

プロテオミクス実験法・同実習 に参加して

山川 翔 大

Shota YAMAKAWA

数理情報学専攻修士課程 1年

1. はじめに

平成 29 年 9 月 9 日から 11 日まで広島大学にて開講された「プロテオミクス実験法・同実習」の講義に参加させていただきました。この講義は広島大学、明治大学、龍谷大学の間で締結された大学交流に関する包括的協定単位互換プログラムで、今回は 9 名の学生が参加しました。

プロテオミクスとは、プロテオーム解析ともいい、構造と機能を対象としたタンパク質の大規模な研究のことを言います。プロテオームというのは、ある生物のゲノムの産物の総和、すなわち個体あるいは一つの細胞で発現しているタンパク質すべての動態を要素とする集合のことを言います。言葉としては、タンパク質を意味する“PROTEin”と染色体を意味する“genOME”を組み合わせた造語です。この研究は、従来のように一つのタンパク質に着目して解析を行うのではなく、タンパク質群が生物活性を発現する様子を系統的、網羅的に解析することを目的としています。今回の講義ではプロテオミクスでよく使われる質量分析法といわれる分析手法について講義を受け実験を行いました。

2. プロテオミクス実験法・同実習に参加した目的

私がこの講義に参加した目的は、数理情報学で行う研究とはまた違った、生物・化学分野の研究を体験し、情報機器だけに頼ることのないことを学びたいと考えたからです。今、私が行っていることでは、プログラムに値を与え、計算をさせ、グラフなども書くということをさせています。そのため私自身が行うことは少なく、プログラムや値の代入が間

違ってなければ大きく異なる結果が得られることはありません。ですが、生物分野の研究では、自身の手を動かし、抽出や配合を行っているため、簡単に結果を知ることでもできなければ、間違った結果になってしまうこともあります。そういったことを体験することで、今の自分自身の研究に対して何か繋がるものがあり、いかせることができるのではないかと考え、この講義に参加させていただきました。また、この講義は、広島大学との単位互換制度により龍谷大学院での単位認定にもなるため、受講させていただきました。

3. 実験内容及び手順

実験は、与えられたゲルシート上のプロテインマーカー 5 つのタンパク質サンプルの種類を質量分析法 (PMF 法) によって同定するというものです。タンパク質に酵素を加えることで分解、結晶化させたのち、AXIMA-CFR というイオン化装置にかけ、測定データをプロテインデータベースと照らし合わせることでタンパク質の同定を行いました。この測定を行うに際して、2 日間もの期間を使い、また、測定データも細かく 10 づれるだけで異なるものに測定されてしまうほど繊細なものでした。そのため、実験中は細かな作業も多く、一つ一つを丁寧にを行い、自分自身のタンパク質が検出されないように実験用手袋のはずし方一つにも注意も必要でした。

手順としては、はじめにゲルシート上のプロテインマーカーからタンパク質サンプルを細かく切り出し、その切り出したサンプルを、50% アセトニルにより洗浄を行いました。次に、100% アセトニルにより、脱水によりゲルを収縮させ、この実験の鍵となる還元・アルキル化を行うことにより、立体構造であるタンパク質を平面構造に変化させることで推定を行えるようにしました。その後、平面構造となったタンパク質のみを抽出するために酵素溶液 (トリプシン) により消化を行い、ゲルを膨張させました。抽出したサンプルを MALDI-TOF MS 測定を行うことで、サンプルのピークからタンパク質の

種類を推測しました。

4. 実験結果と考察

私たちの班では、タンパク質サンプルのうち、4つでは正常な値が出ましたが、1つは他のサンプルが混入したのか正確な値が出ませんでした。また、結果の中にピーク値1880付近の値があり、これは人のタンパク質ケラチンとのことで、実験者のタンパク質も検出できてしまいました。実験としては成功しているのですが、本来の研究などでは、出してはいけない物質らしく、初めての実験でしたが少し残念な気持ちです。

また、この実験で、イオン化装置を操作する際にやみくもに操作するのではなく、効率的にかつ大胆に、正確に操作する必要があり、遊び半分で動かすわけにもいかず、実験の重要さ、貴重さを学ぶいい経験になったのではないかと思います。

5. おわりに

プロテオミクスや生物・化学分野についての知識がほとんどない状態での受講ということもあり、理解することができるのか、また、実験を失敗しないかなど、多くの不安がありました。ですが、広島大学の方や班の仲間と協力することで、難しいことも



図1 講義終了後の集合写真

乗り越えることができたと思います。

生物・化学分野の研究が、数理情報学専攻の私の普段では考えることのできない量の時間や神経を使い、一つのデータや結果を出すことにかかる思いというものを感じることができたのではないかと思います。今後の研究や生活において、この講義で感じたこと体験したことを自らの研究にかける思いや日々の生活のなかでいかしていけたらと思っています。

最後になりましたが、講義を担当してくださった泉俊輔先生をはじめ、講義に参加するにあたって協力していただいた広島大学、龍谷大学の皆様、一緒に実験してくださった班の皆様に感謝いたします。