           | WC0034            | 格子構造化照明超解像顕微鏡システム*            | Carl Zeiss               | Elyra 7 type S (Lattice SIM <sup>2</sup> ) |                  |
|                           | WC0719-WC0722     | CO2インキュベータ                    | PHC                      | MC0-170AICUV                               |                  |
|                           | WC0035            | バイオクリーンベンチ                    | PHC                      | MCV-B161F                                  |                  |
| -                         | 卓上遠心機             | TOMY                          | LC120                    |  |                  |
| CUE実験室名<br>(部屋番号)         | 機器ID#             | 機器名                           | メーカー                     | 型式   |                  |
| クロマト分析室<br>(N004)         | WC0578            | HPLC (蛍光検出) *                 | GL Science, Eicom        | EP-700他                                    |                  |
|                           | WC0055            | HPLC (電気化学検出_ECD500) *        | Eicom                    | HTEC-500他                                  |                  |
|                           | WC0625            | AKTApurifier10*               | Cytiva                   | AKTApurifier                               |                  |
|                           | WC0102            | PDA検出器付HPLC分取分析システム*          | JASCO                    | PU-4180-LPG他                               |                  |
|                           | WC0235            | 高速冷却遠心機                       | KUBOTA                   | 3K30C                                      |                  |
|                           | -                 | 予約不要: pHメーター                  | METTLER TOLEDO           | SevenEasy                                  |                  |
|                           | -                 | 予約不要: 天秤 (Max 6, 100g)        | METTLER TOLEDO           | PG6002-S                                   |                  |
|                           | -                 | 予約不要: 天秤 (Max 220g)           | METTLER TOLEDO           | AB204-S                                    |                  |
|                           | -                 | 予約不要: 超音波洗浄機                  | BRANSON                  | 5510J-DTH                                  |                  |
| -                         | 予約不要: 蒸気圧法オズモメーター | Wescor                        | Vapor5520                |  |                  |
| CUE実験室名<br>(部屋番号)         | 機器ID#             | 機器名                           | メーカー                     | 型式   |                  |
| 生化学実験室<br>(N005)          | WC0520            | 分子間相互作用測定装置*                  | Cytiva                   | Biacore X 100 Plus Package                 |                  |
|                           | WC0078            | マルチラベルカウンター                   | PerkinElmer              | Wallac 1420 ARVO MX-2                      |                  |
|                           | WC0079            | 多機能マイクロプレートリーダー               | Thermo Fisher Scientific | Varioskan Flash                            |                  |
|                           | WC0970            | マルチモードマイクロプレートリーダー            | Thermo Fisher Scientific | Varioskan LUX                              |                  |
|                           | WC0057            | 凍結乾燥機 (1号機)*                  | EYELA                    | FDU-830                                    |                  |
|                           | WC0624            | 凍結乾燥機 (2号機)*                  | EYELA                    | FDU-2200                                   |                  |
|                           | WC0581            | 遠心エバポレーター (1号機)               | TOMY                     | CC-105                                     |                  |
|                           | WC0621            | 遠心エバポレーター (2号機)               | TOMY                     | CC-105                                     |                  |
|                           | WC0577            | 超遠心機                          | Beckman Coulter          | Optima XL-100K                             |                  |
|                           | WC0859            | ナノ粒子解析システム                    | Malvern Panalytical      | NanoSight NS300                            |                  |
|                           | WC0238            | マイクロプレートリーダー                  | BioRad                   | Model 550                                  |                  |
|                           | WC0239            | クリーンベンチ                       | AS ONE                   | CT-1200AD                                  |                  |
|                           |                   | 遠心エバポレータ                      | TAITEC                   | VC-15s                                     |                  |
|                           |                   | インキュベーター                      | TAITEC                   | Multi-Shaker Oven HB                       |                  |
| アルミブロック恒温槽                |                   | TAITEC                        | DTU-1B                   |  |                  |
| WC0240                    | 超音波ホモジナイザー        | SMT                           | UH-50                    |  |                  |
| CUE実験室名<br>(部屋番号)         | 機器ID#             | 機器名                           | メーカー                     | 型式   |                  |
| フローサイトメトリー<br>室<br>(S008) | WC2775            | ハイパラメーターフローサイトメーター*           | BD                       | FACSymphony A3                             |                  |
|                           | WC0643            | フローサイトメトリー解析ソフトウェア            | BD                       | FlowJo                                     |                  |
|                           | WC0997            | 自動磁気細胞分離装置                    | Miltenyi Biotec          | autoMACS Pro Separator                     |                  |
| CUE実験室名<br>(部屋番号)         | 機器ID#             | 機器名                           | メーカー                     | 型式   |                  |
| その他利用可能な機器                | WC0301            | Orbitrap型質量分析装置 (QExactive)*  | Thermo Fisher Scientific | QExactive                                  |                  |
|                           | WC0302            | イオンモビリティ搭載型QTRAP質量分析システム      | SCIEX                    | QTRAP 6500+ and others                     |                  |
|                           | WC0674            | 貸し出し(予約不要): マイクロダイアリスサンプリング機器 |                          |  |                  |
|                           |                   | -                             | マイクロフラクションコレクター          | Univender                                  | 820 Microsampler |
|                           |                   | -                             | マイクロフラクションコレクター          | BAS  | CMA140           |
|                           |                   | -                             | マイクロシリンジポンプ              | BAS  | CMA/100          |
|                           |                   | -                             | マイクロシリンジポンプ              | BAS  | CMA/142          |
|                           |                   | -                             | 架台                       | Eicom                                      |                  |
|                           |                   | -                             | アクリルケース                  | Eicom                                      |                  |
| -                         | リキッドスイッチ          | BAS                           | CMA/110                  |  |                  |
| -                         | リキッドスイッチ          | Eicom                         | Si-60                    |  |                  |

