

宇宙地球フロンティア実地研修 報告書

Report for Onsite Training in Earth-Space Frontier Science

氏名/Name	増田直旺 Nao MASUDA
所属部局/ Affiliation	理学系研究科 生物科学専攻 Department of Biological Sciences, Graduate School of Science
研究機関・企業名 /Hosting Institution	武田薬品工業 薬物動態研究所 Research and Development, Research, Drug Metabolism & Pharmacokinetics Research Labs
期間/Period	2022年 1月 5日 ~ 2022年 3月 31日 01/ 05/ 2022 ~ 03/ 31/ 2022

宇宙地球フロンティア実地研修として、武田薬品工業・薬物動態研究所におけるジョブ型研究インターンシップに参加した。研究テーマは「LC-MS/MS を用いた *in vivo* サンプルのオミクス研究」である。本研究では、薬剤処理群および対照群における発現タンパク質に変動が見られるかどうか、変動が見られる場合はそれがどのようなタンパク質であるか、さらにそのタンパク質が処理群におけるバイオマーカー候補になりうるかを検討することを目的とした。

具体的な研究内容は以下の通りである。まず、*in vivo* 試料（薬剤処理群および対照群）について LC-MS/MS 分析を行い、得られたデータを用いて発現タンパク質の同定および定量解析を行った。主成分分析 (PCA) を行い、群の分離度をみることで、薬剤処理群および対照群のそれぞれに群を特徴づける因子があることを確認し、バイオマーカー候補を探索するサンプルとして適していることを確認した。次に、上記で得られた定量データについて、統計学的に薬剤処理群と対照群の群間比較を行い、タンパク質の発現変動解析を行った。薬剤処理群において、対照群と比較して発現が変動していたタンパク質について、Gene Ontology (GO) 解析や Pathway 解析を行った。

Gene Ontology enrichment 解析では、どのような GO（機能や特徴）をもつタンパク質が多いか、またそのような GO をもつタンパク質にはどのようなものがあるかを明らかにした。Pathway enrichment 解析では、どのような pathway に含まれるタンパク質が多いか、またその pathway や周辺 pathway に含まれるタンパク質の発現がどのように変動しているかを明らかにした。

さらに、対象疾患や薬剤の作用メカニズムなどに関連した pathway を検索し、その pathway に含まれるタンパク質の変動評価も行った。また、LC-MS/MS とは異なる方法で得られたデータ（病理検査）の結果などとの比較を行い、総合的に結果を解釈した。統計解析および Pathway 解析により優位に変動の見られたタンパク質の中から薬剤処理群におけるマーカー候補を抽出し、論文情報と照合しながら妥当性を検証した。

上記の実施内容、結果や考察についてチームメンバーにプレゼンテーションを行い、議論した。

本研究によって、上記研究内容で述べた解析手法を用いて繰り返し解析を行うことで、解析手法を習得できたと考える。また、解析に必要な知識を基礎から学ぶことができた。研究を進める上で、新たな課題が生じることも多かったが、その際にはチームメンバーと議論しながら、その解釈や解決方法を探る経験もできた。

申請者は、修士課程の研究で、地下微生物を対象とした LC-MS/MS 分析を行い、プロテオーム解析のデータ解析 (Pathway 解析や Gene Ontology 解析) を行ってきた。さらに今後の博士課程の研究では、修士課程での研究データを応用して改めてプロテオーム解析を行う予定である。地下微生物を対象としたプロテオーム解析は、地下深部という極限環境のためサンプルの入手が難しく、また世界的にみても新しい試みであったため、解析手法も限定的なものになってしまったと考えている。本研修に参加することによって、他の環境、他の対象生物、より汎用的な研究手法を学ぶことができたと考える。身につけた技術や知識を今後のプロテオーム解析に活かしていきたい。

As an onsite training in Earth-space frontier science, I participated a job-type research internship at Research and Development, Research, Drug Metabolism & Pharmacokinetics Research Labs, Takeda Pharmaceutical Company Ltd. The research theme was “LC-MS/MS based omics in biological samples”. The purpose of this study was to clarify whether the expressed proteins are regulated in the drug-treated group compared with the control group, and if some proteins are regulated, to clarify the types of that protein. And, to examine whether that protein can be a biomarker candidate in the drug-treated group.

The details of the research are as follows. First, LC-MS/MS analysis was performed on in vivo samples (drug-treated group and control group), and the obtained data were used to identify and quantitatively analyze the expressed proteins. Principal component analysis (PCA) confirmed that each of the drug-treated group and the control group had factors that characterized the group, and that it was suitable as a sample for the search of biomarker candidates. Next, the quantitative data obtained above were statistically compared between the drug-treated group and the control group, and differential protein expression analysis was performed. Differential expressed proteins were then applied to Gene Ontology (GO) analysis and Pathway analysis. Gene Ontology enrichment analysis revealed which types of GO (functions and characteristics) are abundant in the differential expressed proteins, and the types of proteins to have such GO. Pathway enrichment analysis clarified which types of pathways are abundant, and how the proteins on the specific pathway and surrounding pathways are regulated. Furthermore, the search for pathways related to the target disease as well as the mechanism of the drug’s influence, and the evaluation of differential expressed proteins contained in the pathways were performed. In addition, the results were comprehensively interpreted by comparing with the results obtained by a method which differs from LC-MS/MS (pathological examination). Marker candidates in the drug-treated group were extracted from the proteins that showed significant differential expression, and their validity was verified by collating with the literature information. To summarize, I gave a presentation to the team members and discussed the above research contents, results, and considerations.

Through this study, I learned the analysis method and skills by performing analysis repeatedly. I also learned the knowledge necessary for analysis from the basics. During my research, I encountered many new issues, and each time I tried to find an interpretation and a solution through discussions with team members.

Since it was difficult to collect samples from the extreme environment deep underground, and because it was a very new attempt, the metaproteomic analysis on deep underground microorganisms using LC-MS/MS of my master thesis would’ve been limited. I’m planning to perform proteomic analysis again in my doctoral research, so I’d like to utilize the skills and knowledge I have acquired from this training.

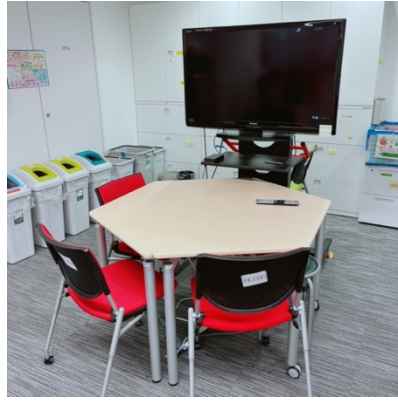


武田薬品工業 薬物動態研究所のある湘南 iPark

Shonan health innovation park; Research and Development, Research, Drug Metabolism & Pharmacokinetics Research Labs, Takeda Pharmaceutical Company Ltd.



研修中のデスク
My desk, while on the intern.



チームメンバーとの議論スペース（左：居室内、右：会議室）
（資料や解析画面を大画面に映して議論を行った）



Meeting booth with the team. Left; in the office, right; meeting room.
We've used the screen to share the research outcomes.