研修報告書

- 1. 研修報告書
- 2. 質問項目についての報告

氏名					
所属大学				学部	生物資源環境科学府
学科	生命機能科学専攻			学年	修士1年
専門分野	分子生物学				
派遣国	マルタ共和国			Reference No	MT-2021-07
研修機関名	マルタ大学			部署名	
研修指導 者名	Byron Baron			役職	
研修期間	2021年 7月	5日	から	2021年	8月 27日 まで

I. 研修報告書

1. 研修報告の概略を1ページ以内にまとめてください。

1.1 研修先

University of Malta - Laboratory of Molecular Genetics and the Malta Biobank

私は、マルタ大学の生理学・生化学部に属する研究室の1つで研修を行った。14 人の学生が所属しており、大きく分けて①酵素等を研究対象とするグループ、②神経細胞等を研究対象とするグループの2つに分かれて、複数の研究を進めていた。私は、①のグループに含まれる研究に参加した。

1.2 研修内容

研修先の研究室で積極的に研究が行われているメチル化酵素のファミリーである METTL について、タンパク質をターゲットとするものに注目し、以前作成されていたファミリーに属する酵素についてのデータベースを更新するとともに、メチル化酵素とターゲットタンパク質を同時に発現させ、メチル化の詳しい仕組みについて調べるという研究の一部に参加した。

METTL ファミリーには、数多くのメチル化酵素が属しており、タンパク質をターゲットとするものだけでも 13 種類ほど存在する。それら全てについて同様の実験を行い、メチル化の仕組みを調べるということだったが、私が実験を行ったのは、そのうち特に重要とされる METTL21A と METTL23 のみである。

詳しい業務内容は以下の2つである。

- ①METTL について、インターネット上のデータベースを元に、ターゲットとなるタンパク質やその配列、配列のサイズなどを調べた。
- ②METTL21Aと METTL23 について、酵素とタンパク質それぞれの目的遺伝子を増幅して形質転換をする クローニング実験を行った。

自分が参加した研究以外にも、他の学生が行っている研究の手伝いで細胞培養を行ったり、ウエスタンブロットのやり方を教えてもらい、練習をさせてもらったりした。

1.3 現地での生活

研修先の人たちだけでなく、他の IAESTE インターン生たちや、わざわざマルタまで訪ねてきていた彼らの 友達や恋人、滞在先の同居人や、他の職場での同僚などとにかくたくさんの人たちとコミュニケーションをと った。日本について改めて考えるきっかけにもなったし、様々な国から来た同年代の人たちと交流する中で、 大きな刺激を受けた。また、英語でのコミュニケーションの難しさも身をもって体験し、言語の壁がある環境に 身を置いて初めて分かる自分の強みや弱みなども知ることができた。 2. 研修内容および派遣国での生活全般について4ページ程度で具体的に報告してください。 (研修日誌、テクニカルレポートや単位認定用のレポートの内容を含んだもの。写真もあるとよい。)

2.1 研修内容

(I)METTL についてのデータベース作成・プライマー設計(1週目)

<u>調査</u>:METTLファミリーに属する酵素について以下の項目をGeneCards・UniProt や文献等を用いて調べた。

- ・酵素の別名
- ・酵素のターゲット・・・ タンパク質と mRNA のどちらをメチル化するのか
- ・メチル化するアミノ酸・・・・ METTL はリジン・ヒスチジンのどちらかをメチル化する
- ・ターゲットのタンパク質・・・ どのタンパク質をメチル化するのか
- ・メチル化の種類・・・ モノメチル化・ジメチル化・トリメチル化のどれなのか
- ・酵素が局在する場所・・・ 細胞内のどこに局在しているのか

設計:In Fusion クローニングに使用するためのプライマーの設計を行った。

研究室には以前作成したプライマーがあったが、クローニングに使うベクターを新しくしたため、 上手くアニーリングしない可能性があると考え、新しいベクターの配列に合わせて設計し、発注した。 設計したのはインサートを増幅するプライマーであり、それぞれベクターの配列を 18bp または 22bp オーバーラップさせた。また、複数のタンパク質のウエスタンブロットが一度で出来るようにリバース プライマーには His tag を付加した。

②クローニング実験(2週目以降)