### 1. 支援の内容

非密封RIを用いた実験に必要な共用機器を配置したCBS共用実験室 (N105) を維持・管理している。

### 2. ユーザの手順および支援の流れ

#### ・利用者

CBSをはじめとする和光地区すべての放射線業務従事者。

#### ・利用許可

R-COMSからの申し込み後に、施設管理担当者によるガイダンスを受講すると利用可能となる。利用の際は「放射線障害防止法」および「放射線障害予防規程」に記載された内容も厳守すること。

#### ・利用期間

利用申請者は、その承認日より次年度の年度更新承認日の前日まで利用を許可される。年度更新手続きは、BMAからラボの予算管理者および利用者に連絡する。

#### ・利用予約

N105室の共用実験スペース、および一部の機器は、R-COMSより事前予約が必要（項目3の機器リスト参照）。

#### ・利用料金

年間登録料を支援業務の受益者負担金と併せて第1四半期に、ラボの理研予算から振替える。年度途中の利用開始についても登録料は変わらない。

#### ・利用記録

利用簿が備え付けられている機器については、利用後に必要事項を記入すること。

#### ・利用条件

- 機器は利用者自ら操作する。利用者は機器が共同利用であることを認識し、各機器のマニュアルに従って利用すること。
- 試薬などの消耗品は、原則利用者の所属ラボの負担となる。
- 故障があった場合、速やかにBMA共用機器担当者へ連絡すること。故障の原因が明らかに利用者にある場合は、修理費用を所属ラボの負担とする。

### 3. 実験室名と機器リスト

#### ・RI棟 CBS共用実験室(N105)

事前予約制の共用実験スペース(6ヶ所)および液体シンチレーションカウンターやスキャナー型RI画像解析装置など非密封RIを用いた実験に汎用な機器を整備した。また安全キャビネットやオートクレーブがあり、P2/レベル2実験も可能である(下記リストに「ID#」のある機器は、R-COMSより利用予約が必要)。

