

令和 4年 1月 17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 202180182

氏 名 鷗崎 真妃

(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 イエナ (国名 ドイツ)
- 2 研究課題名 (和文) : ニチニチソウ種子発芽過程に着目した細胞種特異的特化代謝の制御機構の解析
- 3 派遣期間: 令和 3 年 9 月 1 日 ~ 令和 3 年 12 月 17 日 (108 日間)
- 4 受入機関名・部局名: Department of Natural Product Biosynthesis, Max Planck Institute for Chemical Ecology
- 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)

ニチニチソウはモノテルペノイドインドールアルカロイドと呼ばれる化合物を特化代謝産物として合成することが知られる薬用植物である。ニチニチソウの合成するアルカロイドの一部は抗がん剤等の薬として使われることから、その生合成経路が詳細に研究されている。派遣先はそのニチニチソウアルカロイド生合成経路の研究において世界をリードする研究室である。私は種子発芽過程において、細胞種特異的に行われることが知られるニチニチソウアルカロイド代謝がいつどのように開始誘導されるのかに興味をもち、研究を進めてきた。

派遣先において、まず種子発芽過程におけるニチニチソウアルカロイドの中間体化合物を測定した。遺伝子発現変動との相関がみられることや、発芽後一定時間後に中間体も含め多くのアルカロイドの合成量が一斉に増加することが明らかになった。
また日本で取得した種子発芽過程のRNA-seqデータの共発現解析を行い、種子発芽過程においてアルカロイド代謝の開始を誘導する転写因子の候補遺伝子を絞り込んだ。これらの候補遺伝子について、派遣先研究機関で改良されたpTRV1, pTRV2ベクターを用いたウイルス誘導性遺伝子サイレンシング法 (VIGS) を用いてノックダウンを行った。処理植物のアルカロイド合成量をLC-MS/MSで測定しアルカロイド量の変動する遺伝子のスクリーニングを行った。40遺伝子についてスクリーニングを行った結果、ノックダウンによりあるアルカロイドの合成量が顕著に減少する転写因子 (以下転写因子Aとする) を発見した。

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)

派遣先研究機関で発見した転写因子Aはまだ再実験が必要な段階である。そのため、日本での所属機関においてもVIGSの実験系を立ち上げて再実験を行い、この転写因子が本当にアルカロイド代謝を誘導する転写因子であるかどうかを確かめる。並行してイーストワンハイブリッド法、ルシフェラーゼ遺伝子を用いたレポーターアッセイ等によりアルカロイド合成酵素遺伝子との相互作用の有無を調べる。また、系統樹解析により転写因子Aのホモログを探索し、それらについても機能解析を行いたいと考えている。

これらの実験は2022年の4月頃までを目途に行い、転写因子Aが本当にアルカロイド生合成を誘導する転写因子であると確定した場合には、2022年の夏を目途に国際誌への投稿論文にまとめたいと考えている。そうでなかった場合も、種子発芽過程における詳細なメタボローム及びトランスクリプトーム解析の結果をまとめ、2022年の夏頃を目途に投稿論文にまとめる。現段階の成果については2022年3月に行われる植物生理学会で発表することを予定している。

ニチニチソウのアルカロイド生合成は細胞種特異的に行われることが知られており、細胞分化と代謝変動の間には綿密な関係があるのではないかと考えている。転写因子Aの上流にある制御因子を探索することで、種子発芽に伴う細胞の状態変化等の生理学的現象と代謝変動との関係に迫りたい。

上流遺伝子の探索に際しては、これまでと同様RNA-seqデータの共発現解析による転写因子の探索に加え、エピジェネティックな転写制御との関係性も考慮して進めていく。

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)

日本での所属研究室では困難な中間体アルカロイドの同定・半定量解析ができたことに加え、遺伝子クローニングやVIGSの手法をはじめとする分子生物学的実験技術を習得できたのは今後の研究を進める上で非常に大きな成果であった。特にVIGSの実験は規制のために日本で一から行うことが難しいことから、派遣先研究機関でスクリーニングを行うことができ、さらには遺伝子の発見ができたことは幸運であった。また、セミナーでは自分の研究と関連が深いながら異なる分野の研究発表を聞くことができ、視野が広がった。

また、詳細な計画を立てることの重要性を強く実感した。VIGSは1回につきクローニングの時間も含めて1か月半の時間がかかることから、3か月半という短い派遣期間でできるだけ多くの遺伝子について調べるためには綿密な計画を立てることが重要であった。自分なりにしっかりと計画を立てたつもりであったが詰めが甘く、特に派遣期間後半はかなり厳しいスケジュールになってしまった。ビザの申請、ドイツ到着後の住所登録、帰国前の住所の抹消等、留学に際しての諸手続きに関してもそれぞれ時間がかかるものや予約が必要なものばかりであり、締切日から逆算して計画的にこなすことが求められた。もちろん綿密な計画を立てることが重要なのは普段の生活や研究生活の中でも同様ではあるが、その重要性や自分の詰めの甘さを本プログラムの派遣期間やその準備の中で痛感させられた。

本プログラムに採用されたことで、博士論文へ向けた研究において有用な能力を身につけられた上に大きな成果を得ることができた。また海外留学において必要な諸手続きは研究室の秘書さんや先輩の力を借りながら基本的には自分で行ったことから、今後海外で長期滞在をする機会があったとしても問題なく対処できる力が身についた。未曾有の情勢下においても、このような素晴らしい機会をいただいたことに心から感謝したい。