

(平成 24 年度 研究実施報告)

国際科学技術共同研究推進事業 (戦略的国際共同研究プログラム)

(研究領域「低炭素社会のためのメタボロミクス」)

研究課題名

「藻類の光独立・混合栄養代謝を解き明かす計算化学資源の統合」

平成24年度実施報告書

有田 正規

(東京大学大学院理学系研究科・准教授)

1. 研究実施内容

1-1. 研究実施の概要 公開

背景

研究課題の採択直後、計測の主力機として利用予定であった FT-ICR-MS の故障およびベンダーサポート打ち切りが明らかになった。そのため平成23年度の全予算を GC-TOF-MS の購入代金に充て、実際の研究を24年度に開始とした。研究のスタートラインとなった平成24年度は解析対象を *Euglena gracilis* (ミドリムシ) に絞り、とりわけ糖代謝(パラミロンの蓄積)とワックスを含む脂質合成代謝のバランス解明を目標とした。

実施内容

国内では東京大学(東大)、奈良先端科学技術大学院大学(奈良先)、大阪府立大学(府大)の各グループが連携するため、まずグループ間の情報交換とチーム作りに取り組んだ。研究実施体制は主として計測と解析に分かれる。中心となる東大は数理解析と計測を担当する研究員をそれぞれ新規メンバーとして参加させ、計測において府大、解析で奈良先と連携する体制とした。計測対象は主にミドリムシの脂肪酸およびワックス、解析対象は代謝流量の数理解析モデリングをテーマとした。奈良先は課題採択時の主力研究員が二人転出(栄転)する出だしとなったが、新たにスタッフを加えて藻類代謝物の文献調査を精力的に進め、KNApSAcK-DB の拡充に務めた。同時に RNA-Seq によるミドリムシの遺伝子発現量解析を開始した。府大は新しい質量分析計の導入と調整に時間を要したが、測定プラットフォームを整備しミドリムシの培養系および脂質計測基盤を構築した。グリセリン脂質の分析と並行して、代謝の変化を観測するため窒素ガス曝気によって急速に嫌気条件下に移行させる培養系を新たに構築した。また、完全暗黒下でのミドリムシ継代培養を開始し、葉緑体退化とそれにもなう貯蔵多糖高蓄積、光再照射による葉緑体構造発達と脂質蓄積を計測する代謝シフト実験系を確立した。分析対象とする代謝成分は LC-MS によるグリセリン脂質 (GPL) と GC-MS による脂肪酸(ワックス含む)とし、GPL 分析には米国側で開発された LipidBlast を利用した。脂肪酸およびワックスの分析では測定用の標品を揃えて測定を終了した。

日米の研究交流体制

年度当初は日本側で国内出張の形で打ち合わせを開始したが、後半にテレビ会議システムを導入して月例の進捗状況会をおこなう体制を整えた。米国とはまずテーマ別のデータ共有から開始した。具体的には米国側から GC/MS スペクトルライブラリである FiehnLib から揮発性物質のスペクトルと脂質解析ソフトウェア LipidBlast を提供してもらった。日本側からは MassBank データベースの MS/MS スペクトルとKNApSAcK-DB の代謝物情報(一部)を提供した。9月には日米合同の発表会をハワイ(オアフ島)で実施、双方から主要メンバーが参加して研究紹介と泊まり込みの議論を通して交流を深めた。しかし 24 年度は学生や研究員の短期派遣(または受入)という人材交流は実現できなかった。

成果

平成 24 年度は事実上研究の開始年度にあたっており、東大および府大では論文成果がでなかった。ただし奈良先は前年度から着実に文献調査を進めたことから KNApSAcK-DB や代謝モデルに関する論文が未発行を含め7報出ている。口頭発表やポスター発表は国内3グループで連携でき、とりわけユーグレナ研究会においては RNA-Seq や代謝プロファイルといった新しい試みを発表できた。国内の3研究グループは相互に連携する体制が十分に整ったといえる。東大と府大の学部学生が奈良先の修士課程に進学するなど、国内における人的交流は十分に達成できた。

