

# 船井情報科学振興財団 留学報告書

## 第3回 留学報告書

2021年12月

高柳 早希

2020年夏より船井情報科学振興財団にご支援をいただき Johns Hopkins University (JHU), School of Medicine, XDBio Ph.D. Programに留学しております、高柳早希です。昨年11月末に渡米してから早くも1年が過ぎました。本報告書ではPh.D. 2年目秋学期の授業及びラボローテーションの振り返りを中心に報告いたします。

11月上旬、紅葉のピークに訪れた Shenandoah 国立公園です。空と山々のスケールが壮大で、普段は都市部で過ごしている中でよい息抜きになりました。



### I. 授業

今学期から大学院生向けの対面講義が再開されました。授業に参加できない学生のために一応対面とオンラインのハイブリッドですが、オンラインでの受講を希望する場合学部からの許可が必要で、大学の方針としては対面授業への参加を推奨しているようです。私はSchool of Engineeringで開講された講義の一つ受講しました。

#### EN.520.622 Principles of Complex Networked System

1年生の夏学期に受講したFeedback Control in Biological Signaling Pathwaysではdeterministic model (決定論的モデル)、stochastic model (確率論的モデル)、系の安定性に関する理論など、生物のモデル化に活用できる数理手法を幅広く学びました。今学期受講した講義では、その中のstochastic modelに関してより深く学びました。

細胞内のシグナリング・代謝、神経細胞の活性化、感染症、社会における意見形成などはみな、複数の要素が相互に作用しあう系であると捉えることができ、モデル化を通してこれらの現象を再現することは対象を理解するための有用な手段だといえます。ただし、大規模/複雑なネットワークについて正確に各過程の確率を求める方法は存在しないため、シミュレーションや近似を通しておおよその解



対面授業が再開され、主に学部生・工学部が利用するキャンパスに入学以来初めて足を運びました。医学部キャンパスと異なり欧米の大学のイメージ通りの開放的で緑あふれるキャンパスです。そして学生が若くて生き生きしている…

を得る手法が複数提案されています。どの手法の精度が高いかは、システムの大きさや性質により異なるため、本講義では各手法の特徴を背景にある理論とともに学びました。また、これらの手法により冒頭に記したような多岐にわたる現象がモデル化できることを実際の研究例を通して紹介されました。昨年の講義と内容的に一部被る部分もありましたが、これら2つの講義を通じて生物学の分野で用いられているモデリング手法・理論を一通り理解できたと思います。

JHU入学後初の対面授業でしたが、対面授業は授業への集中度が増す反面、一度わからなくなると以後の話についていけなくなる、また別のキャンパスに通うために往復含め日中3~4時間を実験に費やせなくなるなどの不自由を感じました。私にとっての数学系の講義など、専門外の科目の場合は正直オンライン・録画形式でじっくり確認しながら学ぶ方が理解度・定着度が高かったように思います。

私の所蔵するプログラムは必修授業・最低取得単位数などが規定されていないため、授業の受講は今学期でひと段落としようと考えています。今後は必要に応じて授業を受けることもあるかもしれませんが、基本的には研究メインの生活に移行することになります。授業は密度の濃いものである分、課題やテスト対策などどうしても時間を取られてしまっていたので、今後はじっくり研究に取り組んでいこうと思っています。

## II. 研究

前回の報告書では最初の2つのローテーションについて報告しましたが、私は渡米が遅れた影響で、Ph.D.課程2年目に進級したのちも、最後の3つ目のローテーションを続けていました。なお、研究内容の詳細は論文発表前かつ自身のテーマではないため伏せさせていただきます。

1・2ヶ所目のローテーション先は比較的近い分野の研究を行っており、実験手技もある程度馴染みの深いものでしたが、せつかく数ヶ月間自由にラボを選んで学べる機会が与えられるなら思い切って新しいことに挑戦してみようと考え、3ヶ所目のラボとしてはDepartment of Neuroscience/Institute of Genetic Medicineに所属するGoff Labに参加しました。

