

## 薬学実習 2 (物理化学実習)

責任者・コーディネータ	構造生物薬学分野 野中 孝昌 教授		
担当講座・学科(分野)	構造生物薬学分野		
対象学年	3	区分・時間数	実習 18 時間
期 間	前期		

### ・教育成果 (アウトカム)

実験を通して反応速度論などを応用する技能を身に付けることによって、原子・分子の構造を理解する。さらに、物理化学、構造生物学の講義で学ぶ概念や知識を、実際の測定や解析を通じて、身に付ける。  
(ディプロマ・ポリシー：2,4,5,7)

### ・到達目標 (SBO)

1. 蒸気拡散法によって、タンパク質を結晶化できる (☆)。
2. 実体顕微鏡を用いて、結晶を観察することができる (☆)。
3. 結晶構造について概説できる (132)。
4. 微分型速度式を積分型速度式に変換できる (167)。
5. 代表的な(擬)一次反応の反応速度を測定し、速度定数を求めることができる (169)。
6. 反応速度と温度との関係を説明できる (171)。
7. 溶液の pH を測定し、適切な溶液を調製できる (178)。
8. 旋光度測定法の応用例を説明できる (130、197)。
9. X 線結晶構造解析の応用例を概説できる (201)。
10. 医薬品の標的となる生体高分子の立体構造とそれを規定する化学結合、相互作用について説明できる (280)。

### ・講義日程

(矢) 東 401 4-A 実習室、東 402 4-B 実習室、東 403 4-C 実習室

月日	曜日	時限	講座・分野	担当教員	講義内容/到達目標
4/9	火	3・4	構造生物薬学分野	野中 孝昌 教授 阪本 泰光 教授	タンパク質の結晶化 1. 溶液の pH を測定し、緩衝液を調製できる。 2. 蒸気拡散法によって、タンパク質を結晶化できる。 【ICT (Moodle)】 事前学修：Moodle 上のビデオを視聴し、ピペット操作および結晶化の手順について確認しておくこと。 事後学修：結晶化条件 (組成、濃度、体積) について、データの整理を行う。

4/10	水	3・4	構造生物薬学分野	野中 孝昌 教授 阪本 泰光 教授	<p>タンパク質結晶の観察と生体高分子の立体構造の表示</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 実体顕微鏡を用いて、結晶を観察することができる。</li> <li>2. 生体高分子の立体構造を可視化し、医薬品との相互作用を分子レベルで説明できる。</li> </ol> <p>【ICT (Chimera)】</p> <p>事前学修：教科書および実習書を見て、予備知識を蓄えておくこと。</p> <p>事後学修：結晶の状態（大きさ、色、形、表面、稜、数）と結晶化条件との相関を整理する。</p>
4/11	木	3・4	構造生物薬学分野	野中 孝昌 教授 阪本 泰光 教授	<p>旋光度測定</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 微分型速度式を積分型速度式に変換できる。</li> <li>2. 旋光度を指標とした一次反応の反応速度を測定できる。</li> </ol> <p>X線結晶構造解析</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. タンパク質の結晶から得られたX線回折像から分子置換法により位相を決定できる。</li> </ol> <p>【ICT (Excel, CCP4 suite, Coot)】</p> <p>事前学修：教科書および実習書を見ながら当該実習項目に関する Moodle 上の予習テストを受験し、予備知識を蓄えておくこと。</p> <p>事後学修：時間と旋光度との関係をグラフ化する。</p>
4/12	木	3・4	構造生物薬学分野	野中 孝昌 教授 阪本 泰光 教授	<p>速度論的解析</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 測定した旋光度変化から、アレニウスの式を用いて速度定数と活性化エネルギーを求めることができる。</li> </ol> <p>X線結晶構造解析</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 分子置換法によって得られた初期構造を精密化することにより、タンパク質の構造を決定することができる。</li> </ol> <p>【ICT (Excel, CCP4 suite, Coot)】</p> <p>事前学修：教科書および実習書を見ながら当該実習項目に関する Moodle 上の予習テストを受験し、予備知識を蓄えておくこと。</p> <p>事後学修：アレニウスプロットから、反応速度定数と活性化エネルギーを算出する。</p>

4/15	月	3・4	構造生物薬学分野	野中 孝昌 教授 阪本 泰光 教授	<p>旋光度測定</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 微分型速度式を積分型速度式に変換できる。</li> <li>2. 旋光度を指標とした一次反応の反応速度を測定できる。</li> </ol> <p>X線結晶構造解析</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. タンパク質の結晶から得られたX線回折像から分子置換法により位相を決定できる。</li> </ol> <p>【ICT (Excel、CCP4 suite、Coot)】</p> <p>事前学修：教科書および実習書を見ながら当該実習項目に関する Moodle 上の予習テストを受験し、予備知識を蓄えておくこと。</p> <p>事後学修：時間と旋光度との関係をグラフ化する。</p>
4/16	火	3・4	構造生物薬学分野	野中 孝昌 教授 阪本 泰光 教授	<p>速度論的解析</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 測定した旋光度変化から、アレニウスの式を用いて速度定数と活性化エネルギーを求めることができる。</li> </ol> <p>X線結晶構造解析</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 分子置換法によって得られた初期構造を精密化することにより、タンパク質の構造を決定することができる。</li> </ol> <p>【ICT (Excel、CCP4 suite、Coot)】</p> <p>事前学修：教科書および実習書を見ながら当該実習項目に関する Moodle 上の予習テストを受験し、予備知識を蓄えておくこと。</p> <p>事後学修：アレニウスプロットから、反応速度定数と活性化エネルギーを算出する。</p>

