3P153

KI 水溶液中のハイパーモバイル水の誘電緩和周波数の活性化エネルギー

○宮崎 崇、西田 誠、鈴木 誠（東北大院工）

マイクロ波誘電緩和測定により、溶質周囲の水の水の誘電特性（緩和周波数、誘電率、水和水の体積等）を評価できる。我々は、これまでに F-アクチンやヨウ素イオン等のカオトロピックイオン周囲にバルクの水よりも誘電緩和周波数の大きなハイパーモバイル水が存在することを示してきた。今回は、より詳細にハイパーモバイル水の特性を明らかにするため、0.2-26GHz の範囲でヨウ化カリウム水溶液の誘電スペクトルの温度依存特性を測定した。図に各温度における誘電スペクトルを示す。温度の増加と共に、誘電緩和周波数が増加していくのが読み取れる。また表に 20℃ のスペクトルの誘電特性を示す。測定結果より回転運動の活性化エネルギーを求めた結果、バルク水の 19.0KJ/mol に対しハイパーモバイル水は約 8 割程度の低い値を示した。この結果からハイパーモバイル水では水素結合の本数が少なくなり、動きやすくなっているといえる。また測定されたハイパーモバイル水の体積比を考慮すればハイパーモバイル水の粘性はバルクの水に比べて約半分程度となる。上記以外にも、KI 水溶液のプロトンの拡散係数を PGSE-NMR 法により評価することで、誘電緩和周波数と拡散係数の関係について議論する。

T.MIYAZAKI, M.NISHIDA and M.SUZUKI : The activation energy of dielectric relaxation frequency of hyper mobile water in KI solution

3P155

マウス心筋幹細胞の単離・培養技術と分化制御技術の検討

川崎 藍、小島 健介、○金子 智行、安田 賢二（東大・院総合文化）

一般に、心臓の心筋細胞は心筋梗塞などの虚血により一度死んでしまうと、再生されることは無く梗塞巣として不整脈の原因になったり、リモデリングにより心肥大の原因になったりする。現在、心臓移植のみが唯一の実用的解決方法となっている。そこで、胚性幹（ES）細胞や骨髄性幹細胞の心筋梗塞巣への移植や心筋細胞への分化が試みられているが、これらの細胞の多能性ゆえに軟骨の形成など分化誘導の難しさが課題となっている。我々は、最近心臓の中にも幹細胞があることが発見されたことを受け、心筋幹細胞の分化抑制した培養・増殖方法の開発と、分化誘導方法の開発を開始した。

まず、マウス胎児の心臓から幹細胞を単離、培養する技術の検討を行った。14日齢のマウス胎児から心臓を取り出し、コラゲナーゼやトリプシンで処理することにより細胞を採取した。アガロースコートしたディッシュ上に採取した細胞を播種すると、細胞塊を得た（図）。その細胞塊は幹細胞のマーカーである c-kit や sca-1 で染色された。次に、この培養増殖させた幹細胞を用いて、心筋拍動細胞への分化制御を試み、細胞が分化誘導されて拍動を開始することを確認した。詳しくは本会にて発表する。

図) 心筋幹細胞塊の位相差像 100µm

A. Kawasaki, K. Kojima, T. Kaneko and K. Yasuda : Development of the methods for isolation, cultivation and control of differentiation of mouse embryonic cardiac stem cell

3P154

哺乳類胚の体軸の決定 - 3D 多面体細胞モデルによるシミュレーション

○本多 久夫¹、終 卓志²、長井 達三³、種村 正美⁴（¹兵庫大、²Max-Planck Inst., Freiburg、³九州共立大、⁴統計数理研）

多面体細胞モデル^[1]を使って、多細胞生物が行う形態形成のメカニズムを調べている。今回はマウス発生初期段階の胚盤胞形成の実験の観察データに基づき^[2]、胚盤胞形成のシミュレーションを行った。胚はコンパクションにより細胞塊を形成した後、内部に大きな間隙（胞腔）をもつ胚盤胞になる（分泌液が溜まり間隙が拡大する）。シミュレーションでは、細胞塊の細胞間隙の一つを拡大させることで、内部細胞塊をもつ袋（胞）を形成することができた。この時、内部細胞塊は胚盤胞の片側に寄る。これが哺乳類胚の発生過程最初の体軸形成と考えてよい。

胚盤胞の外側には透明帯とよばれる球殻がある。この球殻がひずんで楕円体になっているときには、楕円体の2カ所の尖がりのどちらかに内部細胞塊が位置するようになる（図は透明帯に囲まれた胚盤胞の断面を示す）。シミュレーションでは胞腔表面に面積収

縮能があると仮定することにより、内部細胞塊の尖った方への片寄りが実現した。胚盤胞で見られる胚の体軸決定は、一定の幾何学的制約下での力学的要因による細胞配置の結果と考えられる。

[1] Honda et al., *J Theor Biol* **226** (2004) 439-453

[2] Motosugi et al., *Genes and Development* **19** (2005) 1081-1092

H.Honda, T.Hiiragi, T.Nagai and M.Tanemura : Determination of the body axis of mammalian embryos - Computer simulation using the 3D polyhedral cell model

3P156

神経幹細胞のオンチップ培養による神経細胞分化制御及び継代による形質変化の計測

○柴田 克也、鈴木 郁郎、杉尾 嘉宏、安田 賢二（東大院・総合文化）

【目的】神経幹細胞の分化誘導は分散培養下で幹細胞に分化を促す液性因子を作用させることで神経細胞へ分化誘導できることが知られている。しかし、分散培養下の神経幹細胞全てを神経に分化誘導することに成功しているわけではない。従来の方法で行われている分散培養下では液性因子の影響を明らかにすることはできるが、細胞間の作用や細胞刺激が分化に及ぼす影響を制御し確認することが困難であったことに一因があると考えられる。そこで本研究では、細胞間の作用および細胞刺激に注目し、これらの効果が分化にどのような影響を与えるのかを検討し、あわせて神経幹細胞の継代による形質変化を明らかにすることを目的とした。具体的には、まず、マウス胎児脳より神経幹細胞を精製・培養する技術を確立し、これを用いて神経幹細胞が神経細胞へと分化する同様のことをチップ上で再現できるかどうかを検討し、形態学的、電気生理学的計測、免疫染色により評価を行う。

【方法・結果】マウス胎児の線条体原基より採取した脳細胞から浮遊培養により細胞集団であるスフェアを形成させることで、神経幹細胞のみを選択的に連続培養する技術を検討し、安定した神経幹細胞の連続培養技術の確立を試みた。チップ上での神経幹細胞の分化誘導、分化後の培養は、アガロースマイクロ加工技術を用いて作製したマイクロチャンバー内に神経幹細胞を一細胞単位で、孤立した状態で培養することに成功した。さらに、アガロース加工されたチップ上で孤立した状態で培養下で、レチノイン酸等の液性因子を投与することにより神経幹細胞が神経細胞に分化することを形態学的に確認した。また、免疫染色を用いることで、この分化誘導した神経細胞が抑制性に働く GABA ニューロンに分化したことを確認した。電気生理学的計測を用いた継代による形質変化の評価などの詳細については、本会において報告する。

K.Shibata, I.Suzuki, Y.Sugio, K.Yasuda : On chip regulate differentiation and measure changing character of Neural Stem Cell