実験1:PCR

METTL21A と METTL23 をコードする遺伝子と、ターゲットタンパク質である HSP70 と eEF1A をコードする遺伝子を PCR で増幅する。

初めのうちは上手く増幅されず、電気泳動を行ってもバンドが検出されなかった。やはりプライマーが原因ではないかと考え、発注したプライマーが届き次第、新しいプライマーを使って再度 PCR を行った。

その結果、METTL21AとMETTL23 はきちんと増幅され、バンドが確認できた。HSP70と eEF1A については、バンドがほとんど検出されなかったり、かなり薄いバンドしか確認できなかったため、アニーリング温度の検討を行った。アニーリング温度は 44° C の間を 2° C でずつ変更しながら検討したところ、温度が低いとバンドが検出されず、 52° Cでバンドが確認できた。

実験2:In Fusion

実験1のPCRで増幅したインサート断片と購入していたベクターの断片をIn Fusionでつなぎ合わせた。 このとき、ベクターはXho I で切断し、リニアベクターにした。In Fusion はプロトコルに従って行った。

実験3:Transformation

In Fusion でつなぎ合わせた遺伝子は、そのまま Transformation を行い、大腸菌に形質転換した。形質転換した菌をLBプレートにまき、オーバーナイトで培養したところ、コロニーが観察されなかったので、実験2または実験1に立ち返ってやり直した。

その他の実験

•細胞培養

研究室に所属している学生の手伝いで細胞培養も少しさせてもらった。 培養フラスコを用いて数日かけて培養し、顕微鏡で細胞が固着または浮遊している様子を観察した。

•ウエスタンブロット

同様に学生の手伝いでウエスタンブロットもさせてもらった。

SDS-PAGE に使用するゲルの作製、ゲル電気泳動、メンブレントランスファー、銀染色、ブロッキング等を手伝った。

まとめ

実験の全体の流れは、酵素の遺伝子とタンパク質の遺伝子をクローニングによってプラスミドに組み込み、それぞれ細胞中で過剰発現させ、ウエスタンブロットでタンパク質量を確認し、ダブルトランスダクションで両方のプラスミドを1つの細胞中で過剰発現させ、メチル化させ、メチル化のために最適化したウエスタンブロットを行うというものである。この実験を全てのMETTL タンパク質に対して行うという大きなプロジェクトである。

始めの PCR でなかなか結果が出ず、プライマーが届くの待ったり、アニーリング温度の検討を1つ1つ 行ったりするうちに時間が過ぎてしまったのが少し残念であった。実験に使うキットやプロトコル、分析機器などは馴染みのあるものが多かったので、英語での会話が多少難しくても、共通の知識があるおかげでコミュニケーションをとることができた。



図 1 クローニング実験を行った部屋



図2 ウエスタンブロット・電気泳動を行った部屋

2.2 平日のスケジュール

6:30~7:30	起床。ゆっくり朝の支度。		
7:45	歩いて通勤。大学へは徒歩で10分ほど。		
8:00~13:00	研修。		
	実験の合間に小休憩がもらえることもあるが、基本的には休憩なしで実験を行う。		
14:00	家に帰り、昼食。学食で買ったり、自炊をすることも。		
	夕方までは、リビングでパソコン作業やルームメイトとお喋り。		
	午後は暑いのでビーチに行くこともあった。		
18:00	少し気温が下がったころから、他のインターン生達と共に外食に出掛けたり、		
	アパートに集まって映画を観たりした。		
0:00	就寝。		

2.3 休日の過ごし方

他のIAESTE インターン生達やその友達・恋人も一緒に遊ぶことが多かった。ヨーロッパ出身の子たちばかりだったので、友達や恋人がマルタに遊びに来ることも多く、みんなで遊ぶときに「友達連れてきていい?」「職場の子連れてきていい?」といった具合に気軽に IAESTE インターン生以外の人も連れてきてくれるおかげで、たくさんの人と知り合うことが出来た。

マルタはバスを使えば基本的にどこにでも行けるので、休日は少し遠くまで行くこともあった。フェリーでのツアーを予約し、マルタ島から少し離れたコミノ島・ゴゾ島まで出かけたこともあった。首都のバレッタまではバスで 10分ほどで行くことが出来たので、気軽に行っていた。