Goff Labは単細胞レベルでのRNA発現量の解析 (single cell RNA-seq/scRNA-seq) のノウハウを強みとしており、脳・神経系の発生や疾患の発症における免疫細胞などの機能をsingle cell RNA-seqを用いて解明することを目指しています。近年、タンパク質をコードしないnon-coding RNAに関する機能解析が進んでいますが、このうち数百塩基以上の長さを持つlong non-coding RNA (lncRNA) については十分な機能の解明に至っていません。先行研究から、あるlncRNAを欠損したマウスでマウスの大脳皮質の構造に異常が見られること、及び神経幹細胞の分化に変化が見られることがわかっていました。私は、このlncRNAが大脳皮質の発達に果たす機能とその機序を解明するプロジェクトに参加しました。具体的には、野生型とノックアウトマウスから分離された神経幹細胞を用いて幹細胞の増殖や遺伝子発現の変化を調べたほか、野生型・ノックアウトマウスそれぞれの背側終脳 (将来大脳皮質になる部位) のscRNA-seqを行い、そのデータ解析を行いました。研究内容 (神経科学) も、実験手法 (scRNA-seqの解析やマウスの取り扱い) も、ラボ文化 (computationalを専門としている人が約半数) も全く異なるラボで働くのは新鮮で、何より論文などでよく目にしてきたscRNA-seqのデータがどのように処理・解析されているかを一通り経験したことでscRNA-seqへの理解を深めることができました。

前回の報告書で紹介した研究が公表されましたので共有いたします。

まず、2ヶ所目のローテーション先で取り組んだテーマがCellに掲載され、共著に加えていただけました。生細胞内での分子の活性をリアルタイムで観察する場合、蛍光タグを付加したバイオセンサーが広く用いられますが、波長域が重なるバイオセンサーを区別することは困難であり、同時に観察できるバイオセンサーの数は限られています。そこで本研究では異なる波長からなる蛍光タンパク質と異なる細胞内局在(核・核膜・細胞質・細胞膜など)を示す局在タグを組み合わせることでバーコードを作成しています。n種の蛍光タンパク質とm種の局在マーカを組み合わせることでバーコードを準備し、さらに二種類の異なる波長のバーコードを組み合わせることで、理論的には同時に $n(n-1)m(m-1)/2$ 種類の異なる細胞種を識別できます。

さらに、バーコードをDeep Learningによって分類することで、ハイスループットな細胞の識別を可能にしました。実際にこの手法を用いて、同じ生理的環境下に置かれた細胞内での複数のシグナル伝達分子の活性を同時に測定したり、異なる細胞種間のコミュニケーションを観察したりできることを示しており、この手法はシグナル伝達を定量的に解析ための有用なツールとなると思っています。

査読者からのコメントとして、オリジナルの論文中ではHeLa細胞でしか試していなかったバーコード技術がさまざまな細胞に汎用できるかという指摘がありました。私はリポフェクションが可能な細胞種ではHeLa同様のプロトコルでバーコード化が可能であること、これらHeLa以外の細胞でもDeep Learningによってバーコードが識別可能であること、プラスミドによる過剰発現が難しい細胞に対してはウイルスを用いたバーコード化が可能であることを示しています。

また、1ヶ所目のローテーション先のメンターが昨年発表した論文について雑誌「実験医学」(羊土社)に日本語の紹介記事としてまとめました。日本語で気軽に読める記事なので興味のある方はご確認ください。通常は原著論文の著者が執筆する記事なので、私は適任ではないのではとの迷いもありましたが、多少広範な読者層を想定して研究紹介をするのは初めてのことであったので良い経験になりました。

私の専門である実験系の生物学は研究に必要な期間が長く、留学を始めた時点で論文という目に見える形での成果は筆頭著者としては今後5年間、共著でも3~4年は出せないだろうと覚悟していました。ローテーション中の学生という身分にも関わらず実験手技を信用に値すると評価していただき、様々な機会を与えてもらったことをありがたく思っています。とはいえ、留学の主目的は自分の研究成果を挙げることで、これに満足することなく、今後の研究にしっかり取り組んでいきたいと思えます。

最後に、留学とは関係ありませんが自分の中で大きかったこととして、学部・修士課程に取り組んでいたテーマを自身初の筆頭著者論文として[Scientific Reports](#)に発表できました。新規に開発したキナーゼのプルダウン法を用いて褐色脂肪細胞においてMAP3Kの一つ、ASK1の結合因子を同定し、その機能解析を行うことで、ASK1が褐色脂肪細胞での炎症応答を抑制することを示しています。本来であれば留学開始前に発表まで漕ぎ着けておくべきでしたが、先行研究者による発案から10年近くが経ち、過去に複数の人の手を渡ってきたテーマなので、どうにか論文化できたことに安堵しています。学部・修士課程での研究経験や論文化の過程で学んだことは今後の研究の礎として、大切にしていきたいです。

### III. 最後に

昨秋渡米した際にはコロナ禍の中で先が見えず不安でしたが、アメリカでの生活にも順応し、無事に1年を過ごすことができました。昨年に引き続き制約も多かったものの、学問・研究に関しては充実した生活を送ることができ、留学をご支援いただいている船井財団の皆様へ深く御礼申し上げます。今後は研究室での研究が中心の日々になると思いますので、財団からのご支援・ご期待に応えられるよう、より一層研究に励む所存です。