

こんにちは!コーネル大学を今年の夏で卒業する鄭 麗嘉です。卒業後は、スタンフォード大学に移ってタンパク質工学の研究をします。前回報告書を執筆した昨年夏から卒業までの1年弱、本当に充実した日々で、体感的にそれまでの5年間を凝縮したような密度だったように思います。PhD課程の6年間を振り返ってみると、授業とTAに追われた1年目、研究でいろいろ試行錯誤した2年目と3年目、研究が軌道に乗り始めた4年目と5年目、そして進路を決めつつ研究成果を一気にまとめて収穫しようと励んだ6年目という感じてした。その卒業までの課程と今後の進路に関して、博士号取得報告書としてまとめたいと思います。

1. 卒業に関して

実際の卒業に先駆けて、5月末の卒業式に参加しました。家族一同何とか都合をつけて参加してくれて、とてもありがたい気持ちでした。母は勤務先の規則で「子どもの結婚式」などの理由がないと海外渡航の許可が得られず(卒業式は理由として不十分らしい)、姉がNYCで結婚することで無事に一同集うことができました。なので、私の卒業式と姉の結婚式を一挙に迎える、鄭家にとって大変めでたい数日間となりました。自分は今まで卒業式というものに特に感慨を見出しておらず、これまでの卒業式では親を呼ばないことが多かったのですが、今回の卒業式は自分が年齢的に親目線に近づいたからか、はたまた費やしてきた6年間の重みゆえか、何やら感慨もひとしおという気持ちでした。一生の思い出になると思います。

2. ディフェンスに関して

6月22日、コーネルでのディフェンス(B exam)を無事に合格し、晴れてDr. Teiとなりました!私は顔が狭いことを自負しているので、どこまで人が来るか不安な気持ちもありましたが、他ラボの教授たちを始め意外な面子が集まってくださり、賑やかで楽しいB examとなりました。私が面白いと思って進めてきた研究に興味を持った人々が集まり、それぞれ面白さを見出してくれるというのは、とても嬉しいものだと思います。質疑応答の間うっかり原稿付きの発表者ビューを画面共有してしまうという恥ずかしい出来事もありましたが、発表も研究成果も概ね好評で嬉しかったです。Committee memberとのプライベートセッションでは批判的な質問を覚悟して身構えていましたが、甘い先生たちが集まっていたこともあり「良く書かれた博士論文ですね」の総括で済んで、すぐに好奇心ベースの研究議論に移ったのでほっとしました。博士論文は220ページになりましたが、うち160ページは既存の研究成果の継ぎ接ぎで妥協したので、残り書き下ろし部分を1週間程度で書き上げました。博士論文はディフェンスの1週間前にcommittee memberに送る決まりとなっており、とはいえ多忙な先生たちはどうせ読まないだろうと高をくくっていたのですが、ちゃんと一通り目を通していただくようでした。私もそんな能力を身に着けた教授になりたいものです。

3. 研究の進捗と展望

最後の1年間で2本のプロジェクトをまとめるという目標に先生から「諦めなさい」と言われつつ挑み続けて、何とか1本の論文は投稿してもう1本もまとまるかも…というところまで来ました。この1年間で、投稿済みのプロジェクトに関しては目的タンパク質の結晶化と構造解析を、執筆中のプロジェクトに関してはプロテオミクス解析とそのデータの実験的証明を達成できたので、それまでの5年間とは比べ物にならないペースで研究を進められたと思います。それでも査読実験は到底間に合わないのに、奇跡的にさっさと終わる実験でなければラボメンバーに引き継ぐことになると思います。他に私が考案して着手したプロジェクトが数本、後輩たちに引き継がれることになるので、自身でやる時間がなかったことを勿体なく思う気持ちはあります。PhD課程を通して研究能率が指数関数的に上がっていったように感じるのと、かつてないくらい研究が順調に進んで楽しい時期に卒業していかなければいけないことは残念でもあります。でも、それが自身の成長の証左だと思うので、今が新たな技能を学ぶために旅立つ頃合いなのだと思います。また、私の研究テーマは先生と2人で新しく立ち上げたもので、最初の数年は私が一人で軌道に乗せるために奮闘してきたので、名残惜しく思うような研究課題を残せるほどこのテーマを拡大できたということを楽しんでいます。

