

「生きている」仕組みをひも解く。

いきもの IKIMON TIMES

vol. 04
2020 SPRING

理化学研究所
生命機能科学研究中心



ヤクシジが、毎回研究者にネホリハホリ聞いて回る連載企画。

「新しいサイエンスのカタチ」

今回は、実験ロボット「まほろ」を操る神田さん。まほろが実験をしている様子は映像としては見たことがあるものの、実物は見たことない…。いったいどんな話になるのやら。

ロボットが実験をやる

もっとウーンガシャンウーンガシャンとか言っているのかと思ったんですけど、意外と静かですね。

細胞培養なのでゆっくりやっているからですね。もっと素早く動くこともできるんですが、その時にはそこそこの音がします。ファンの音もそれなりにうるさいです。

実際にまほろを動かす時には、どのような命令を出してるんですか？

動作の細かいところの指示はすでに命令として組み込まれているので、何を何ミリ動かせ、というのではなくて「液Aを試験管2に100μL移す」という感じです。

しかし、動きが気持ち悪い…。

まほろには関節が7つあるので、人間の動きとは少し違います。例えば、両手を上にあげて棚の上で実験する、みたいなことも可動域さえ適応していればできますよ。

機械にさせるのは そんなに簡単じゃない

実際、ロボットに実験を実装していく過程で難しいところってどんなところですか？

プラスチック製品は、メーカーごとにサイズが違ったり、同じメーカーでもロットごとに微妙なサイズの違いがあったりします。その違いを吸収するために位置調整をすることもあるんですが、ロボットの動作側で吸収したりすることもあります。このくらいの強さで押すとか、少し傾けて差し込むとか。この辺は結構ノウハウですね。ロボットがあればなんでもできる、というわけでもなく、ロボット以外にも設定していくことは、実は色々あります。あとは、コードとかホースとか紙とかのやわらかいものは難しいようですね。ライフサイエンスの実験的には、人間がやっていることをロボットができるように翻訳していくところが割とコツがります。実験をロボットに移す時には、人がやっている手順をそのままではやっぱり移らないんです。ロボットにどう翻訳してやるかというところは、ロボットの制限



神田 元紀 さん

(かんだ・げんき)網膜再生医療研究開発プロジェクト研究員。

北海道生まれ。北大薬学部を出たが4年制を選んだので薬剤師免許は受験資格なし。大阪大学で博士号取得。専門は生物学。ロボットや情報技術などの開発への参加によりサブウェポンが充実しつつある。英検4級。



薬師寺 秀樹

(やくしじ・ひでき)神戸を中心に活動する事業開発人。分析化学、光学、バイオテクノロジー、ITなど幅広いバックグラウンドを持つ。理研をはじめとするアカデミアの技術・アイデアを事業にするため、アイデアを共有する場の開催から、資金調達、事業戦略立案など、さまざまな活動を行っている。

の中で考えなきゃいけない。その時に、この部分はちょっと人がやっている時よりも緩くしていいとか、ここは絶対に守っててくれだとかっていうところを優先順位をつけて実装していく必要があります。その時に、ロボットが何が得意で、何が苦手かとか、情報技術として何が得意で、何が苦手かというところがわかっていないと、どこを重視したらいいかというのがわからなくなる。一方で生物学的にも、酵素は外にずっと出しておいたら駄目だよね、とか。そういうのが全部わかっていないとロボットに移せないです。

ある意味、全部わかっている人がどこかにいてハブパーソンになっていないといけないとということになるんですかね。

でも、ロボットとITとバイオロジーが全部きちんとできる人はおそらくこの世に今いないんです。そういう人材を今すぐ用意するというのは無理なので、きちんとコミュニケーションが取れるようにしなきゃいけないというのが現時点の状況だと思います。

これは実証実験なんです

もはやバイオロジーとかではなくて、コミュニケーションテクノロジーですね。

その上で、じゃあどういう開発体制であれば、ロボットへの実装だとができますか、という実証実験をしているのがここなんです。

なので、我々のチームはまほろに何かをさせたいとかじゃなくて、AIなりロボットなりを使って実験をする時はどういう手順を踏んで、どういうチームでやると一番効率がいいんですかということを研究している。

