

平成29年度
ひらめき☆ときめきサイエンス～ようこそ大学の研究室へ～KAKENHI
(研究成果の社会還元・普及事業)
実施報告書

HT29173 プログラム名 ノーベル賞に輝いたオートファジーを体験しよう！



開催日：2017年7月30日(日)

実施機関：静岡大学

(実施場所) (理学部 A 棟 601 学生実験室)

実施代表者：丑丸 敬史

(所属・職名) (理学領域・教授)

受講生：中学生1名、高校生15名

関連URL：<http://www.jsps.go.jp/hirameki/ht29000/ht29173.pdf>

【実施内容】

背景・目的

昨年 2016 年に大隅良典先生がオートファジーの研究でノーベル医学生理学賞を受賞した。オートファジーは栄養源飢餓時に大規模に細胞内のタンパク質が液胞(リソソーム)で分解し栄養源のリサイクルを行う。出芽酵母は大きな液胞を持つため、オートファジーの顕微鏡での観察に適していることを大隅先生は見出し、独創的な研究を展開してノーベル賞の受賞に結びついた。その後、オートファジーは酵母だけでなくヒトでも同様に細胞内に起こること、栄養源の有無に関係なく、細胞にとって有害な細胞内成分を除去することにより細胞内の浄化に役立つことが明らかとなった。オートファジー不全になると細胞内の浄化作用が滞るため細胞が死にやすくなり、脳細胞死による認知症を引き起こす。オートファジーと病気との密接な関係が明らかになり、それが大隅先生のノーベル賞受賞に結びついた。

TORC1 (target of rapamycin complex 1)は栄養源により活性化するタンパク質リン酸化酵素であり、栄養源のある時には無用のオートファジーが起こらないように抑制しているが、栄養が欠乏すると不活性化しそれにより抑制されてオートファジーが活性化する。このように TORC1 はオートファジーを制御する重要なタンパク質である。申請者はこの TORC1 研究で科研費を受けオートファジー研究を行い、オートファジー誘導に必要な遺伝子 PP2A を発見した。本実験校講座はこれを受けて行うものである。

参加生徒にはノーベル賞受賞の興奮を味わいそれを追体験してもらうことに加えて、基礎科学研究とそれを支える科研費の重要性を理解してもらうことを目的とし、大隅良典先生のオートファジー発見につながった実験と同様な研究を実際に行ってもらった。参加者は、オートファジーを活性化する栄養源飢餓処理を細胞に行い、細胞がオートファジーを誘導する様子を顕微鏡で観察した。これにより、参加者の基礎研究への興味とモチベーションを喚起した。

スケジュール

- 10:00～10:30 受付(理学部 A 棟 6 階 A601 学生実験室)
- 10:30～10:45 開講式(あいさつ、オリエンテーション、科研費の説明)
- 10:45～11:15 講義①「オートファジー研究に役立った酵母 - ノーベル賞のきっかけ」
- 11:15～11:30 機器(ピペットマン、微量遠心機、ボルテックスミキサー)の取り扱い説明
- 11:30～12:00 実験①「遠心機を使って培地交換をして細胞を栄養源飢餓にする」
- 12:00～12:40 ランチタイム
- 12:40～13:10 講義②「オートファジーと病気の関係 - ノーベル賞への道」
- 13:10～13:40 実験②「酵母細胞をのぞいてみよう(光学顕微鏡の使用法習得を含め)」

13:40～14:10	クッキータイム(生徒と大学での研究の話等を歓談)
14:10～14:50	実験③「蛍光顕微鏡を用いての酵母のオートファジーの観察」
14:50～15:30	実験④「光学顕微鏡を用いての酵母のオートファジーの観察」
15:30～16:00	ディスカッション、振り返りの講義「今回の実験から何が見えるか」
16:00～16:30	まとめ(感想発表)、アンケート記入、修了式(未来博士号授与)
16:30	終了・解散