2025年4月1日現在

| Category | ID#    | 機器名                      | メーカー                  | 型式など   |
|----------|--------|--------------------------|-----------------------|--|
| 放射線測定    | WS0254 | 液体シンチレーションカウンター          | PerkinElmer           | Tri-Carb 4810TR                                      |
|          | WS0257 | スキャナー型RI画像解析装置 / IP-レーザー | Cytiva / 富士フイルム       | Amersham Typhoon scanner IP / IP EREASER 3           |
| 遠心機      | WS0293 | 微量高速冷却遠心機                | TOMY                  | MX-301, (Rotor: TMA-300, AR015-24, AR500-04, TMS-21) |
| 顕微鏡      | WS0299 | 倒立型顕微鏡                   | Zeiss                 | Axiovert 25, 対物レンズ (x40, x20, x10, x5)               |
| 実験設備     | WS0689 | ドラフトチャンバー No.1           | ダルトン                  | (BioRad Model583 ゲルドライヤー、バキュームポンプ設置)                 |
|          | WS0690 | ドラフトチャンバー No.2           | ダルトン                  | -  |
|          | WS0687 | 安全キャビネット                 | PHC                   | MHE-1301A2-PJ (ClassII TypeA2), 実験設備 (P2)            |
|          | WS0264 | オートクレーブ                  | TOMY                  | BS-245, 実験設備 (P2)                                    |
|          | WS0232 | 製氷器                      | ホシザキ                  | FM120F   |
| 実験スペース   | WS0691 | 中央実験台                    | ダルトン                  | -  |
|          | WS0692 | 片面実験台 (左側)               | ダルトン                  | -  |
|          | WS0693 | 片面実験台 (右側)               | ダルトン                  | -  |
| 小型機器     | -      | ピペットマン                   | GILSON, Eppendorf     | P1000(x2), P200, P20, P10, P2.5                      |
|          | -      | 小型微量遠心機                  | TOMY                  | カプセルフュージ PMC-060                                     |
|          | -      | ボルテックスミキサー               | Scientific Industries | ボルテックスジーニー2  |
|          | -      | ディスラプター                  | Scientific Industries | DISRUPTOR GENIE                                      |
|          | -      | ホットスターラー                 | Ikeda Scientific      | ISM-5BH-1  |
|          | -      | マイクロチューブローテーター           | アズワン                  | MTR-103  |
|          | -      | マルチチューブシェーカー             | タイテック                 | VR-36  |
|          | -      | 超音波洗浄器                   | ブランソン                 | Yamato 2510  |
|          | -      | 電子天秤                     | METTLER               | AB104 / PB3002, (10 mg - 100g / 0.5 - 3100 g)        |
| インキュベータ  | WS0288 | マルチシェーカーオープン             | タイテック                 | HB-100   |
|          | WS0259 | 卓上型振とう恒温槽                | タイテック                 | PERSONAL-11  |
|          | WS0261 | アルミブロック恒温槽               | タイテック                 | DTU-1B / DTU-2B, (室温+5℃~+110℃)                       |
|          | -      | アルミブロック恒温槽               | サイニクス                 | CHILL HEAT CHT-101 (0 - 65 ℃)                        |
|          | -      | ブロックインキュベーター             | アステック                 | BI-515 (0 - 100 ℃)                                   |
| 電気泳動関連   | WS0262 | ゲルプリントシステム               | バイオクラフト               | AX-300E  |
|          | -      | UVクロスリンカー                | ビーエム機器                | CX-2000  |
|          | -      | 電子レンジ                    | タイガー                  | -  |
|          | -      | 電源                       | ATTO                  | AE-8750  |
|          | -      | アスピレーター                  | メファー                  | SP-30  |
|          | -      | ライトボックス                  |                       |  |
|          | -      | ポリシーラー                   |                       |  |
| 冷蔵冷凍庫    | WS0720 | フリーザー (-80℃)             | SANYO                 | MDF-U33V   |
|          | WS0721 | フリーザー (-30℃)             | SANYO                 | U539   |
|          | WS0722 | 薬品保冷庫                    | SANYO                 | MPR 414FS  |
| その他      | -      | 共用PC                     | Lenovo                | ThinkPad Edge E430                                   |

### フリーザールーム

CBSラボ所有のフリーザーを設置することができる。BMAは当室の利用者の調整、機器の配置、利用料金の徴収等を行っている。なお、フリーザー（サンプルを含む）の維持・管理は利用ラボが行う。

