氏名：坪野杏樹　東京大学農学部獣医学専修 4 年

ホストラボ：ジョージア工科大学 STYCZYNSKI RESEARCH GROUP

PI: Prof. Mark Styczynski　Mentor: Mr. Jiho Seok

1.ジョージア工科大学での研究活動

私の配属された Styczynski Research Group は、合成生物学・システム生物学を専門とする研究室です。無細胞(cell-free)システムを軸に、低コストのバイオセンサー(Point-of-Care Biosensor)の開発、無細胞系の代謝ネットワークの解析（Metabolomics)、そして数理モデルの構築という、大きく分けて 3 つのテーマの研究が行われています。

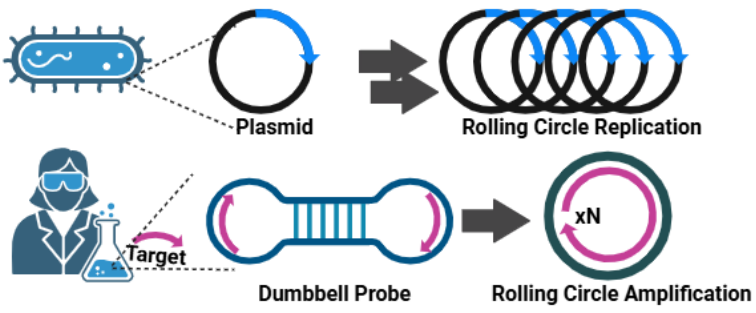
メンターの Jiho は、無細胞系の（cell-free）ではなく、ローリングサークル増幅法（Rolling Circle Amplification）ベースのバイオセンサーについて研究しており、私もこのテーマに取り組みました。

Point-of-Care Biosensor とは

“Point-of-Care Testing (POCT)“は、検体を検査機関などに送らず、診療の現場で低コスト・短時間に行う簡易検査のことを指します。研究室では、実際の現場での応用を見据え、生物の持つ機能を利用して疾患マーカーを検出するバイオセンサーの研究が行われています。

Rolling Circle Amplification とは

DNA や RNA などの核酸バイオマーカーを検出する方法としては、PCR による増幅が代表的です。しかし、PCR は 3 段階の温度変化が必要で、その制御には専用装置が必要なので POCT には向きません。そこで注目されているのが、一定温度で増幅できる方法（等温増幅法 isothermal amplification）で、ローリングサークル増幅法（Rolling Circle Amplification）はその一つです。ローリングサークル増幅法は、細菌が体内の一定温度でプラスミドという環状 DNA を複製する仕組みを模倣した方法です。



今回の研究では、上図のような両端の輪の部分に検出対象にしたいターゲットが結合できるようなダンベル型プローブを用いました。ターゲットがダンベルの輪の部分に結合すると、このターゲット自体が DNA 伸長の出発点であるプライマーとして働き、鎖置換活性（strand displacement）を持つポリメラーゼを用いることで、前に合成した鎖を押しのけながら輪をぐるぐる回り続け、長い DNA が作られます。ターゲットがあるときだけ生成される長いＤＮＡを、電気泳動や蛍光等で検出し、評価していました。

私の研究：“A Programmable One-pot Isothermal Point-of-Care Biosensor for Dog Liver Disease Biomarker”

背景

自分のバックグラウンドである獣医学領域への応用を考え、犬の肝臓疾患に着目しました。犬の肝臓疾患の確定診断には肝生検が必要ですが、全身麻酔などのリスクを伴い、費用も高額です。そのため現場ではまず血液検査で ALP などの肝酵素を測定しますが、初期には上昇が見られにくく、専用の分析装置も必要です。一方、近年はマイクロ RNA-122(miRNA-122)が、肝疾患をより特異的に捉えるバイオマーカーとして期待されていますが、測定には RT-qPCR など実験室でのマルチステップの手法が必要なので、臨床現場ではまだ使われていません。これらマーカーを身近な場所で簡単に検査ができれば、肝生検が本当に必要な犬を適切に絞り込み、早期発見にもつなげられると考えました。

目的

小規模な動物病院、将来的には家庭でも使えるバイオセンサーを目指して、①チューブ 1 本、一定の温度で反応が完結し、装置なしで結果を判定できること、②miRNA などの核酸だけでなく、臨床で既に使われている酵素マーカーも同じプラットフォームで検出できること、の 2 点を目標としました。

