戦略的創造研究推進事業　CREST
研究領域「代謝調節機構解析に基づく細胞機能制御基盤技術」
研究課題
「植物アミノ酸代謝のオミクス統合解析による解明」

研究終了報告書

研究期間　平成19年10月～平成25年3月

研究代表者：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)

§1 研究実施の概要

(1)実施概要

本研究では、メタボロミクスの技術開発を行うと同時に、得られるデータを用いて植物の代謝をゲノムスケールで数理モデル化し、代謝制御予測と検証を行うことを目指した。また分子遺伝学的な方法論を組み合わることで、アミノ酸代謝とその制御の分子メカニズムを解明することを目指した。

メタボロミクス技術によって生体内の代謝産物をターゲットせずに一斉分析する場合、新規代謝産物を含む網羅的情報を得ることが原理的に可能である。その一方で、検出した代謝産物の同定やアノテーション付けが必ずしも容易でなく、代謝産物濃度の値が得られないなど、生物学研究者にとってメタボロームデータの利用はいまだハードルの高い面がある。しかし、数千種類の代謝産物で構成されると推定される複雑な代謝ネットワークを理解するには、個別の代謝産物分析では得られない広範囲の代謝産物間の関係性の情報が不可欠である。

そこで理研グループでは、一斉分析でありながら個別分析と同様に生物学者に使いやすいデータを提供するワイドターゲットメタボローム分析技術を開発した。この技術はスループットが極めて高いことから、バイオインフォマティクス分野で必要とされる、多数のタイムポイントからなる時系列データの取得が可能となった。しかし一方で、代謝を正確に数理モデル化するのに必要な濃度値を、すべての代謝産物について得るのは極めて困難であったため、現状で得られる代謝産物の相対定量値を用いてモデルを作るための理論的検証を、九大の白石文秀教授との共同研究により、理研、北大、東大、NAIST の全グループで行った。この理論は世界で初めてのものである。またこれとは独立に、別のアルゴリズムを実装した代謝シミュレーションシステムをNAISTグループが開発し、容易なシミュレーションを可能にした。上記で確立した理論やアルゴリズムを適用する実験系として、北大グループが開発した、シロイヌナズナカルス培養にある種のアミノ酸を添加して、メチオニン代謝を中心に代謝攪乱をおこさせる系を利用した。メタボロームデータを理研グループが取得し、現在4グループ合同で数理モデル化を進めている。

北大グループは、メチオニン濃度制御機構を統合的に理解するために、メチオニンの生合成と代謝に関与する酵素遺伝子の発現制御機構の詳細な解析を行った。これは翻訳段階で負のフィードバック制御を受け、しかも新生ペプチドが自身を翻訳したリボソームを制御するという、北大グループの発見したきわめて例外的な発現制御機構であり、植物のメチオニン濃度制御機構の大きな特徴であると考えられる。東大グループは、アミノ酸の代謝に重要な役割を担うトランスポーターの研究を進めた。特に、先行研究で東大グループが真核生物で初めて同定していたモリブデントランスポーターに焦点をあてて研究を進め、植物におけるモリブデン輸送の全体像を明らかにし、それらのアミノ酸代謝における役割を示すことができた。理研グループでは、シロイヌナズナ遺伝子破壊株や作物種の組換え自殖系統などの大規模な植物バイオリソースを系統的にワイドターゲットメタボローム分析することで、アミノ酸やアミノ酸から派生する二次代謝産物の合成・蓄積を制御する新規遺伝子を複数見出しており、現在それらの機能を検討している。

上記の通り、本研究では、メタボロミクスデータを用いた数理モデリング手法を開発し、メタボローム解析の本質である代謝制御予測への道を拓いた。また分子遺伝学や分子生物学などの方法論を組み合わせることで、植物アミノ酸代謝制御の分子メカニズムの解明に貢献した。

(2)顕著な成果

1. Sawada et al. (2009) Widely targeted metabolomics based on large-scale MS/MS data for elucidating metabolite accumulation patterns in plants. *Plant Cell Physiol.* 50: 37-47.

概要:この論文では、同定可能な約 400 化合物(2013 年 3 月時点で約 700)について、植物内の蓄積をハイスループットに分析する系を確立した。これは、代謝プロファイル分析に関して、現状で世界一の分析能力を持つものであり、大規模サンプルの解析に初めて道を拓いた。

2. Onoue et al. (2011) *S*-adenosyl-L-methionine induces compaction of nascent peptide chain inside the ribosomal exit tunnel upon translation arrest in the Arabidopsis *CGS1* gene. ***J. Biol. Chem.*** 286: 14903-14912.

概要:この論文では、*S*-アデノシルメチオニンに応答した CGS mRNA の翻訳伸長停止機構について解析を行い、低分子化合物によって誘導されるリボソームトンネル内の新生ペプチドの構造変化が翻訳伸長停止に関与する例を全生物で初めて見いだした。

3. Sriyudthsak et al. (2013) Identification of a metabolic reaction network from time-series data of metabolite concentrations. *PLoS One*, 8: e51212.

概要:この論文では、統計的手法と数理モデリングを組み合わせたアルゴリズムの開発により、代謝産物濃度の時系列データのみから、代謝反応ネットワーク(代謝反応とその制御関係)を推定することを可能にした。

§2. 研究構想

（1）当初の研究構想

メタボロミクス技術は世界的に発展してきているが、メタボロミクスによる優れたサイエンスの成果は乏しい。とくに高等生物では diagnostics や記述の域を出ないものが多く、代謝制御メカニズムの解明に至っていない。だが、網羅的解析データは生物学的真実に迫る豊富な情報を内包するものであり、そこからいかに断片的でない体系的な知見を引き出すかはデータ処理の情報科学に大きく依存する。一方、植物科学に求められる社会的要請のひとつに物質生産能力の向上が挙げられ、メタボロミクスは物質生産能力の向上に資することが期待される。

上記の現状認識の下、本研究では、炭素・窒素・硫黄の同化代謝が合流して二次代謝への入り口となる重要な部分であり、にもかかわらず未解明な点の多く残されている「植物アミノ酸代謝」をモデル系として、メタボローム解析の本質である代謝制御予測を行い、さらに予測を生物学的方法論で検証して、真のメタボロミクスのモデル版を実現することを目指す。

具体的には、「代謝撹乱」のおきている実験系、すなわち遺伝子破壊株や各種変異体などの代謝産物を、最新の分析技術によって系統的に計測してデータベース化し、単純な化合物スクリーニング等にとどまらずに、得られる全情報をゲノム、トランスクリプトームなどと統合解析する。新規アルゴリズムを開発して代謝制御予測を行い、分子生物学などの手法で検証する。以下のような分担で研究を進める。

1. メタボローム解析に基づく代謝予測と生物学的検証（理研）

シロイヌナズナ遺伝子破壊株の系統的な代謝産物分析とデータベース化を行う。また数理モデリングによって遺伝子機能や代謝制御機構を予測し、個別に生物学的方法で検証する。

2. 代謝制御予測のためのバイオインフォマティクス（NAIST）

代謝を中心とするオミクス統合解析に基づいた、代謝制御予測におけるバイオインフォマティクス要素技術を開発することを目標とし、in silico 解析による遺伝子機能予測、データベース構築、バイオインフォマティクス要素技術の開発を行う。

3. *mto* 変異体を基盤とする先行モデル研究（北大）

メチオニン代謝が撹乱された場合にバランスを取る機構が存在することが示唆されており、その解明のために、*mto* 変異体を用いて詳細なメタボローム解析、トランスクリプトーム解析を行なう。代謝変動と遺伝子発現変化を対応付けることで、メチオニン濃度を制御するメカニズムを予測し、分子生物学的手法や生化学的手法などにより検証する。

4. トランスポーター解析（東大）

アミノ酸代謝に重要なトランスポーターをデータベース解析やスクリーニングによって同定し、その活性、発現、生理機能を明らかにする。

（2）新たに追加・修正など変更した研究構想

数理モデリングの手法について情報収集する中で、バイオケミカルシステム理論（BST）を知るに至り、その第一人者である白石文秀 九州大学教授にご指導をお願いした。その結果、現在の共同研究に至っている。また、「中間評価結果」として以下のご指摘とご助言をいただいた（以下、資料の抜粋）。

今後の研究に向けて

ワイドターゲット解析の手法と網羅的な変異体コレクションを利用して重要な代謝制御関連遺伝子の単離と機能同定がさらに進むことが期待できる。研究代表者と研究分担者の個

別研究には進展は見られており，今後はチーム全体が連携して有用な成果を出せる方向にも努めて欲しい。

総合的評価

メタボローム研究の本質ともいえる代謝制御の予測を行い、それを実験で実証することを目指す研究は、本 CREST 研究の目標に沿ったものである。UPLC タンデム四重極型 MS を利用した「ワイドターゲットメタボロミクス」技術は、トータルスループットが極めて高いものであり、方法論の開発として高く評価できる。メチオニン代謝の数理モデリングも代謝研究の新しい先駆的な研究となるものであり、さらなる発展を期待したい。

当初の研究計画に概ね沿った進捗状況を評価していただいたと受け止めたが、上記のご助言を受け、研究期間後半はいっそう数理モデリングに重点をおき、4 グループの総力を挙げて取り組んできた。終了報告には残念ながら間に合わなかったものの、現在、4 グループの共著によるシロイヌナズナの代謝数理モデリングの論文をまとめているところであり、本プロジェクトの集大成と位置付けている。

§３ 研究実施体制

(1)「理研」グループ

①研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
平井　優美	(独)理化学研究所	チームリーダー	H19.10～25.3
澤田　有司	(独)理化学研究所	特別研究員	H19.10～25.3
松田　史生	(独)理化学研究所	研究員	H19.10～25.3
及川　彰	(独)理化学研究所	研究員	H19.10～25.3
福島　敦史	(独)理化学研究所	特別研究員	H19.10～25.3
森岡　涼子	(独)理化学研究所	客員研究員	H20. 4～25.3
黒森　崇	(独)理化学研究所	研究員	H19.10～25.3
内藤　哲	北海道大学	教授	H19.10～25.3
草野　都	(独)理化学研究所	研究員	H19.10～25.3
岡咲　洋三	(独)理化学研究所	特別研究員	H19.10～20.3
Doris Albinsky	(独)理化学研究所	技師	H20.10～22.7
瀬尾(桑原)亜由子	(独)理化学研究所	テクニカルスタッフ	H20. 5～25.3
長野　睦	(独)理化学研究所	派遣職員	H20. 9～22.3
山田　豊	(独)理化学研究所	派遣職員	H21. 9～22.3
佐藤　心郎	(独)理化学研究所	テクニカルスタッフ(非常勤)	H22.5～23.3
Kansuporn Sriyudthsak	(独)理化学研究所	特別研究員	H22.11～25.3
岡村 英治	(独)理化学研究所	特別研究員	H23.1～25.3
坂田　あかね	(独)理化学研究所	研究補助員(パートタイマー)	H24.1～24.3
川出　健介	(独)理化学研究所	基礎科学特別研究員	H24.1～25.3
李　一蒙	東北林業大学(中国)／(独)理化学研究所	D3／国際プログラムアソシエイト	H24. 4～25. 3
清田　浩史	東京大学大学院／(独)理化学研究所	D2／大学院リサーチアソシエイト	H24. 4～25. 3
林　祐作	名古屋大学院／(独)理化学研究所	D1／大学院リサーチアソシエイト	H24. 4～25. 3

②研究項目

・植物体の高速代謝プロファイリング技術の確立
・遺伝子破壊株ターゲット解析とデータベース構築（NAIST と共同）
・選抜株のメタボローム・トランスクリプトーム解析と代謝予測
・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（NAIST と共同）
・予測遺伝子機能と制御の検証

(2)「NAIST」グループ

①研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
金谷重彦	奈良先端大院大	教授	H19.10　～25.3
森田(平井)晶	奈良先端大院大	CREST 研究員	H19.10　～25.3
Md.Altaf-Ul.Amin	奈良先端大院大	准教授	H19.10　～25.3
高橋弘喜	奈良先端大院大	助教	H19.10　～24.3
小野直亮	奈良先端大院大	助教	H24.4　～25.3

②研究項目

・in silico 解析によるトランスポーター遺伝子機能予測（東大と共同）
・データベース構築(理研と共同)
・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(理研と共同)

(3)「北海道大学」グループ

①研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
尾之内 均	北海道大学大学院農学研究院	教授	H19.10～H25.3
八十川 さえ子	同上	学術研究員	H19.10～H23.3
蝦名 績	北海道大学大学院生命科学院	M2	H21.4～H22.3
山下 由衣	北海道大学大学院生命科学院	M1, M2	H21.4～H23.3
田中 英里子	北海道大学大学院農学研究院	研究補助員	H21.4～H23.9
千葉 由佳子	北海道大学創成科学共同研究機構	特認助教	H21.4～H25.3
西口 達也	北海道大学大学院生命科学院	M2	H22.4～H23.3
中西 健彦	同上	M2	H23.4～H24.3
青野 志郎	同上	M1, M2	H23.4～H25.3
関原 仁美	北海道大学大学院農学研究院	研究補助員	H23.10～H25.3
小山 博彰	北海道大学大学院農学院	M2	H24.4～H25.3

②研究項目

・*mto* 変異体のバッククロスラインの整備
・*mto* 変異体のアミノ酸分析
・*mto* 変異体のメタボローム解析（理研と共同）
・*mto* 変異体のトランスクリプトーム解析（理研と共同）
・変異体の遺伝学的解析
・数理モデリングのためのカルス培養

(4)「東京大学」グループ

①　研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
藤原 徹	東京大学大学院	教授	H19.10～25.3
箱山 雅生	東京大学大学院	CREST 研究員	H22.4～25.1
河原 祐子	東京大学大学院	CREST 研究補助	H19.10～25.3
乾 弥生	東京大学大学院	CREST 研究員	H21.4～24.6
田中伸裕	東京大学大学院	博士研究員	H25.1～25.3
Sumana Leaungthitikanchana	東京大学大学院	D3	H23.10～25.3
津坂 宜宏	東京大学大学院	M2	H23.4～25.3
反田 直之	東京大学大学院	M1	H23.4～25.3
李 克	東京大学大学院	D1	H23.4～25.3
小田 紘士郎	東京大学大学院	D1	H22.4～25.3
伊藤 咲江	東京大学大学院	研究補佐員	H22.4～23.3
井出曜子	東京大学大学院	D3	H19.10～23.3