### 共用フリーザー（レンタル）

フリーザールームに共用のフリーザー（-30℃ 2台）と冷蔵庫を設置して、管理している。CBSラボのフリーザーが故障した場合のサンプルの避難先などとして、フリーザーの修理が終わるまで無料で利用できる（原則1ヶ月以内）。また、持ち出しが可能なフリーザー（-80℃ 2台）を用意しており、CBSラボのフリーザーの故障や庫内整理時などに無料で利用できる（原則1週間以内）。共用フリーザーの貸出状況はR-COMSで閲覧できる。

| 機器ID   | 施設・設備名                        | メーカー    | 型式            |
|--------|-------------------------------|---------|---------------|
| WC0635 | レンタル超低温槽（-80℃_移動用2号機）         | PHC     | MDF-U33V      |
| WC0636 | レンタル超低温槽（-80℃_移動用3号機）         | PHC     | MDF-U33V      |
| WC0638 | レンタル低温槽（-30℃_N007フリーザールーム1号機） | PHC     | MDF-MU500H-PJ |
| WC0637 | レンタル低温槽（-30℃_N007フリーザールーム2号機） | PHC     | MDF-MU500H-PJ |
| WC1170 | レンタル冷蔵庫（4℃_N007フリーザールーム3号機）   | 日本フリーザー | UKS-5000HC    |

## 研究機器展示

生体物質分析支援ユニット(BMA)では、脳神経科学研究に有用な研究機器や最先端の汎用機器、新しい試薬キットなどの資材に関する情報をCBS内外のメンバーに周知するため、これらを製造メーカーにCBS内で展示して頂く機会を提供している。

- 内容：**
1. 主に脳神経科学研究に資する機器および最先端の汎用機器の展示
  2. 研究機器の説明会（日本語・英語）
  3. 展示中の研究機器試用
  4. 新規の試薬・キットなどの情報収集

**対象者：**全理研スタッフ

**展示様式：**オンラインまたはオンサイトによる講習会、実習、個別相談会開催

**備考：**展示の公平を期すため、展示者は製造メーカー、系列代理店、および日本総代理店に限る

**実施状況(2024.04-2025.03)：**製品説明会はオンライン、機器展示会はオンサイトC109-1にて開催

| 開催回    | 日時と開催方法                                | 展示企業        | 展示機器                      |
|--------|--|-------------|---------------------------|
| No.97  | 製品説明会: 2024年5月9日<br>機器展示会: 5月13日～23日   | エビデント       | 共焦点レーザー顕微鏡 FV4000         |
| No.98  | 製品説明会: 2024年9月6日<br>機器展示会: 9月10日～13日   | ニコンソリューションズ | 超解像共焦点顕微鏡AX R with NSPARC |
| No.99  | 製品説明会: 2024年10月21日<br>機器展示会: 10月21～25日 | ヨダカ技研       | シングルセルハンドリングシステムTOPick    |
| No.100 | 製品説明会: 2024年12月16日<br>機器展示会: 12月17～20日 | ザルトリウス・ジャパン | 分子間相互作用解析Octet Systems    |

## BMAクラス

技術普及のために、主にCBSで研究に用いている共用性の高い最新機器、プログラムソフトウェア、および種々の解析ソフトウェアなどについて有用な情報をラボに提供することを目的として講習会などを開いている。

- 内容：**
1. ラボから要望のあった既存の研究機器・ソフトウェアなどの操作方法、基本技術とその応用
  2. BMAが技術支援業務に用いている研究機器やソフトウェアなどの基礎技術とその応用
  3. 共用機器コーナーに整備されている、あるいは、新たに整備された専門性の高い研究機器やソフトウェアの操作方法、基礎技術とその応用

**対象者：**全理研スタッフで、開催されるBMAクラスに事前予約した方

**クラス様式：**オンラインまたはオンサイトによる講習会、実習、個別相談会

**実施状況(2024.04-2025.03)**

| 開催回 | 開催期日        | 協力企業                   | 内容                                     |
|-----|-------------|------------------------|--|
| 149 | 2024年 8月 2日 | ライカマイクロシステムズ           | 超解像顕微鏡STEDで研究を深めよう                     |
| 150 | 2024年 9月19日 | プライムテック                | 空間トランスクリプトーム解析の最前線<br>MERSCOPEで新たな洞察を！ |
| 151 | 2024年10月15日 | MathWorks              | MATLABによる画像処理と統計解析の実践技術                |
| 152 | 2024年11月13日 | オックスフォード・<br>インストゥルメンツ | 画像に妥協しない ストレスフリーな共焦点顕微鏡<br>ANDOR BC43  |

