

生化学実験	2年後期	1単位	必修	山田 一哉
[関連する資格・履修制限等]：管理栄養士, 栄養士, 食品衛生, 栄教 1 種				

【講義の目的・到達目標・概要】

様々な状態のラットから血液や組織を採取し、血液中に含まれるグルコースおよび各種脂質の量を測定します。組織から酵素を抽出し、解糖系・糖新生系酵素の活性を測定します。また、酵素タンパク質を電気泳動により分離して、解糖系酵素の抗体を用いたウエスタンブロッティングを行い、酵素活性の変動が酵素タンパク質量の変化によるかどうかを解析します。さらに、組織から total RNA を調製し、リアルタイム PCR 法を用いて、解糖系酵素遺伝子の発現量を定量します。

生化学の講義で学んだ生体物質や代謝酵素等を、実際に「モノ」として扱うことにより、講義で得られた知識を実験に裏打ちされた確かな知識へと昇華することを目指します。主要な栄養素の定性・定量をおこなうとともに、代謝酵素の酵素活性の測定ならびに遺伝子発現の変動をタンパク質レベルや RNA レベルで解析することにより、基本的技術から先端的技術の習得を目指します。

【講義の進め方・講義の形態】

実験は、生理学実習室にてグループ単位で行います。グループで実験を行うことでチームの一員としての役割を果たし、一つ一つの実験を正確に行うことで確かな実験技術を習得し、レポート作成を行うことで科学的な思考の確立を目指します。

【成績評価の仕方】

受講態度：40% レポート：30% 定期試験：30%

【テキスト】

プロトコルを配布します。

【参考図書】

「生化学実験」田代操編（化学同人）

【講義計画】

- 第01回 実験ガイダンス、科学レポートの書き方
- 第02回 実験動物からの試料の採取と保存
- 第03回 血液成分の測定（血糖量の測定）
- 第04回 血液成分の測定（血中トリグリセリド量の測定）
- 第05回 血液成分の測定（血中遊離脂肪酸量の測定）
- 第06回 酵素の抽出とタンパク質量
- 第07回 酵素活性の測定（ピルビン酸キナーゼ）
- 第08回 酵素活性の測定（セリン脱水素酵素）
- 第09回 タンパク質のポリアクリルアミドゲル電気泳動
- 第10回 ウエスタンブロッティング
- 第11回 total RNA の分離・精製・定量
- 第12回 逆転写反応、PCR 法
- 第13回 DNA のアガロ - スゲル電気泳動
- 第14回 リアルタイム PCR 法を用いた遺伝子発現の定量
- 第15回 まとめ

【学生へのメッセージ・準備学習】

実験器具や試薬は使い方を誤れば危険なこともあるため、実験中は集中して行ってください。あらかじめ、プロトコルを熟読の上、実験に参加してください。