坂本卓也	東京大学大学院	D3	H21.4～23.3
藤田春佳	東京大学大学院	CREST RA	H21.4～25.3
高 俊山	東京大学生物生産工学研究センター	研究補佐員	H21.4～21.8
Fabien Lombardo	東京大学生物生産工学研究センター	博士研究員	H21.12～22.3
戸松創	東京大学生物生産工学研究センター	博士研究員	H19.10～21.3

②研究項目

・in silico 解析によるトランスポーター遺伝子機能予測（NAIST と共同）
・トランスポーターの機能と発現解析
・トランスポーター変異株解析

§４ 研究実施内容及び成果

４．１ メタボロミクスを基盤とするアミノ酸代謝予測と生物学的検証（理化学研究所　平井グループ）

(1)研究実施内容及び成果

1．ワイドターゲットメタボロミクス技術の開発とその利用による代謝研究

UPLC-タンデム四重極型質量分析装置（UPLC-TQMS）を導入し、高速・高感度・広範囲なメタボローム分析技術を開発した。具体的には、KEGG（http://www.genome.jp/kegg/）や AraCyc（http://www.arabidopsis.org/biocyc/）などの代謝マップに記載のある約 1,000 の代謝産物について標準化合物を入手し、MS/MS 分析の選択反応モニタリング（selected reaction monitoring; SRM）による至適検出条件を検討した。その結果、現時点で約 700 化合物の検出を可能にした。この過程では膨大な条件検討が必要であり、実質的に手作業で行うことは不可能であった。そこでこれを可能にする革新的なマネジメントアルゴリズムを開発し、特許出願をおこなった（特願2010-104563）（図１）。

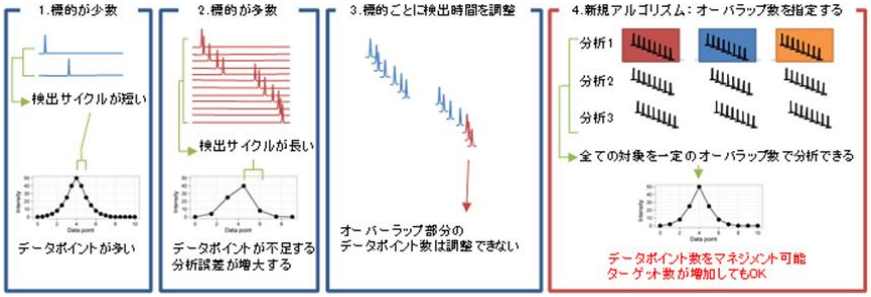


図１　開発したマネジメントアルゴリズムの概要のイメージ図

また、MS/MS 分析に供する植物抽出物のハンドリングは、自動分注機を導入することでほぼ自動化した。以上により、試料調整からデータ取得までを通してスループットの極めて高い「ワイドターゲットメタボロミクス（Widely targeted metabolomics）」の技術基盤を確立した（Sawada et al. 2009. Plant Cell Physiol. 50: 37-47）。本技術の特徴は、生体サンプル中の代謝産物を同定した化合物として検出すること、および煩雑なデータ処理を必要としないので大規模なデータセットを容易に得られることである。これにより、以下の項目に述べる、メタボロームデータを基盤とする代謝数理モデリングや、大規模バイオリソースの解析などが可能となった。ケーススタディとして、代表的な植物14種の種子（または種皮）の代謝産物分析を行い、種（しゅ）に特異的な代謝プロファイルを見いだすことに成功し、比較メタボロミクスへの道を拓くことができた（Sawada et al. (2009) Plant Cell Physiol 50: 37-47）（図2）。得られた種々のデータセット（標準化合物の SRM 条件、MS スペクトル、MS/MS スペクトル、植物サンプルの代謝プロファイルデータなど）をウェブサイト PRIMe 内の DROP Met および ReSpect for Phytochemicals から公開している。また、MS スペクトルデータは、JST-BIRD プロジェクトとして開発され、日本質量分析学会の公式データベースでもある高分解能マススペクトルデータベース MassBank からも公開している。

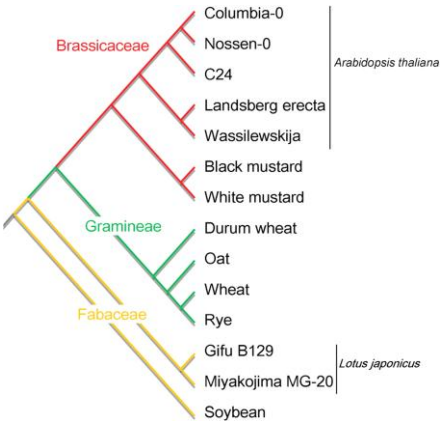


図２　ワイドターゲットメタボロミクスによる代謝プロファイルに基づいた植物種の分類（Sawada et al. 2009. Plant Cell Physiol. 50: 37-47 より引用）

PRIMe (Platform for RIKEN Metabolomics)
http://prime.psc.riken.jp/
Akiyama et al. (2008)
DROP Met (Data Resources Of Plant Metabolomics)
http://prime.psc.riken.jp/?action=drop_index

ReSpect (RIKEN MSn Spectral Database) for Phytochemicals
http://spectra.psc.riken.jp/MassBank/
Sawada et al. (2012)
MassBank
http://www.massbank.jp/ja/about.html
Horai et al. (2010)

この技術の有用性は、さまざまな生物種、生物学的現象を対象とした研究において成果を発揮していることからも明らかである。約 2,700 種のシロイヌナズナ遺伝子破壊株(トランスポゾンタグライン)の種子の代謝プロファイルデータを進化ゲノム学の観点から解析することで、生命の頑強性の仕組みの解明に至った(Hanada et al., 2011)(H22 年 8 月 18 日プレス発表)。また、ある種の植物病原菌がシロイヌナズナに感染した際のアミノ酸由来二次代謝産物グルコシノレートの蓄積量の変化をワイドターゲットメタボロミクスで分析し、さらにグルコシノレートの欠損変異体を用いた実験などにより、植物病原菌に対するアミノ酸由来二次代謝産物の抗菌活性を明らかにした(Stotz et al., 2011)。ほかにも、CREST 研究チーム外でアミノ酸代謝に関連する多数の共同研究が進行中であり、ワイドターゲットメタボロミクスは今後の代謝研究に大きく貢献するものと考えている。

2. 代謝の数理モデリング

九大の白石文秀教授との共同研究で、バイオケミカルシステム理論(Biochemical Systems Theory, BST)に基づく代謝の数理モデリングを行った。現在行われている数理モデリングの多くは、in vitro で決定した代謝反応酵素の Km 値と Vmax 値を利用するものであり、対象とする代謝反応数の比較的少ない代謝システムにおいてなされている。対象とする代謝システムが大規模である場合、これらの値を実験的にすべて決定するのは極めて困難である。また決定できたとしても、その値は必ずしも in vivo の状態を表しているとは限らない。BST の特徴は、代謝反応ネットワーク(代謝反応とその制御関係)の構造(例:図3)のみに基づいてSシステム型式と呼ぶ数式を構築する点にある。

S システム型式

$$\frac{dX_i}{dt} = \alpha_i \prod_{j=1}^{n} X_j^{g_{ij}} - \beta_i \prod_{j=1}^{n} X_j^{h_{ij}} \quad (i = 1,2,\cdots,n)$$

Xi : i 番目の代謝産物の濃度
α_i, β_i :流入流束と流出流束の速度定数
g_{ij}, h_{ij} :流入流束と流出流束の反応次数

代謝反応ネットワークになんらかの代謝攪乱を与えたあとの各代謝産物濃度の時系列データを使い、この式中のパラメーターである反応次数と速度定数を決定することで代謝反応ネットワークをモデル化できる。これにより、この代謝反応ネットワークの特徴を明らかにするための解析が可能となり、代謝のボトルネックを理論的に同定するなど、代謝工学への応用が可能となる。

一方、現在のメタボロミクス技術で得られる

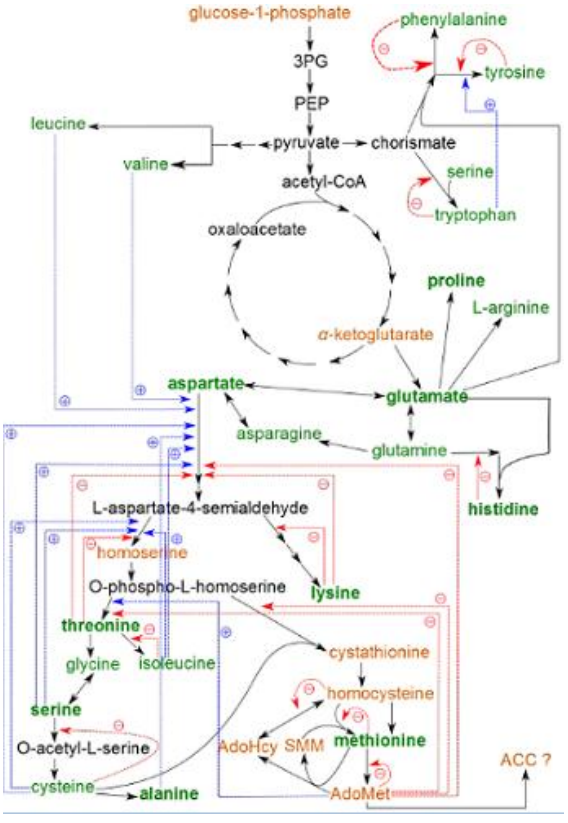


図3　アミノ酸に注目した植物の代謝反応ネットワーク。黒矢印は代謝反応 、赤矢印は負のフィードバック制御、青矢印は正のフィードバック制御を表す。

データは、上記のパラメーター決定に必要な代謝産物の「絶対濃度」ではない。また、対象とするネットワーク上のすべての代謝産物についてのデータが得られるわけではない。そこで本研究課題では、上述した正確なパラメーター決定の前段階として、現在のメタボロミクス技術で得られる相対定量値を用いてパラメーター推定を行うための理論的考察とその検証を行った。これにより、決定するべきパラメーターの数を大幅に減らし、かつ、現実のネットワークを正確に記述するものではないものの実際の代謝の挙動をほぼ正しく予測するに足るパラメーター推定が可能となった(Under revision)。

次にこの新しい理論に基づいて、植物のアミノ酸代謝の数理モデリングを行った。具体的には、アスパラギン酸族アミノ酸生合成のリジンとスレオニンによるフィードバック制御(図 3)に関する理論的検討を目的として、以下を行った。シロイヌナズナのカルス液体培養系にリジンおよびスレオニンを添加することで代謝撹乱を起こし(北大グループによる実験)、代謝産物量の変化の時系列データをワイドターゲットメタボロミクスにより取得した。現在、このデータを用いてパラメーター推定を行っている(投稿準備中)。

以上で述べた方法は、代謝反応ネットワークがあらかじめ分かっている場合に適用できるものである。しかし現実には、未同定の代謝反応や制御系が多く存在すると予想され、それらを発見することが代謝の理解には不可欠である。そこで、メタボロームの時系列データのみを利用して、生体内の代謝反応ネットワークを推定する方法論を検討した。すでに報告されている乳酸菌の解糖系の代謝産物時系列データを用い、その増減パターンから因果関係を推定するなど、いくつかの既報のアルゴリズムを組み合わせてネットワーク推定を行った。その結果、知られている代謝経路を導き出すことができた(Sriyudthsak et al., 2013)。これはメタボロームデータからのパスウェイマイニングにつながる方法であり、まったく新規の代謝反応を理論的に予測することを可能にするものである。

3. アミノ酸代謝関連遺伝子の機能同定

3-1.

公開されているシロイヌナズナ大規模トランスクリプトームデータ(AtGenExpress)を用いた遺伝子共発現解析により、メチオニン由来の二次代謝産物であるグルコシノレート生合成に関わる遺伝子群を推定した。

①大腸菌のロイシン生合成遺伝子 *LeuC*、*LeuD*、*IMD* のホモログは、シロイヌナズナにそれぞれ 3 遺伝子ずつある(*AtLeuC1*～*3*、*AtLeuD1*～*3*、*AtIMD1*～*3*)。しかしそれらの機能は未知であった。

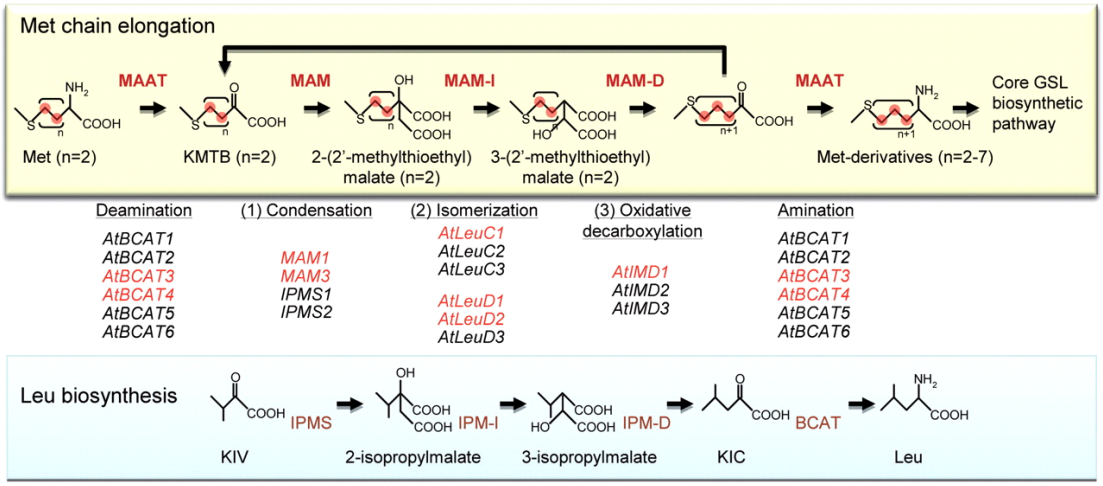


図 4　ロイシン生合成とメチオニン側鎖伸長の経路。図の中段に赤字で記載した遺伝子は、遺伝子共発現解析によりメチオニン側鎖伸長に関与すると予測されたもの。(Sawada et al. 2009. Plant Cell Physiol. 50:1181-90 より引用)

本研究では、既知のグルコシノレート生合成酵素遺伝子群との共発現関係に基づいて、これらホモログのうちの一部は、ロイシン生合成ではなく、これと同様の化学反応で進行するグルコシノレート生合成（メチオニン側鎖伸長）を触媒する酵素であると機能推定した（図4）。

②動物の胆汁酸トランスポーター遺伝子のホモログはシロイヌナズナに 6 つある（*BASS1*～*6*）。しかし植物中には胆汁酸は存在しないとされており、これらの遺伝子の機能は不明であった。本研究では、上記①と同様の共発現解析により、*BASS5* はグルコシノレート生合成中間体の葉緑体膜を介した輸送に関わるトランスポーターをコードしていると推定した。

①および②で見出したグルコシノレート生合成遺伝子候補の機能破壊株のトランスクリプトーム解析およびワイドターゲットメタボロミクス解析により、いずれも予測機能が正しいことを証明した（Sawada et al. 2009. Plant Cell Physiol. 50:1181-90, Sawada et al. 2009. Plant Cell Physiol. 50:1579-86）。

3-2.

