

インターンシップ体験記 (海外インターンシップの場合は英語で記入)

インターンシップの目的、概要

今回のインターンシップでは、細胞核内にあるタンパク質ヒストン修飾を認識する抗体から導出された分子プローブであるミントボディを用いた解析を行った。私は現在、専門研究でヒストンタンパク質の修飾について研究しているが、使える手法が生化学的なものに限られていて、生きた細胞内でのダイナミクスを見ることは難しかった。そこで生細胞で直接ヒストン修飾の量を計測できるという点でミントボディは非常に画期的で、私が現在行なっている実験とは違う角度から細胞を見ることができると期待してインターンシップを希望した。私が普段扱っている分裂酵母細胞は、遺伝子の導入、そしてその結果起きる細胞の生態を簡易に観察できるのでミントボディの実験のように多数の遺伝子を一挙に導入しないといけないような実験に適している。木村研究室は基本ヒト細胞を扱っていて、そのような細胞は大概遺伝子導入が難しい場合が多いので酵母細胞を用いて実験を行うことは木村研のミントボディの機能判定、新たに使用可能な配列の探索などにも貢献できることが期待された。コロナウイルスが流行している最中であることもあって、今回の研究は現地の東京工業大学には行かずリモートでの作業となった。つまり配列など必要な情報、サンプルを東京工業大学から受け取り、私が大阪大学で実験（具体的には酵母細胞用のプラスミドに移し替え、蛍光顕微鏡で観察する、など）を行う形となった。実験方法や考察等はインターンシップ受け入れ先である東京工業大学の木村先生からメールのやりとり、もしくは Zoom を用いたビデオ会議などで学んだ。リモートでの活動なので違うところに住んでの時間の過ごし方の違い、食事、文化などに関しては特に記載することはない。

準備期間

準備期間は研究対象であるミントボディについて勉強する、それに以前から研究室で把握されている知識などを再確認するのに費やされた。この際に、ミントボディがどのように元々のハイブリドーマ細胞から産生される抗体から作製されるかを学んだ。そこで、ミントボディの作成の過程に従って、準備期間の段階から今回のインターンシップで新規に使用可能なミントボディを見つけることは困難なことが予想された。またこの間に専門研究について受け入れ先の先生に説明すべくわかりやすくまとめた資料なども作成した。受け入れ先の先生は類似の研究を行っているとはいえやはり研究の過程、この先の方針等をわかりやすく整理することは私自身にも大変有用であった。

インターンシップ期間中に学んだこと、達成できなかったことなど

インターンシップ中に学んだことは、ミントボディに関する専門的な知識だけではなく、画像解析の基礎、それにリモートでの共同作業の方法などである。先ほどにも記述したように、インターンシップはコロナウイルス流行中に行われたこともあり、現地の東京工業大学に赴いて行うのではなく、リモートでの研究となった。もちろん実験を大阪大学で行えるということもあり、酵母細胞や薬剤など実験に必要な試料は揃っているので実際の実験に関しては通常の専門研究の際と大きな変化はない。しかし、実験に関しての相談ややり取りは全てメールなどを通してであり、通常の研究の際とは違って早急に相談できたり、先生のスケジュールが簡単に把握できたりはしない環境であった。もちろん交流の場が全く設けられなかったわけではなく、受け入れ先の先生のラボミーティングに参加して自分の研究に関して紹介したり、研究室の方々から直に画像解析の方法を学べたりリモートながら相手先の研究室の方々から指導を受けることができた。研究の際のスライドのまとめ方についてもただ結果を並べるだけでなく研究意義、過去の結果等も盛り込むように指導いただく等、先生と交流してフィードバックをもらう機会もあった。これからインターンシップを行う学生の方々はこのコロナウイルスの流行がおさまらない限りリモートでの作業も多くなると思われる。よって、やはり早い段階からどのようにインターネット上で意見交換、指導の受け方などを考え決めておくとか受け入れ先の先生方の都合なども把握することができミーティングなども設定しやすくなると思う。特に全く違う業種、研究環境に赴いてインターンシップを行うならなおさらこのような詳細な準備が必要である。コロナウイルスの関連で増えると思われるインターネットを通じての会議、共同作業の際のコミュニケーションの取り方、相手のスケジュールなどを考えて余裕を持って行動する方法などが学べたことは、私は非常に有益であると思った。これに対し、インターンシップの目的である「使用可能なミントボディを新たに構築する」ことに関しては、達成できなかった。もちろんその手前の段階であるミントボディ配列を導入し、実際に細胞内