現在でもこのロボット自体はいろいろできるけれども、生物学の研究室にいちばん合っている使い方というのがそこまでわかっていないんです。

この取り組みには、ロボットとITとバイオの人がそろわないといけないですよね。じゃあどういうチームであれば日々の問題解決がきちんとできるのか?そんなことを考えないといけないわけです。

特に、マトリクス型の共同研究になってくると、いろいろな人たちが関わるようになりますし、離れた場所にいたりするので、どうコミュニケーションをとるのか、ということも重要です。

まだ結論はないかもしれないんですけど、ITなどの他の業界でうまくいっているプロジェクトマネジメントの手法などは積極的に取り入れています。

サイエンスとは 人間にとてなんなのか？

今は、顕微鏡で撮った画像がネットワーク上にアップロードされるようになっています。そしてその画像をAIが見て、次の実験を考える、という仕組みがほぼ出来上がっています。まだ制限は色々あるのですが、平たく言うと「いい感じで培養し」といてお願いすることができます。ロボットとAIできちんと動けるんです。そうすると、新しい問題が発生しました。

人間からするとわざわざAIのコードを見に行かない、次はいつロボットが動くかがわからないということが判明しました。なので、人間としては、それはよくないねということで、ログを吐き出してもらおうとにしたら、それが原因で別のバグが発生していたこともあります。

そこまでAIとロボットができるなら、 仮説までAIで作れるようになったら、 もう人間いらない？

もしかしたら、いらないのかもしれません。AlphaGoがいい例です。AlphaGoは、これまでの人間同士の対戦の棋譜を学習して強くなりましたが、次の段階では人間の棋譜を使っていないわけですね。自分でやり合って、より強いAlphaGo Zeroということができました。ということは、サイエンスも、人間がやっているエリアというのは、サイエンス全体から見たときにかなりバイアスがかかってる可能性があるとも言えるかもしれません。

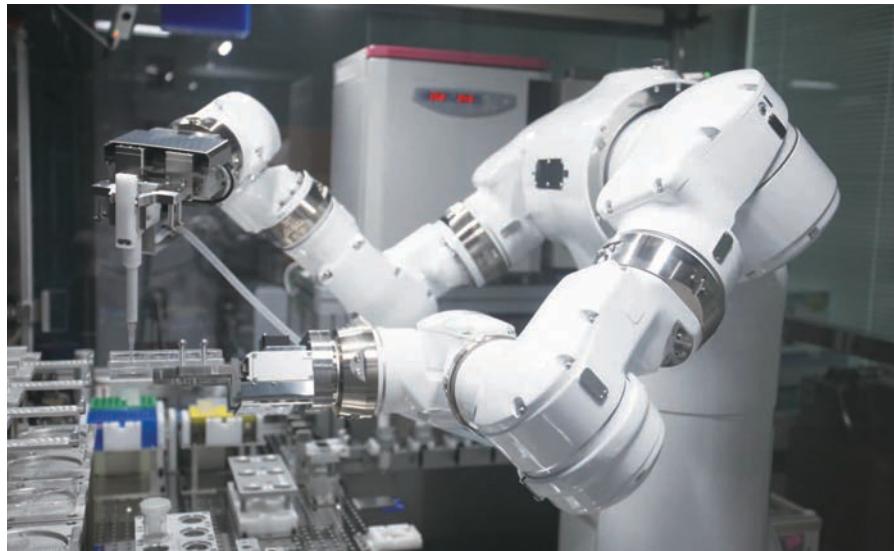
ロボットとAIで最初から全部やり直したほうがもしかしたら早いかもしれません。最終的に「サイエンスは人間に向いていない」みたいなことになるかもしれません。

そうしたら、もう完全に世界が変わりますね。

でも、それは研究に限らないですよね。

じゃあ研究という仕事がなくなったからといって、音楽を聞くとか、作曲するとか、絵を描くなどをやりやいいかと言われると、そうでもなくて、そっちもおそらくAIの方が得意になっていくかもしれません。