一番印象に残っているのは、みんなで集まり、それぞれの国の料理を振る舞う International Night を開催したことである。食べる前に料理の説明を聞くのも楽しかった。7 月の終わりと8 月の終わりの2 回開催したのだが、IAESTE インターン生の入れ替えなどで、全く違うメンバーになったので、2 回とも違う料理や雰囲気の会になり、どちらもとても楽しかった。



図 3 Golden Bay にて 夕日がとても綺麗なビーチ



図 4 Comino island マルタ島からフェリーで遊びに行った



図 5 Mdina にて 静かな町で古い町並みを楽しんだ



図 6 Marsaxlokk の Fish Market 毎週日曜に開かれるマーケット

Ⅱ. アンケート

以下の質問にお答えください。

A. 研修内容について

- 1. 研修内容は、O-form に記載されていたとおりでしたか。(はい・いいえ) 「いいえ」と答えた場合、どこが違っていたか具体的に記述してください。
- 2. 就業時間は、O-form に記載されていたとおりでしたか。(はい・いいえ)

実際の就業時間: 1日(5)時間

1週(4)日間:水曜日以外の平日

3. 研修先から支払われた"滞在費"は、現地通貨で週いくらでしたか。"滞在費"の内訳と日本円に換算した金額をあわせて書いてください。

週単位: 現地通貨(73.56€) 日本円(9599円)

全支給額: 現地通貨(1086.48€) 日本円(142328円)

4. 研修先から支払われた"滞在費"は、生活するのに十分なものでしたか。(はい・いいえ) 「いいえ」と答えた場合、何にいくらぐらい足りませんでしたか。

- 5. "滞在費"はどのように支払われましたか。(例:現金手渡し・銀行振込・小切手等) インターン終了後に銀行振込
- 6. 研修中の滞在先について、宿舎の形態、周辺地域の環境や治安について詳しく記述してください。

少し古いが普通のアパートだった。自分を含め 3 人のインターン生が滞在していたが、寝室が 3 つあったため全員が自分の部屋を持つことが出来た。ただ、寝室によって広さが異なり、トイレとシャワーがある広い寝室もあれば、狭い上にシーリングファンが無くて他の部屋に比べて暑い部屋もあった。共有スペースはとても広かったが、エアコンがないため特に午後は室温が上がり、8 月の上旬~中旬にかけては辛かった。歩いて行ける距離にスーパーや薬局、コンビニやカフェもあり、普段の買い物には困らなかった。周辺の治安も良かった。マルタにはありがちだが、野良猫がたくさんいた。

- 7. 研修中の滞在先(宿舎)から研修地までの通勤について書いてください。(交通の便・手段・費用等) 徒歩で 10 分程度
- 8. 研修先での職場環境(人間関係)は良かったですか。(はい・いいえ) 「いいえ」と答えた場合、不満だった点を書いてください。
- 9. 研修において、何か特別なプロジェクトに参加しましたか。(はい・いいえ) 「はい」と答えた場合、参加したプロジェクトの内容を記述してください。
- 10. 研修において、あなたの語学力(O-form に記載されている Required Language)は客観的に見て 十分だったと思いますか。(はい・いいえ)

B. 生活について

1. 研修以外の時間(勤務時間後や週末)はどのように過ごしましたか。

同じIAESTE インターン生や、彼らを訪ねてマルタに旅行に来ていた友人なども一緒に出掛けることが多かった。平日はビーチや外食に出掛け、他のインターン生の宿舎に集まって夕食を食べたり、みんなで映画を観ることもあった。週末は少し遠出をすることも多かった。

2. 研修地でIAESTE事務局主催の催しに参加しましたか。(はい・いいえ)

「はい」と答えた場合、参加したプログラムの内容とあわせて感想も書いてください。 みんなでカヤックをする予定があったが、コロナウイルスの感染状況を鑑みて中止となった。