4. ポスドク先の決定と進路

ポスドク先はStanford大学のAlice Ting研究室で、タンパク質工学に関する知見を深める予定です。Directed evolution (指向的進化法) を用いたタンパク質の機能進化を専門とする研究室で、そこで実験的な進化手法に加え、共同研究を通して計算的な手法も身につけられたらと思っています。ポスドク先決定の過程としては、昨年7月末に先生にコンタクトを取り、オンラインでの軽い個人面談を経て正式なインタビューに招かれ、9月頭に現地を訪れてインタビューを受け、翌日に採用通知を頂いたので、非常にとんとん拍子に決まりました。Ting先生が現在の指導教官と面識があり、指導教官からの推薦を受けて最初から好印象で始まったおかげでした。かなり厳しい先生のようなので、その上がった期待にどこまで応えられるかという心配はありますが、期待に応えられてもそうでなくても自分の実力は良くも悪くも変わらないので、日進月歩を胸に頑張ります。無給期間を最小限にとどめるために8月20日まではコーネルの学生扱いにしてもらっているので、8月頭まで現在の研究室に残り、OPT (就労許可証) の到着を待ちつつ研究をまとめる予定です。その後、大きな荷物を船便等で送り、1週間ちょっとかけてスタンフォードまで車でドライブします。途中数々の国立公園に立ち寄る予定なのでとても楽しみです!

博士号取得報告書

2022年6月25日

鄭麗嘉

以上が博士課程取得までの流れと進路報告です。船井財団からのご支援をきっかけに始まった PhD 生活ですが、大変な時期がありつつも様々な出会いに恵まれ、とても幸せに過ごすことができました。幾多の難所を乗り越え研究と向き合い続ける過程や周囲の人々との交流を通して、留学開始当時の自分が予想も出来なかったほどの成長を迎えることができたと思います。このきっかけを与えてくださった船井財団に心からの感謝を込めて、今回の報告書を締めさせていただきます。

2022年6月25日 鄭麗嘉



左:卒業式にて 右上:ディフェンス(B exam)開始時 右下:ラボメイトが描いたお祝いボード

OPTOGENETICS AND ENZYME ENGINEERING TO DISSECT PHOSPHATIDIC ACID SIGNALING

Reika Tei, Ph. D.

Cornell University 2022

The simple structure of phosphatidic acid (PA) belies its complex biological functions as both a key phospholipid biosynthetic intermediate and a potent signaling molecule. In the latter role, PA controls processes including vesicle trafficking, actin dynamics, cell growth, and migration. However, experimental methods to decode the pleiotropy of PA are sorely lacking, and because of rapid PA metabolism and trafficking in cells, approaches to manipulate its levels require high spatiotemporal precision. Here, we describe the development and applications of molecular tools that enable perturbation of PA signaling. Photoswitchable PA analogs contain azobenzene photoswitches in their acyl tails, enabling molecular shape and bioactivity to be controlled by light. Optogenetic phospholipase Ds (optoPLDs) use light-mediated heterodimerization to recruit a bacterial PLD, which exchanges phospholipid head groups through hydrolysis or transphosphatidylation of phosphatidylcholine with water or exogenous alcohols, to desired organelle membranes. These tools demonstrate that PA regulates two oncogenic signaling pathways, mTOR signaling and Hippo signaling, in a location- and acyl chain structure-specific manner. We broaden the utility of optoPLD by engineering its catalytic activity using directed evolution, obtaining a series of so-called superPLDs with greatly enhanced stability in the intracellular environment and catalytic efficiencies of up to 100-fold higher than wild-type PLD. SuperPLDs are efficient tools for both optogenetics-enabled editing of phospholipids within specific organelle membranes in live cells and biocatalytic synthesis of natural and unnatural designer phospholipids *in vitro*. Lipidomics analysis using superPLD reveals the tight homeostasis of PA in mammalian cells, achieved by striking conversion of excess PA molecules to diacylglycerol. To map PA interactome and identify molecular mechanisms of this PA homeostasis, we incorporate superPLD-enabled membrane editing to a proximity dependent labeling system. This “feeding-and-fishing” approach captures protein interactors that are recruited to target membranes upon PA production. Subsequent proteomics analysis led us to propose mechanism whereby PA homeostasis is cooperatively achieved through upregulated inter-organelle PA transport by lipid transfer proteins, upregulated PA degradation, and downregulated PA synthesis. Collectively, our studies developing and utilizing optoPLD and superPLD highlight the importance of and offer a potent approach for designable membrane editing to decode the pleiotropic functions of lipids.