実際に目に見える何かが実際に出てきて、初めて実感が湧いてくるというだけだと思います。いろいろなことをもう少し抽象的なレイヤーで考え直す必要があるかもしれません。



裾野を広げて世界を変える

機械を使って実験する時にはどういうところに気を付けたらいいのか、どのような裾野にあたる部分というのはほとんど共有されていないんです。なので、同じような問題が、日本中、世界中の自動化現場で起きているんです。いろいろな人たちがいろいろな分野で自動化の孤軍奮闘しているのが現状で、そのままだと裾野が広がらない。そこでそれぞれの持っているいろいろなノウハウをきちんと共有する場所を作りましょうと、毎月勉強会をやったりしているわけです。勉強会は、現在は、東京と関西で毎月交互にやっているんですが、案内を公開するとそこそこ席が埋まるくらいには好評をいただいているようです。

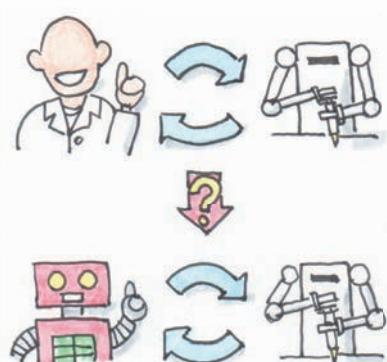
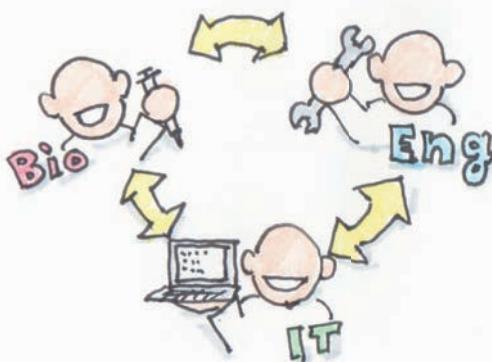
将来的には全く違う発想を持った世代が出そうですね。

はい。新しい世代が生まれてくるんじやないかと期待していますし、実際生まれつある感じがあります。今は過渡期で、社会実験だと思っています。なので、我々のチームとしては、とりあえずいろいろやってみようかの精神でいろいろやっています。



編集後記

いや、濃かった。いや、最近濃い話が多いかもしれない。ロボットとAIの話を若干気安く聞きにいったつもりが、組織論や未来論の話になってしまった。でも、こういった新しいものが、想像上ではなく現実として目の前に現れると、否応無しに考えなきやいけないことが出てくるんだな…。自動車、電気、電話、インターネット、携帯電話、スマホ…。次はAIとロボットか…。人間じゃないとできないことって一体何なんでしょうね…?



他の研究もネホリハホリ



— 01**サイズ進化の法則を発見**

廣中謙一客員研究員、西村隆史チームリーダー（成長シグナル研究チーム）らは、昆虫の種によって異なる体の最終サイズを決める重要な要因が、「性成熟の開始に必要な最低の大きさ（臨界サイズ）」であることを明らかにしました。

Hironaka KI, Fujimoto K, Nishimura T.
iScience 20, 348-358 (2019)

**— 02****DNAオリガミ技術で筋収縮の原理を解明**

藤田恵介基礎科学特別研究員、大町優史研究員、岩城光宏副チームリーダー、柳田敏雄チームリーダー（細胞動態計測研究チーム）らは、DNAオリガミ技術（DNAを材料にして折り紙のように折りたむことで、思い通りの2次元または3次元のナノ構造物を作り上げる技術）を利用して筋収縮の機能単位であるサルコメア構造を再構成し、筋肉収縮の際に働くモーター分子の動態を直接観察することに成功しました。

Fujita K, Ohmachi M, Ikezaki K, et al.
Commun Biol 2, 437 (2019)

**— 03****臓器内の全細胞を調べる革新技術**

上田泰己チームリーダー、松本桂彦研究員、三谷智樹研究生、堀口修平研修生（合成生物学研究チーム）らは、組織透明化技術「CUBIC」と、新たに開発した高速イメージング技術「MOVIE」と高速データ解析技術を組み合わせ、透明化した臓器内の全ての細胞を高速で解析する「全細胞解析」を実用化しました。これを使ってマウスの脳を構成する細胞が約1億個あることを明らかにし、それら全ての細胞の位置を同定することに成功しました。