- 3. 派遣国で、その国の伝統文化に触れるような機会はありましたか。(はい・いいえ) 「はい」と答えた場合、どのようなものに参加したか、感想も詳しく書いてください。
- 4. 派遣国の印象を、現地へ行く前と行った後のイメージの変化も含め、詳しく書いてください。 リゾート地なので、とにかく観光客が多い。特にビーチやナイトクラブを目的に来る観光客が多いようで、そ ういった場所は夜になっても人が多かった。観光地に行くと日本人を見かけることもあった。 観光地やビジネス街のようなエリアに行くと綺麗なビルなども見かけるが、それ以外のエリアは建物等が古

く、大型のスーパーなどもほとんどないため、生活する上ではやや不便な印象。大型のスーパーではなくミニマーケットと呼ばれる小さなお店がたくさんあるため、主にそこで買い物をすることになるが、品数はそんなに多くない。

5. 研修国で、日本のことについて質問をされましたか。(はい・いいえ)

食文化や教育制度、政治やアニメなどについて。

C. IAESTE との連絡

1. 研修出発前、手続き上何か問題はありましたか。(はい・いいえ)

「はい」と答えた場合、問題点を詳しく書いてください。

宿舎を手配してもらう手数料を IAESTE Malta に支払う際に、Revolut というヨーロッパを中心に普及しているが、当時日本では使えなかったサービスを使って支払うように言われ、仕方なく銀行からの海外送金を行ったため、高額な手数料を銀行に払わなければならなかったこと。その後、日本でも使えるようになったため以後は問題なかったが、Revolut だけでなく、Paypal など他のサービスも使えるようにアカウントを用意していて欲しかった。

2. 派遣国への入国時に何か問題はありましたか。(はい・いいえ)

「はい」と答えた場合、問題点を詳しく書いてください。

3. 派遣国到着後、宿舎ならびに研修先へ自分ひとりで行きましたか。(はい・いいえ)

「いいえ」と答えた場合、誰と行きましたか。

空港からタクシーを使って宿舎の近くの公園まで行き、そこからは近くに住んでいるという IAESTE Malta の卒業生の方が宿舎まで連れて行ってくれた。

4. 3で「派遣国の IAESTE 事務局」と答えた場合、IAESTE 事務局はどのように関与していましたか。 出発前から連絡を取っていたなど、分かる範囲で具体的に書いてください。

出発の数日前にWhatsappというチャットアプリに招待され、事務局のメンバーの1人とも個別に連絡を取っていた。日本を出るときやトランジットの時などもこまめに連絡をくれ、タクシーの予約の仕方が分からなかったときも親切に教えてくれた。宿舎に連れて行ってくれた卒業生からもマルタに到着する前に連絡があり、メッセージのやりとりをしていたため、スムーズに落ち合うことが出来た。

5. 研修初日、研修先の受入準備体制は万全でしたか。(はい・いいえ)

「いいえ」と答えた場合、何に不備があったか書いてください。

6. 研修前から研修期間中、派遣国の IAESTE 事務局は、どのように関与していましたか。 研修期間中、問題が起こったときに適切な対応もしくは助言をしてくれましたか。

コロナの影響でアクティビティが出来なかったため、基本的には新しいメンバーがマルタに到着した時に グループチャットでお知らせをしてくれる程度であった。その他、必要書類についてなど事務的な連絡が ほとんどであった。当初予定していたアクティビティを、コロナの感染状況を鑑みて中止にしたのは、適切 な判断だと感じた。

D. その他

1. 今回の IAESTE 研修を通して、最も良かったと思うことを書いてください。

大学の研究室で研修を行ったため、1日のスケジュールや研究室のメンバー間のコミュニケーション、zoomを使ったディスカッションなど、日本での研究室での過ごし方との違いを知ることが出来た。日本に比べて研究室での滞在時間はやや短いが、その分一度にいくつもの実験をこなしており、タイムマネジメントに厳しいという印象を受け、自分の時間の使い方を見直すきっかけになった。また、読んだ論文をただ発表するのではなく、自分の実験結果を提示して研究室のメンバー間で改善案を出し合うという議論を行っており、日本に帰っても実践したいと思った。担当教官は日本の大学との共同研究の実績があり、日本の大学の研究室での過ごし方も知っているため、双方の良い点と悪い点を話す機会もあり、「働き方」について考えることが出来た。

2. 研修予定内容に関して事前に勉強をして行きましたか。(はい・いいえ)