アミノ酸とグルコシノレートの検出に特化した高速ターゲット分析法により、約 2,700 種のシロイヌナズナ遺伝子破壊株（トランスポゾンタグライン）と約 230 種のシロイヌナズナアクセッションの種子の代謝プロファイルを分析した。その結果、遺伝子破壊株群からは、17 種のタンパク性アミノ酸のうちのいずれかまたはいくつかの蓄積量が変化しているラインが 1 割程度の頻度で見つかった。このうち、*Calmodulin9* 遺伝子破壊株では分枝鎖アミノ酸の高蓄積が認められたことから、当該遺伝子は新規のアミノ酸代謝制御遺伝子である可能性がある。この遺伝子破壊株のトランスクリプトーム解析などを行い、*Calmodulin9* の機能解明を行っている。また、データの全体的傾向については、統計学的手法や NAIST グループが開発したソフトウェア DPClus（http://kanaya.naist.jp/DPClus/）、Arabidopsis Gene Classifier（http://kanaya.naist.jp/GeneClassifier/top.jsp?fn=arabidopsis）を用いてデータの分布や相関などを調べ、遺伝子機能とアミノ酸代謝への影響の関係を解析した。以上の成果は、NAIST グループと共同で論文発表に至った（Hirai et al., 2010）（図5）。

	Val	Ile	His	Lys	Leu	Arg	Tyr	Thr	Gly	Pro	Phe	Ser	Met	Asp	Ala	Glu	Trp	Average
Val	-	0.91	0.77	0.66	0.90	0.64	0.56	0.58	0.57	0.56	0.55	0.63	0.56	0.31	0.21	0.18	-0.08	0.53
Ile	0.91	-	0.76	0.65	0.89	0.61	0.58	0.64	0.57	0.57	0.60	0.59	0.56	0.28	0.17	0.16	-0.06	0.53
His	0.77	0.76	-	0.72	0.75	0.70	0.69	0.59	0.57	0.46	0.62	0.57	0.40	0.18	0.29	0.10	-0.02	0.51
Lys	0.66	0.65	0.72	-	0.62	0.79	0.68	0.64	0.52	0.48	0.56	0.48	0.35	0.09	0.34	-0.09	-0.22	0.45
Leu	0.90	0.89	0.75	0.62	-	0.53	0.56	0.55	0.55	0.48	0.54	0.53	0.48	0.17	0.27	0.10	-0.03	0.49
Arg	0.64	0.61	0.70	0.79	0.53	-	0.58	0.60	0.43	0.47	0.50	0.53	0.39	0.21	0.16	0.05	-0.30	0.43
Tyr	0.56	0.58	0.69	0.68	0.56	0.58	-	0.56	0.57	0.31	0.61	0.42	0.32	0.05	0.46	-0.11	0.03	0.43
Thr	0.58	0.64	0.59	0.64	0.55	0.60	0.56	-	0.66	0.70	0.65	0.46	0.30	0.25	0.29	0.02	-0.20	0.46
Gly	0.57	0.57	0.57	0.52	0.55	0.43	0.57	0.66	-	0.61	0.56	0.52	0.34	0.36	0.45	0.01	0.00	0.45
Pro	0.56	0.57	0.46	0.48	0.48	0.47	0.31	0.70	0.61	-	0.47	0.34	0.28	0.27	0.21	0.08	-0.15	0.38
Phe	0.55	0.60	0.62	0.56	0.54	0.50	0.61	0.65	0.56	0.47	-	0.45	0.38	0.24	0.19	0.26	-0.15	0.44
Ser	0.63	0.59	0.57	0.48	0.53	0.53	0.42	0.46	0.52	0.34	0.45	-	0.49	0.46	0.08	0.28	-0.02	0.42
Met	0.56	0.56	0.40	0.35	0.48	0.39	0.32	0.30	0.34	0.28	0.38	0.49	-	0.36	0.02	0.31	-0.06	0.34
Asp	0.31	0.28	0.18	0.09	0.17	0.21	0.05	0.25	0.36	0.27	0.24	0.46	0.36	-	-0.21	0.33	0.02	0.21
Ala	0.21	0.17	0.29	0.34	0.27	0.16	0.46	0.29	0.45	0.21	0.19	0.08	0.02	-0.21	-	-0.23	0.07	0.17
Glu	0.18	0.16	0.10	-0.09	0.10	0.05	-0.11	0.02	0.01	0.08	0.26	0.28	0.31	0.33	-0.23	-	0.05	0.09
Trp	-0.08	-0.06	-0.02	-0.22	-0.03	-0.30	0.03	-0.20	0.00	-0.15	-0.15	-0.02	-0.06	0.02	0.07	0.05	-	-0.07

図５　シロイヌナズナ遺伝子破壊株におけるアミノ酸蓄積量の相関関係。縦軸、横軸はそれぞれ１７種のアミノ酸を示す。赤、ピンクはそれぞれ相関係数の高い順に上位5%および10%に入る組合せを示しており、それらのアミノ酸ペアは共蓄積関係にあることがわかる。（Hirai et al. 2010 より引用）

3-3.

NAIST グループが開発してメタボロームの代謝産物同定に有効であることを示した代謝産物データベース KNApSAcK（http://kanaya.naist.jp/KNApSAcK/）を用い、AtGenExpress と同条件で栽培したシロイヌナズナの UPLC-Q-TOFMS によるメタボローム解析を行って、トランスクリプトームデータとの対応によりグルコシノレート代謝の特徴を明らかにした（Matsuda et al., 2009）。

4. *mto* 変異株を用いたメタボローム解析(北大グループと共同)

北大グループで整備したメチオニン過剰蓄積 *mto1, mto2, mto3* 変異体のバッククロスラインについて、GC-TOFMS を用いたメタボローム解析を行い、各変異の代謝に与える影響を解析した。いずれの変異体でもメチオニン過剰蓄積という代謝攪乱が起こっているが、それ以外の代謝に対する影響の範囲は異なっていることがわかった(図6)(Kusano et al., 2010)。

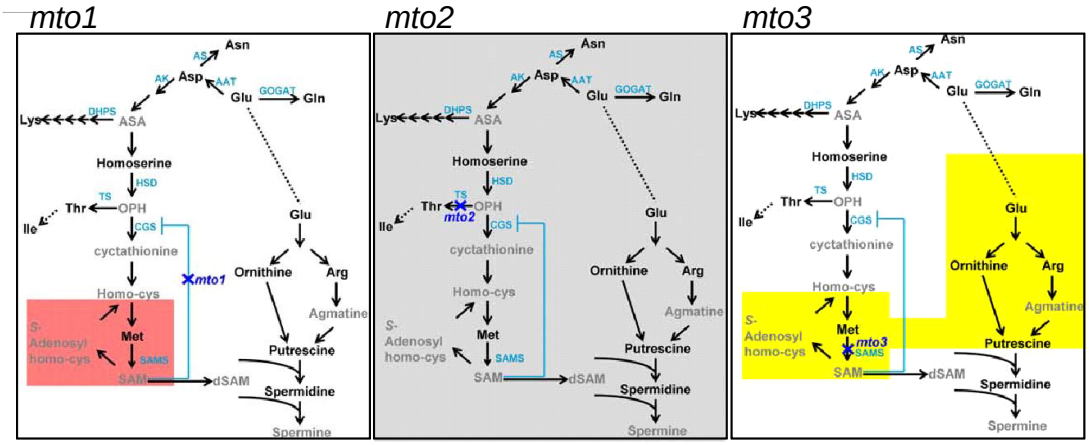


図6　*mto1, mto2, mto3* 変異体における代謝攪乱の起こっている範囲。(Kusano et al. 2010 より引用)

5. 植物バイオリソースの分析による有用遺伝子探索

一塩基多型(SNP)情報の公開されたシロイヌナズナのアクセッションや、DNA マーカーの確立された作物種の組換え自殖系統など、遺伝子資源探索に有用な大規模な植物バイオリソースが利用可能である。これらの種子や植物体の代謝産物プロファイルをワイドターゲットメタボローム分析で分析し、アミノ酸やアミノ酸由来の二次代謝産物の蓄積量に影響を与える遺伝子座の探索を行った。

(2)研究成果の今後期待される展開

本研究の終了報告には間に合わなかったものの、メタボロームデータの相対定量値を用いる数理モデリングの理論を用いて、植物アミノ酸代謝反応ネットワークのモデル化を行っており、年度内の論文投稿を目指している。モデル化が完了すれば、次はこのモデルを用いてシステム解析をすることが可能となり、アミノ酸代謝のボトルネックを推定したり、アミノ酸代謝システムの特徴を明らかにしたりすることが可能となる。こうした一連の方法論は、いろいろな代謝システムに適用することができる。近年は、植物の光合成能力を利用した、二酸化炭素を資源とする物質生産に強い期待が寄せられている。代謝工学において、理論的に代謝をデザインすることはきわめて重要であるが、高等植物のような複雑な代謝システムにおいてはそのような研究はほとんど行われていない。本研究は、植物による物質生産の代謝工学への応用につながるものである。

また本研究では、メタボロームデータを用いて、アミノ酸関連代謝産物の蓄積にかかわる遺伝子同定を行った。研究期間内に予測機能の実験的証明は完了しなかったが、そのための研究が進行中である。こうした成果は、それらの代謝産物の植物における生理的役割を解明する基礎研究として重要であるのみならず、人にとっての有用物質生産という実用研究にも資するものである。

4．2　代謝制御予測のためのバイオインフォマティクス研究(奈良先端大学　金谷グループ)

(1)研究実施内容及び成果

植物アミノ酸の輸送機構を含めた代謝を中心とするオミクス統合解析に基づいた、代謝制御予測におけるバイオインフォマティクス要素技術を開発することが本項目の目標である。このことを達成するために、in silico 解析による遺伝子機能予測、データベース構築、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を行った。

1. 遺伝子分類群の機能評価システム(Arabidopsis Gene Classifier)

本プロジェクト前半(平成 19-22 年)においては、トランスクリプトーム解析により有意に発現が上昇あるいは減少した遺伝子群の機能を統計的に把握することを目的とした遺伝子機能分類システム Arabidopsis Gene Classifier を構築した。本システムでは、*Arabidopsis thaliana* の各々の遺伝子について文献情報をもとに分子生物学における機能より3階層に分類した。現在までに、*A. thaliana* 遺伝子総数の約半分の 14531 個の遺伝子について機能分類を行った。本システムにより、同一の転写因子により制御されている遺伝子群を入力すると、対象とする遺伝子群に有意にみられる機能分類を統計評価とともに出力することができる。例として、図8においてはゲノム上で隣接し共発現する9つの遺伝子を入力すると、図9に示すように、統計的評価により入力された遺伝子の機能による分類により、入力されたグループの機能的特徴を統計的有意性とともに把握することが可能になった。本システムについては、すでに Takahashi et al. (2009)において公表し、無償で一般公開も行っている。

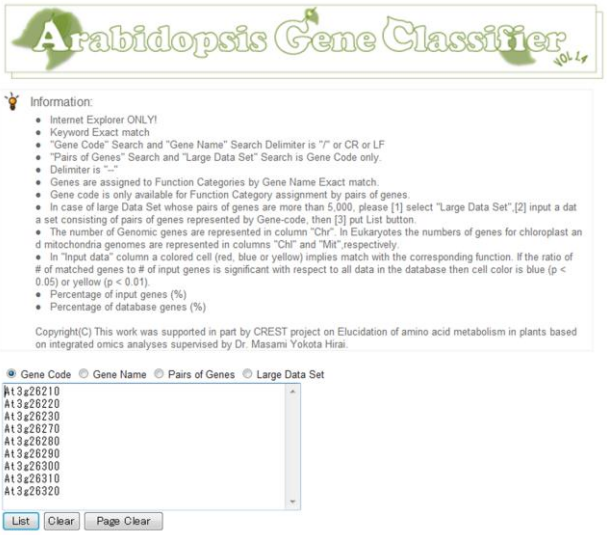


図８　Arabidopsis Gene Classifier のメインウインドウ
(http://kanaya.naist.jp/GeneClassifier/top.jsp?fn=arabidopsis)

Page Top

C1	C2	C3	Input data	Percentag of input genes (%)	Chr.	Percentag of database genes (%)	Chl.	Mit.	Total
CELL CYCLE AND DNA PROCESSING	-	-	0	0	2	0.01	0	0	2
CELL CYCLE AND DNA PROCESSING	DNA processing	-	0	0	1	0	0	0	1
CELL CYCLE AND DNA PROCESSING	DNA processing	DNA gyrase	0	0	1	0	0	0	1
CELL CYCLE AND DNA PROCESSING	DNA processing	DNA recombination and DNA repair	0	0	53	0.19	0	0	53
CELL CYCLE AND DNA PROCESSING	DNA processing	DNA restriction or modification	0	0	111	0.4	0	0	111
CELL CYCLE AND DNA PROCESSING	DNA processing	DNA synthesis and replication	0	0	121	0.44	0	0	121
Endoplasmic reticulum biogenesis	-	-	0	0	2	0.01	0	0	2
Endoplasmic reticulum biogenesis	reticulon-like protein	-	0	0	20	0.07	0	0	20
METABOLISM	(P450)	-	9	100	180	0.65	0	0	180
METABOLISM	(glucosyl enzyme)	-	0	0	45	0.16	0	0	45
TRANSPORT FACILITATION	vesicular transport (Golgi network, etc.)	clathrin adaptor complex	0	0	10	0.04	0	0	10
TRANSPORT FACILITATION	vesicular transport (Golgi network, etc.)	coatomer protein complex	0	0	8	0.03	0	0	8
TRANSPORT FACILITATION	vesicular transport (Golgi network, etc.)	epsin N-terminal homology (ENTH)	0	0	18	0.07	0	0	18
TRANSPOSABLE ELEMENTS, VIRAL AND PLASMID PROTEINS	-	-	0	0	408	1.48	0	0	408
TRANSPOSABLE ELEMENTS, VIRAL AND PLASMID PROTEINS	LTR retroelements (retroviral)	-	0	0	118	0.43	0	0	118
TRANSPOSABLE ELEMENTS, VIRAL AND PLASMID PROTEINS	non-LTR retroelements	-	0	0	73	0.27	0	0	73
UNCLASSIFIED PROTEINS	-	-	0	0	13045	47.4	30	77	13152