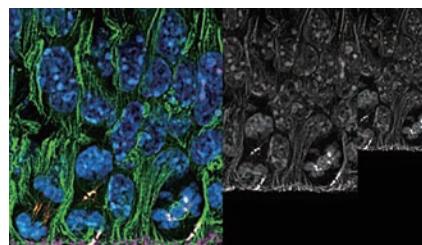
Matsumoto K, Mitani TT, Horiguchi SA, et al.
Nat Protoc 14, 3506-3537 (2019)

— 04**神経幹細胞の再生能を発見**

発生途中の脳組織には内部から表面に向かって放射状に伸びた細長い柱状の幹細胞が無数にひしめき合っています。

藤田生水研究員、下向敦範専門職研究員、松崎文雄チームリーダー（非対称細胞分裂研究チーム）らは、マウス胎児脳の神経幹細胞の形状変化を鮮明に捉えることに成功し、増殖期の神経幹細胞には柱状の形態を柔軟に再生する能力のあることを発見しました。しかし、脳発生後期になるとこの能力は失われ、新たな幹細胞層が出現します。このタイミングが高等哺乳類で脳が拡大する時期を決めることが明らかになりました。

Fujiita I, Shitamukai A, Kusumoto F, et al.
Nat Cell Biol 22, 26-37 (2020)

**— 05****吹きガラスの原理でガラス製微小レンズを作製**

透明な微小レンズは医療向け分析検査デバイスの素子として、あるいはスマートフォンのカメラやセンサー・モジュールとして応用されています。

田中陽チームリーダー、アイサン・ Yusuf大学院生リサーチ・アソシエイト、ヤリクン・ヤシャイラ客員研究員（集積バイオデバイス研究チーム）らは、ガラス加工分野では数百年来用いられてきた伝統技術である吹きガラス製法をマイクロスケール加工に利用することにより、さまざまな形のガラス微小ドーム構造を、高精度で短時間かつ簡便に大量生産できることを実証しました。

Aishan Y, Yalikun Y, Amaya S, et al.
Appl Phys Lett 115, 263501 (2019)

— 06**複数の元素を同時に画像化する「MI-IP」を開発**

ごく微量の放射性核種の分布や移動などを画像化できるベータ線イメージングは、PET検査による全身撮像後の組織切片観察や、植物内の低分子やミネラルの動態解析などに力を発揮します。しかし、これまでの装置は複数のベータ線放出核種を同時に画像化することはできませんでした。

福地知則研究員、渡辺恭良チームリーダー（健康・病態科学研究チーム）らは、ベータ線イメージング装置にガンマ線を捉える検出器を組み込むことで、複数の元素を同時に解析できる新装置「MI-IP」を開発しました。

Fukuchi T, Yamamoto S, Kataoka J, et al. *Med Phys* (2019)

— 07**哺乳類と鳥類の左右非対称メカニズムの違い**

動物の体の内部のつくりが左右非対称となる仕組みは興味深い謎です。マウスでは胚発生の初期段階で特定の細胞が持つ纖毛（せんもう）が回転運動し、左向きの水流を生じ、対称性を破ると考えられています。濱田博司チームリーダー、梶川絵理子テクニカルスタッフ（個体バターニング研究チーム）、工樂樹洋チームリーダー（分子配列比較解析チーム）らは、爬虫類ゾメワケササクレヤモリなどを用いて調べたところ、鳥類と爬虫類には動く纖毛は存在せず、遺伝子発現の空間的偏りが左右非対称性を生みだしていることを解明しました。

Kajikawa E, Horo H, Ide T, et al. *Nat Ecol Evol* 4, 261-269 (2020)

**— 08****大規模データに対する主成分分析の性能を評価**

1細胞RNAシーケンス法では得られたデータを主成分分析（PCA）と呼ばれる統計手法で簡素化し、臓器に含まれる細胞の種類や数、機能を特定しますが、細胞の数が膨大な大規模研究では、膨大な計算時間、メモリ量が必要とされます。

露嶋弘毅特別研究員、二階堂愛チームリーダー（バイオインフォマティクス研究開発チーム）らは、10種のPCAアルゴリズムを比較し、性能評価を行いました。さらにデータ形式やデータの読み込み方にも考慮したソフトウェアを実装し、大規模研究での有効性を示しました。

Tsuyuzaki K, Sato H, Sato K, Nikaido I. *Genome Biol* 21, 9 (2020)