## 機能的磁気共鳴画像測定支援ユニット

機能的磁気共鳴画像測定支援ユニットは7テスラ(7T)と3テスラ(3T)のヒト用磁気共鳴画像装置を備え、脳神経科学研究センター(CBS)を始めとする理研内のラボに対して、ヒト及び動物を非侵襲的に計測する実験の技術支援を行っています。MRI実験施設では主に行われているfMRI実験に加えて、DTIやMRSなどの測定を行うことができ、EEGとの同時計測も可能です。各種刺激提示装置(プロジェクター、イヤフォン、電気刺激など)が導入されており、多様な要求に応える実験環境を提供しています。必要に応じて、被験者の状態(心拍や呼吸、眼球運動及び瞳孔径、筋電位、ボタン押し反応など)および刺激提示タイミングと傾斜磁場波形を、MRI装置が発生する撮像タイミング信号と合わせて1つのデータとして記録して、MRIデータの後処理に活用することができます。

当ユニットは、パルスシーケンス、解析方法、実験補助装置などについて独自に開発を行っており、高空間分解能実現のためのマルチショットEPI撮像法、呼吸や拍動の信号への影響の除去、バイトバーによる頭の動きの抑制などを利用です。特にk空間データを起点としてベンダーの処理に寄らない補正処理及び画像化処理を行うソフトウェア、各種データ可視化ソフトウェアの開発を進めており、目的に応じた技術を使った実験を実施することができます。また理研外部の研究者によるMRI装置を使った実験も、TRIP外部共用・基盤研究支援事業制度により実施可能です。

### MRI装置仕様

| 項目              | 3T MRI                    | 7T MRI                    |
|-----------------|---------------------------|---------------------------|
| 製品名             | MAGNETOM Prisma           | SIGNA™ 7.0T               |
| 製造元             | Siemens                   | GE                        |
| 静磁場(T)          | 3                         | 7                         |
| 最大傾斜磁場強度(mT/m)  | 80                        | 100                       |
| 最大スルーレート(T/m/s) | 200                       | 200                       |
| 受信RFチャンネル数      | 32 - 64                   | 32 (- 64)                 |
| 送信RFチャンネル数      | 2                         | 8/2                       |
| ボディRFコイル        | 有                         | 無                         |
| ヘリウム消費(L/month) | 0                         | 0                         |
| 導入時期            | 2015年3月<br>(現在のシステム:XA60) | 2023年4月<br>(現在のシステム:MR30) |

### 周辺機器 (詳細は次ページ参照)

- プロジェクター (課題提示用)
- LCDゴーグル
- MRI室内用メガネ
- 音声刺激装置 (イヤフォン)
- 生体信号測定装置 (心拍、呼吸、他)
- ボタン応答装置
- MRI対応EEG装置
- 光ファイバ温度計
- バイトバー頭部固定装置 (3Tのみ)
- 刺激提示用コンピュータ
- アナログ信号記録用コンピュータ

**刺激提示(・反応記録)用コンピュータ**：持ち込み接続を推奨

3T：MacPro、7T：MacPro（利用可能だが、事前確認が必要）

刺激開始用MRIトリガー入力：3T・7TともUSB2.0で、マウスクリックダウン信号

### プロジェクタ

3T：Cannon TWUX5000 最大視野角：横26度・縦15度

<https://www.canon-ois.qa/support/consumer/products/projectors/xeed-series/wux5000.html>