図９　遺伝子機能分類結果の表示例（例として、９つの共発現する隣接遺伝子を機能分類した。(5%信頼限界において有意に特徴づけられる遺伝子グループは黄色で色づけされている。)

植物において、非常にまれではあるが、同一の二次代謝経路における遺伝子群がゲノム上で並置され、かつ共発現することが報告されている。このような遺伝子群をオペロン様遺伝子クラスターという。世界中で測定された約 1400 種の GeneChip データを同一の方法で規格化した発現プロファイル解析から、*A. thaliana* におけるオペロン様遺伝子クラスターを推定した。その結果、偽陽性率を考慮した統計解析により、*A. thaliana* ゲノム上には、少なくとも100個のオペロン様遺伝子クラスターが存在することが明らかとなった(Wada et al., 2012)。その中で、31 個のオペロン様遺伝子クラスターについては、偽陽性率が理論上存在しない統計基準を満たす。そこで、Arabidopsis Gene Classifier を用いて、それぞれのオペロン様遺伝子クラスターの機能を推定したところ、12個のクラスターは二次代謝に関わることが明らかとなった。これらのクラスターは、特に、緊急性を要する二次代謝産物に関わるものが大半を占めており、ゲノム上において遺伝子を配置し、かつ共に発現することの意味についての手がかりをえることができた。このように、本プロジェクトにおいて Arabidopsis Gene Classifier を研究に役立てることができた。また、本システムは多くの *A. thaliana* における大規模解析において使用されるに至っている。

2. 代謝シミュレーション・システムの開発研究

理研グループでは、大規模の代謝産物測定技術を確立している。そこで、測定されたメタボロームデータにもとづいて細胞における細胞全体の代謝産物の動態を解釈するためのゲノムワイドなシミュレーション・システムを考案することが必要とされた。通常の連立微分方程式によるシミュレーションでは要素数が多すぎるために、確率過程および遺伝アルゴリズムによる最適化アルゴリズムを実装した代謝シミュレーション Genome-wide Pathway Modeling System の研究・開発を進めた。

近年、細胞内の代謝系全体をモデル化するといった試みが急速に進められて来ているとはいえ、植物のような複雑な構造を持つ細胞内の全反応を詳細に構築することは、個々の反応の速度定数や相互作用のパラメーターを具体的に測定することが難しいことなど、未だ多くの困難が残されている。本研究では、解析によって得られた代謝変化の情報をもとに、着目するべき代謝系のパスウェイを絞り込んでモデル化すること、および、得られた実験データをもとにモデルのパラメーターを進化的アルゴリズムを用いて最適化する方法を用いることで、着目したい物質の生産に関連した部分の代謝ダイナミクスを具体的にシミュレーションし、アミノ酸合成経路のフィードバック機構等の

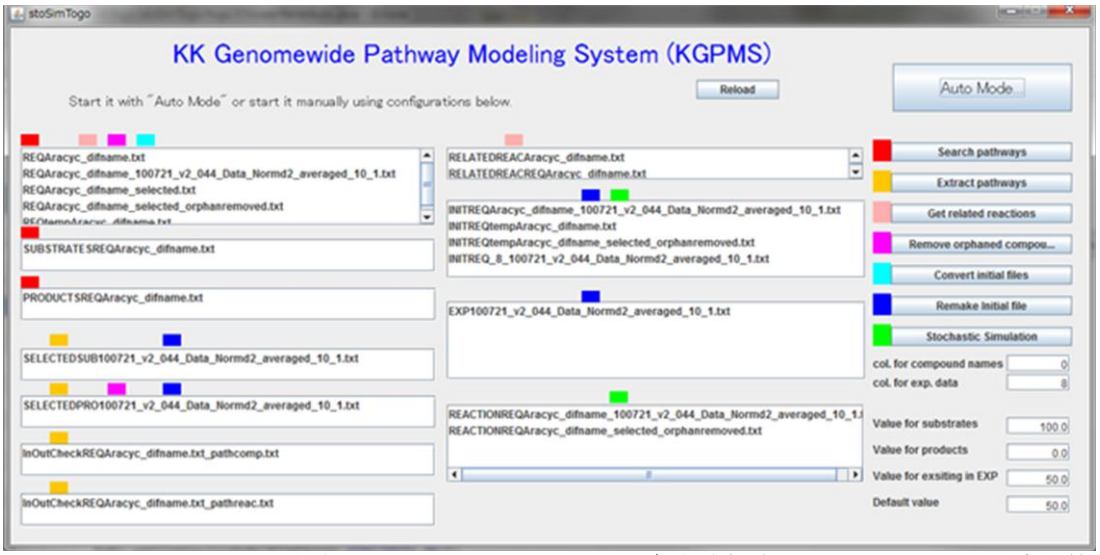


図 10 ストキャスティック代謝シュミレーション・システム(1.代謝経路におけるスタートと生成物質を設定する。2.自動的に代謝反応を選択する。3.シュミレーションを行う。これらの３つの過程を７つのプログラムにわけ、ファイルを受け渡すことにより、実行できるようにシステムを構築した。右側の赤、黄、肌色、ピンク、水色、青色、緑色の７つのボタンが７つの過程と対応する。)

特性を理解することを目的としている。また、メタボロミクスの測定データと代謝マップのデータベースをもとに、代謝パスウェイの抽出とパラメーター最適化までの一連のモデル構築を自動で行うプラットフォームを開発した（図10）。本システムでは、代謝における複数のスタート物質と生成物を設定すると、これらをつなぐ *A. thaliana* における代謝反応を全て自動的に抽出し、この代謝反応群において確率過程により代謝産物の動的変動を予測する方法である。さらに、情報科学における最適化手法のひとつである遺伝的アルゴリズムを搭載することにより、実験データに適合するように種々のパラメーターを自動的に推定することができる。本システムにより、多くの代謝反応を含むシステムであっても代謝の動的変動をシミュレーションを通して解釈することが可能となった。

本シミュレーション・システムを用いて、シロイヌナズナのカルス培養にアミノ酸を添加し（北大グループによる）、96 時間後までの細胞内代謝産物をワイドターゲット分析により測定し（理研グループによる）、その変化のダイナミクスを解析した。さらに、計算機モデルを用いて測定された実験データにおける代謝産物の濃度変化をシミュレーションし、そのダイナミクスを定量的に理解することを試みた。

シロイヌナズナにリジンおよびスレオニンを添加した実験のメタボロミクスデータを主成分分析によって解析したところ、アミノ酸合成を始めとする経路の代謝産物濃度が時間とともに大きく変動していることが確認され、この変動に関わる代謝産物の種類を絞り込むことができた。ここで代謝系の時間変化に関わった物質同士をつなぐように代謝ネットワークから必要な反応経路を検索するアルゴリズムを構築し、実験で観測された代謝物質のダイナミクスに関連する部分ネットワークを抽出した（図11）。次に、この抽出されたネットワークを用いて代謝反応のダイナミクスモデルの構築を試みた。

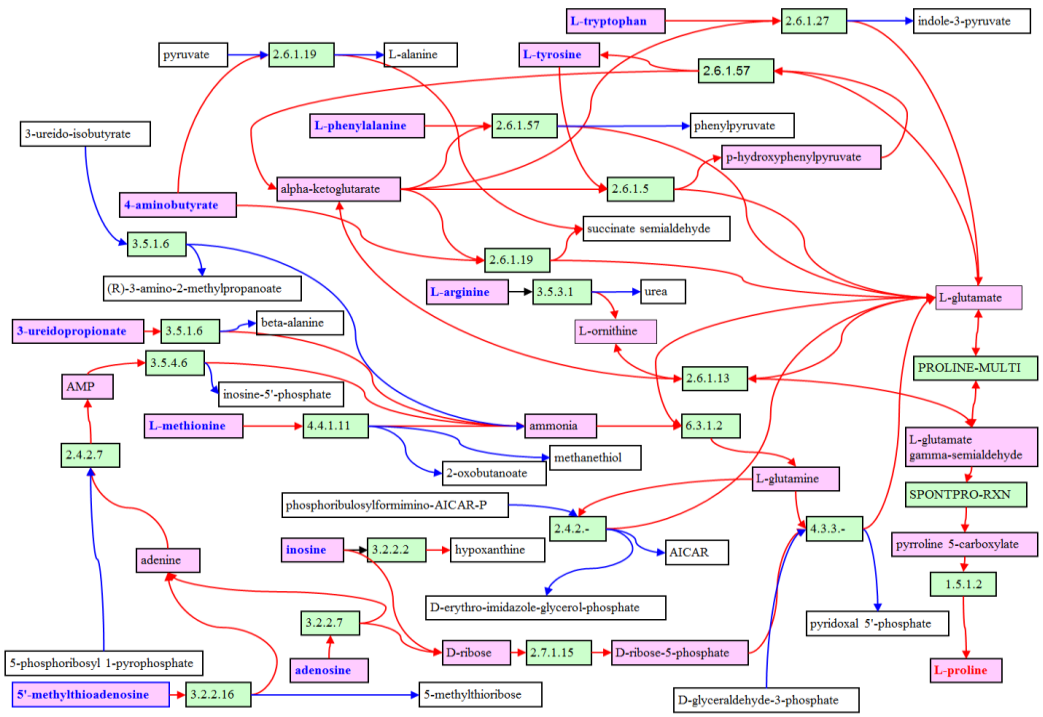


図１１ 測定系において最も増加した代謝物 L-Proline と 10 種の最も減少した代謝物をつなぐ代謝経路の抽出結果。

抽出された代謝パスウェイをもとに、反応の係数と代謝産物の濃度を計算的に求めることで、実験結果を再現することのできるシミュレーションの構成を試みた。化学反応のシミュレーションにはGillespie アルゴリズムを用い、確率論的なダイナミクスとして扱っている。Gillespie アルゴリズムでは代謝産物の濃度を疎視化した離散的な集合として扱い、個々の化学反応は化学反応を物質の濃度と反応係数に比例した確率で起こるランダムなイベントとしてモデル化している。

次に進化的アルゴリズムによって、このモデルを用い、実験データを説明するパラメーター、すなわち各物質の初期濃度の分布と、各反応の反応係数の値を最適化した。まずランダムに生成した初期パラメーターを用いたモデルを多数生成し、与えられた初期濃度からスタートしたシミュレーションの結果から初期濃度との相対的な変化を求め、実験データにおける代謝産物の濃度変化と比較して、誤差が最小となるものを選択する。さらに選択されたモデルから変異と交差によって新しいモデルを生成し、選択を繰り返すという進化的アルゴリズムを用いてパラメーターの最適化を行った。最適化後のパラメーターによるシミュレーションの結果と実験データの比較を行った。4つの代謝産物における比較結果を例として図12に示す。この図から、遺伝的アルゴリズムによる最適化法によるパラメーター選択を提供したストキャスティック・シミュレーションにより、非常に高い精度で実験データにみられる代謝産物の動的変動を再現することができた。そこで、現在、本解析結果の論文の構築を進めている。本シミュレーションシステムは、PC レベルで十分実行可能である。このようにして、理研における大規模分析により得られる時系列測定データを動的シミュレーションにより合理的に解釈するための方法論を確立するとともに、実際の動的挙動を解釈するに至っている。

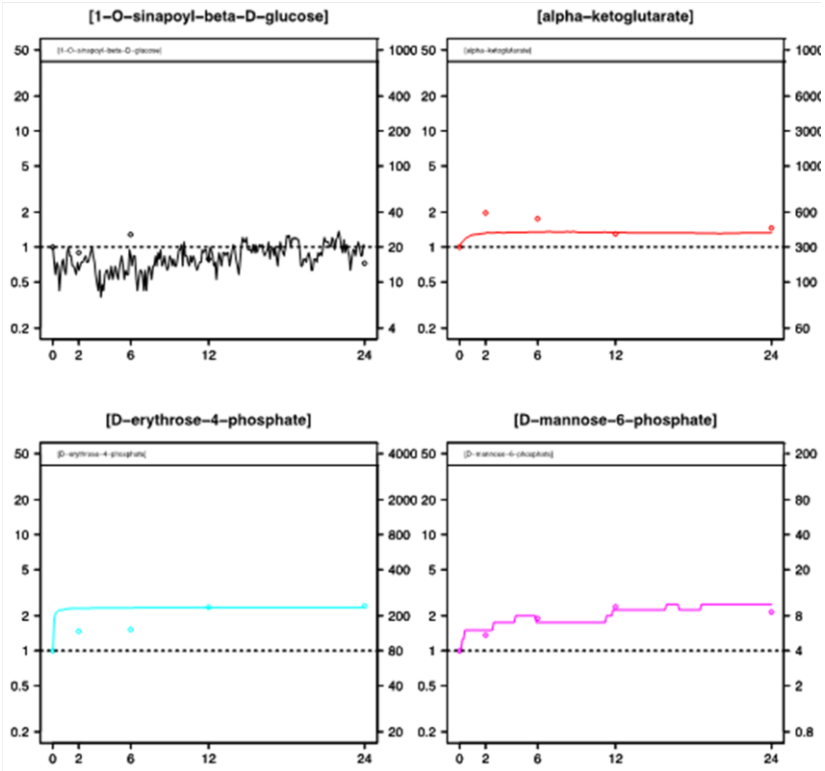


図 12 進化的アルゴリズムで最適化したシミュレーションの結果と実験データとの比較。横軸：時間(h)。縦軸：初期濃度を 1 とした相対濃度。実線：シミュレーション結果。丸：実験データ。