2. 研究実施体制 公開

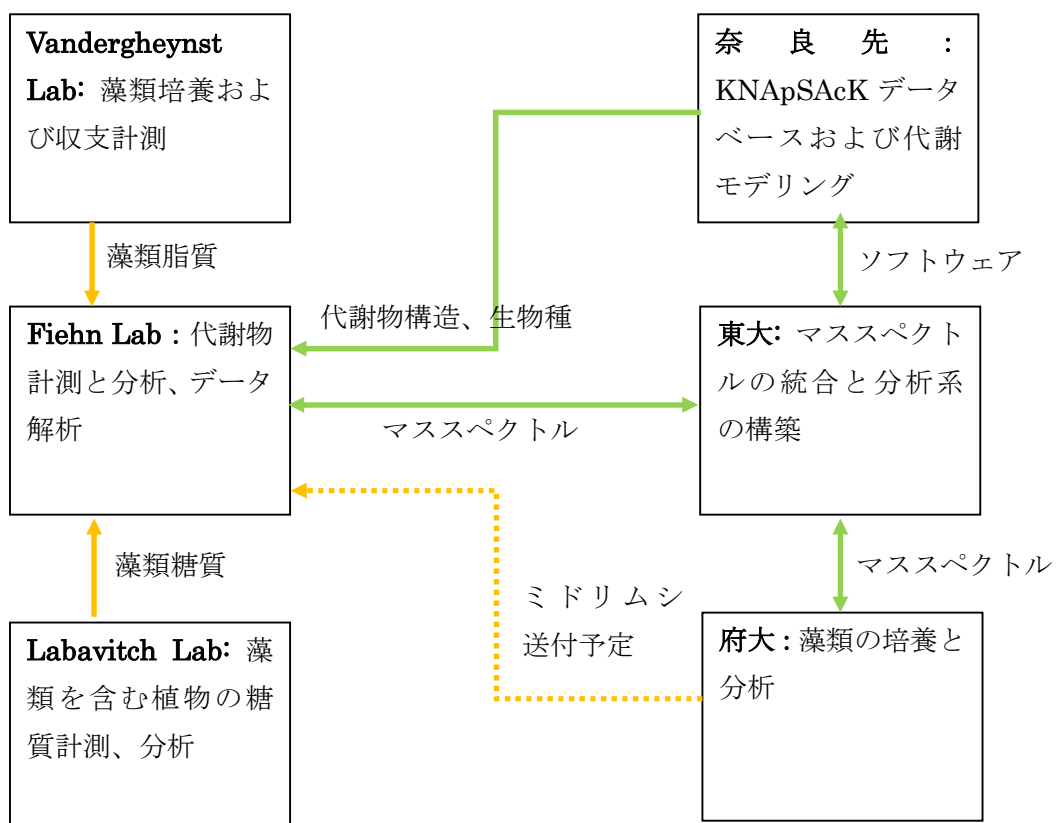
2-1. 日本側の研究実施体制

研究代表者/ 主な共同研究者	氏名	所属	所属部署	役職
研究代表者	有田 正規	東京大学	大学院理学系研究科	准教授
主な共同研究者	金谷 重彦	奈良先端科学技術大学院大学	情報科学研究科	教授
主な共同研究者	太田 大策	大阪府立大学	大学院生命環境科学研究科	教授

2-2. 相手側の研究実施体制

研究代表者/ 主な共同研究者	氏名	所属	所属部署	役職
研究代表者	Oliver Fiehn	UC Davis	Genome Center	教授
主な共同研究者	Jane Vandergheynst	UC Davis	Dept. Biol. Agric. Engineer.	教授
主な共同研究者	John Labavitch	UC Davis	Dept. Plant Sci.	教授

