

# 「SS特別研究 東京大学特別研究」

- 1 期 日 平成26年7月28日（月）～8月2日（土） 5泊6日
- 2 実施場所 東京大学大学院医学系研究科疾患生命工学センター  
再生医療工学部門 牛田研究室
- 3 参加生徒 5名（2年3名、3年2名）
- 4 指導者 東京大学大学院医学系研究科 牛田 多加志 教授（高26回卒）ほか  
5名のスタッフ

## 5 実習内容

骨格筋をモデルに細胞の分化に関する実習を行う。

- (1) 細胞を用いた実験の基本操作を学ぶ（無菌操作）
- (2) 試験管内での分化させた骨格筋を蛍光観察
- (3) 骨格筋分化に関する遺伝子の発現を定量
- (4) 物理刺激（細胞を伸展させる）が骨格筋分化に与える影響を検討

## 6 実施状況

### (1) 無菌操作、細胞継代、播種

クリーンベンチを使って、無菌状態での細胞操作実習を行った。その後、培養細胞を継代培養したり、新たな培地に細胞を播種したりした。雑菌の混入を防ぐために慎重に行った。

### (2) RNA抽出

組織の分化途中で作用している遺伝子を検出するために、**RNA**の抽出を行った。

**RNA**は分解されやすいので取り扱いに細心の注意を払った。

### (3) cDNA合成

**RNA**は不安定な物質なので壊れやすい。細胞の機能発現は、細胞内で働いている**mRNA**を抽出することで調べられるが、壊れやすい物質なので、**mRNA**を鋳型として**cDNA**を逆転写によって合成し、**cDNA**を**mRNA**と等価の情報として利用した。

### (4) PCR法

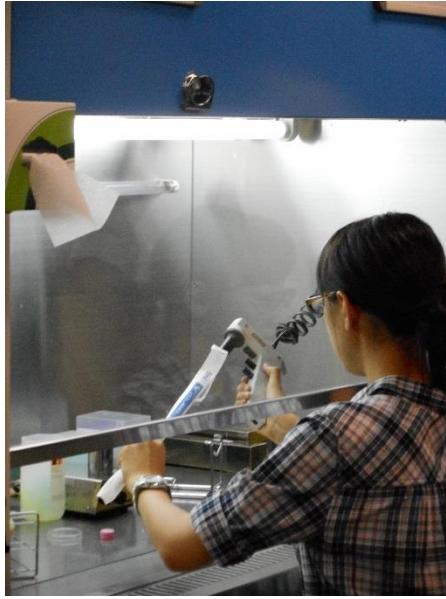
PCR法の原理と、その利用法および作業手順を講義から学んだ。その後、サーマルサイクラーを用いて**cDNA**を増幅させた。

### (5) 培養細胞の観察

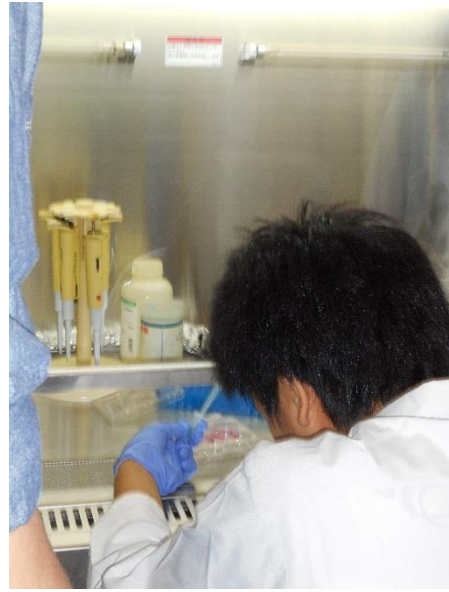
分化を抑制したES細胞と、抑制せず分化させた細胞の形態的相違を観察した。前者は未分化な細胞塊であったが、後者は細胞が形態変化（分化）している様子を確認することができた。

### (6) 電気泳動データ解析

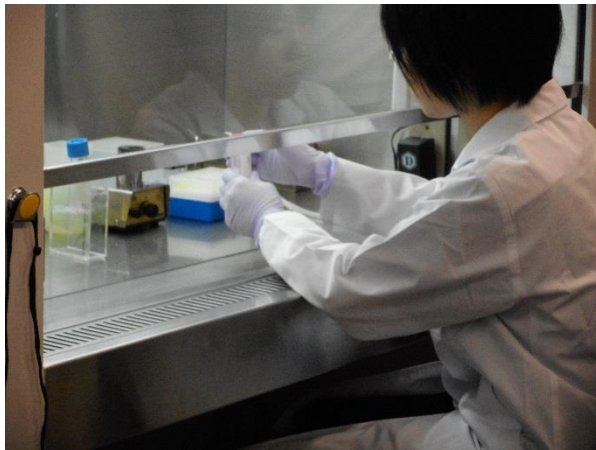
電気泳動後、紫外線を照射するとゲル上の**DNA**バンドが蛍光を帯びる。ゲルの写真を撮り、写真のデータを解析し、バンドの濃淡を数値化し、分析した。試料として、未分化な筋芽細胞であるマイオブラストと、それが管状に分化した細胞であるマイオチューブから抽出した**mRNA**に由来する**cDNA**の以下の遺伝子領域をPCR法で増幅し、電気泳動した。物理刺激により、より多くの筋芽細胞を作ろうとしている結果となった。この結果から、物理刺激によって遺伝子の発現量は促進されることがわかった。



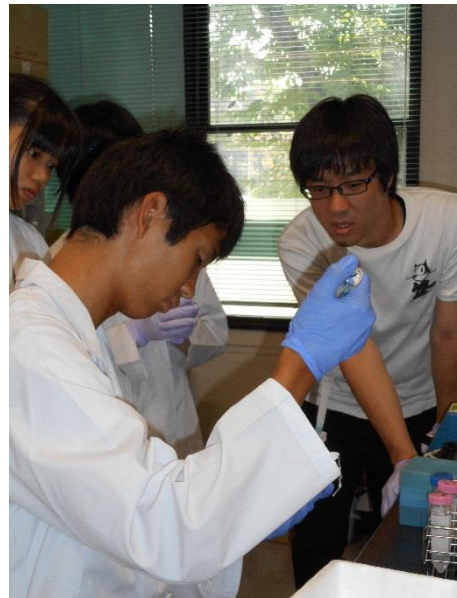
**細胞継代**



**RNAの抽出**



**サンプル回収**



**cDNA合成**