論文構築後すべてのシステムを無償で公開する予定であり、本プロジェクトで開発した大規模メタボローム・シミュレーション基盤技術は、絶対定量が不可能なデータについても適応可能であり、今後のメタボローム研究の革新的な進展ができたと考えている。

4．3 メチオニン濃度制御の遺伝メタボロミクス(北海道大学　尾之内グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

北大グループでは、植物のメチオニン濃度制御機構を統合的に理解するために二つの方向から研究を進めた。一つは、メチオニン生合成および代謝に関与する酵素遺伝子の発現制御機構の詳細な解析である。メチオニン生合成の鍵段階を触媒するシスタチオニンγ-シンターゼと、*S*-アデノシルメチオニン(AdoMet)の代謝に関わる AdoMet デカルボキシラーゼの発現は、いずれも翻訳段階で負のフィードバック制御を受け、しかも新生ペプチドが自身を翻訳したリボソームを制御するというユニークな機構により制御される。新生ペプチドによるリボソーム制御は、真核生物全体でもこれまできわめて少数の遺伝子でしか報告されておらず、植物のメチオニン濃度制御の鍵となる段階で働く２つの酵素遺伝子が、そのようなきわめて例外的な発現制御機構により共通して制御されることは、植物のメチオニン濃度制御機構の大きな特徴であると考えられる。したがって、この２つの遺伝子の発現制御機構を明らかにすることは、植物のメチオニン濃度制御機構を解明するうえで非常に重要であると考えられる。

もう一つの方向の研究として、メチオニン濃度の変動に起因した代謝撹乱の詳細を明らかにするために、グローバルな代謝変動解析を行った。そのために、メチオニンを過剰に蓄積する *mto 1*, *mto2*, *mto3* 変異株（図 13）における代謝変動および遺伝子発現変動をメタボローム解析、トランスクリプトーム解析により網羅的に解析した。*mto* 変異株を用いた解析では定常的にメチオニン濃度が増加した状態での代謝変動を解析したが、一方、BST による代謝システム解析を行うための実験系として、一時的にメチオニン濃度の変動を誘導する実験系の確立を行った。これらの研究はいずれも理研グループと共同で行った。

本研究では、上記のような遺伝子発現制御機構の個別解析およびグローバルな代謝解析を軸として、以下の４つの項目について研究を進めた。(1)メチオニン生合成に関与する酵素遺伝子の発現制御機構の解析、(2)メチオニン代謝に関与する酵素遺伝子の発現制御機構の解析、(3) *mto* 変異株を用いたメタボローム解析およびトランスクリプトーム解析、(4) メチオニン濃度の変動を誘導する実験系の確立である。これらの項目の詳細について以下に記す。

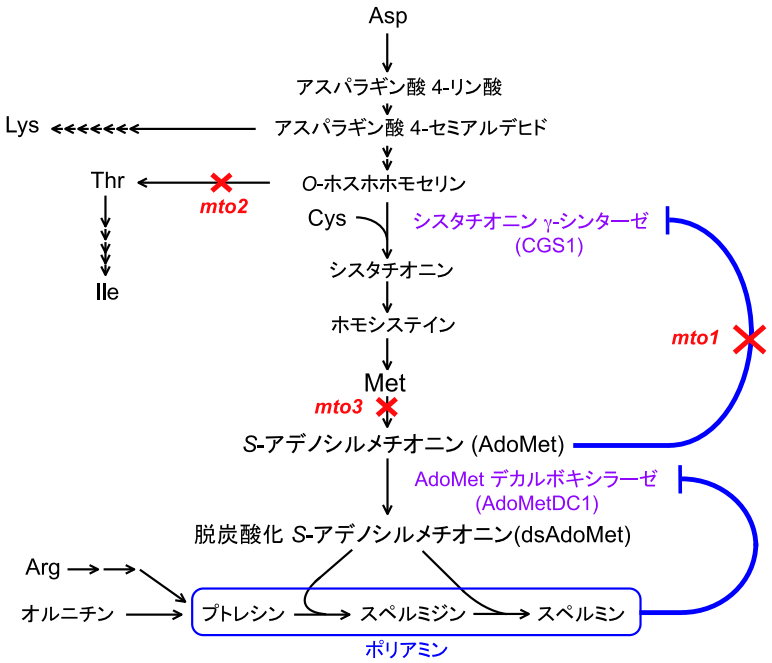


図１３．シロイヌナズナにおけるメチオニンとポリアミンの生合成経路。青色の線は負のフィードバック制御を示す。図中には、本研究で制御機構を解析したフィードバック制御のみを示す。赤色の×印は、各 *mto* 変異株において欠損を生じている反応経路あるいはフィードバック制御を示す。

1. メチオニン生合成に関与する酵素遺伝子の発現制御機構の解析

シスタチオニンγ-シンターゼをコードする *CGS1* 遺伝子の発現は、メチオニンの代謝産物である AdoMet に応答して、mRNA 分解の段階で負に制御される（図 13）。その制御機構として、*CGS1* mRNA が翻訳される際に、AdoMet に応答して新生ポリペプチド鎖の特定の領域（MTO1 領域）が自身を翻訳したリボソームに作用して翻訳伸長を停止させ、この翻訳伸長アレストが引き金となって mRNA の分解が誘導されることが明らかにされている（図 14）。

本研究では、*CGS1* 遺伝子のユニークな発現制御機構をさらに解明するために、AdoMet に応答してどのようなメカニズムで MTO1 領域が翻訳アレストを引き起こすのかについて解析を行った。まず、小麦胚芽抽出液より調整した試験管内翻訳系を用いて、翻訳アレストが起こる際に MTO1 領域がリボソームの出口トンネル（新生ポリペプチド鎖がリボソームから出る際に通る通路）内に存在するかどうかを調べた。そのために、ポリペプチド鎖中のシステイン残基を修飾するポリエチレングリコールマレイミド（PEG-MAL）という化合物を用いた。PEG-MAL はシステイン残基と反応して PEG 化するが、新生ポリペプチド鎖中のシステイン残基がリボソームの出口トンネル内に存在する場合には、PEG-MAL がシステイン残基に接近しにくくなるために PEG 化反応の効率が著しく低下する。試験管内翻訳系において *CGS1* mRNA を翻訳させる際に AdoMet によって翻訳アレストを起こした場合には、翻訳アレストを誘導しない場合と比較して MTO1 領域内のシステイン残基の PEG 化の効率が顕著に低下した。このことから、翻訳アレストを起こしたリボソームでは MTO1 領域は出口トンネル内に存在することが示唆された。このことから、MTO1 領域は自身を翻訳したリボソームの出口トンネルに作用して翻訳アレストを引き起こすと考えられる。また、MTO1 領域近傍の様々な部位にシステイン残基を導入し、AdoMet によって翻訳アレストを誘導した際の PEG-MAL による PEG 化の効率の変化を調べたところ、MTO1 領域直後まで翻訳したリボソームの出口トンネル内に存在する新生ポリペプチドの領域が、AdoMet 存在下では非存在下と比べて増大することを見いだした。この結果から、*CGS1* mRNA において翻訳アレストが起こる際に、新生ポリペプチド鎖の MTO1 領域が AdoMet に応答して出口トンネル内で収縮した構造をとることが示唆された（Onoue et al., 2011）。

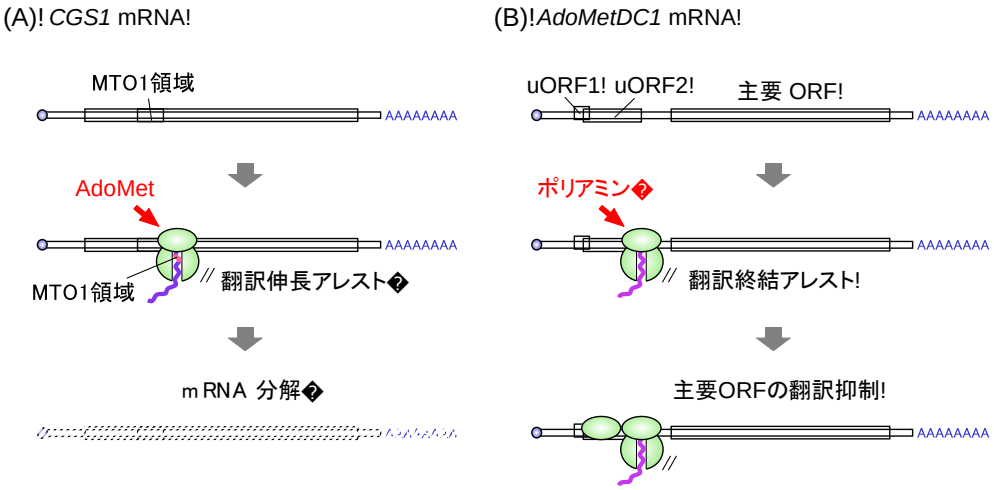


図１４．新生ペプチドが介する *CGS1* と *AdoMetDC1* の転写後制御機構.
(A) *CGS1* の mRNA 分解制御機構。新生ポリペプチド鎖の MTO1 領域の働きによって AdoMet に応答して翻訳伸長が途中で停止し、その翻訳伸長アレストと共役して mRNA 分解が起こる。 (B) *AdoMetDC1* の翻訳制御機構。uORF2 にコードされる新生ペプチドの働きによってポリアミンに応答して uORF2 の終止コドンでリボソームが停滞し、停滞したリボソームによって他のリボソームの主要 ORF への到達が妨げられるために翻訳が抑制される。

リボソームの出口トンネルの内壁の大部分は rRNA によって構成されているが、一部はリボソームタンパク質によって構成されている（図 15）。以前の我々の研究により、そのようなリボソームタンパク質の一つである L17 の出口トンネル構成部位に変異を持つ変異株で

は、AdoMet に応答した *CGS1* mRNA 分解の効率が低下することが示された。この *rp117* 変異株から試験管内翻訳系を調製し(Murota et al., 2011)、AdoMet に応答した翻訳アレストに対する *rp117* 変異の影響を解析したところ、*rp117* 変異によって *CGS1* mRNA における翻訳アレストの効率が低下することが示唆された。この結果と上述の PEG-MAL を用いた解析結果から、次のようなモデルを考えている。*CGS1* mRNA が翻訳される際に細胞内に AdoMet が高い濃度で存在すると、新生ポリペプチド鎖の MTO1 領域がリボソームの出口トンネル内で AdoMet に応答して構造変化を起こし、出口トンネル内壁と相互作用することによってリボソームを停止させる（図 15)。

CGS1 遺伝子の発現制御に関与する因子をさらに同定するために、*CGS1* 遺伝子の発現制御に欠損を持つ変異株を単離した。この変異について、遺伝学的マッピングを行ったところ、第４染色体下腕に位置づけられた。さらに、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ところ、遺伝学的マッピングにより決定された領域内に複数の変異が見いだされた。現在、相補性試験により、それらのうちのどの変異が *CGS1* 遺伝子の発現制御に影響を与えるかを調べている。

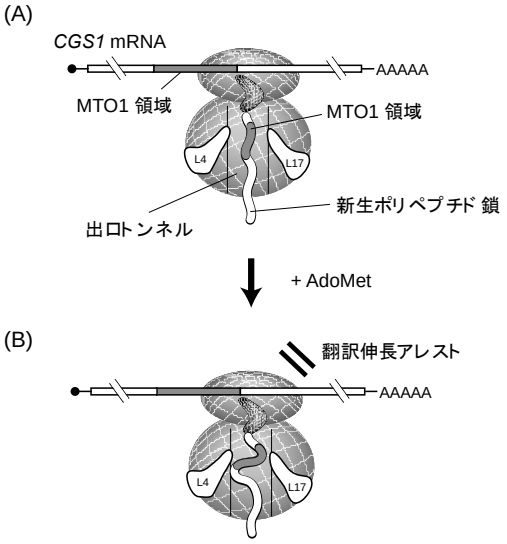


図１５．*CGS1* mRNA における翻訳アレスト機構のモデル図．(A) MTO1 領域を翻訳した直後の翻訳アレストが誘導されていない状態のリボソームの模式図。L4, L17 はリボソームの出口トンネル内壁の一部を構成するリボソームタンパク質。(B) AdoMet によって翻訳アレストが誘導された状態のリボソームの模式図。AdoMet に応答して新生ポリペプチド鎖の MTO1 領域が収縮した構造を取り、出口トンネル内壁と相互作用することによって翻訳アレストを引き起こすと考えられる。

2. メチオニン代謝に関与する酵素遺伝子の発現制御機構の解析

シロイヌナズナの *AdoMetDC1* 遺伝子は、AdoMet を脱炭酸化する AdoMet デカルボキシラーゼをコードする（図 13)。AdoMet の脱炭酸化反応はポリアミン生合成の鍵段階であり、*AdoMetDC1* の発現はポリアミンに応答した負のフィードバック制御を受けることが知られている。また、*AdoMetDC1* の 5′非翻訳領域には２つの上流 ORF(uORF)が部分的に重なり合って存在し、そのうちの下流側の uORF2 にコードされる新生ペプチドが *AdoMetDC1* の翻訳抑制に関与することが報告されている（図 14)。しかし、いずれの uORF がポリアミンに応答した *AdoMetDC1* の発現制御に関与するかは不明であった。本研究は、uORF2 のみでポリアミンに応答した *AdoMetDC1* の発現制御を行うことができることを明らかにした。また、試験管内翻訳系を用いた解析により、ポリアミン濃度が高い条件で uORF2 を翻訳させると、uORF2 にコードされる最後のアミノ酸残基を含むペプチジル-tRNA が蓄積することを示した。このペプチジル-tRNA の蓄積は uORF2 のペプチド配列に依存して起こることから、uORF2 にコードされるペプチドがポリアミンに応答してペプチドと tRNA の解離を阻害する、すなわち翻訳終結段階において翻訳アレストを起こすことが示唆された。以上の結果から、細胞内にポリアミンが高い濃度で存在するときに *AdoMetDC1* の uORF2 が翻訳されると、uORF2 にコードされる新生ペプチドの働きによって uORF2 の終止コドンでリボソームが停滞し、停滞したリボソームによって他のリボソームの主要 ORF への到達が妨げられるために