インターンシップ体験記 (続き)

での蛍光シグナルの観察まではできたものの、ヒストン分子があるはずの核に局在せず細胞全体にシグナルが広がっていたので、それを使つてのヒストン修飾の検知、定量はすることができない。また元々正しく働くと知られていたミントボディに関しても実際に蛍光顕微鏡で観察するとシグナルが暗かったり細胞質に蛍光がありすぎたりと核の内部のつぶさな蛍光シグナルの変化を見ることが非常に困難であった。このように最終目標に到達できなかったり、スケジュールの遅れたのは培地作成のミスやプラスミド作成のミスなど予期していないところでの時間の遅れがあったことにも原因がある。一つ一つのミスは大変小さなものであったが、酵母細胞に遺伝子を導入するのに少なくとも1週間強はかかるとすると、3ヶ月という限られた期間では大変致命傷となる。インターンシップ中には、細かいミスを無くすという根幹的なことに加え、予測しないようなことや慣れない作業環境から起きるミスや遅れなどを事前に見据えて余裕を持ってスケジュールを立てる、また先へ進めるように矢継ぎ早に、中断することなく実験を組めるようにすることが必要であることを実感した。もちろん今回の結果は必ずしも悪いことばかりではなく、蛍光が見られた配列もあったので酵母細胞の飼育環境を変える(飼育する温度を低くしてミントボディの細胞内での様子を観察する)などして機能が改善する可能性、そしてそれらのミントボディ配列に変異を導入してさらに改善させる余地があることなどがわかった。したがって木村研究室がヒト細胞でうまく機能せず諦めていたミントボディでもそれを改良することができる可能性ができたので今回の研究は必ずしも完全な失敗ではなく、受け入れ先の木村研究室の研究に違う角度から貢献できたので大変に有意義だったと思う。このような実験が可能になったのも私が分裂酵母細胞のように比較的簡単に早い実験系を使用したからである。また今回は画像解析、それに普段とは違う分子プローブを用いたことで細胞内の生命現象を可視化することの難しさ、それに多種多様な手法があることを再確認した。顕微鏡に関する技術が発達し生命現象を可視化することが重要視されている現在これは将来に生物学の研究をする上で非常に有用であると考えている。

異なる分野の研究をしたことで得られた経験

今回の実験はヒストン自体でなくヒストンの可視化という課題だったので顕微鏡画像で可視化させるということについてより深く考えることができた。しかも分子プローブの研究ということもあり分子自体の性質、分子が最適に存在することができる環境、細胞内部に導入するにあたって構造を変えること(蛍光タンパク質をタグとしてつける)によって分子構造に与える影響などさまざまなことを考慮しなければいけないことを学んだ。これは今回使用した K8 アセチル化を認識するミントボディが酵母細胞ではヒト細胞と違ってシグナルを見せることからわかることである。これはヒト細胞と酵母細胞の内部環境の違い、それに飼育している温度(酵母細胞はシャーレ状に培養される細胞よりも低い摂氏 30 度以下で飼育される)などに起因している。これを身をもって体験できたことは私にとっても大変有意義な経験だし木村研究室にとっても新しい発見となった。これから生物学を研究して顕微鏡で生命現象を観察する上で貴重な経験となったと思う。

今回のインターンシップは木村先生をはじめとする木村研究室の皆様、私が所属する平岡研究室の皆様、リモートという通常とは違う方法で非常に困惑していた中サポートしていただいたヒューマンウェアの教務の皆様のおかげで無事修了することができました。皆様お忙しい中大変ありがとうございました。