

平井 優美

(独) 理化学研究所植物科学研究センター・チームリーダー

植物アミノ酸代謝のオミクス統合解析による解明

§1. 研究実施体制

(1)「理化学研究所」グループ

① 研究代表者: 平井 優美 (理化学研究所植物科学研究センター、チームリーダー)

② 研究項目

- ・バイオケミカルシステム理論に基づく代謝システム解析
- ・シロイヌナズナ遺伝子破壊株の分析と有用遺伝子探索
- ・シロイヌナズナエコタイプ(アクセッション)の分析と有用遺伝子探索
- ・作物植物の分析と比較メタボロミクス

(2)「奈良先端科学技術大学院大学」グループ

① 主たる共同研究者: 金谷 重彦 (奈良先端科学技術大学院情報科学研究科、教授)

② 研究項目

- ・代謝制御予測のためのバイオインフォマティクス要素技術の開発
- ・データベース構築

(3)「北海道大学」グループ

① 主たる共同研究者: 尾之内 均 (北海道大学大学院農学研究院、准教授)

② 研究項目

- ・*mto* 変異体のメタボローム、トランスクリプトームデータに基づく解析
- ・新たなメチオニン生合成制御欠損変異体の遺伝学的解析
- ・メチオニン生合成制御機構の解析
- ・代謝システム解析のための植物材料の準備

(4)「東京大学」グループ

① 主たる共同研究者:藤原 徹 (東京大学農学生命科学研究科、教授)

② 研究項目

・モリブデントランスポーターのアミノ酸代謝への関与の解析

§ 2. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(3-1)に対応する)

研究のねらい

植物のアミノ酸代謝は、植物のみならずアミノ酸を栄養素として摂取する動物にとっても重要な代謝であるが、未解明な部分が多く残されている。本研究は、メタボロミクスを中心とした統合オミクス解析により、植物アミノ酸代謝とその制御機構をシステムティックに解明することを目標とする。

研究の概要と進捗状況

代謝制御機構の全体像を理解するためには、代謝全体を俯瞰する視点が必要である。本研究では主にシロイヌナズナを用いて、大規模なメタボロームデータセットからの仮説構築を行う。本研究で確立したハイスループットなメタボローム分析技術(ワイドターゲット分析)を用いて代謝物データを取得し、シロイヌナズナ機能未知遺伝子の機能予測・同定、代謝の数理モデル化などを行っている。また、アミノ酸代謝制御機構の分子メカニズムの解明を目指して、アミノ酸代謝に攪乱がおきているシロイヌナズナ変異体に着目し、トランスクリプトーム、メタボローム解析を行っている。

研究成果と今後の見通し

(1)「理化学研究所」グループ

・バイオケミカルシステム理論に基づく代謝システム解析

九州大学・白石文秀教授との共同研究により、ゲノムスケールの数理モデルを作り、リジンおよびスレオニンを細胞外から与えた場合の代謝シミュレーションを行った。実際にシロイヌナズナカルスを用いた実験系で代謝産物量の時系列データをワイドターゲット分析によって取得し、シミュレーションによる経時変化のパターンと概ね一致することを確認した。リジン・スレオニン添加実験の追試および方法論の理論面からの検証を引き続き行っており、H24年度中の論文投稿を目指している。

・シロイヌナズナ遺伝子破壊株の分析と有用遺伝子探索

数千種のシロイヌナズナ遺伝子破壊株について、ワイドターゲット分析による幼植物体の代謝物プロファイルデータを取得し、分枝鎖アミノ酸高蓄積株を既に得ている。その原因遺伝子の機能解明を行った。

・シロイヌナズナエコタイプ (アクセッション) の分析と有用遺伝子探索

数百種のシロイヌナズナエコタイプについて、ワイドターゲット分析による種子の代謝物プロファイルデータを取得している。公開 SNP 情報を用いたゲノムワイドアソシエーション解析により、アミノ酸蓄積に影響を与える遺伝子の同定を昨年度より引き続き進めた。

- ・作物植物の分析と比較メタボロミクス

さまざまな作物等のワイドターゲット分析によって、植物種による代謝産物プロファイルの差異を見いだした。今後は、植物種間で共通の、あるいは異なる代謝物相関を明らかにすることで、代謝制御機構解明のための手がかりを得る。

(2)「奈良先端科学技術大学院大学」グループ

- ・代謝制御予測のためのバイオインフォマティクス要素技術の開発

現在までに、理研グループ・北大グループで共同測定した二次代謝物の測定データをもとに、細胞において減少した代謝物と増加した代謝物の代謝経路を推定し、代謝量変化の関係をストカスティック・シミュレーションするプログラムのアルゴリズム開発はほぼ完了した。今後は、この方法を適用し代謝かく乱における代謝の頑強性について評価をおこなう。