結果

まず、ダンベル型プローブを用いた 1 ステップのローリングサークル増幅法により、電気泳動と蛍光測定で miRNA122 を検出できることを確認しました。その後、反応条件やプローブ設計の改良による感度の向上に取り組みました。また、現場での利用に向けて、簡易的な装置や目視でも結果を判定できる検出方法の検討も進めました。さらに、プライマーの設計を工夫することで、同じプラットフォームで酵素マーカーである ALP の検出にも取り組みました。

2. 研究活動における日米の違い

・オープンな環境

アメリカのラボに滞在して強く感じたのは、やはりディスカッションの多さです。私のラボの入っている EBB という建物は、実験室がガラス張りで、ワークスペースもラボごとの仕切りがなく、吹き抜けのスペースで食事もできるため、ラボメンバーに限らず、同じ階の人と自然に交流できる環境でした。毎週のラボミーティングでは、発表の途中でも先生や院生から質問が出て、その場で議論が始まります。また、ラボ内外の共同研究の話をよく耳にし、ラボ発のスタートアップが多いことにも刺激を受けました。

・発表機会の豊富さ

留学中に、Graduate Colloquium や Research Proposal など、大学院生の公式のプレゼンの場を見ましたが、PhD の間に発表する機会が多いことを実感しました。私の知る限り、日本の大学院生の発表機会はラボ内のミーティングや学会発表が中心なので、カリキュラムの中にこれだけ発表の場が組み込まれているのはアメリカならではと感じます。また、私のラボはプレゼン力が高く、面白い導入と凝ったスライドで聞き手を引き込むのが本当に上手で、学ぶことばかりでした。

・ラボの雰囲気

私のラボは、大学院生だけでなく学部生も多いラボでした。学部生は学年に関係なく、自分の意思で希望のラボに所属して研究を始めるそうで、積極的で自主性のある学生が多いと実感しました。学部生それぞれが自分のプロジェクトを持ち、できるだけ独立して研究できるように育てるのがラボの方針で、実際、学部生も大学院生と実験の前後にディスカッションしながら自分で実験を進めており、自分の意見を遠慮なく伝えている姿が印象的でした。PI は、親しみやすく楽しい雰囲気と科学への真剣さを両立したラボを目指しているそうで、困ったときに気軽に質問できる雰囲気につながっていると感じました。学部生のいない夏休み期間には、PI 自らボードゲーム会を開いてメンバーの親睦を深めるなど、研究以外の交流も大切にしていました。RIES 最終日にアイスクリーム屋さんに連れて行ってもらったことも、大切な思い出です。

3. 米国の文化・生活面での発見・苦労等

・スポーツ観戦

研究活動だけでなく、アメリカならではの楽しみもたくさん満喫しました。プログラム

中には野球、サッカー、カレッジフットボールと 3 回スポーツ観戦に行きました。どのスタジアムも規模が大きく、得点の瞬間に花火が上がるなど盛り上がり方も迫力満点で、胸が熱くなりました。大学のキャンパス内に、東京ドームと同規模のフットボールスタジアムがあるのも、さすがアメリカです。カレッジフットボールでは、U.S. Fellow の Joongho が友人に声をかけて GT Student 向けの無料チケットを人数分集めてくれて、試合前のパーティーにも呼んでくれました。本当に感謝しています。

・*自然豊かなキャンパス*

また、キャンパスは都市部にありながら自然豊かで広々としており、研究の合間に散歩したくなる場所でした。自分の大学にもし欲しいと感じたハンモックエリアは、自分の建物から少し遠く、頻繁には足を運ぶことはできませんでしたが、道中でたくさんのリスを見て、ときどきハンモックで休憩する時間が癒しになっていました。

・*英語での科学コミュニケーション*

一方で、研究留学ならではの難しさもありました。小学生の頃に 2 年間アメリカに住んでいた経験もあり、日常会話で困ることはそこまでありませんでしたが、英語で科学的な議論をすることにはハードルを感じました。原理などを無意識のうちに日本語で考えてから、英語に訳して話しているため、議論の中で考えを伝えるのに時間がかかることもありました。プレゼンテーションも自然な英語で話せるように持っていくのに練習が必要で、メンターからのアドバイスを受けて、母国語で内容を整理して練習してから英語で練習するという工夫を取り入れました。今後も母国語での理解を大切にしつつ、英語で科学の議論に加われるように、英語と専門分野の勉強を続けていきたいと思います。

