

令和 4 年 3 月 24 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 202080298

氏 名 谷 夢希

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 Albany (国名 United States)
- 2.研究課題名(和文)：Development of the specific separation method for extracellular vesicles originated from glioma
- 3.派遣期間：令和3年3月29日 ~ 令和4年2月8日 (317日間)
- 4.派遣先機関名・部局名：State University of New York, University at Albany
- 5.派遣先機関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)

研究内容：

神経膠細胞から発生する悪性腫瘍である神経膠腫は、視力障害や痙攣など様々な症状を引き起こすことが知られ、その迅速な診断法の開発が期待される。各細胞が放出するエクソソームは、分泌源となる細胞由来の膜タンパク質を有する。本研究では、グリオーマに発現する数種の膜タンパク質に結合するアプタマーを SELEX 法により選別する。続いて、複数のアプタマーを認識配列として組み込んだグリオーマ由来エクソソームの特異的アプタマーを開発し、フロー系エクソソーム回収システムに適用することを目指した。

研究状況：

まず、培養した膠芽腫細胞株からエクソソームが得られるかを確認するために、細胞が 100% コンフルエントになった後の細胞培養液を超遠心分離法によって単離した。その後、動的光散乱法と走査型電子顕微鏡を用いることにより、単離したエクソソームのサイズと形を同定した。得られたエクソソームはほとんどが 100 nm 程で、球形であった。次に、培養細胞上の膜タンパク質及び膜貫通タンパク質を lysis buffer と界面活性剤を用いて抽出した。抽出したタンパク質はゲル濾過クロマトグラフィーによって分画し、SDS-PAGE によってそのサイズを特定した。その中で、バンド強度の濃さから、3 種類のタンパク質を選別・濃縮した。現在は、派遣先研究室が有している RNA ライブラリを用いて、この抽出したタンパク質それぞれに対する RNA アプタマーを SELEX 法により選別している。

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)

アプタマーの選別後、抽出したグリオーマ由来エクソソームにアプタマーを含む溶液を添加して結合させる。その後ランダムな長さのRNA配列とリガーゼを加え、アプタマー鎖をつなぎ、RNAアプタマー複合体を系中で構築する (Fig.2)。これら3種のタンパク質に結合するアプタマーを同時に使用した条件と1種のタンパク質アプタマーのみを使用した条件の細胞種特異性を評価する。

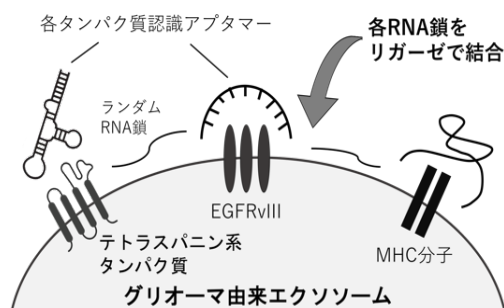


Fig. 2 アプタマー複合体

その後、末端にアジド基を導入したRNA鎖を、アルキン修飾したガラス基板上にクリック反応を利用して固定化する。続いて、開発したアプタマー複合体とリガーゼを加えて、アプタマー複合体をガラス基板上に導入する。この基板に対し、一端から種々の細胞由来のエクソソーム混合溶液を導入し、グリオーマ由来エクソソームが選択的に結合するか評価する (Fig.3)。

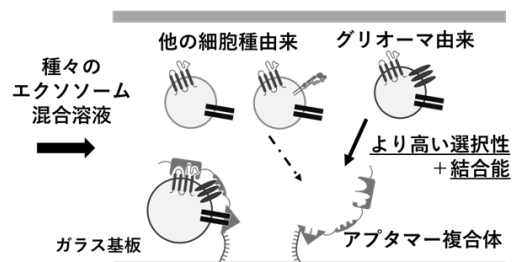


Fig. 3 基板上でのエクソソームの選択的捕集

その後、好ましい結果が得られた場合は、学術誌への投稿を目指す。

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)

本プログラムを通し、申請者は約1年海外にて研究をおこなった。申請者にとって海外での長期滞在は初めてであるため、研究と海外での生活の両立はかなり大変であった。特に、英語での研究ディスカッションでは、思うように伝えたいことを伝えることができず、もどかしい思いもたくさんした。しかし、様々な国からの研究者と共同研究に従事し、積極的に交流を図る中で、自分の意見をためらわずに伝えられることができるようになった。

研究に関しては、申請者の日本での専攻は分析化学であるのに対し、派遣先機関は神経化学に特化しているため、全く異なる知識が必要であった。特に、英単語は知らないものがほとんどであったため、その英単語を覚えることから始まった。しかしこの異なる分野からきたとことを強みに変え、派遣先研究室の学生達と、お互いの知識・経験を積極的に交換することができた。また、派遣先研究室はSELEX法を用いて神経疾患に対する薬剤の創製に取り組んでおり、核酸ライブラリに関して世界でも有数の保有量を誇る研究グループである。申請者は本プログラムの研究に加え、日本に帰国した際の経験に活かせるようにと、派遣先研究室が保有する技術に関しても同様にできる限り学んだ。この知識は、日本に帰った際、自分の専攻に必ず役に立つと感じ、申請者だけでなく、帰国先での研究室でも、同様に自分の得た知識・経験を活かせると感じている。

本プログラムを通じて、“将来国際的な活躍が期待できる豊かな経験を持ち合わせた学生の育成”という本事業の趣旨を達成することができたと考えている。