・教科書・参考書等（教：教科書 参：参考書 推：推薦図書）

	書籍名	著者名	発行所	発行年
教	スタンダード薬学シリーズⅡ-2 「物理系薬学Ⅰ 物質の物理的性質」	日本薬学会 編	東京化学同人	2015
教	タンパク質の立体構造入門	藤 博幸 編	講談社	2010
参	物理化学実験法 第5版	千原 秀昭 監修	東京化学同人	2011
参	どうして心臓は動き続けるの？： 生命をささえるタンパク質のなぞにせまる	大阪大学蛋白質研究所 編	化学同人	2018

参	Innovated 物理化学大義（第2版）：事象と理論の融合	青木宏光、三輪嘉尚著	京都廣川書店	2017
参	タンパク質のX線解析	佐藤 衛	共立出版	1998
参	トコトンやさしいタンパク質の本	東京工業大学大学院 生命理工学研究科	日刊工業新聞社	2007
参	薬学系学生のための基礎統計学第2版	瀧澤 毅	ムイスリ出版	2013
参	ドラッグデザイン: 構造とリガンドに基づくアプローチ	Kenneth M. Merz, Jr., Dagmar Ringe, Charles H. Reynolds 編集、田之倉 優・小島 正樹 監訳	東京化学同人	2014
参	わかりやすい薬学系の数学演習	小林 賢・熊倉 隆二 編	講談社	2016
参	コンパス生化学 改訂第2版	前田 正知、浅野 真司 編	南江堂	2019
参	タンパク質のX線結晶解析法第2版	J.ドレント 著	丸善出版	2012
参	きちんと単位を書きましょう	中田 宗隆、藤井 賢一	東京化学同人	2022
参	アトキンス物理化学小辞典	P. W. Atkins	東京化学同人	1998

・成績評価方法

レポート（約90%）、および予習テスト（約10%）で評価する。ただし、実習態度によっては、減点することもあり得る。

・特記事項・その他

授業に対する事前学修および事後学修の時間はそれぞれ60分を要する。なお、予習すべき項目と復習すべき項目は、実習書に詳細に提示する。  
 事前に指示したソフトウェアをインストールしたノートパソコンを持参すること。また、ネットワーク接続に必要なIDおよびパスワードを確認しておくこと。  
 実習中は、保護メガネを必ず着用すること。  
 最初の2回は全体で同じ実験を行うが、それ以降は全体を2つに分けて実施する。  
 Moodle上の予習テストは「即時フィードバック」モードで実施する。レポートについては、採点后、得点分布と総評をMoodleに掲示する。

・授業に使用する機器・器具と使用目的

使用区分	機器・器具の名称	台数	使用目的
実習	高精度電子天秤（池本理化、573-141-01）	10	試薬の秤量
実習	マイクロピペット（ニチリョー）	50	溶液の分注

実習	マグネティックスターラー (ASONE HS-50E-B)	12	溶液の調製
実習	pHメータ (ラコム、PH510)	12	溶液の調製
実習	顕微鏡・偏光装置・カメラ式 (オリンパス、CX31NPN-OC2、Canon EOS X3)	3	結晶観察
実習	ドラフトチャンバー (島津理化、CBR-Sc15-F)	6	排気処理
実習	低温恒温器 (三洋、MIR-253)	1	試料の温度管理
実習	旋光計 (アタゴ、POLAX-2L)	12	旋光度測定
実習	振とう恒温槽(培養機) (EYELA、NTS-4000BH)	5	試料の温度管理
実習	パソコン (アップル、MA896J/A Education)	1	スライドおよび動画の映写
実習	3D データプロジェクター (Acer、H6517ST)	1	スライドおよび動画の映写
実習	3D グラス (Nvidia 3D Vision)	8	生体高分子の観察
実習	3D プリンタ (Anycubic Mega)	1	生体高分子の造形
実習	微量高速冷却遠心機 (トミー精工、MX205)	2	試料の遠心分離
実習	ワークステーション (富士通 MX130S2)	8	結晶構造解析
実習	液晶モニタ (IO データ MF234XNR)	8	結晶構造解析
実習	超純水製造機 (ザルトリウス arium 611VF)	1	溶液調製
実習	Infiniband 接続 クラスタサーバー (CPU:108 コア, メモリ 576GB) (富士通 RX200S6,RX300S6, HP DL360G6)	9	ドッキングシミュレーション
実習	単結晶 X 線構造解析装置 (リガク、R-AXIS RAPID II)	1	X 線回折実験
実習	低温吹付装置 (リガク)	1	X 線回折実験
実習	空冷循環式送水装置 (リガク)	1	X 線回折実験
実習	リアルタイム PCR (Chai Open qPCR Dual Ch)	1	サーマルシフトアッセイ, qPCR
実習	クリーンベンチ (日立)	1	無菌操作
実習	微量分光光度計 (島津)	1	蛋白質、化合物、DNA 定量
実習	実体顕微鏡 (SWIFT S7 三眼)	1	結晶観察、結晶凍結