「はい」と答えた場合、何を勉強し、どう役立ったかを書いてください。

「メチル化酵素」について勉強をしておくといいと担当教官に事前に言われていたので、基本的な内容については勉強した。

- 3. 研修終了時に、受入企業に研修レポート(Technical Report, Training Diary を含む)を提出しましたか。 (はい・いいえ)
- 4. 日本出国前に準備しておいたほうが良いと思われることを書いてください。

語学力。ヨーロッパの国出身のインターン生たちは英語をかなり流ちょうに話すため、スムーズにコミュニケーションをとるために少しでも語学力を上げておいた方が良い。語彙力や文法ももちろん大切だが、実際に人と会話をすることに慣れて、自分が言いたいことを伝えられるように練習をした方が良いと思われる。個人的には話をする人数が増えるほど、会話に着いて行き、発言するのが難しかったので、1対1の会話だけでなく複数の人と英語で会話する練習をしておくと良いと思う。

5. 所持金やクレジットカード等、いくら・どのように持参されたか、また準備が十分であったかを書いてください。

現金は日本円にして約4万ほど持参し、クレジットカードは限度額10万のものを3枚、限度額30万で現金の引き出しも出来るものを1枚持参した。基本的にどこでもクレジットカードが使えるので、支払いはほとんどカードを使った。限度額10万のカード1枚をメインで使用していたが、月の途中で限度額に達したので、最低でも2枚は持参することを強く勧める。宿舎の大家さんが現金でのやりとりを希望していたため、現金を引き出す場面もあった。

6. 日本から持参した物の中で、特に役に立ったもの、あるいは必要なかったものがあれば書いてください。 役に立ったのは、箸である。自炊をすることが多かったが、日本食でなくても箸を使って食べる方が楽な場面は多かった。また、洗濯物を干すスペースが少なかったため、日本から持参した吸盤で壁に着けるタイプの物干しロープと 100 円ショップで購入したステンレスハンガーは役に立った。ルームメイトや職場の人にあげた日本らしいお土産(地元の名産である博多織を使ったしおりや小さなうちわなど)も喜ばれた。必 要なかったものは、特にない。

7. 来年以降、あなたが派遣された国へ、研修生として派遣される候補生に向けての助言を書いてください。 (研修のことだけでなく、語学面や生活面など、気が付いたことはできるだけ詳しく)

マルタ人は基本的に英語を話せるので、英語が話せれば特に問題はない。7~8 月にかけてはかなり気温が高く、38℃近くを記録することも多い。特に正午過ぎから 16:00 くらいまではかなり暑いため屋外で活動する際には注意が必要。アジアンマーケットに行けば日本のインスタント麺や調味料なども売っているが、価格がかなり高いので、特に調味料などは持参した方が良いと思う。

- 8. 研修前と研修後で、自身の専門分野や国際理解に対する考え方に、どのような変化がありましたか? ヨーロッパの色んな国からやってきたインターン生達と、自分たちの国について話す中で、日本が世界に 誇っていい部分も、他の国に比べて遅れをとっている部分も両方感じることができた。遠く離れたヨーロッパ の国の子たちが日本のものや文化を知ってくれていると誇らしい気持ちになり、将来は日本の良さを伝えられるような仕事をしたいと思えるようになった。
- 9. 今回の研修に参加したことで、海外への留学に興味を持ちましたか?すでに興味を持たれていた方は、 その気持ちに変化はありましたか?

今後の学生生活で再度留学に行くのは難しいと思うが、海外で働きたいという気持ちが強くなった。

10. 今後 IAESTE での研修を考えている学生の方々へ、メッセージがあればお書きください。

研修そのものだけでなく、1人で研修国へ移動することや、他のインターン生と共同生活をしながら現地の 生活に適応することも含めて全てが貴重な経験になります。特に、他の IAESTE インターン生たちとの交流 は非常に刺激的であり、貴重な縁になります。自分の専攻内容やそれぞれの国の食生活や文化だけでな く、政治や教育制度、周辺諸国の話題になることもあり、レベルの高い同世代の姿に刺激を受けられると思 います。コミュニケーションや、生活様式の面など苦労する場面も多いと思いますが、それを乗り越えるため に自分から行動を起こすことで成長出来ると思うので、とにかく挑戦してみて欲しいです。