

(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「メタボロミクス：低炭素社会に向けた植物特異的代謝解明に資する基盤研究推進」

平成 24 年度実施報告書

研究代表者

氏 名	齊藤 和季
所 属	(独) 理化学研究所 環境資源科学研究センター
役 職	副センター長・グループディレクター

1. 研究実施内容

1-1. 研究実施の概要 公開

メタボロミクスはシステム生物学の重要な一分野であるが、多くの技術的な課題が残されている。本提案の国際共同チームは焦点を絞った生物学的な研究を推進するために、これらの技術的な課題（精度の高い代謝物アノテーションの向上など）に統合的なアプローチで取り組む。本年度は以下の研究を行った。

1. 脂質を網羅的に解析する「脂質メタボローム解析」を用いて、リン欠乏環境下で生育したシロイヌナズナにおける膜脂質のリモデリングを調べた。その結果、リン欠乏時に特異的に誘導される新規葉緑体脂質を発見し化学構造を決定して、その生合成経路と遺伝子を同定した(*Nature Communications* 誌に発表)。さらに、シロイヌナズナにおいて脂質代謝に関する未知遺伝子をメタボロミクスとバイオインフォマティクスを駆使して推定し、それらの機能を逆遺伝学および逆生化学的手法によって同定する研究を開始した。本年度は、葉緑体移行タンパク質をコードする遺伝子群の破壊変異体パネルを脂質メタボローム解析によってスクリーニングした。
2. 代謝物アノテーションの向上のために、植物代謝産物の MS/MS 検索データベース ReSpect (<http://spectra.psc.riken.jp/>) を作成し発表した(*Phytochemistry* 誌に発表)。さらに安定同位体標識植物を用いた代謝物アノテーションを行った。FT-MS の優れた検出ピーク分解能と化合物の骨格である炭素の安定同位体や特徴的な天然存在比を示す硫黄の安定同位体を利用して、含硫黄二次代謝物を網羅的に測定できる分析系(S-Omics)を確立した(*Analytical Chemistry* 誌に発表)。
3. シロイヌナズナを宿主として用いて、外来の機能既知の酵素、機能未知の酵素、転写因子を導入した組み換え植物を作製した。複数の遺伝子を導入することにより初めて現れる効果を検出することを狙い、植物へ導入する遺伝子の組み合わせに留意した。具体的には、ある代謝物の生合成に関わる複数の遺伝子について、(1a) シロイヌナズナの内在性の化合物を基質とする酵素遺伝子のみ、(1b) シロイヌナズナの内在性の化合物を基質とする酵素遺伝子とその下流で反応産物を代謝する酵素遺伝子、(1c) 下流で反応産物を代謝する酵素遺伝子のみを導入した組み換え植物を、それぞれ個別に作製した。また、三つのタンパク質による複合体として機能すると推定された転写因子について、(2a) 三つのうち一つの遺伝子のみ、(2b) 三つのうち二つの遺伝子、(2c) 三つの遺伝子すべてを導入した組み換え植物を、それぞれ作製した。薬剤耐性を指標として組み換え植物の選抜を行った。選抜した組み換え植物の中に、導入した遺伝子をすべて発現するものの存在を確認した。代謝産物の解析に供する試料の準備を進めている。
4. 複数種類の安定同位体ラベル（炭素、窒素、酸素、硫黄の安定同位体）と超高分解能 FT-ICR-MS、Orbitrap-MS や UPLC-Q-TOF-MS などを組み合わせて、正確な元素組成を元にした代謝物アノテーションの効率化および精密化を図る研究を進めた。本年度は、タルウマゴヤシ及びシロイヌナズナへの安定同位体ラベルを行い、FT-ICR-MS、Orbitrap-MS を用いたメタボローム解析によって、代謝物への同位体の取り込みを確認した。また、分析データの中から安定同位体でラベルされた代謝物を効率的に見つけ出すための解析支援ソフトの開発に着手し、安定同位体を用いた代謝物解析を効率的に進めるためのワークフローの確立を推進した。

5. 特定の外来遺伝子を導入した組換え体植物や遺伝子欠損変異体での生物学的考察にもとづいて、シロイヌナズナにおける組織的な代謝物アノテーションを進めた。本年度は、候補となる外来遺伝子の絞り込みを行い、シロイヌナズナに導入するためのコンストラクト、特に、複数の遺伝子を一度に導入することのできる多重連結ベクターを用いたコンストラクトの作製に取り掛かった。