- ・データベース構築

シロイヌナズナにおける代謝のオミクス統合解析、特に代謝制御予測のためのバイオインフォマティクス要素技術の開発に向けて必要とされるデータベースを昨年度に引き続き構築した^{1,2)}。

(3)「北海道大学」グループ

- ・*mto* 変異体のメタボローム、トランスクリプトームデータに基づく解析

mto1, *mto2*, *mto3* 変異体のバッククロスラインを用いて理研グループと共同で行ったトランスクリプトーム解析のデータ解析を行った。その結果、各 *mto* 変異体に共通して、メチオニンから生合成される植物ホルモンであるエチレンに関連する遺伝子の発現に変動がみられた。

- ・新たなメチオニン生合成制御欠損変異体の遺伝学的解析

メチオニン生合成に関わるシスタチオニγγ-シクターゼ(CGS)の発現制御に影響を与える新たな変異体について、次世代シーケンサー解析により変異部位の同定を行った。その結果、以前に遺伝学的マッピングにより決定された染色体上の原因遺伝子座が存在する領域内に複数の変異遺伝子が見出された。今後、相補性試験により、それらのうちのどの遺伝子の変異が CGS の発現制御に影響を与えるかを決定する。

- ・メチオニン生合成制御機構の解析

S-アデノシルメチオニンに応答して CGS mRNA の翻訳が伸長途中で停止する機構について生化学的解析および分子遺伝学的解析を行い、新生 CGS ポリペプチドのリボソームトンネル内における構造変化とリボソームトンネルとの相互作用が翻訳伸長停止機構に重要であることを示唆する結果を得た^{3,4)}。

- ・代謝システム解析のための植物材料の準備

CGS 遺伝子のジーンサイレンシングを誘導可能なトランスジェニックシロイヌナズナ植物を作出した。また、ジーンサイレンシング誘導のための条件検討をおこない、誘導分子の濃度と処理時間を決定した。今後、このトランスジェニック植物を用いて、CGS の発現を変動させた場合のメチオニン生合成経路の代謝攪乱について理研グループと共同で代謝システム解析をおこなう。

(4)「東京大学」グループ

モリブデン輸送における MOT2 や *sutr1;2* の役割について明らかにした。MOT2 はモリブデンの根から地上部への輸送に、*sutr1;2* はモリブデンの吸収に一定の役割を果たしている。MOT1 とアミノ酸代謝の関係については、これまでに行っていた硝酸を含む培地での *mot1-1* 変異株のマイクロアレイ解析や代謝解析に加えて、硝酸を含まない培地でのマイクロアレイ解析を行った。これは硝酸を含む培地で *mot1* 変異株を栽培すると硝酸が蓄積する傾向があり、硝酸の影響を大きく受けると考えられるためである。

アミノ酸代謝に必要な不可欠な無機窒素からのアミノ酸合成に関わるモリブデントランスポーター MOT1 や MOT2、*Sultr1;2* についての解析を進め、また新たなモリブデンに関するシロイヌナズナ変異株を検索し、遺伝解析を進めた。今後は、これらのトランスポーターの解析をミヤコグサも含めて行うとともに、関連する変異株の解析を進めて行く。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

●論文詳細情報

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. Hiroki Takahashi, Takuya Morimoto, Naotake Ogasawara and Shigehiko Kanaya, “AMDORAP: Non-targeted Metabolic Profiling Based on High-resolution LC-MS”, *BMC Bioinformatics*, vol.12, pp.259, 2011 (DOI: 10.1186/1471-2105-12-259)
3. Noriyuki Onoue, Yui Yamashita, Nobuhiro Nagao, Derek B. Goto, Hitoshi Onouchi, and Satoshi Naito, “*S*-adenosyl-L-methionine Induces Compaction of Nascent Peptide Chain Inside the Ribosomal Exit Tunnel upon Translation Arrest in the Arabidopsis *CGS1* gene”, *Journal of Biological Chemistry*, vol. 286, No. 17, pp.14903-14912, 2011 (DOI: 10.1074/jbc.M110.211656)
4. Katsunori Murota K, Yuka Hagiwara-Komoda, Keisuke Komoda, Hitoshi Onouchi, Masayuki Ishikawa, and Satoshi Naito, “Arabidopsis cell-free extract, ACE, a new in vitro translation system derived from Arabidopsis callus cultures”, *Plant and Cell Physiology*, vol. 52, No. 8, pp.1443-1453. 2011 (DOI: 10.1093/pcp/pcr080)

(3-4) 知財出願

① 平成 23 年度特許出願件数(国内 0 件)

② CREST 研究期間累積件数(国内 2 件)