

帰国後 2 週間以内に提出してください (厳守) A4 用紙 4 枚以内

(海外・国内) インターンシップ報告書

2017 年 11 月 6 日提出

氏名	和泉雄介
所属	先端獣医療学教室
学年	4 年
活動先名	機関名、国名 三重大学、日本
期間 ① (出発日―帰札日) ② (インターンシップ 実施開始日―終了日)	① 2017 年 10 月 23 日-11 月 3 日 ② 2017 年 10 月 24 日-11 月 2 日

・活動目的及びインターンシップ先を選択した理由

活動目的は、将来の研究計画遂行のために、ゼブラフィッシュを扱った実験を見学することである。私は現在、腫瘍血管の研究を行っている。この研究を行うためには、in vivo で腫瘍血管を観察する手法が重要になってくる。なぜなら、腫瘍血管は周囲の腫瘍細胞や間質の細胞と常に連携して発達していくため、それを in vitro で観察し、研究することは極めて困難なためである。医学研究のモデル動物としては、マウスを用いることが一般的だが、腫瘍血管の精密な live imaging を、マウスを用いて行うことは、現代の科学技術では困難である。この問題を解決するためには、ゼブラフィッシュを用いた in vivo イメージングが有用なのではないかと考えた。三重大学では、色素が欠損した透明なゼブラフィッシュを独自に樹立している (図 1)。野生型のゼブラフィッシュより体内の血管が観察しやすいため、血管研究には有用なモデル動物なると思われた。また、三重大学は本邦においてゼブラフィッシュ研究を先駆けて行ってきた研究施設でもある。私も、将来ゼブラフィッシュ研究を行うとしたら、一からのスタートとなるため、どのような経緯で、どのような苦労があったかを体験した方から情報を得られることが可能であると考えた。以上がインターンシップ先として三重大学を選択した理由である。



図 1. 左が透明ゼブラフィッシュ (Miekomachi)、右が野生型のゼブラフィッシュ

・ **活動内容・成果** (2,000 字程度、活動内容が判る様な写真や図表を加えて下さい)

本インターンシップは主に、三重大大学の医学研究科で行われた。また最終日(11/2)は、京都大学で開かれたゼブラフィッシュ創薬研究会に参加した。

実習初日は、ゼブラフィッシュの飼育施設の見学、および今後のインターンシップ中のスケジュール調整を行った。ゼブラフィッシュの実際の飼育法や、飼育に必要な器具などを教えていただいた。また、ゼブラフィッシュ専用の飼育棚も見ることができた(図 2)。この棚に設置されている個別の水槽は、24 時間水が循環しており、常時殺菌を行い定時で点灯、消灯される。産卵の時間を任意の時間に設定できるように、光の消灯時間なども任意で設定できるようになっていた。ゼブラフィッシュは普通に飼育する上では、一日 1 回粉餌をやればよいようだが、安定して繁殖させるためには、ブラインシュリンプなどの生き餌が必要になり、また稚魚にはゾウリムシを与える必要があるなど、工夫が必要であった。ゼブラフィッシュを飼育する上では、この毎日の餌やりによりかなりの時間がかかってしまうようであった。

2 日目から 4 日目にゼブラフィッシュの血管発生の観察を、蛍光顕微鏡を用いて行う方法を見学した。この実験には透明ゼブラフィッシュでかつ血管内皮細胞特異的に EGFP が発現している系を使用させていただいた。血管破壊剤 CA4P を投与したゼブラフィッシュの稚魚は、コントロールの稚魚と比べて、成長遅延が認められ、また血管形成も抑制されているような所見が得られた個体もいた(図 3)。ゼブラフィッシュは麻酔をかけた後、アガロースに埋め込むことで固定することを知った。また、3 日目には、ゼブラフィッシュの脊椎損傷モデルを作製する実験も見学した。

5、6 日目は休日

7 日目～9 日目は、ゼブラフィッシュの受精卵に遺伝子を導入するためのマイクロインジェクション法を学んだ(図 4)。将来的に、本手法を用いてあるタンパク質を光らせるゼブラフィッシュを樹立する予定なので、大変参考になった。マイクロインジェクション装置のセットアップには数十万から数百万の初期投資が必要になると思っていたが、最低 2, 3 万円から行うこともできることを知った。また、その 2, 3 万円の器具だけでマイクロインジェクションが可能か、体験させてもらった。その器具だけでも、成功率は下がるが、十分に可能であったため、将来マイクロインジェクションをやる場合も、よその学部や研究室に使わせてもらう必要はなく、少しの投資で自施設でも実施可能であることを知れた。今回のインターンシップで一番の収穫だったかもしれない。また、脊椎損傷モデルのゼブラフィッシュの行動解析法も学んだ。