AdoMetDC1 の翻訳が抑制されると考えられる(Uchiyama-Kadokura et al. will be submitted soon)。

新生ペプチドによる翻訳アレストが関与する遺伝子発現制御がメチオニン生合成と代謝に関わる遺伝子において見つかったため、他の関連する代謝経路で働く酵素遺伝子のなかにも同様の機構により発現が制御される遺伝子が存在する可能性が考えられた。そのような遺伝子を同定する一つの方法として、発現制御に関与する新生ペプチドをコードするuORF は進化的に保存されたアミノ酸配列を持つ場合が多いと考えられるため、双子葉植物間で保存されたアミノ酸配列を持つuORF の網羅的な探索をおこなった。その結果、双子葉植物間で保存されたアミノ酸配列を持つ uORF が新たに 18 個同定されたが、その中に代謝に関与すると考えられる遺伝子の uORF は見いだされなかった(Takahashi et al., 2012)。

3. *mto* 変異株を用いたメタボローム解析およびトランスクリプトーム解析

mto1, mto2, mto3 変異体を用いて理研グループと共同でメタボローム解析およびトランスクリプトーム解析を行った。メタボローム解析の結果は、理研グループの欄に記述した。

また、*rpl17* 変異株についても、理研グループと共同でメタボローム解析およびトランスクリプトーム解析を行った。*rpl17* 変異株では、*CGS1* 遺伝子以外にも新生ペプチドにより制御される遺伝子の発現が影響を受けている可能性があり、変動が見られた代謝産物の生合成や代謝に関与する遺伝子が新生ペプチドにより制御されている可能性が考えられる。

また、*mto* 変異株における植物の成長に伴うアミノ酸の代謝変動について調べるために、様々な成長段階における *mto1, 2, 3* 変異株の含有アミノ酸量を高速液体クロマトグラフィーを用いて分析した。その結果、アスパラギン酸族以外のいくつかのアミノ酸についても野生型株と比べて含有量の変動がみられたが、そのような含有アミノ酸量の変動は成長に伴って減少する傾向がみられた。*mto* 変異体と野生型株の間のメチオニン量の差も成長に伴って減少するため、メチオニン量と他のアミノ酸量の変動に相関性があることが示唆された。

4. メチオニン濃度の変動を誘導する実験系の確立

植物にリジンとスレオニンを与えると、メチオニンとの共通の前駆体であるアスパラギン酸 4-セミアルデヒドの生合成がフィードバック阻害されるため、細胞内のメチオニン濃度が低下することが知られている。シロイヌナズナカルスにリジンとスレオニンを様々な濃度で添加し、メチオニン濃度を低下させるために適した条件の検討を行った。決定した条件によってシロイヌナズナカルスを処理し、代謝システム解析を行うための代謝産物分析（理研グループ）に用いる植物材料の調製とサンプリングを行った。

また、*CGS1* 遺伝子の発現を一時的に抑制あるいは誘導する系を確立するために、ステロイド系化合物であるデキサメタゾンにより *CGS1* 遺伝子のジーンサイレンシングおよび過剰発現を誘導可能なトランスジェニックシロイヌナズナをそれぞれ作出した。過剰発現誘導株では、翻訳段階で負のフィードバック制御を受けることを避けるために、*mto1* 変異型の *CGS1* 遺伝子の cDNA を用いた。*mto1* 変異株における *CGS1* mRNA の蓄積量が野生型株の 2〜4 倍であったのに対し、本研究で作出した過剰発現誘導株ではデキサメタゾン添加24時間後に 10〜20 倍の発現誘導が観察された。

(2) 研究成果の今後期待される展開

本研究では、メチオニン生合成と代謝に関与する２つの酵素遺伝子の発現制御機構に共通して、新生ペプチドによる翻訳アレストが関与することを見いだした。双子葉植物間で保存されたアミノ酸配列を持つuORF は、代謝関連遺伝子には見いだされなかったが、他の遺伝子には数多く見いだされた。このことから、本研究で明らかにした発現制御機構と類似の機構により制御される遺伝子が、他にも多く存在する可能性が考えられる。

また、*mto* 変異株を用いたメタボローム解析では、他のアミノ酸等の代謝経路への影響がみられ、メチオニン濃度の変動による代謝撹乱が観察された。今後、一時的にメチオニン濃度の変動を誘導する系を用いることにより、代謝撹乱の経時変化の解析が可能になると

期待される。特に、*CGS1* の過剰発現誘導株では *mto* 変異株よりも *CGS1* mRNA が著しく増加していたことから、より大きくメチオニン濃度を変動させることが可能であると考えられ、より大きな代謝撹乱の影響を解析できるようになると期待される。また、この植物の作出に用いた *CGS1* の過剰発現誘導法は、農業的に価値のある植物に応用することによって、農作物のメチオニン含量を増加させるうえでも有効であると考えられる。

4.4 植物のアミノ酸代謝に関与するトランスポーターの研究(東京大学　藤原グループ)

(1)研究実施内容及び成果

東大グループではアミノ酸の代謝に重要な役割を担うトランスポーターの研究を進めた。植物のアミノ酸代謝の全体像を明らかにするには、メタボロミクス研究を通じたアミノ酸変動の研究、代謝に関わる酵素の研究だけでは不十分である。多細胞生物である植物においては輸送が重要な役割を担っている。植物細胞内オルガネラ間のアミノ酸や代謝基質の輸送、組織や細胞間での代謝の分担などが行われており、植物の代謝研究には輸送の観点は不可欠である。対象とすべき基質としても、アミノ酸だけに限定されず、基質や代謝の補酵素など様々な基質がアミノ酸代謝に関わっている。植物には 1000 を超えるトランスポーター遺伝子が存在しており、そのうちのかなりの数がアミノ酸代謝に直接間接に関与しているものと考えられる。

本研究では、このうち、先行研究でわれわれのグループが同定していたモリブデントランスポーターに焦点をあてた研究を進めた。モリブデンは植物の必須元素であり、植物におけるアミノ酸合成に必須な硝酸還元酵素の活性に不可欠な金属である。また、マメ科植物の根粒における窒素固定を担うニトロゲナーゼの活性にも不可欠な金属であり、植物の無機窒素からのアミノ酸合成に極めて重要な役割を果たしている。モリブデンの輸送を担うトランスポーターは微生物では知られていたが、真核生物においてはその実態は不明であった。私たちの研究グループでは、シロイヌナズナを用いた研究によって真核生物で初めてのモリブデントランスポーターを同定していた。

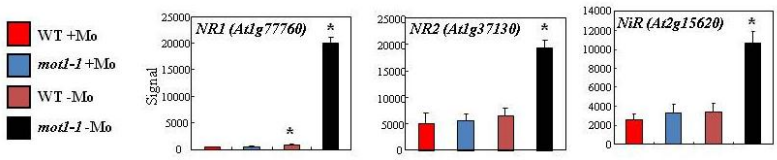
本研究においては、主に 4 つの項目について研究を進めた。(1)メタボロミクス解析を通じたモリブデントランスポーターMOT1 の窒素代謝における役割の解析、(2)シロイヌナズナにおけるモリブデン輸送におけるほかのトランスポーターの役割の解析(3)ミヤコグサのモリブデントランスポーターの解析(4)シロイヌナズナのモリブデンに対する応答に異常を示す変異株の単離と解析である。これらのそれぞれの項目の詳細については、以下に順次記すが、全体としては、植物におけるモリブデン輸送の全体像を明らかにしそれらのアミノ酸代謝における役割を示すことができたと考えている。その一方で、当初は輸送を含めた植物のアミノ酸代謝の網羅的解析とモデル化、検証に貢献することを最終目標としていた。本プロジェクトでは当初の予算減額の影響を少なくするために東京大学グループは最初の 2 年間はほとんど研究費を受けず、実質的には本 CREST 研究 3 年目より本格的に研究に参画したこともあり、本最終報告書をまとめている時点(2012 年 9 月)では、研究代表者の平井グループが進めている代謝のモデル解析に貢献するには至っていないが、今後の研究で少しでも貢献できるようにしたいと考えている。

1. メタボロミクス解析を通じたモリブデントランスポーターMOT1 の窒素代謝における役割の解析

既に同定していたシロイヌナズナのモリブデントランスポーターMOT1 のアミノ酸代謝に及ぼす影響を明らかにするために、この遺伝子に外来 DNA が挿入され機能が失われているシロイヌナズナの *mot1-1* 変異株を用いて、アミノ酸をはじめとする代謝産物や転写産物に及ぼす影響を網羅的に解析した。*mot1-1* 変異株と野生型株を通常条件とモリブデン欠乏条件で栽培し、植物の根や葉をサンプリングし、メタボローム解析、トランスクリプトーム解析を行った。

この結果、モリブデン欠乏だけでは、野生型植物のアミノ酸代謝はそれほど大きく変動せず、転写産物の網羅解析においても変動は顕著では無かった。またモリブデントランスポーター欠損株と野生型株についてのデータを通常条件で比較すると、それほど顕著な違いは見られなかった。しかし、モリブデントランスポーターの欠損変異株をモリブデン欠乏にさらした場合には、顕著な違いが見られた。アミノ酸については、窒素欠乏状態に似た変動パターンが見られ、転写産物の解析においても全体としては窒素欠乏における反応と似た反応が見られた。一方で、硝酸還元酵素は

モリブデンをその活性発現に必須とする酵素であるが、モリブデン欠乏にさらした植物においては、硝酸還元酵素遺伝子の転写産物の蓄積量が30倍程度高まっていた。硝酸還元酵素遺伝子の発現は硝酸によって誘導されることが知られているが、モリブデン欠乏にさらしたモリブデン輸送欠損変異株の硝酸濃度は対照の 1.3 倍程度にしか増加しておらず、また、この増加はもともと硝酸を十分に含む培地で栽培された植物の硝酸濃度に対して1.3倍程度に増加したということであって、通常の硝酸還元酵素の発現誘導で見られる硝酸が無い条件からある条件に移した場合の誘導とは性質が異なっている、すなわちモリブデンによる誘導であると考えられる。また、モリブデンは硫酸トランスポーターの発現を含めた広範な範囲に影響を及ぼしていることが示された(Ide et al 2010)。



(mmol·kgFW^{-1})		Sulfate	Nitrate	Phosphate
+Mo	WT	21.4 ± 0.7	77.2 ± 1.5	10.0 ± 0.2
	mot1-1	19.5 ± 0.5	78.8 ± 1.8	9.9 ± 0.2
−Mo	WT	19.8 ± 0.6	78.1 ± 1.9	**11.0 ± 0.3**
	mot1-1	**15.2 ± 0.4***	**108 ± 3***	**11.2 ± 0.3**

図　モリブデン輸送体MOT1の変異株を用いたモリブデン欠乏による窒素代謝関連酵素の発現制御と植物体の無機アニオン含量
野生型植物(WT)と変異株(*mot1-1*)を通常条件とモリブデン欠乏条件で栽培しマイクロアレイ解析と植物体内の硫酸、硝酸、リン酸濃度を測定した。モリブデンを含む酵素である硝酸還元酵素NR1は変異株のモリブデン欠乏で顕著に発現が誘導されていた。NR2やNiRも発現誘導が認められた。植物体内のアニオンの中では、硫酸が減少し硝酸が3割程度上昇していた。

2. シロイヌナズナにおけるモリブデン輸送におけるほかの他のトランスポーターの役割の解析

シロイヌナズナには MOT1 の相同遺伝子が存在している。最も MOT1 に似たトランスポーターは MOT2 と名づけたものであるが、この遺伝子は酵母で発現させても MOT1 に比べて極めて弱い活性しか示さない。しかし発現しており、何らかの役割を担っているものと思われた。

MOT2 がシロイヌナズナにおいてモリブデン輸送を担っているのか、担っているなら、おけるモリブデン輸送のどの段階を担っているのかについて、変異株を用いた解析を行った。

MOT2 遺伝子に外来遺伝子が挿入された変異株と野生型植物を培地のモリブデン濃度を変化させて生育の違いを見たが、モリブデンが低い濃度でも変異株で大きな生育抑制は見られなかった。さらに水耕栽培した植物のモリブデン濃度を地上部と根に分けて測定したところ、野生型株に比べて根でのモリブデン濃度が上昇し、地上部でのモリブデン濃度が減少する傾向が見られた。MOT2 は地上部へのモリブデン輸送に重要な役割を担うことが明らかになった。(Fujita et al will be submitted soon)

また、MOT1, MOT2 以外の植物のトランスポーターがモリブデン輸送に関与している可能性を検討する目的で硫酸トランスポーターに着目した解析を行った。MOT1 や MOT2 は硫酸トランスポーターとある程度の相同性があり、また、モリブデンはモリブデン酸 MoO_4^{2-}、硫黄は硫酸 SO_4^{2-}として吸収されることから、化学的にも似ており、硫酸トランスポーターがモリブデンを輸送する可能性が考えられた。シロイヌナズナには硫酸トランスポーターが 12 個知られているが、それら

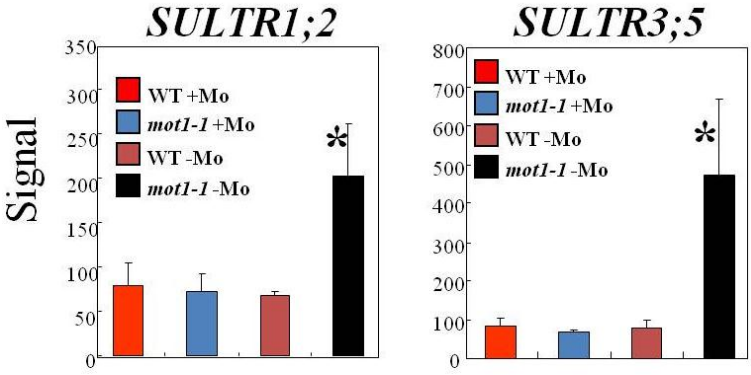


図　モリブデン欠乏と硫酸トランスポーターの発現
野生型植物(WT)と変異株(*mot1-1*)を通常条件とモリブデン欠乏条件で栽培し硫酸トランスポーターの発現を調べたところ、Sultr1;2およびsultr3;5で発現誘導が観察された。このうち、Sultr1;2はモリブデン輸送に寄与していることがその後の研究で明らかになった。