— 09**タンパク質の構造や動きを解析する新技術を開発**

葛西卓磨研究員、木川隆則チームリーダー（細胞構造生物学研究チーム）らは、核磁気共鳴（NMR）法に情報・数理科学の手法を応用することで、従来は解析が困難だった重なり合うNMR信号を分離し、タンパク質の構造や動きなどに関する情報を得る新たな方法を開発しました。

Kasai T, Ono S, Koshiba S, et al. *J Biomol NMR* (2020)

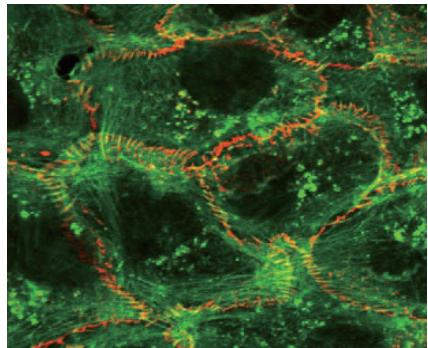
— 10**機械学習によるゲノム構造の特徴抽出**

ヴィビン・クマーリサーチアソシエイト、谷口雄一ユニットリーダー（細胞システム制御学研究ユニット）らは、細胞の中にある複雑なゲノムDNAの構造様式の特徴を機械学習により抽出し、ゲノムを構成する新たな階層構造を発見しました。

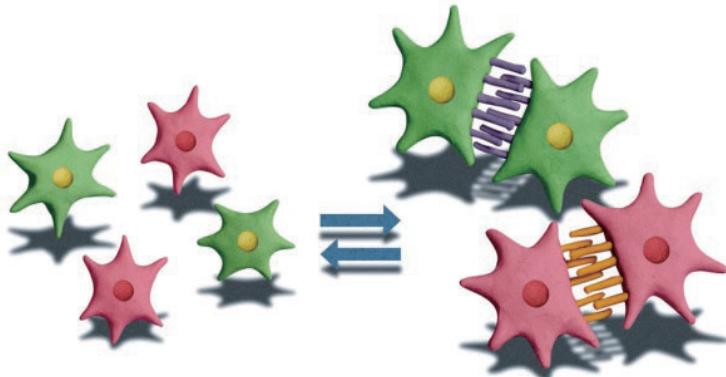
Kumar V, Leclerc S, Taniguchi Y. *Nucleic Acids Res* (2020)

2019年度まで高次構造形成研究チームのチームリーダーを務めた竹市雅俊氏が、動物細胞の細胞接着を担うタンパク質カドヘリンの発見とその分子メカニズムの解明により、2020年のガードナー国際賞(The Canada Gairdner Awards)を受賞しました。同賞は、医学研究分野において著しい功績が認められた科学者に与えられる賞です。授賞式は10月22日(現地時間)にカナダで行われます。