講義・実験の内容

- (1) 講座の最初に、高校生にも理解できるようにわかりやすくオートファジーの働きと重要性(【背景・目的】に記載)の説明をパワーポイントでプレゼンテーションした。学生にはパワーポイントと同じ内容の配布物を用意した。その後、申請者のオートファジー研究を同様に説明した。実験に備えて、どのような処理で細胞にオートファジーを誘導し、細胞を観察するかの具体的な説明を行った。
- (2) 実験に先立って、実験に用いる器具の取扱い説明を行った。使用した器具は、主にピペットマン、小型遠心機、ボルテックスミキサーである。特に遠心機は試料のバランスを取って安全に使用することを留意させた。
- (3) この処理によりオートファジーが誘導されいわゆる「オートファジックボディー」が液胞中に出現する。このオートファジックボディーの蓄積をオートファジー誘導の指標にして通常の光学顕微鏡を用いて観察した(これは、大隅先生がオートファジーを初期に観察していた方法と全く同じものである)。対象実験として、栄養豊富な培地中で生育した酵母ではこのようなオートファジーが起きないこと、大隅先生が発見したオートファジー遺伝子 *ATG1* 欠損変異株では栄養源飢餓でもオートファジーが誘導されないことを比較して観察した。
- (4) 測定方法が改良された今日では、初期のオートファジー研究で用いられた上記のようなオートファジックボディーの蓄積でのオートファジー誘導は用いられない。高度で多角的な検出方法が考案されている。最新のテクノロジーによるオートファジー誘導測定法に触れてもらうため、蛍光タンパク質 GFP を細胞質で発現させた酵母において細胞内成分がオートファジーによって液胞に取り込まれる様子を、最新の蛍光顕微鏡で観察してもらった。現在の生物学の進展を理解してもらうとともに機器が高額化しているために科研費の取得による研究進展が不可欠である現状を理解してもらった。
- (5) クッキータイムには、打ち解けた雰囲気、理学部(主に生物科学科)で、他の研究室の研究も含めてどのような基礎研究を行っているかを参加生徒に講師、および TA から紹介した。
- (6) 講座の最後に実習を通して学んだことなどを、参加生徒から全員に向けて発表してもらい講座のまとめとした。

感想・課題

大隅先生のノーベル賞受賞のニュースもまだ記憶に新しい。県外からも生徒の参加し本講座に対する期待度が高かった。実際、参加した生徒達の日本人ノーベル賞受賞に敏感に反応していることを強く感じた。参加者全員の関心も高く熱心に講座に取り組んでくれ、こちらもやりがいがあった。特にこちらから要請したわけではないが、オートファジーに関しても予め知識を持って講座に臨んでもらえたようで、オートファジーの理解度も高く、スムーズに実験を行ってもらうことができ、得られた実験結果に関しても理解度も高かった。

アンケート結果から、参加者には本講座は高評価をいただいたことが分かる。これは本企画が、十分に計画段階から練られたものであり、実際にオートファジーを研究している実施者が主宰し TA もオートファジーに極めて造形が深かったことから、必要十分な適切な実験講座ができたものと考えられる。ノーベル賞につながる研究がとても身近な研究機器(この場合には光学顕微鏡)を用いて出発したことが参加者には伝わった。当たり前になっている現象も注意力がなければ見過ごされてしまう。注意深い観察こそが、研究の基本であるというメッセージを伝えた。

今回使用した光学顕微鏡は高校でも使用するようものと同様なものであったため、参加生徒は顕微鏡に慣れていないと期待したが、実際には参加生徒は学校で実際には顕微鏡をあまり扱っていないようで、顕微鏡に慣れるために時間が予想以上にかかり、実験時間が窮屈になってしまった。次回、同様な取り組みをする場合には、高校生の実情を把握して実施時間に余裕を持って計画を立てる必要がある。

講座実施の様子



(左) 酵母に栄養源飢餓の処理を施す実験風景。まず培養液を遠心機にかけて細胞を沈殿させてその上清をピペットマンで吸い取り除去する。その後、栄養（窒素）源を含まない溶液を加えて、飢餓処理を行った。上清を除去する際には、細胞を吸い取らないように注意深く行った。

(右) 実験終了後の集合写真。前列中央の白衣が実施者。

事務局との協力体制

当大学の学術情報部研究協力課に日本学術振興会との連絡および書類の提出等を仲介していただいた。学術情報部産学連携支援課に業務委託契約締結事務を執り行っていただいた。財務施設部契約課には委託費管理と支出報告書の確認等をお願いした。理学部総務係には、プログラムの実施まで実施代表者のサポートを行っていただくとともに、学術情報部研究協力課と実施代表者の橋渡しを行っていただいた。広報室には本学大学ウェブサイトにも本講座のアナウンスを掲載していただいた。

広報活動

本学ウェブサイト及び理学部ウェブサイトに募集案内を掲載した。理学部が街中で行っている市民講座サイエンスカフェにおいて受講者に本講座のチラシを配布した。本学に入学実績のある県下の高校へ募集案内を送付し周知を依頼した。

安全配慮

危険な試薬・機器を実習に用いないように配慮した。さらに、実習実施に当たっては受講生15人に対して2人のTAを付けて懇切に指導した。受講生および実施協力者（大学院生）を短期のレクリエーション保険に加入してもらい万全を期した。実施者については大学が加入している保険が適用した。

【実施分担者】

0名

【実施協力者】

2名

【事務担当者】

村上 真佐子(理学部総務係)