7T：JVC DLA-V5-BJ 最大視野角：横18度・縦10度

<https://www.jvc.com/jp/projector/lineup/dla-v5/>

### LCDゴーグル

3T：NordicNeuroLab VisualSystemHD（ラボ所有物品。60Hzで眼球運動計測可能）

<https://www.physio-tech.co.jp/products/nnl/VisualSystemHD.html>

7T：Resonance Technology CinemaVision 2020（要調整、眼球運動計測不可）

<http://www.mrvideo.com/cv2020.php>

**MRI室内用メガネ** 清原光学 <https://www.koptic.co.jp/opt/pdf/nonmagnetic-glass.pdf>

レンズのずれや反射、くもりなどがあるため、カラーでないコンタクトレンズ着用を推奨。

### 音声刺激装置（MRI対応イヤホン）

3T：SENSIMETRICS S15

<https://www.physio-tech.co.jp/products/sensimetrics/index.html>

7T：3Tと同一（ラボ所有物品）

**反応計測ボタン** 3T・7TともCurrent Designs社

8ボタン(縦型)4x2：BR-FR-FOH8BC

<https://cortechsolutions.com/product/br-fr-foh8bc/>

反応ボタン入力：USB2.0で、右手：1～4キー、左手：6～9キー

### 対象者眼球運動監視カメラシステム

3T：Point Grey Research GS3-U3-32S4M

<https://www.flir.jp/products/grasshopper3-usb3/?model=GS3-U3-32S4M-C&vertical=machine+vision&segment=iis>

7T：MRCSystems コンパクト監視カメラで、右目のみ計測可能

<https://www.physio-tech.co.jp/products/MRC/index.html>

**MRI対応32チャンネル脳波データ取得システム** Brain Product

ただし、実施者にMRI撮影室内での計測経験があり、自ら設定・操作できることが必要。

3T:MRI対応EEG ACアンプ (BrainAmp MR)

<https://www.physio-tech.co.jp/products/brainproducts/brainamp.html>

7T:未対応

**光ファイバー温度計** MRI tech L201

<https://mri-tec.com/mri-shop/l201-rugged-fiber-optic-temperature-monitor/>

アナログ信号モニタリング・記録PC、動画記録用PC 3T・7TともMacPro

生理指標測定装置 BIOPAC社 3T・7Tそれぞれに設置

- ・高速データ取込解析システム MP160 (撮影室外)

<https://www.biopac.com/product-category/research/systems/mp160-systems/>

- ・脈拍測定用アンプ PPG100C

<https://www.biopac.com/product/pulse-plethysmogram-amplifier/>

- ・脈拍測定トランスデューサ TSD200-MRI 7T対応

<https://www.biopac.com/product/photoplethysmograph-transducer-for-mri/>

- ・呼吸アンプ RSP100C (撮影室外)

<https://www.biopac.com/product/respiration-amplifier/>

- ・呼吸アンプ用装着ベルト TSD221-MRI MRI対応

<https://www.biopac.com/product/respiration-transducer-for-mri/>

以下は3Tのみに設置

- ・皮膚電位反応モジュール EDA100C-MRI MRI Use: Conditional to 7T

<https://www.biopac.com/product/eda-electrodermal-activity-amplifier-for-mri/>

- ・刺激装置 STM100C (撮影室外)

<https://www.biopac.com/product/stimulator-module/>

- ・定電圧・定電流刺激アイソレーションアダプタ STMISOC MRI室内使用可能

<https://www.biopac.com/product/stimulus-isolation-adapters/>

安全利用資料：app257. pdf→必ず事前に確認を！

<https://www.scribd.com/document/776156502/app257>

MR使用例：MP150+EDA100C.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7736483/>

MR使用例：MP-150+STM-100/200

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4193458/>

## 共同研究とTRIP外部共用・基盤研究支援事業制度

理研外部ユーザーが利用する手段は2つあります。

1) 理研内部の研究室との共同研究契約を締結した上で理研内部の実験計画として計測を行う

2) TRIP外部共用・基盤研究支援事業制度を利用して計測を行う、のいずれかです。

後者の場合はデータ取得のみのサービスとなります。ヒトを対象としたTRIP外部共用・基盤研究支援事業制度の研究では、理研外部で倫理審査を受けて承認されている必要があります。また、既設の実験器具以外を利用する場合は、別途、安全性の審査が必要です。

## 共同研究の手順

当ユニットを含む理研内のラボと実験について話し合いを行い、双方の合意が取れた上で、双方の施設にて共同研究計画を立ち上げます。ヒトを対象とする計測の場合、理研内部の倫理審査を受けていただきます。予算の種類によってはご利用いただけない場合があるので、使用料支払いについて明確にして事前にご相談ください。