2. 研究実施体制 公開

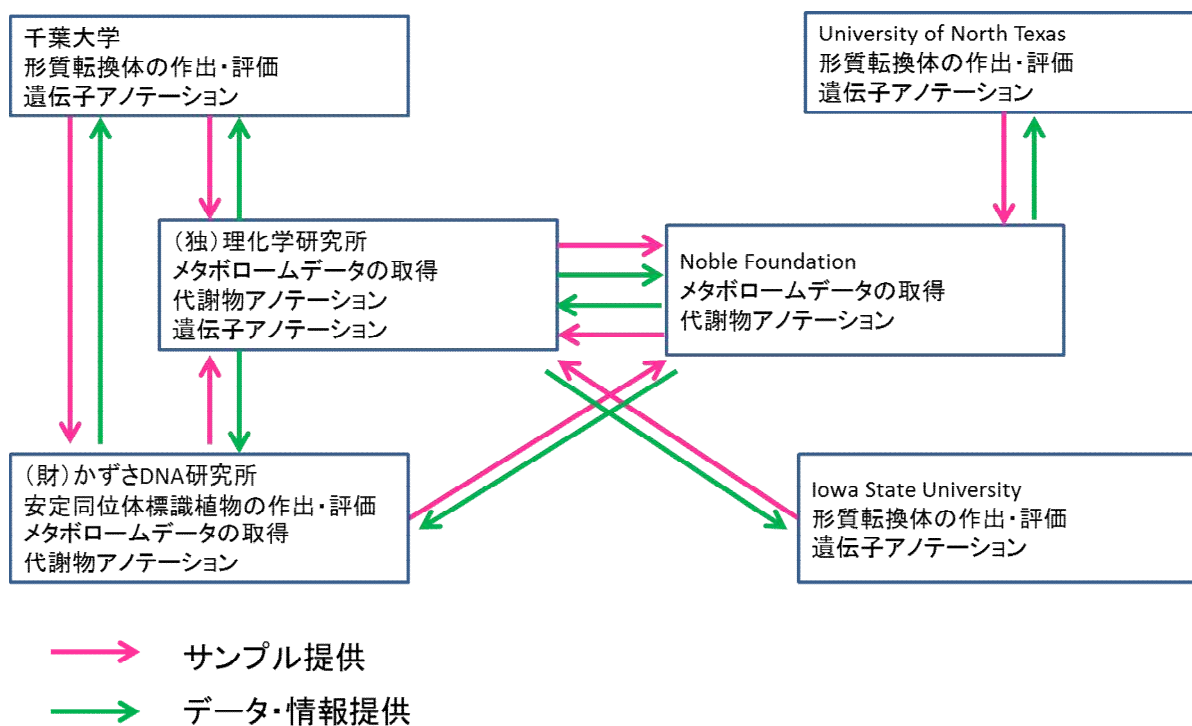
2-1. 日本側の研究実施体制

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	斉藤 和季	(独) 理化学研究所	環境資源科学研究センター 統合メタボロミクス研究グループ (昨年度: 植物科学研究センター)	副センター長、グループディレクター
主な共同研究者	山崎 真巳	千葉大学	大学院薬学研究 院	准教授
主な共同研究者	鈴木 秀幸	(財) かずさ DNA 研究所	産業応用技術研 究室	主席研究員 (昨年度: 主任 研究員)

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	Lloyd Sumner	Noble Foundation	Plant Biology Division,	Professor
主な共同研究者	Rick Dixon	University of North Texas (昨年度: Noble Foundation)	Department of Biological Sciences	Professor
主な共同研究者	Basil Nikolau	Iowa State University	Department of Biological Sciences	Professor

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 0 件	(0 件)
国際誌 3 件	(0 件)
計 3 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. Yuji Sawada, Ryo Nakabayashi, Yutaka Yamada, Makoto Suzuki, Muneo Sato, Akane Sakata, Kenji Akiyama, Tetsuya Sakurai, Fumio Matsuda, Toshio Aoki, Masami Yokota Hirai and Kazuki Saito, “RIKEN tandem mass spectral database (ReSpect) for phytochemicals: A plant-specific MS/MS-based data resource and database”, *Phytochemistry*, 82, pp.38-45, 2012 (DOI: 10.1016/j.phytochem.2012.07.007)
2. Ryo Nakabayashi, Yuji Sawada, Yutaka Yamada, Makoto Suzuki, Masami Yokota Hirai, Tetsuya Sakurai and Kazuki Saito, “Combination of Liquid Chromatography-Fourier Transform-Ion Cyclotron Resonance-Mass Spectrometry with ¹³C-labeling for Chemical Assignment of Sulfur-containing Metabolites in Onion Bulbs”, *Analytical Chemistry*, 85, pp.1310-1315, 2013 (DOI: 10.1021/ac302733c)
- *3. Yozo Okazaki, Hitomi Otsuki, Tomoko Narisawa, Makoto Kobayashi, Satoru Sawai, Yukiko Kamide, Miyako Kusano, Toshio Aoki, Masami Yokota Hirai and Kazuki Saito, “A new class of plant lipid is essential for protection against phosphorus depletion”, *Nature Communications*, 4, Article number: 1510, 2013 (DOI: 10.1038/ncomms2512) 脂質メタボローム解析から植物のリン欠乏ストレスを緩和する新しい糖脂質を発見し、その生合成経路と生合成遺伝子を決定した。

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 0 件	(0 件)
計 0 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