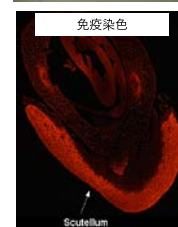
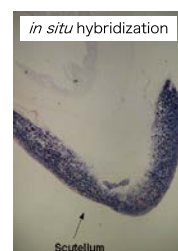


木藤研究室（植物分子生理学）

当研究室では、植物のストレス耐性と花芽形成のしくみを分子レベルで解き明かす研究に着手している。その為、関連する遺伝子やタンパク質を単離同定し、それらの機能解明に挑んでいる。遺伝子やタンパク質の機能を理解するには、多様な実験手法を駆使して多くの知見を得る必要があるが、中でもそれら遺伝子やタンパク質の発現様式（いつ、どこで、如何なる条件下で作られ、働いているか？）に関する情報は、機能推定に役立つ多くの知見をもたらしてくれる。本実験実習では、発現様式を調べる実験手法のうち、転写された mRNAs の発現局在を組織レベルで調べる *in situ* ハイブリダイゼーション法と翻訳合成されたタンパク質の発現局在を組織レベルで調べる免疫染色法について原理を学修し、実験手法を習得する。

in situ ハイブリダイゼーション法は、解析対象の遺伝子から転写される mRNAs に対する相補鎖の標識 RNA（プローブ）を *in vitro* で転写合成し、様々な組織から作成した切片に存在する mRNAs とハイブリダイゼーションを行うことで標的とする遺伝子の発現部位を検出する方法である。また、免疫染色法は、解析対象の遺伝子から翻訳されるタンパク質の抗体を作成し、抗原抗体反応で標的タンパク質の発現部位を検出する方法である。どちらも、最終的にはスライドガラス上の切片を用いてシグナルを検出し顕微鏡で局在を観察するため、*in situ* ハイブリダイゼーション法と免疫染色法で同じ切片が利用できる。よって、実習では最初に組織を固定・包埋して切片を作成し（検体の準備）、次に2つの手法（*in situ* と免疫染色）で mRNAs とタンパク質の局在を調べる（日程は下記の通り）。

- 第1週 実験原理の説明、組織の固定とパラフィン包埋（検体の準備）
制限酵素処理による鋳型 DNA の作成と精製回収（*in situ*）
- 第2週 ミクロトームによる切片の作成（検体の準備）
アガロース電気泳動法による鋳型 DNA の確認（*in situ*）
- 第3週 組織切片からの脱パラフィン（検体の準備）
転写反応による RNA プローブの作成と精製（*in situ*）
- 第4週 ハイブリダイゼーションと mRNAs の検出（*in situ*）
抗体を用いた標的タンパク質の検出（免疫染色）
- 第5週 生物顕微鏡を用いた mRNAs の局在観察（*in situ*）
蛍光顕微鏡を用いたタンパク質の局在観察（免疫染色）



本実験実習は研究室体験も兼ねるので、日常の研究活動（植物の栽培と組織培養、遺伝子のリクローニングと構造決定、遺伝子やタンパク質の発現解析、形質転換植物の作成と表現形解析、酵母などを利用したタンパク質の相互作用解析、各種顕微鏡を用いた形態観察など）についても、実習の空き時間に可能な範囲で紹介する予定である。