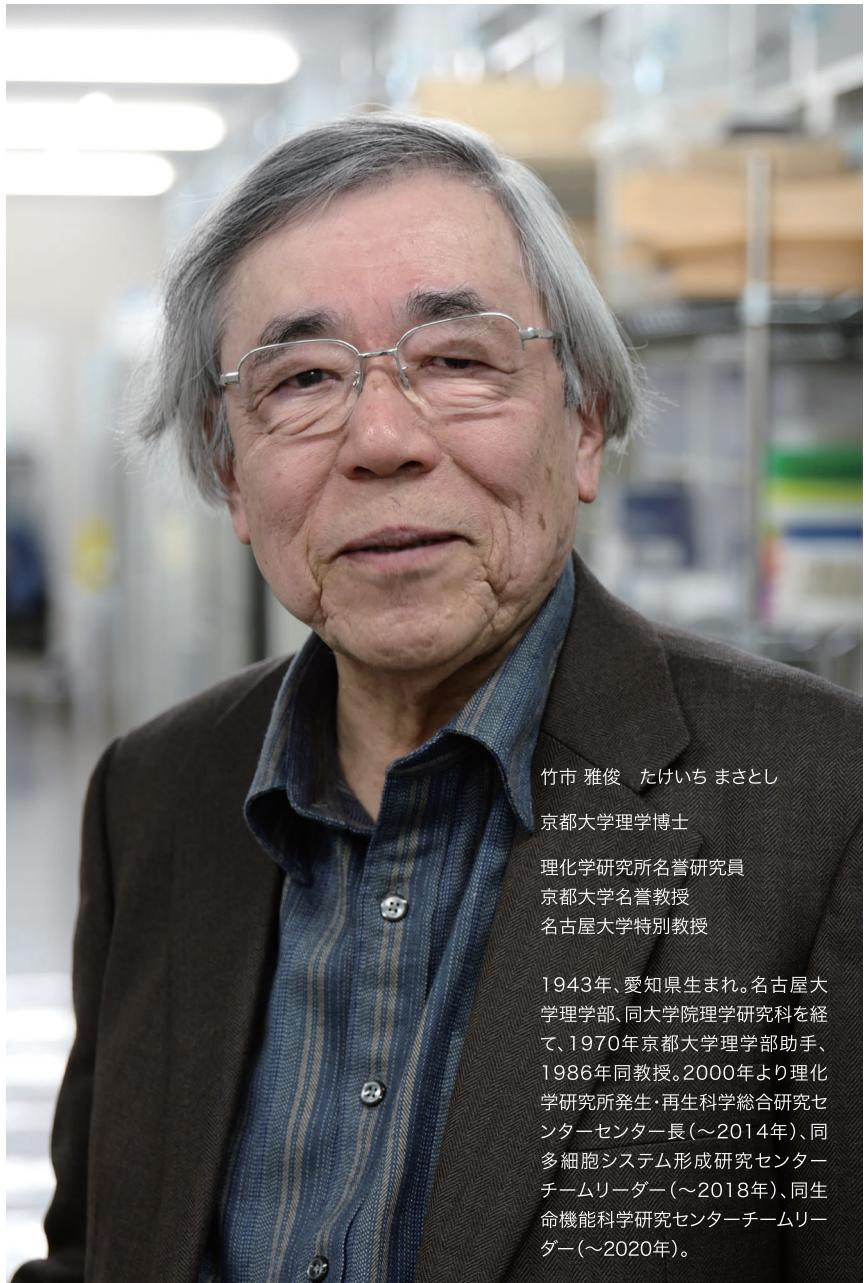
動物は多数の細胞で構成されています。竹市氏は、細胞が集まって秩序だった組織や臓器を形成する過程での細胞間接着現象に着目し、その鍵となるタンパク質を発見、カドヘリンと名付けました。カドヘリンは細胞の表面に存在し、カドヘリンどうしの結合を介して細胞は接着します。カドヘリンがなくなると、細胞間の接着が弱まり、組織構造が維持できなくなります。竹市博士はさらに、異なる種類の細胞は、異なる種類のカドヘリンを発現していることを見出しました。発生の過程において同じカドヘリンを持つ細胞が集まり、他の細胞から選別されることは、秩序だった形態形成を成立させる重要な仕組みの一つです。



▲細胞境界に見られるカドヘリン(赤)。



▲細胞と細胞の境界で同種のカドヘリン同士が接着することで、細胞が集合し、組織が形成される。



竹市 雅俊 たけいち まさとし

京都大学理学博士

理化学研究所名誉研究員

京都大学名誉教授

名古屋大学特別教授

1943年、愛知県生まれ。名古屋大学理学部、同大学院理学研究科を経て、1970年京都大学理学部助手、1986年同教授。2000年より理化学研究所発生・再生科学総合研究センターセンター長(～2014年)、同多細胞システム形成研究センターチームリーダー(～2018年)、同生命機能科学研究センターチームリーダー(～2020年)。

カドヘリンがどのように細胞接着を担っているかの分子メカニズムの研究から、細胞外でのカドヘリン間の結合はカルシウム依存的であること、細胞内ではカテニン、アクチンなどが結合を安定化していることなどを解明しました。また、脳の神経回路形成に重要なシナプス結合にも、カドヘリンが関与することを明らかにしました。

カドヘリンの発見は、動物がどのように多細胞体制を成り立たせているのかという基本的な問いに対して、分子レベルでの詳細な解析を可能にしました。カドヘリンの機能異常は一部のがんの原因となることが分かっており、がんの浸潤・転移等の医学的問題の解決にも役立つことが期待されています。

