

公立小松大学重点研究「つよみ」 研究実績報告書

※各項目の記入事項について枠内に収まらない場合は記入欄の大きさを適宜調整してください。

研究代表者氏名	所属・職名	助成金額
粕谷 素洋	生産システム科学科・准教授	5,000,000円
研究課題名	マイクロ化学分析システムを用いたゼブラフィッシュの光応答解析と創薬技術への展開	
研究期間	2022年 7月 1日 ~ 2024年 3月 31日	
研究の概要	<p>〔研究開始当初の背景, 研究の目的, 研究の方法等について記入〕</p> <p>ゼブラフィッシュは、ランニングコストが安価で飼育や繁殖が容易で多産であり、発生生物学や神経科学など、様々な分野の研究に使われるモデル脊椎動物である。特に、ヒトと同様に昼行性であるため概日時計の光依存制御の分析に有用であり、また胚と稚魚の透明性が高いことからドラックリポジ션을始めとする薬剤のスクリーニングや胎生期の顕微観察などに有用な実験動物として期待されている。</p> <p>本研究では、孵化前のゼブラフィッシュ胚の系統的、効率的なスクリーニングを目的として、ゼブラフィッシュスクリーニング用のマイクロ化学分析システム(ZS-μCAS)を開発し、その行動リズム観測について明らかにすることを目的とした。具体的には、以下の項目を実施する。</p> <ol style="list-style-type: none"> ① ゼブラフィッシュスクリーニング用のマイクロ化学分析システム(ZS-μCAS)を開発し、多数の胚(卵の中の胎動)の行動リズム観測を可能とする。 ② 開発したシステムにより、ゼブラフィッシュ胚の胎動リズム観測への光を始めとする外乱に対する応答を観測し、システムの有用性を検証するとともに、胚における胎動の概日リズムの有無や光応答性を明らかにする。 	
研究の成果	<p>具体的な成果は以下の通りである。</p> <ol style="list-style-type: none"> ① マイクロ流路型の作製から完成までの全工程を学内で完結できる工程で、PDMSを用いたゼブラフィッシュ胚用のマイクロ流路加工法を確立した。このマイクロ流路を用いて、ゼブラフィッシュ胚の胎動リズムを動画撮影できる観測システムを開発した。また、得られた動画に対して、差分解法を用いた行動回数や移動量の解析手法を確立した。 ② ①の過程で生じた泡やタンパク質がPDMSに吸着する課題を抽出し、対策としてのPDMS表面への吸着防止剤の検討を行った。(論文3) ③ ①で開発したシステムを用いて、ゼブラフィッシュ胚の胎動リズム観測を行い、受精後2-3日目の胚にも概日リズムが存在すること、光応答性が見られないことを初めて明らかにした。(論文4) ④ 今後のゼブラフィッシュ胚への展開を見据えて、毒性物質や電磁波の魚類に与える影響について調査する研究を行った。(論文1,2) <p>まとめると、ゼブラフィッシュ胚スクリーニング用のマイクロ化学分析システム(ZS-μCAS)を開発し、胎動の概日リズムと光応答性の有無の観測に初めて成功した。今後、本システムを薬剤のスクリーニングや毒性研究に適用し、創薬や環境分野への評価用プラットフォームとして展開していきたい。</p>	

研究成果発表状況	〔学術誌掲載論文, 図書, 学会発表, 新聞掲載, 研究に関連して作成したWebページ等について記入〕		
	<p>学術誌掲載論文</p> <p>1) Analysis of Seawater Toxicity at Five Concentrated Seawater Discharge Sites in Korea Using a Goldfish Scale-Based In Vitro Bioassay System. Chun-Sang H, Kuroda K, Sato M, Hatano K, Watanabe K, Hirayama J, Sakatoku A, Toyota K, Rafiuddin MA, Matsubara H, Honda M, Srivatav, Lee S. Suzuki N, <i>Intern. J. Biol. Environ. Invest.</i> 2023, 3, 1-8.</p> <p>2) Extremely low-frequency electromagnetic fields facilitate both osteoblast and osteoclast activity through Wnt/β-catenin signaling in the zebrafish scale Jingjing Kobayashi-Sun, Isao Kobayashi, Makoto Kashima, Jun Hirayama, Makiko Kakikawa, Sotoshi Yamada, Nobuo Suzuki <i>Frontiers in Cell and Developmental Biology</i>, 2024, 12, doi.org/10.3389/fcell.2024.1340089.</p> <p>3) Sensitivity-Improved Blocking Agent-Free Fluorescence Polarization Assay Through Surface Modification Using Polyethylene Glycol, H Liu; M Fukuyama; Y Ogura; M Kasuya; S Onose; A Imai; K Shigemura; M Tokeshi, A Hibara, Submitted</p> <p>4) Development of Circadian Analysis System for Zebrafish Embryos Using Microfluidic Devices. Nakai Y., Hirayama J., Ueno Y., Funase S., Watanabe K., Fukuyama M., Hibara A., Kasuya M., Manuscript in preparation.</p> <p>学会発表</p> <p>1) Comparison of surface modification of PDMS-based microfluidic devices for inhibition of protein adsorption. H Liu, M Fukuyama, M Kasuya, O Yu, S Onose, K Shigemura, M Tokeshi, A Hibara, <i>Cheminas</i> 45, 中央大学 (東京) (2022.5.21).</p> <p>2) 粕谷素洋, “日本の化学産業の一側面: ナノトライボロジー・ナノレオロジー特性への基材の影響” 東工大化生研講演会 (横浜市) 2023/10/12 招待講演.</p> <p>3) 遺伝子改変ゼブラフィッシュを用いた体内時計の光制御の研究, 平山順, 金沢大学医学系 脳神経医学研究分野セミナー (2023/12/7) 招待講演.</p> <p>4) マイクロ流路デバイスを用いたゼブラフィッシュ胚の行動リズム分析システムの開発 中井雪菜, 平山 順, 上野祐亮, 舟瀬真一, 渡辺数基, 福山真央, 火原彰秀, 粕谷素洋 <i>CHEMINAS</i>49, 東京農業大学 (東京) (2024/6/1)</p>		
経費の執行状況	区 分	執行額 (円)	備 考
	2022 年度 備品 消耗品 旅費 人件費 その他 計	1,958,885 453,210 113,160 128,245 346,500 3,000,000	光学部品, 実験台, PC, ペリスタポンプ等 試薬, アクリル板, チューブ, コック等 共同研究打ち合わせ 研究補佐員雇用 実験台据え付け
	2023 年度 備品 消耗品 旅費 人件費 計	1,109,047 524,611 65,270 301,072 2,000,000	光学部品, カメラ, PC, ペリスタポンプ等 装置作製資材, 試薬, チューブ等 共同研究打ち合わせ 研究補佐員雇用