・*食生活*

アメリカならではの食事を時々楽しみつつ、普段は自炊して日本食中心の生活をしていました。外食で特においしかったのは、BBQ、アメリカ南部料理、そしてタコスなどのメキシカン料理です。U.S.Fellow の Jeanne が企画して、車で連れて行ってくれた週末のジョージア州サバンナ旅行で食べたバーベキューは人生の中で一番と言えるほどおいしい肉料理でした（Brisket と Baby Back Rib はぜひ食べてほしい一品です)。メキシカン料理はどこでも手軽に食べられ、野菜も多く栄養面でも助かりました。また、私は小麦アレルギーのため小麦をなるべく避けていましたが、アメリカはグルテンフリーの選択肢が豊富で、日本ではなかなか食べられないグルテンフリーのパスタやサンドイッチ、スイーツを楽しめました。平日は、朝はホテルの朝食、昼は前日の夜に作った料理をタッパーに詰めて持

って行って、ラボの電子レンジで温めて食べる生活でしたが、自分へのもどかしさ等で落ち込んだときも、簡単な日本食が心にしみました。海外生活では、慣れ親しんだおいしい食事をとることが、心身ともに元気でいるために大事なのだと実感しました。大好きなさつまいもの干し芋や芋けんぴを持って行き、それに癒されていましたが、次回渡米する時は、週に１回はさつまいものおやつで元気を出せるよう、自分の好物をもっと持っていこうと思います。




4.本プログラムに参加の意義・成果

・研究者としての考え方

私は RIES 応募前には研究経験はなく、４年生の研究配属で研究を始めたばかりでした。留学準備をしながら授業や獣医の実習をこなし、研究室で実験を覚えた４～７月は、論理的に考える余裕がないまま実験をこなしている状態でした。RIES でメンターの Jiho と研究を進める中で、プロトコル、予想、結果、次の実験の設計それぞれについて「なぜ？」を問いかけて言語化して、結果を必ず振り返って次につなげることの大切さを学びました。メンターが熱心に向き合い、たくさん議論してくれたことに感謝の気持ちでいっぱいです。研究計画から実験、ポスター発表まで、凝縮された２週間の期間で研究の一連の流れを経験できたことは、本プログラムの大きな成果の一つです。

・プレゼン経験

研究発表も RIES が初めてでしたが、期間中に Triple M meeting(研究計画の発表)、ラボのミーティングでの進捗発表、ポスター発表、成果報告会と、計４回の発表を経験させていただきました。背景の異なる人にも興味を持ってもらうための工夫、ポスターの構成、伝わる英語表現や話し方について、多くの方からフィードバックをいただきながら、何度も練習とブラッシュアップを重ねた結果、最後のシンポジウムでは Best Poster Presentation Award をいただくことができました。ここで学んだことを今後の発表の機会にも活かし、さらに磨いていきたいです。

・人とのつながり

このプログラムで得たで最も価値があるものは、PI、メンター、ラボメンバー、そして日米フェローとの出会いです。RIES 参加以前からアメリカ大学院への進学に憧れていましたが、ラボの一員として研究し、日々メンターやラボのメンバーと話す中で、アメリカ PhD のリアルな姿を良い面も大変な面も含めて知ることができ、進学への意欲がさらに高まりました。PI の Mark とも 1 対 1 のミーティングでは、発表へのフィードバックに加え、2 年後の PhD 出願に向けて・そしてよりよい研究者になるために何を鍛えるべきかのアドバイスをいただきました。自分でも課題だと感じていたことに別の視点が加わり、目標に向けて取り組むべきことが明確になりました。また、それぞれの分野に情熱を持って努力を続ける日米フェローとの日々の交流を通して、これまであまり触れてこなかった異分野を知り、想像以上に多様な進路や分野の選択肢があることにも気づかされました。アメリカで研究することの現実を知ると同時に、そこへ飛び込むための人とのつながり、そして勇気と活力をいただけたことに、感謝の気持ちでいっぱいです。

5．最後に

RIES を通して、研究面での成長はもちろん、多様なバックグラウンドを持つ方々や新たな価値観との出会いによって視野が大きく広がり、充実した夏を過ごすことができました。受け入れてくださったメンター、PI、ラボメンバーの皆さま、現地での企画やサポートをしてくださった Dr. Soojung と高山先生、小川さん・藤川さんをはじめとする中谷財団の皆さま、かけがえのない時間をともに過ごした JP Fellows、U.S. Fellows、Alumni の皆さま、そして関わってくださったすべての方々に、心より感謝申し上げます。