



手作業の実験をしていた頃のこと

(財)先進医薬研究振興財団 選考委員 尾崎 紀夫

(名古屋大学大学院医学系研究科 教授)

現在、私の所属する医局の実験室では、分子生物学的手法を中心とした研究を行うことが多く、実験にあたっては、市販のキット等を購入して使用する場合はほとんどである。手作りの部分としては、電気泳動で使うアガロースゲルを作製する程度で、自分で作った何かを使った実験をすることは全くと言ってよい程ない。また、実験で得られたデータを遺伝統計学的に解析する際に、特殊なプログラムを使う場合があるが、ほとんどのプログラムはインターネット上からダウンロードすることが可能で、プログラムを自作しているものは私の関係者にはいない。

一方、私が研究を始めた1985年頃は、何をするにも手作りであった。例えば、体温などを経時的にサンプリングして、その変化を cosine カーブに近似させ、日内リズムの周期や頂点位相を計算する cosiner 法という時系列解析手法がある。当時、cosiner 法を使って、データの日内リズムを解析しようとする、市販のプログラムはなく、自分自身でプログラムを組む必要があった。そこで、睡眠覚醒リズム障害の患者さんから得られた体温データの解析は、Basic 言語を用いて自作したプログラムと当時の8ビットパソコンで対応した。プログラム作成にはバグがつきもので、自作のプログラムに含まれるバグを見つけては修正する作業はストレスフルであったが、完成して結果が得られたときの喜びは、市販のソフトを使って得たものとは格段の差があった。

1987年、私は、脳のマイクロダイアリシス (microdialysis) 法を用いた研究結果を、初めて精神神経系薬物治療研究基金 (先進医薬研究振興財団の前身) で発表する機会を得た。本法は、脳内に透析プローブを植え込み、半透膜を介して、灌流液中に回収した神経伝達物質等を定量する方法で、無麻酔下で、実験動物の行動を観察、測定しながら、脳局所の細胞間隙に存在する物質を連続的に測定することが可能である。今でこそ、マイクロダイアリシス法はごく一般的な神経薬理・神経化学の手法であり、市販の透析プローブを購入して実験するのが当たり前になっている。しかし、20年以上前は、市販の透析プローブもあまり種類がなく、かつまた研究費の乏しい我々にとっては、その値段は高価に過ぎた。そこで、自分たちの用途にあったものを作るべく、中原大一郎先生 (現在、浜松医大、心理学教室・教授) と、あれこれ試行錯誤を重ねていた。

例えば、灌流液を半透膜部分に導き、脳内局所で半透膜越しに脳内から灌流液に移動した物質を回収するには、灌流液が流れる inlet と outlet の二本の細い管を中空の半透膜内に入れておかねばならない。当初は、ガラス管を熱した上で引いて細くした管を使っていた。しかし、細いガラス管は極めてもろく、少しの衝撃で壊れてしまい、実用的ではなかった。ガラス管の代わりに、fused-silica capillary tube (capillary HPLC 用に使用される) が使えそうだということを、工学部の

方から助言を受けて、透析プローブの脆弱性の問題は解決された。

その他、透析プローブの先端に位置する透析膜は、腎臓透析用のダイアライザーをもらい受け、中に入っている中空の透析膜を試して、本法に適したものを選んだ。また、プローブの土台になる部分は静脈留置カテーテルを利用し、プローブの各部位によって使用する接着剤を変えるなど、ずいぶん苦労したが、マイクロダイアリシス法の開発の過程は、楽しい工夫の日々であった。

その後、1990年に、私はアメリカの National Institute of Health に留学し、ゲノム関連の研究を始めたが、当時、薄く大きなポリアクリルアミドゲルを作って、ダイレクトシークエンスしたり、遺伝子多型を見つけるための single stranded conformational polymorphism (SSCP) 法を行うのが一般的であった。したがって、このポリアクリルアミドゲル作りに習熟することが、当時のゲノム関連実験の第一歩であったが、私は、あまりにゲル作りに失敗を繰り返すため、工夫を試みた。例えば、ゲル内に気泡が入ると電気泳動の妨げになるので、気泡の発生を防ぐためゲル溶液を脱気するが、それでもゲル内に気泡が入ってしまうことがある。慎重にゲル溶液を注ぎ入れる必要があるが、注意しても気泡が出来てしまうことがあり、薄いゲル板の中に入り込んだ気泡は取り出すことが困難で、再度、作り直すこともあった。この気泡を取り除くには、細く弾力性に富んだワイヤ（ギターの弦が適していたが）が有用で、このワイヤを使って以来、気泡で困ることはなくなった。また、ゲル溶液が重合して固まるまでの間、底からゲルを漏らすことがないように、しっかりテープで留めておく必要がある。しかし、ゲルの体積が大きいだけに漏れてしまうことがしばしばあった。その対策としてはゲル溶液の少量を取り出し、重合反応開始剤である TEMED を多めに加え、底を最初に固めた後、残りのゲル溶液に適量の TEMED を入れてゲルを作るようにして、漏れを防ぐことが出来た。

研究成果が素晴らしければ楽しいであろうが、良い結果が得られるのはまれである。私は、実験室の手作業の部分で小さな工夫をこらすことが楽しかった。精神科臨床においても、患者さんとの面接には工夫を要する（広く言えば精神療法的配慮である）。しかし、精神科には、実際に手を動かす部分が少ないだけに、実験で必要とする手作業の工夫は、私にとって、精神科臨床の丁度良い息抜きになっていた。

キットを使った実験をしている今の大学院生たちにとっても、私が経験した実験とは異なる工夫の部分があり、そこに楽しさを感じてくれれば、成果が得られないときにも研究への興味が持続するのではないだろうか？楽しいと思って研究をしてくれるように教育することが、我々教員の使命ということになる。