高校生のわたしたちが
取材しました。



Vol.4

研究者に ズームイン



細胞シグナル動態研究チーム
上級研究員
廣島通夫

(ひろしま・みちお)神戸市出身。大阪大学、国立遺伝学研究所を経て理化学研究所へ。現在は理研BDRにて、細胞内1分子全自動観察システム「AISIS」の開発に携わるほか、細胞内の情報伝達を1分子感度で明らかにするべく研究を進めている。

私たちはAIと生物を扱って研究をしている人というテーマで、廣島通夫さんにお話を伺いました。廣島さんは細胞の分子を観察することによって、分子が細胞応答をどのように調節しているかを研究しています。計算技術やロボットとAIを使って研究を自動化することで、細胞の中の分子を1分子感度でたくさん見ることができるようになり、分子から見た細胞形成のしくみや、分子の働きの理解を目指した新しい研究手法の開発を目指しています。

他の研究者にもズームイン



兵庫県立
柏原高等学校
理科部

AIと細胞

Q なぜ分子を観察する研究をしようと
思ったのですか?

A 分子は、自分では物を見ることも音を聞くこともできない存在ですが、いろいろな分子同士が相互作用することでお序あるものができます。その結果細胞ができるています。単なる溶液の中で浮かんでいる分子がどういった情報処理をしているのか、その機能的なメカニズムを知りたいと思っています。また、空間の中にある分子は、空間の状況がある程度条件を満たしていないと反応を起こさず、細胞もできません。そういう分子と空間の関わりや、その関わりの結果、生命がどのように進化したのか、つまり、生命の根源を分子の面から知りたいと思っています。

Q AIやディープラーニングとは
どのようなものですか?

A AIとはコンピューターで人のような知能を再現するものです。現代では主に、コンピューター自身が学習する機械学習の一つであるディープラーニングを指すことが多いです。ディープラーニングは脳のシステムを模して、多数の入力を受けて1つの出力を出す人工ニューロンで構成されます。ニューロンは受け取る情報に「重み」をつけてまとめ、相手に送ります。学習の中で自分で「重み」を変えていく、最も良い結果が出力されるようにサイクルを繰り返しています。

Q 将来AIが研究の大部分を占める
状況はあると思いますか?

A AIは人間の思考パターンであるニューラルネットワークを模して作っているので、人間がやれること

はAIができるようになります。感情とかでぶれたりしないで高い精度で物事を判断してくれます。今までの論文を教え込ませることで、これから必要とされるテーマは何かを考え、AIが自分で研究テーマを設定して必要な実験は何かを決定することができるかもしれません。そこから得られた結果をこれまでの知識に基づいて解析するということは、十分考えられます。ただし、あくまで人間にとって何かをするときの手段としてとらえることが大事だと思います。これからどう変わっていくかは皆さんのお目で判断してほしいです。

Q 行き詰った時どうしますか?

A 気分転換に逃げる時もありますけど、どちらかと言うとやっぱりずっと考える方になってしまいますね。新しいやり方や新しい考え方で乗り越えられることもあるので、やっぱりある程度は集中して考えるのが一番いいんじゃないでしょうか。それでもダメな時はやっぱりそこで中断して、それで時間がたった時にもう一度考えるとか。そういうことは日常茶飯事ですけど、考え続けるのが一番効果的かな。

Q 高校生の時にやってほしいことは
何ですか?

A 何でも体験しようとする気持ちが大切です。新しいことに踏み入れるとき、できない、面倒くさいと思わず、それができるのはその瞬間だけだから、積極的に挑戦していくください。努力の分、かならず結果に出てきます。後は何でも楽しむことです。楽しまないと、モチベーションも出ないです。いやな勉強でも将来の自分をバージョンアップするときの材料になると思って楽しんだ方が良いと思います。

(インタビューを終えて)

インタビューはAIについての素朴な質問から始まりましたが、丁寧に説明や解説をしていただきました。先生の研究に対する姿勢、考え方などを聞き、また、私たちがこれまで見たこともなかった研究室の実験装置を実際にのぞかせてもらい、大変おもしろく、興奮しました。今から何でも体験するようにし、面倒くさいと思わず積極的に挑戦していくことを思いました。そして、廣島さんのように粘り強く頑張っていこうと思いました。



(取材・執筆 芦田翔太、芦田峻馬、森田あいり、山本哲也、西田朱里)

もっと知って!