の遺伝子に外来DNAが挿入されて破壊された変異株について、植物体のモリブデン濃度に対する影響を調べたところ、硫酸トランスポーターの一つ Sultr1;2 が欠損した変異株では植物体のモリブデン濃度が低下していることが明らかになった。さらに調べてみると、Sultr1;2 が欠損した変異株ではモリブデンの土壌からの吸収に重要な役割を持つMOT1遺伝子の発現が高まっていることが明らかになった。これらのことは、Sultr1;2 がモリブデンの輸送も担っており、それが欠損することで植物はモリブデン欠乏と感じて MOT1 の発現を高める可能性が考えられた。前項目の実験からモリブデン欠乏で Sultr1;2 の発現が高まることもわかっており、MOT1 と Sultr1;2 は互いに補いながらモリブデン輸送を制御している可能性が考えられた(Fujita et al in preparation)

3.ミヤコグサのモリブデントランスポーターの解析

植物のモリブデンとアミノ酸の関係を考える上では根粒における窒素固定が重要である。マメ科植物においては根粒菌が空中の窒素を固定して、植物に供給する。このプロセスの中核を担う酵素がニトロゲナーゼであり、ニトロゲナーゼの活性発現にはモリブデンが必須である。根粒菌はマメ科の根に感染した後、特定の細胞内で増殖しバクテロイドと呼ばれる形態を取るようになり、空中の窒素固定が行われることになる。植物細胞内で窒素固定を行うためには、ニトロゲナーゼが必要とするモリブデンを植物を介して獲得することになる。根粒の中のバクテロイドは根粒の中心部に位置しており、バクテロイドが土壌から直接モリブデンを獲得することは考えにくい。

ミヤコグサには 4 つのモリブデントランスポーターに相同性を持つ遺伝子が存在する。これらの 4 つの遺伝子を対象にRNAi を発現するコンストラクトを導入した根を取得し、それらに根粒菌を感染させたが、根粒菌の感染は野生型と同様に起こった。また、北大グループが同定したモリブデン濃度が極めて低いミヤコグサ変異株について、4 つのモリブデントランスポーター遺伝子の配列を決定したところ、4 つのうちの一つに変異が見つかった。さらに、この変異の見つかった遺伝子を形質転換によって変異株に導入したところ、植物体のモリブデン濃度が高まったので、この変異が、モリブデン濃度の低下の原因であると結論した。さらに、この変異株を用いて根粒菌の感染実験を通常の培養土を用いて行ったところ、根粒は正常に着生し、窒素固定活性も野生型植物と同様であった。これらの結果は、植物は窒素固定に使われるモリブデンと地上部

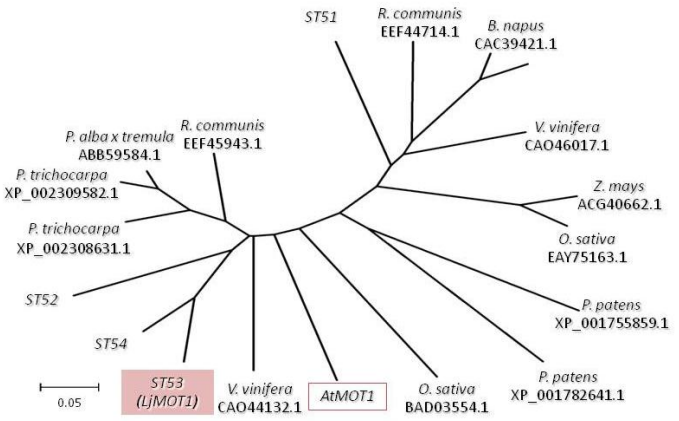


図　モリブデン輸送体MOT1の主な植物に存在する相同遺伝子の分子系統樹
シロイヌナズナのMOT1(AtMOT1)と相同性のある主な遺伝子を比較した。
ミヤコグサにはST51, ST52, ST53, ST54の4つの相同遺伝子があり、このうち、ST53の欠損株ではモリブデン濃度が野生型植物の10%程度に低下していることが明らかになった。

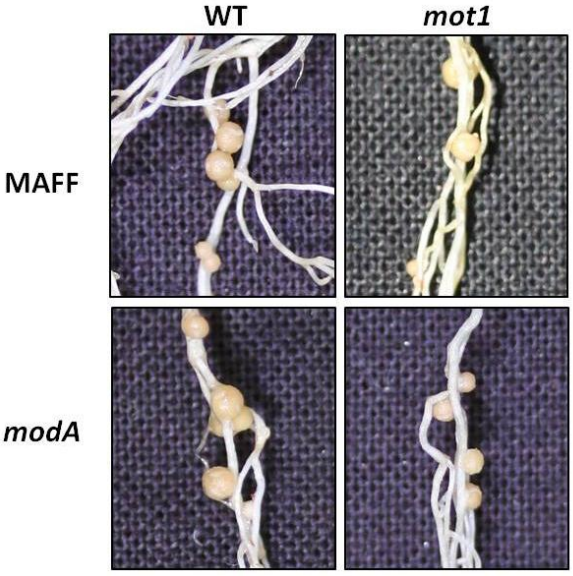


図　モリブデン輸送体MOT1のミヤコグサの変異株を用いた根粒着生実験
野生型株と変異株を栽培し通常の根粒菌(MAFF)を感染させたものと、根粒菌のモリブデン輸送体、ModAを欠損する変異株を感染させたもの。Mot1変異株にmodA変異株を感染させた場合でも根粒着生は観察され、今回の実験条件ではMOT1やModAが無くても根粒着生が起こることが明らかになった。

に輸送するモリブデンを異なるトランスポーターを用いて運んでいることを示唆していると思われる。(Duan et al submitted)

4. シロイヌナズナのモリブデンに対する応答に異常を示す変異株の単離と解析

アミノ酸代謝に必須なモリブデンを獲得するために植物はモリブデンに対する極めて親和性の高い輸送体 MOT1 を持っているが、土壌のモリブデン濃度が変化すると、それに応じて必要なモリブデンを吸収したり利用したりするようにする必要がある。そのために植物はモリブデン栄養を感知しそれに対して応答していると考えられるが、その分子レベルでの理解はされていない。

シロイヌナズナのモリブデン応答の分子機構を明らかにするために、シロイヌナズナのモリブデンに対する応答が異常となった変異株を取得することを試みた。変異原処理したシロイヌナズナ種子をモリブデン欠乏培地で発芽させ、根の生育が異常を示す株を選抜し、選抜した株を通常のモリブデンを含む培地に移して生育異常が回復する株を検索した。およそ 3 万個体の変異原処理した植物を検索し、一次スクリーニングでおよそ 300 株、二次スクリーニングでおよそ 20 株を選抜し、さらに詳細に検討したところ、モリブデン濃度によって生育が野生型株よりも強く影響を受けると思われる変異系統を 2 系統選抜した。

これら 2 系統については、原因遺伝子を見出すためのマッピングを進めている。具体的には異なる系統のシロイヌナズナと掛け合わせ、F2 植物の中で生育に違いを示すものを選抜し、それらの系統について各種マーカーの遺伝型を調べて、変異株由来の染色体が集まっている領域を調べ、一つの変異株については、染色体 2 番の 500kB 程度の領域に原因遺伝子があることを見出した。

(2)研究成果の今後期待される展開

モリブデンは植物の必須元素でアミノ酸代謝に深く関わっている。今後の研究によってモリブデン輸送の全体像が明らかになれば、植物のモリブデン吸収を効率化することを通じてモリブデンが少なくてもアミノ酸合成を十分に行わせる作物を作出することができると考えられる。

§５ 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 1 件、国際 (欧文) 誌 47 件)

1. Sriyudthsak, K., Shiraishi, F., and Hirai, M.Y. Identification of a metabolic reaction network from time-series data of metabolite concentrations. ***PLoS One,*** 8: e51212. (2013)

2. Sakurai, T., Yamada, Y., Sawada, Y., Matsuda, F., Akiyama, K., Shinozaki, K., Hirai, M.Y., and Saito, K. PRIMe Update: innovative content for plant metabolomics and integration of gene expression and metabolite accumulation. ***Plant Cell Physiol.*** 54: e5. (2013)

3. Nakabayashi, R., Sawada, Y., Yamada, Y., Suzuki, M., Hirai, M.Y., Sakurai, T., and Saito, K. Combination of liquid chromatography-fourier transform ion cyclotron resonance-mass spectrometry with (13)C-labeling for chemical assignment of sulfur-containing metabolites in onion bulbs. ***Anal. Chem.*** 85: 1310-1315. (2013)

4. Hanafy, M.S., Rahman, S.M., Nakamoto, Y., Fujiwara, T., Naito, S., Wakasa, K., and Ishimoto, M. Differential response of methionine metabolism in two grain legumes, soybean and azuki bean, expressing a mutated form of Arabidopsis cystathionine γ-synthase. ***J. Plant Phys.*** 170: 338–345. (2013)

5. Sawada, Y., Nakabayashi, R., Yamada, Y., Suzuki, M., Sato, M., Sakata, A., Akiyama, K., Sakurai, T., Matsuda, F., Aoki T., Hirai, M.Y. and Saito K. RIKEN tandem mass spectral database (ReSpect) for phytochemicals: A plant-specific MS/MS-based data resource and database. ***Phytochemistry***, 82: 38-45. (2012)

6. Takahashi, H., Takahashi, A., Naito, S., and Onouchi, H. BAIUCAS: a novel BLAST-based algorithm for the identification of upstream open reading frames with conserved amino acid sequences, and its application to the *Arabidopsis thaliana* genome. ***Bioinformatics***, 28: 2231-2241. (2012)

7. Wada, M., Takahashi, H., Altaf-Ul-Amin, M., Nakamura, K., Hirai, M.Y., Ohta, D., and Kanaya, S. Prediction of operon-like gene clusters in the *Arabidopsis thaliana* genome based on co-expression analysis of neighboring genes. ***Gene***, 503: 56-64. (2012)

8. Afendi, F.M., Katsuragi, T., Kato, A., Nishihara, N., Nakamura, K., Nakamura, Y., Tanaka, K., Hirai-Morita, A., Altaf-Ul-Amin, M., Takahashi, H., and Kanaya, S. Systems biology approaches and metabolomics for understanding Japanese traditional kampo medicine. ***Current Pharmacogenomics and Personalized Medicine***, 10: 111-124. (2012)

9. Afendi, F.M., Okada, T., Yamazaki, M., Hirai-Morita, A., Nakamura, Y., Nakamura, K., Ikeda, S., Takahashi, H., Altaf-Ul-Amin, M., Darusman, L.K., Saito, K., and Kanaya, S. KNApSAcK family databases: integrated metabolite–plant species databases for multifaceted plant research. ***Plant Cell Physiol.*** 53: 1-12. (2012)

10. Takahashi, H., Morimoto, T., Ogasawara, N., and Kanaya, S. AMDORAP: Non-targeted metabolic profiling based on high-resolution LC-MS. ***BMC Bioinformatics***, 12: 259. (2011)

11. Onoue, N., Yamashita, Y., Nagao, N., Goto, D.B., Onouchi, H., and Naito, S. *S*-adenosyl-L-methionine induces compaction of nascent peptide chain inside the ribosomal exit tunnel upon translation arrest in the Arabidopsis CGS1 gene. ***J. Biol. Chem.*** 286: 14903-14912. (2011)

12. Murota, K., Hagiwara-Komoda, Y., Komoda, K., Onouchi, H., Ishikawa, M., and Naito, S. Arabidopsis cell-free extract, ACE, a new in vitro translation system derived from Arabidopsis callus cultures. ***Plant Cell Physiol.*** 52: 1443-1453. (2011)

13. Uraguchi, S., Kamiya, T., Sakamoto, T., Kasai, K., Sato, Y., Nagamura, Y., Yoshida, A., Kyozuka, J., Ishikawa, S., and Fujiwara, T. Low-affinity cation transporter (OsLCT1) regulates cadmium transport into rice grains. ***Proc. Natl. Acad. Sci. USA,*** 108: 20959-20964. (2011)

14. Tanaka, M., Takano, J., Chiba, Y., Lombardo, F., Ogasawara, Y., Onouchi, H., Naito, S., and Fujiwara, T. Boron-dependent degradation of NIP5;1 mRNA for acclimation to excess boron conditions in Arabidopsis. ***Plant Cell*** 23: 3547-3559. (2011)

15. Hanada, K., Sawada, Y., Kuromori, T., Klausnitzer, R., Saito, K., Toyoda, T., Shinozaki, K., Li, W.H., and Hirai, M.Y. Functional compensation of primary and secondary metabolites by duplicate genes in *Arabidopsis thaliana*. ***Mol. Biol. Evol.*** 28: 377-382. (2011)

16. Ide, Y., Kusano, M., Oikawa, A., Fukushima, A., Tomatsu, H., Saito, K., Hirai, M.Y., and Fujiwara, T. Effects of molybdenum deficiency and defects in molybdate transporter MOT1 on transcript accumulation and nitrogen/sulphur metabolisms in *Arabidopsis thaliana*. ***J. Exp. Bot.*** 62: 1483-1497. (2011)

17. Stotz, H.U., Sawada, Y., Shimada, Y., Hirai, M.Y., Sasaki, E., Krischke, M., Brown, P.D., Saito, K., and Kamiya, Y. Role of camalexin, indole glucosinolates, and side chain modification of glucosinolate-derived isothiocyanates in defense of Arabidopsis against *Sclerotinia sclerotiorum*. ***Plant J***. 67: 81-93. (2011)

18. Izawa, T., Mihara, M., Suzuki, Y., Gupta, M., Itoh, H., Nagano, A.J., Motoyama, R., Sawada, Y., Yano, M., Hirai, M.Y., Makino, A., Nagamura, Y. (2011) Os-GIGANTEA confers robust diurnal rhythms on the global transcriptome of rice in the field. ***Plant Cell***. 23, 1741-1755.