2-3. 両国の研究実施体制



3. 原著論文発表 公開

3-1. 原著論文発表

① 発行済論文数

	うち、相手側チームとの共著 (※)
国内誌 1 件	(0 件)
国際誌 3 件	(0 件)
計 4 件	(0 件)

※本共同研究の相手側チーム研究者との共著に限る

1. Farit Mochamad Afendi, Taketo Okada, Mami Yamazaki, Aki Hirai-Morita, Yukiko Nakamura, Kensuke Nakamura, Shun Ikeda, Hiroki Takahashi, Md. Altaf-UL-Amin, Latifah K. Darusman, Kazuki Saito and Shigehiko Kanaya, “KNAPSAcK Family Databases: Integrated Metabolite_Plant Species Databases for Multifaceted Plant Research”, *Plant and Cell Physiology*, vol. 53, No. 2, pp.1-12, 2012 (DOI: 10.1093/pcp/pcr165)
2. Kensuke Nakamura, Naoki Shimura, Yuuki Otabe, Aki Hirai-Morita, Yukiko Nakamura, Naoaki Ono, Md Altaf Ul-Amin, Shigehiko Kanaya, “KNAPSAcK-3D: A Three-Dimensional Structure Database of Plant Metabolites”, *Plant Cell Physiol.*, vol. 54, No. 2, pp.e4(1-8), 2012 (DOI: 10.1093/pcp/pcs186)
3. 池田俊, 桂樹哲雄, 小野直亮, 中谷淳至, 中村由紀子, 森田晶, 金谷重彦, “オミックス・プラットフォーム: バイオ・ビッグ・データに挑む”, *生物工学会誌*, vol. 90, No. 12, pp.777-781, 2012 (DOI:不明)
4. Naoaki Ono, Shingo Suzuki, Chikara Furusawa, Hiroshi Shimizu, Tetsuya Yomo, “Development of a Physical Model-Based Algorithm for the Detection of Single-Nucleotide Substitutions by Using Tiling Microarrays”, *PLoS ONE*, vol. 8, No. 1, e54571, 2013 (DOI: 10.1371/journal.pone.0054571)

② 未発行論文数

	うち、相手側チームとの共著 (※)
国内誌 0 件	(0 件)
国際誌 3 件	(0 件)
計 3 件	(0 件)

※本共同研究の相手国チーム研究者との共著に限る

1. Nelson Kibinge, Shun Ikeda, Kensuke Nakamura, Farit Afendi, Md.Altaf-UL-Amin, Naoaki Ono, Shigehiko Kanaya, “A four-clade phylogenetic analysis of plasmodium, trypanosoma, leishmania and mosquito genera”, *Res. Commun. Biochem. Cell Mol. Biol.*, 2012 (in press)
2. Shun Ikeda, Takashi Abe, Yukiko Nakamura, Kibinge Nelson, Aki Hirai Morita, Atsushi Nakatani, Naoaki Ono, Toshimichi Ikemura, Kensuke Nakamura, Md. Altaf-UL-Amin, Shigehiko Kanaya, “Systematization of the protein sequence diversity in enzymes related to secondary metabolic pathways in plants, in the context of big data biology inspired by the KNAPSAcK Motorcycle database”, *Plant Cell Physiol.*, 2013 (in press)

3. Tetsuo Katsuragi, Naoaki Ono, Keiichi Yasumoto, Md. Altaf-Ul-Amin, Masami Y. Hirai, Kansuporn Sriyudthsak, Yuji Sawada, Yui Yamashita, Yukako Chiba, Hitoshi Onouchi, Toru Fujiwara, Satoshi Naito, Fumihide Shiraishi, Shigehiko Kanaya, “SS-mPMG and SS-GA: Tools for Finding Pathways and Dynamic Simulation of Metabolic Networks”, *Plant Cell Physiol.*, 2013 (in press)

以上