

# 生 化 学 実 習

【単位数:0.5単位, 授業20コマ】

## 1 科目責任者

笠井謙次 教授(医学部長)

## 2 教育目標

### (1) ねらい(Ⅲ-1-c)

- ① コンピテンスである「医学知識と科学的探究心」を理解するため、医学的発見の基礎となる科学的理論と方法論を学び、疾病の病因と病態・治療につながる基礎医学的な要素への理解を深める。
- ② 生化学の講義・実習で得た知識を基にして、将来診療で経験した病態の解析につながる学修を行う。
- ③ 疾患を含む全ての生命現象は遺伝情報に制御され、生体分子の相互作用と代謝の上に成立していることを学ぶ。

### (2) 学修目標

- ① 生化学における重要な基本物質(糖質, 脂質, アミノ酸など)の構造, 機能を説明できる。
- ② 糖質, 脂質, タンパク質, 核酸の代謝経路について, 経路の概略と調節機構, 生理的意義, 病態生理的意義, 調節に関与する酵素, 補酵素, 調節因子を説明することができる。
- ③ 高エネルギーリン化合物の生成機構と, この生体エネルギーが生体機能にどのように利用されているかについて説明できる。
- ④ 酵素の性質と作用機序及びその活性の調節機構を説明することができる。
- ⑤ 生化学における重要な基本物質(核酸, ヌクレオチドなど)の構造, 機能を説明できる。
- ⑥ 分子生物学の基本となるDNAの複製・修復, RNAの転写及びタンパク質の翻訳の機構を説明できる。
- ⑦ 分子生物学の基本的技術と概念を説明することができる。
- ⑧ シグナル伝達・細胞周期の概要及び細胞癌化の基本的な機構を説明できる。
- ⑨ ゲノム医学の概念を説明することができる。

## 3 成績の判定・評価

### (1) 総合成績の対象と算出法

	成績対象	割合	方法・コメント
レポート	○	80%	レポートに加えて, 口頭試問を課す可能性もある。 【再評価について】 評価が60点以下の場合は, 再評価の機会がある。
実習態度	○	20%	実習部署指導者による他者評価

出席: 実習を修得するためには, 欠席をしてはならない。

### (2) 合格基準

評価対象の合計が60%以上(又は60点以上)で合格とする。

### (3) 再試験・再評価の方法

レポートの再提出を求める。

### (4) 課題(試験やレポート)へのフィードバック

レポートの不備な点を指摘し, 直接本人にフィードバックする。

## 4 教科書

書名	著者名	出版社	教科書として指定する理由
生化学実習書(生化学講座作成)	生化学講座	生化学講座	実習の概要と方法がまとまっている。

## 5 参考図書

書名	著者名	出版社	参考図書とする理由
リップニコットシリーズ 「イラストレイテッド生化学」原書8版	石崎泰樹, 丸山 敬 監訳	丸善株式 会社	イラストを駆使して、生化学全般に網羅性・簡潔性に優れている。一部講義プリントの作製に利用している。
「レーニンジャーの新生化学(上・下)」	山科郁男 監修	廣川書店	一部講義プリントの作製に利用している。理解を深める目的で、辞書として使用するとよい。

## 6 準備学習(予習・復習)

予習: 授業計画表を参考にして、生化学実習書で実習内容の概要をつかんでおく(1日あたり約20分)。

復習: 生化学実習書を参考にして、実習内容の振り返りを行い、理解を深めてほしい(1日あたり約20分)。

## 7 授業計画

### (1) 講義(実習)の方法

生化学実習は、次項に記載する3種類の実験から構成される。学生は3人又は4人で班を編成し、各班のローテーション方式によって順次これらの実験を行い、最終的にすべての実験を履修する。実習開始日より前に実験の目的、意義及び手順等を記載した生化学実習書を配布する。実験当日の冒頭にはスライド又は配布資料を用いてオリエンテーションを行い、実習内容を確認するとともに実験の要点及び注意事項を説明する。実習中は教員が各班を巡回し、実験の進行状況を確認しつつ適切な指導を行う。得られた実験結果に対してその場でフィードバックを行い、実習後に提出されるレポートを通じて各学生の理解度を評価する。

### (2) 講義(実習)の内容

「酵素蛋白の構造と機能」では、ラット骨格筋の粗抽出物を塩析して得られたタンパク質溶液をゲルろ過クロマトグラフィーにより脱塩した後、DEAE-celluloseカラムを用いたイオン交換クロマトグラフィーを行い、タンパク質溶液を分画・回収する。次に、回収した複数のタンパク質溶液分画におけるグリコーゲンホスホリラーゼ活性を測定し、高濃度のグリコーゲンホスホリラーゼを含有する溶液分画を同定する。続いて、得られたグリコーゲンホスホリラーゼ溶液並びに対照として用いる精製前の抽出液をSDSポリアクリルアミドゲルに電気泳動し、クマシーブリアントブルー(CBB)染色を行う。最後に、CBB染色の結果に基づいてグリコーゲンホスホリラーゼの精製効率の確認と分子量の推定を行う。

「分子生物学基礎実験」では、ヒトゲノムDNAを鋳型とした $\beta$ -アクチン遺伝子のPCR増幅、プラスミドDNAの制限酵素処理、並びにこれら2種類の実験で得られたDNA断片のアガロースゲル電気泳動を行う。次に、PCR産物の泳動結果に基づいてアンプリコンサイズを推定し、プラスミド由来DNA断片の泳動結果に基づいて制限酵素地図を作成する。

「酵素の反応速度論」では、ラット肝臓の粗抽出液から調製した酵素溶液に含まれる酸性ホスファターゼの活性を、p-ニトロフェニルリン酸を基質としたp-ニトロフェノール産生量の測定によって決定する。この反応の初速度を、複数の基質濃度において、阻害剤存在下及び非存在下のそれぞれの条件で測定する。得られた結果に基づき、Lineweaver-Burkプロット及びMichaelis-Mentenプロットを作成し、 $V_{max}$ 値と $K_m$ 値を算出した上で、阻害形式について考察する。