## TRIP外部共用・基盤研究支援事業制度利用の手順

まず当ユニットにご相談ください。計測内容によってはご利用いただけない場合があり、プロジェクトが実施可能と判断された場合は、TRIP外部共用・基盤研究支援事業申請を行っていただきます。承認されれば、まずプロジェクトを開始、MR撮像プロトコルや実験条件を調整してから、本格的に実験を開始します。全ての実験後に、計測データをお渡しした時点で終了となります。

<https://www.fmri.brain.riken.jp/~mri/home.html/index-comexam.html>

電子顕微鏡技術支援ユニットは、電子顕微鏡を主な解析ツールとして、脳、臓器、培養細胞を対象とした、超微細構造解析を支援するための研究環境を提供している。脳科学において特に重要な、シナプス結合や細胞内小器官などの形態、およびそれらの配置および内部構造について、三次元的な電子顕微鏡データを取得・支援することに主眼を置く。培養細胞など薄い試料であれば、光-電子相関電子顕微鏡法（CLEM）も提供する。専門知識と技術を持ったスタッフが、研究チームの要望について丁寧なコンサルテーションを実施し、最適な研究方法の提案や技術的なアドバイスを行いながら支援を実施する。また、共用実験施設にある研究機器の維持・管理、研究技術の普及支援としての教育セミナーを開催する。

## 研究技術支援業務

電子顕微鏡技術支援ユニットは以下の技術支援を行っている。

### ☆電子顕微鏡

#### 支援の内容

電顕観察用組織作製：脳、臓器、培養細胞などの生物試料を、化学固定し樹脂包埋をする。または、高圧急速凍結（High-Pressure Freezing）で物理固定（凍結固定）し、凍結置換と樹脂包埋をする。

10 μm未満の薄い試料や培養細胞については、光-電子相関顕微鏡法の適用も可能である。事前に研究の目的や手法の選択などについて、コンサルテーションを行い、最適な組織処理方法、撮影条件、解析方法について、きめ細かい選択肢の提案をしながら、支援を実施する。

#### 電子顕微鏡

- a) FIB-SEM (Focused Ion Beam Scanning Electron Microscope)  
集束イオンビーム (Focused Ion Beam) により試料断面を薄く切削し、新しく現れたブロック表面を走査電子顕微鏡 (SEM) で撮影する。自動でナノスケールの解像度を持つ電子顕微鏡画像データを連続的に取得することができる。切削厚が薄く設定でき (> 10 nm) 高精細な再構築画像が取得可能である。効果的にミリングできる深さは100 μm 程度であるため、100 x 100 μm 程度のエリアの撮影が可能である。観察部位の試料は観察と同時に消失する。
- b) FE-SEM (Field Emission Scanning Electron Microscope、アレイトモグラフィ法)  
ウルトラマイクロトームで切削した連続超薄切片を、連続性を保ったままウエハーあるいはテープに回収し、SEMで連続撮影する。観察できる領域が広く、視野や倍率を変えて何度でも再観察が可能である。切片の厚さは実験の目的によって選択可能で、25 nm - 2 μmである。

連続超薄切片画像の解析：NIH-image、VAST-Lite、Amiraなどを使い3次元再構築法などの画像解析の環境とトレーニングの機会を提供する。

## 共用実験施設

電子顕微鏡技術支援ユニットは、共用実験施設として、脳中央棟B1Fおよび1Fに設置した共用機器の維持・管理、および施設と共用機器利用に関する初期教育や利用説明を行っている。

| 機器リスト | 機器名            | メーカー               | 型番         |
|-------|----------------|--------------------|------------|
|       | FIB-SEM        | ThermoFisher       | Helios 5   |
|       | FE-SEM         | 日本電子               | IT-800     |
|       | Ultramicrotome | Leica              | ARTOS-3D   |
|       | ATUM           | RMC                | ATUM       |
|       | Ultramicrotome | Leica Microsystems | UC-6, FC-6 |
|       | 高圧凍結装置         | Leica Microsystems | EM ICE     |
|       | 光・電気刺激ユニット     | Leica Microsystems |            |



RIKEN  
**Center for Brain Science**  
脳神経科学研究センター