

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	金山大輝 Kanayama Daiki		
所属部局/ Affiliation	理学系研究科 化学専攻 Department of Chemistry, Graduate School of Science		
研究機関・企業名 /Hosting Institution	金沢大学ガン進展制御研究所		
期間/Period	2022年11月24日 11 / 24 / 2022	～	2022年12月16日 12 / 16 / 2022 *西暦で記入 mm/dd/yyyy

ペプチドやタンパク質がヒト細胞に与える影響を調べる研究手法を学ぶために、本研究室の研究分野と深い関係のある金沢大学ガン進展制御研究所にて勉強させてもらった。まず、増殖、収穫、保存などの細胞培養における基本的な操作方法を学んだ。特に、細胞の種類による特性の違いについて理解し、本研究室において複数種のセルラインの構築を目指した。また、細胞にリガンドを添加した際における受容体の活性化レベルを評価する実験を学んだ。今回は特に MET 受容体に注目し、リガンドを添加した際の MET 中の Tyr1234 と Tyr1235 のリン酸化レベルを測定した。具体的には、培養プレート上で細胞にリン酸化 MET と特異的に結合する抗体を添加することで、リン酸化 MET を化学発光により定量した。さらに、蛍光標識されたタンパク質をリガンドとして細胞に添加し、共焦点顕微鏡を用いて詳細な細胞の構造を観察することで、蛍光標識されたタンパク質が細胞のどこに局在化されているかが可視化され、リガンドのエンドサイトーシス誘起を確かめることができた。本研修を通して、細胞アッセイを得意とする研究者から直接指導をいただけたため、以後の細胞実験の信頼性と再現性を向上させることができた。また、本研修で学んだ技術を用いて行った研究の論文を執筆中である。

To gain insights into the impact of peptides and proteins on human cells, I pursued studies at the Kanazawa University Cancer Progression Control Research Institute. Initially, I acquired fundamental techniques in cell culture, encompassing processes such as proliferation, harvesting, and preservation. A particular emphasis was placed on understanding the variances in characteristics among different cell types, with a specific objective within our laboratory to establish multiple cell lines.

Furthermore, I delved into experimental methodologies evaluating receptor activation levels upon the addition of ligands to cells. I measured the phosphorylation levels of Tyr1234 and Tyr1235 within MET receptor upon ligand addition. Specifically, I quantified phosphorylated MET through chemiluminescence by introducing antibodies that selectively bind to phosphorylated MET on cultured cells in a plate.

Additionally, I learned to add fluorescently labeled proteins as ligands to cells and employed confocal microscopy to observe detailed cellular structures. This approach allowed for the visualization of the subcellular localization of fluorescently labeled proteins, facilitating the confirmation of ligand-induced endocytosis. Through this training, received under the direct guidance of a researcher specializing in cell assays, I successfully enhanced the reliability and reproducibility of subsequent cell experiments. Moreover, I am currently in the process of incorporating the techniques acquired during this training into the composition of a scholarly article.