10 日目は京都大学にてゼブラフィッシュ創薬研究会に参加した。全国からゼブラフィッシュの研究者が集まって、ゼブラフィッシュを用いた様々な研究が紹介されていた。ゼブラフィッシュの高血糖モデルやてんかんモデルの作製をしている研究者や、腫瘍移植モデルのゼブラフィッシュに関しての議論も活発に行われており、参考にな

った。また、夜の懇親会では、ゼブラフィッシュの実験系を一から自施設で立ち上げた人たちの話をたくさん聞くことができた。本邦においてはおよそ 5, 6 年前からゼブラフィッシュの研究をはじめている研究室が増えてきているようであった。



図 2

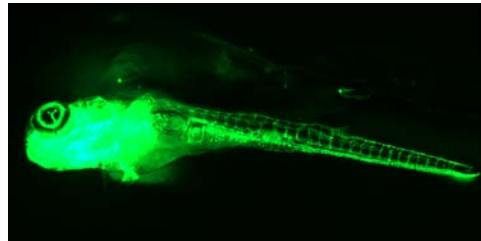


図 3



図 4

・今後のキャリアパスを考える上でどのようにプラスになったか。

先駆者がいない中で、ゼブラフィッシュを使った新規研究を立ち上げるために必要なことが何なのか、実際にそれをやってこられた先生から教えていただくことができた。また、将来行う予定の研究計画の実現可能性を検討することができた。将来どのような職につくかは未定であるが、仮にゼブラフィッシュを用いた研究ができる立場になった場合の、具体的なヴィジョンをイメージすることができ、大変有意義であったと思っている。またキャリアパスには直接関係しないかもしれないが、ゼブラフィッシュの飼育、繁殖、採卵、観察法には論文や書籍には書かれていない細かなコツがたくさん存在した。そういった長年かけて積み上げられてきた技術を習得できたので、将来のキャリアパスにおいて研究を遂行する上で、非常にプラスになったと思われる。

・後輩へのアドバイス

おそらく海外へのインターンシップを希望している方が大多数だと思いますので、あまり参考にはならないと思いますが、極少数の国内インターンシップ希望者に向けてアドバイスさせていただきます。国内へのインターンシップは、話に聞く限り、海外インターンシップよりも手続きや打ち合わせは、遥かに簡単です。準備期間も短くて済みますので、慌てて場所を決める必要は無いかと思います。今回、台風が三重県に直撃した影響で、飛行機が遅延し、名古屋から三重までのフェリーが運休しており、なかなか辿り着くのが大変でした。こういったアクシデントが起きても、国内なら比較的フレキシブルに行動ができるため、ストレスがそこまでかからなかったのも良い

点ではあるかと思います。この状況が海外で起こっていたらと思うとゾッとします

また、皆さん英語は得意なのでしょうが、研究の内容を深いレベルで議論できるほど語彙力に優れている人は多くないのではないのでしょうか？私は、今回のインターンシップ先で教員の先生方と何度もディスカッションさせていただきましたし、実験の細かなコツなども詳しく教えていただきました。少なくとも、私程度の英語力では、今回ほどの深いレベルの知識を国外インターンシップで学ぶのは難しかったのではないかと考えています。英語があまり得意ではない方は、英会話の練習を兼ねて海外にインターンシップに行くのも良い事だと思いますし、研究の内容を深いレベルで、ストレスなく習得したい方は、国内へのインターンシップもおすすめだと思います。私の優先順位は圧倒的に後者であったことも、国内インターンシップを希望した一因です。それと、インターンシップ申請書はわかりやすく書くことをお勧めします。申請書が却下されても、内容を変えずに、わかりやすく書き直すだけで承諾されることもあるかもしれません。参考になれば幸いです。

指導教員確認欄	指導教員所属・職・氏名 先端獣医療学教室 高木 哲
----------------	--

※1 電子媒体を国際連携推進室・リーディング大学院担当に提出して下さい。

※2 インターンシップ先の担当者が活動内容を証明した文書（署名入り）を提出して下さい。

※3 本報告書はリーディングプログラムキャリアパス支援委員会で内容を確認します。その後、教務委員会で単位認定を受けることになります。

提出先：VETLOG

内線：9545 e-mail: leading@vetmed.hokudai.ac.jp