

令和 1 年 10 月 7 日

若手研究者海外挑戦プログラム報告書

独立行政法人日本学術振興会 理事長 殿

受付番号 201980049

氏 名 加茂 直己

(氏名は必ず自署すること)

若手研究者海外挑戦プログラムによる派遣を終了しましたので、下記のとおり報告いたします。
なお、下記記載の内容については相違ありません。

記

1. 派遣先: 都市名 ペンシルバニア州フィラデルフィア (国名 米国)
2. 研究課題名 (和文) : 化学合成法による機能化 α -シヌクレインの合成と機能解明
3. 派遣期間: 平成・令和 1 年 6 月 17 日 ~ 平成・令和 1 年 9 月 18 日 (92 日間)
4. 受入機関名・部局名: University of Pennsylvania, Department of Chemistry
5. 派遣先で従事した研究内容と研究状況 (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

派遣先の研究室では生物学的手法、物理化学的手法を用いて神経変性疾患を引き起こすタンパク質の一種である α -synuclein(α S)の研究を行っている。このタンパク質は海馬、大脳皮質で発現しており、凝集を引き起こすとレビー小体を形成し神経間の化学シグナルが阻害することでパーキンソン病につながる。140 アミノ酸から構成される α S はリン酸化やアセチル化、ユビキチン化などといった翻訳後修飾を受けることによってその性質、凝集のしやすさが変化することが知られている。その 1 つにグルタミン酸のアルギニン化(E-Arg)と呼ばれる修飾があり、この修飾により α S の凝集が抑制されプロテアソーム系での分解が促進される。本研究では 46 番目(E46)もしくは 83 番目(E83)のグルタミン酸に対し部位特異的にアルギニン化が導入された α S を合成し、蛍光相関分光法を用いた脂質結合性の評価、又は形成される凝集体の形状又は形成速度を評価を行うことを目的とした。

初めに全長 α S を 3 つのペプチド断片へと分割し、N 末端側と C 末端側については大腸菌内で発現させ、N 末端側についてはインテインと融合発現させることで末端チオエステルを作製した。E-Arg を有する中央の断片についてはペプチド固相合成法により作製した。また、蛍光相関分光法を指向して、蛍光色素を有する断片の合成については遺伝子記号拡張法を用いた。ストップコドンである UAG コドンに対し非天然アミノ酸を割り当てることで大腸菌内のタンパク質合成の過程においてプロパルギルチロシンを導入し、銅を触媒としたヒュスゲン環化付加反応によって色素を導入した。次に、分割したペプチド断片をネイティブケミカルライゲーション法により連結することで全長の E46 又は E83 を有する α S の合成を行った。E46 と E83 の両方を有する α S については全長を 4 つの断片へと分割し、私が以前に報告した One-pot ペプチド連結法を活用することで効率的に標的とする修飾 α S の合成を達成した。

6. 研究成果発表等の見通し及び今後の研究計画の方向性 (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

本派遣において E46 と E83 の片方もしくは両方を有する α S の合成が完了した。今後派遣先にて蛍光色素を持たないアルギニン化 α S においては、37 度のインキュベータ内で攪拌することによって形成される凝集体の形成速度とその形状について分析し、無修飾 α S との比較を行う予定である。また、蛍光色素を有するアルギニン化 α S については蛍光相関分光法を用いて 1 分子レベルでの脂質との親和性を評価し、アルギニン化が与える影響を評価する。以上の分析が終わり次第、論文として発表する予定である。

また、E46 と E83 の両方を有する α S の合成については私が報告した技術を用いて行ったが、合成収率が予想よりも低い結果となってしまった。原因としてはペプチド連結部位としてシステインの代わりにペニシラミンというアミノ酸を用いたことが考えられ、予測していなかったペニシラミンと金属イオンとの錯体形成が生じてしまった。しかし、化学的現象としては非常に興味深くこの問題を克服する解決策を講じ、反応条件を最適化した後、論文として報告する予定である。

7. 本プログラムに採用されたことで得られたこと (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

私はこれまでタンパク質全合成を用いた修飾入りタンパク質の合成に従事してきた。しかし、修飾タンパク質の合成法には半合成と遺伝子記号拡張法という 2 種類の手法が他にあり、常々これら技術を習得したいと考えていた。今回の派遣を通して目標としていた技術習得を達成することができ、とても満足している。それと同時に全合成では経験しなかった実験結果を得ることとなり、実際に体験しなければわからないデメリットも痛感させられた。いずれにせよ私が元々有していた全合成の技術に半合成と遺伝子記号拡張法を組み合わせることによって、標的タンパク質に応じた最適の合成戦略を立てられると考えている。

初めての海外生活については苦難の連続であった。ビザの取得についても大学側から支給される J ビザ資格証明書の入手に手間取ってしまい、派遣開始時期が予定よりも 1 か月遅れてしまった。更に、入国後も周りの現地の人と話さ英語の発音やスピードについていけず、うまく意思疎通をとることが困難であった。派遣先の研究室においても、受け入れ先の教授とのディスカッションも自分が思うようにスムーズにいかず、研究結果の進捗報告においても私のメンターの人に助け船を出していただくケースが多かった。このままではいけないと考え、派遣中においても語学の勉強を続けた。その結果教授との研究に関するディスカッションも円滑に行えるようになり、更に英語による進捗報告や論文紹介など支障なく行えるほどに成長した。わずか 3 か月という短い期間であったが母国語が全く使えないという厳しい環境に身を置くことで、英語コミュニケーション能力は飛躍的に向上したように感じる。また異国の文化を肌で感じることはとても刺激的であった。挨拶のマナーや食事、会計の仕方などまるで日本とは異なり戸惑うケースも多かったが、最終的には徐々に順応することができたと思う。異国と比較することで自国の文化を見つめなおす良い機会となった。

今回の派遣を通して海外で生活する、研究することに対する障壁を取り払うことができたように思う。次に海外の研究機関に従事する機会をいただいた場合でも、今回の経験が確実に生きてくるだろう。最後にこのような海外に挑戦する貴重な機会を提供してくださった本プログラムに深く感謝申し上げます。