BDR

セミナーやシンポジウム、イベントなどのアウトリーチ活動を通じて、研究内容やその成果を伝えています。

活動報告 2019年10月～2020年2月

女性研究者が女子生徒と交流しました

10月24日(木)に福山市の女子中学生15名が大阪地区を訪問し、無細胞タンパク質合成研究チームの益田恵子研究員と先端バイオイメージング研究チームの岡本和子研究員と交流しました。また、12月19日(木)には東京都の女子高校生26名が横浜キャンパスを訪問し、翻訳構造解析研究チームの岩崎わかな専任研究員と交流しました。研究者になるまでや研究生活について、様々な質問にお答えしました。

口ハスフェスタ万博に出展

11月3日(日祝)に万博記念公園で開催された口ハスフェスタに出展し、サイエンスカンバッジワークショップを行いました。BDRに関連するいきものモチーフにしたカンバッジは、こどもから大人まで大人気でした。

一般公開を開催しました

神戸キャンパスでは11月9日(土)に、大阪地区では11月23日(土/祝)に、一般公開を開催しました。天候に恵まれて両地区とも家族連れや友人同士を中心に2000名を超える方々が来場し、自分で機器を操作したり、研究者の説明に聞き入ったりしていました。



学会にてブース展示を行いました

12月3-6日に福岡市で開催された第42回分子生物学会年会、および12月7-11日にWashington,DCにて開催されたASCB/EMBO 2019 Meetingにてブース展示を行い、最新の研究成果や求人情報を提供しました。

サイエンスフェアin兵庫

兵庫県下の高校生が日頃の研究活動について発表を行うサイエンスフェアin兵庫が1月26日(日)開催され、砂川玄志郎基礎科学特別研究員(網膜再生医療研究開発プロジェクト)が冬眠研究についてポスター展示を行い、高校生と交流しました。



今後の予定

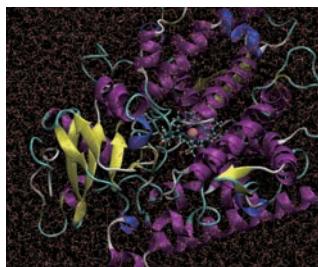
連携大学院研究室見学会

◎4月9日・10日・11日 ◎神戸キャンパス

理研BDRでは、連携大学院制度を利用して熱意ある大学院生(修士/博士)を積極的に受け入れ、生命科学分野に関する研究を担う次世代の人材を育てるに取り組んでいます。この連携大学院制度に興味がある大学院進学予定者向けに、神戸キャンパスで活動する研究室の見学会を開催します。発生・再生科学の研究現場に触れ、PIや研究員・学生と交流して、連携大学院の学生として理研で研究することの魅力を感じてください。



表紙はこれ!



高校生のための生命科学体験講座

◎8月20日、21日 ◎神戸キャンパス

夏休みの一日を理研で過ごしてみませんか?線虫を使った実習や、研究者レクチャーと研究室見学など充実のプログラムです。申込みはBDRウェブサイトおよびTwitterで7月1日(水)から。



これは創薬専用スパコン「MDGRAPE-4A」でシミュレーションした水溶液中でゆらゆら動く分子のスナップショット。大きな分子はCYPタンパク質とヘム、小さい折れ線は全て水分子。

◎画像提供:
計算分子設計研究チーム

大学生のためのBDRサマースクール

◎8月31日～9月4日

◎神戸キャンパス

BDRの研究室に滞在して最先端の研究に触れるとともに、多くの未解決問題を解き明かす営みを体験できるプログラム。将来研究者になりたい方、理研連携大学院に進学することに興味のある方、ぜひご参加ください! 申込みはBDRウェブサイトから、締切は5月26日(火)。



いきもんタイムズ vol.04

発行日／2020年4月1日

発行者／理化学研究所

生命機能科学研究センター

(RIKEN BDR)

神戸市中央区港島南町2-2-3

E-mail: bdr-riken@ml.riken.jp

<https://www.bdr.riken.jp/>

記事中の表記は原則発表当時のものです



BDRについて、もっと詳しい情報は▼