19. Takahashi, H., Morioka, R., Ito, R., Oshima, T., Altaf-Ul-Amin, M., Ogasawara, N., and Kanaya, S. Dynamics of time-lagged gene-to-metabolite networks of *Escherichia coli* elucidated by integrative omics approach. ***OMICS***, 15: 15-23. (2011)

20. Kusano, M., Fukushima, A., Redestig, H., Kobayashi, M., Otsuki, H., Onouchi, H., Naito, S., Hirai, M.Y., and Saito, K. Comparative metabolomics charts the impact of genotype-dependent methionine accumulation in *Arabidopsis thaliana*. ***Amino Acids***. 39: 1013-21. (2010)

21. Albinsky, D., Sawada, Y., Kuwahara, A., Nagano, M., Hirai, A., Saito, K., and Hirai, M.Y. Widely targeted metabolomics and coexpression analysis as tools to identify genes involved in the side-chain elongation steps of aliphatic glucosinolate biosynthesis. ***Amino Acids***. 39: 1067-1075. (2010)

22. Hirai, M.Y., Sawada, Y., Kanaya, S., Kuromori, T., Kobayashi, M., Klausnitzer, R., Hanada, K., Akiyama, K., Sakurai, T., Saito, K., and Shinozaki, K. Toward genome-wide metabolotyping and elucidation of metabolic system: metabolic profiling of large-scale bioresources. ***J. Plant Res.*** 123: 291-298. (2010)

23. Horai, H., Arita, M., Kanaya, S., Nihei, Y., Ikeda, T., Suwa, K., Ojima, Y., Tanaka, K., Tanaka, S., Aoshima, K., Oda, Y., Kakazu, Y., Kusano, M., Tohge, T., Matsuda, F., Sawada, Y., Hirai, M.Y., Nakanishi, H., Ikeda, K., Akimoto, N., Maoka, T., Takahashi, H., Ara, T., Sakurai, N., Suzuki, H., Shibata, D., Neumann, S., Iida, T., Tanaka, K., Funatsu, K., Matsuura, F., Soga, T., Taguchi, R., Saito, K. and Nishioka, T. MassBank: a public repository for sharing mass spectral data for life sciences. ***J. Mass. Spectrom.*** 45: 703-714. (2010)

24. Chumsakul, O., Takahashi, H., Oshima, T., Hishimoto, T., Kanaya, S., Ogasawara, N., and Ishikawa, S. Genome-wide binding profiles of the *Bacillus subtilis* transition state regulator AbrB and its homolog Abh reveals their interactive role in transcriptional regulation. ***Nucleic Acids Res***.

39: 414-428. (2010)

25. Strassburg, K., Walther, D., Takahashi, H., Kanaya, S., and Kopka, J. Dynamic transcriptional and metabolic responses in yeast adapting to temperature stress. ***OMICS***, 14: 249-259. (2010)

26. Okada, T., Afendi, F.M., Altaf-Ul-Amin, M., Takahashi, H., Nakamura, K., and Kanaya, S. Metabolomics of medicinal plants: the importance of multivariate analysis of analytical chemistry data. ***Current Computer-Aided Drug Design***, 6: 179-196. (2010)

27. Sawada, Y., Akiyama, K., Sakata, A., Kuwahara, A., Otsuki, H., Sakurai, T., Saito, K. and Hirai, M.Y. Widely targeted metabolomics based on large-scale MS/MS data for elucidating metabolite accumulation patterns in plants. ***Plant Cell Physiol***. 50: 37-47. (2009)

28. Sawada, Y., Kuwahara, A., Nagano, M., Narisawa, T., Sakata, A., Saito, K., and Hirai, M.Y. Omics-based approaches to methionine side chain elongation in *Arabidopsis*: characterization of the genes encoding methylthioalkylmalate isomerase and methylthioalkylmalate dehydrogenase. ***Plant Cell Physiol***. 50: 1181-1190. (2009)

29. Sawada, Y., Toyooka, K., Kuwahara, A., Sakata, A., Nagano, M., Saito, K., and Hirai, M.Y. *Arabidopsis* bile acid:sodium symporter family protein 5 is involved in methionine-derived glucosinolate biosynthesis. ***Plant Cell Physiol***. 50: 1579-1586. (2009)

30. Matsuda, F., Shinbo, Y., Oikawa, A., Hirai, M.Y., Fiehn, O., Kanaya, S., and Saito, K. Assessment of metabolome annotation quality: a method for evaluating the false discovery rate of elemental composition searches. ***PLoS One***. 4: e7490. (2009)

31. Matsuda, F., Hirai, M.Y., Sasaki, E., Akiyama, K., Yonekura-Sakakibara, K., Provart, N.J., Sakurai, T., Shimada, Y., and Saito, K. AtMetExpress development: A phytochemical atlas of *Arabidopsis thaliana* development. ***Plant Physiol.*** 152: 566-578. (2009)

32. Takahashi, H., Kawazoe, M., Wada, M., Hirai, A., Nakamura, K., Altaf-Ul-Amin, M., Sawada, Y., Hirai, M.Y., and Kanaya, S. KNApSAcK gene classification system for *Arabidopsis thaliana*: Comparative genomic analysis of unicellular to seed plants. ***Plant Biotechnol.*** 26: 509-516. (2009)

33. Nishikata, K., Wada, M., Takahashi, H., Nakamura, K., Kanaya, S., Altaf-Ul-Amin, M. Predicting conformation of protein complexes by determining statistically significant domain-domain interactions. ***Plant Biotechnol.*** 26: 495-501. (2009)

34. Oishi, T., Tanaka, K., Hashimoto, T., Shinbo, Y., Jumtee, K., Bamba, T., Fukusaki, E., Suzuki, H., Shibata, D., Takahashi, H., Asahi, H., Kurokawa, K., Nakamura, Y., Hirai, A., Nakamura, K., Altaf-Ul-Amin, M., and Kanaya, S. An approach to peak detection in GC-MS chromatograms and application of KNApSAcK database inprediction of candidate metabolites. ***Plant Biotechnol.*** 26: 167-174. (2009)

35. Tanaka, K., Nakamura, K., Saito, T., Osada, H., Hirai, A., Takahashi, H., Kanaya, S., and Altaf-Ul-Amin, M. Metabolic pathway prediction based on inclusive relation between cyclic substructures. ***Plant Biotechnol.*** 26: 459-468. (2009)

36. 田中健一, 高橋弘喜, 平井晶, MD. ALTAF-UL-AMIN, 金谷重彦. 代謝反応経路をいかに予測するか？ *日本化学会情報化学部会誌*, 27: 41-43. (2009)

37. Kamiya, T., and Fujiwara, T. Arabidopsis NIP;1 transports antimonite and determines antimonite sensitivity. ***Plant Cell Physiol.*** 50: 1977-1981. (2009)

38. Kato, Y., Miwa, K., Takano, J., Wada, M., and Fujiwara, T. Highly boron deficiency tolerant plants generated by enhanced expression of NIP5;1, a boric acid channel. ***Plant Cell Physiol.*** 50: 58–66. (2009)

39. Shojo, M., Katoh, A., Ikeda, T., Ninomiya, Y., Sakurai, M., Hayasaki, T., Hanawa, T., Takahashi, H., Altaf-Ul-Amin, M., Nomoto, K., and Kanaya, S. A statistical method of analyzing global gene expression data obtained from experiments using Japanese herbal medicine. ***Proceedings by the 20th International Conference on Genome Informatics*** (GIW2009), P055 (2009)

40. Akiyama, K., Chikayama, E., Yuasa, H., Shimada, Y., Tohge, T., Shinozaki, K., Hirai, M.Y., Sakurai, T., Kikuchi, J., and Saito, K. PRIMe: a Web site that assembles tools for metabolomics and transcriptomics. ***In Silico Biol.*** 8: 339-345. (2008)

41. Onouchi, H., Haraguchi, Y., Nakamoto, M., Kawasaki, D., Nagami-Yamashita, Y., Murota, K., Kezuka-Hosomi, A., Chiba, Y., and Naito, S. Nascent peptide-mediated translation elongation arrest of *Arabidopsis thaliana CGS1* mRNA occurs autonomously. ***Plant Cell Physiol.*** 49: 549-556. (2008)

42. Haraguchi, Y., Kadokura, Y., Nakamoto, M., Onouchi, H., and Naito, S. Ribosome stacking defines *CGS1* mRNA degradation sites during nascent peptide-mediated translation arrest. ***Plant Cell Physiol.*** 49: 314-323. (2008)

43. Takahashi, H., Kai, K., Shinbo, Y., Tanaka, K., Ohta, D., Oshima, T., Altaf-Ul-Amin, M., Kurokawa, K., Ogasawara, N., and Kanaya, S. Metabolomics approach for determining growth-specific metabolites based on Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. ***Anal. Bioanal. Chem***. 391: 2769-2782. (2008)

44. Uchida, K., Furukohri, A., Shinozaki, Y., Mori, T., Ogawara, D., Kanaya, S., Nohmi, T., Maki, H., and Akiyama, M. Overproduction of *Escherichia coli* DNA polymerase DinB (Pol IV) inhibits replication fork progression and is lethal. ***Molecular Microbiology,*** 70: 608-622. (2008)

45. Suzuki, H., Sasaki, R., Ogata, Y., Nakamura, Y., Sakurai, N., Kitajima, M., Takayama, H., Kanaya, S., Aoki, K., Shibata, D., and Saito, K. Metabolic profiling of flavonoids in *Lotus japonicus* using liquid chromatography Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. ***Phytochemistry***, 69: 99-111. (2008)

46. Ohkama-Ohtsu, N., Kezuka, A., Onouchi, H., Fujiwara. T., and Naito, S. The promoter region of the β subunit gene of β-conglycinin responds to methionine and glutathione in transient assays using Arabidopsis protoplasts. ***Soil Sci. Plant Nutr.*** 54: 128-132. (2008)

47. Tomatsu, H., Takano, J., Takahashi, H., Watanabe-Takahashi A., Shibagaki, N., and Fujiwara, T. An *Arabidopsis thaliana* high-affinity molybdate transporter required for efficient uptake of molybdate from soil. ***Proc. Natl. Acad. Sci. USA,*** 104: 18807–18812. (2007)

48. Nakamura, Y., Kimura, A., Saga, H., Oikawa, A., Shinbo, Y., Sakurai, N., Suzuki, H., Kitayama, M., Shibata, D., Kanaya, S., and Ohta, D. Differential metabolomics unraveling lingt/dark regulation of metabolic activities in Arabidopsis cell culture. ***Planta***, 227: 57-66. (2007)

(2)その他の著作物(総説、書籍など)

1. 中村由紀子、森田(平井)晶、西岡孝明、金谷重彦. KNApSAcK Family データベース:メタボロミクスから展開する植物の多目的活用. *バイオサイエンスとインダストリー*, 70: 267-272. (2012)

2. Kamiya, T., Yamagami, M., Hirai, M.Y., and Fujiwara, T. Establishment of an in planta

magnesium monitoring system using CAX3 promoter-luciferase in *Arabidopsis*. ***J. Exp. Bot***. 63: 355-363. (2012)

3. Osanai, T., Oikawa, A., Azuma, M., Tanaka, K., Saito, K., Hirai, M.Y., and Ikeuchi, M. Genetic engineering of group 2 sigma factor SigE widely activates expressions of sugar catabolic genes in *Synechocystis* species PCC 6803. ***J. Biol. Chem.*** 286: 30962-30971. (2011)

4. Redestig, H., Szymanski, J., Hirai, M.Y., Selbig, J., Willmitzer, L., Nikoloski, Z., and Saito, K. Data integration, metabolic networks and systems biology. *In* ***Annual Plant Reviews*** Volume 43: ***Biology of Plant Metabolomics***. ed. Hall, R.D. (Wiley) pp. 261-316. (2011)

5. 平井優美. メタボロミクスがもたらす新たな可能性－モデル植物の分子生物学を超えて. ***ゲノムが拓く生態学—遺伝子の網羅的解析で迫る植物の生きざま***. 種生物学会 編、 責任編集: 永野惇、森長真一 （文一総合出版）(2011)

6. 澤田有司、平井優美. 植物代謝研究におけるメタボローム解析技術－ワイドターゲットメタボロミクスの開発－. ***ゲノムが拓く生態学—遺伝子の網羅的解析で迫る植物の生きざま***. 種生物学会 編、 責任編集:永野惇、森長真一 （文一総合出版）(2011)

7. Nakamura, K., Oshima, T., Morimoto, T., Ikeda, S., Yoshikawa, H., Shiwa, Y., Ishikawa, S., Linak, M.C., Hirai, A., Takahashi, H., Altaf-Ul-Amin, M., Ogasawara, N., and Kanaya, S. Sequence-specific error profile of Illumina sequencers. ***Nucleic Acids Res.*** 39:13. (2011)

8. Takahashi, H., Hirai, A., Shojyo, M., Matsuda, M., Aziza Kawsar Parvin, Asahi, H., Nakamura, K., Altaf-Ul-Amin, M., and Kanaya, S. Species-metabolite relation database KNApSAcK and its multifaceted retrieval system, KNApSAcK Family. ***Handbook of Systems Toxicology***, 1: 219-297. (2011)

9. 金谷重彦、平井晶、旭弘子、高橋弘喜、中村建介、Md.Altaf-Ul-Amin、二瓶義人、池田奨、尾嶌雄也、西岡孝明. メタボロームデータベース:多様な研究への対応とデータの共有化. ***使えるデータベース・ウェブツール***, 29:126-136. (2011)

10. 金谷重彦、西岡孝明、有田正規、櫻井 望. メタボロームデータベースの開発:メタボロミクスからのゲノミクスの展開. ***細胞工学***, Vol.31 No.1 (2011)

11. 金谷重彦. 学術データベースをつくろう！ ***CICSJ Bulletin***, 29: 22-33. (2011)

12. 藤原徹、三輪京子. 食品生産におけるトランスポーター「栄養・食品機能とトランスポーター」日本栄養・食糧学学会監修 竹谷豊他責任編集 （建帛社） 第 13 章 pp. 265-285. (2011)

13. 神谷岳洋、浦口晋平、藤原徹. 植物の無機元素の輸送と環境応答. ***細胞工学*** Vol.30 No.2 pp.142-148 (2011)

14. 藤原徹「生化学辞典」東京化学同人 (2010)

15. Fuji, K., Miwa, K., and Fujiwara, T. The intracellular transport of transporters: membrane trafficking of mineral transporters. ***Current Opinion in Plant Biology,*** 12: 699-704. (2009)

16. 藤原徹、内藤哲 「貯蔵物資」「植物の百科事典」 pp.31. (2009)

17. Saito, K., Hirai, M.Y., and Yonekura-Sakakibara, K. Decoding genes with coexpression networks and metabolomics - 'majority report by precogs'. ***Trends in Plant Science*** 13: 36-43. (2008)

18. Hirai, M.Y., and Saito, K. Analysis of systemic sulphur metabolism in plants by using integrated "-omics" strategies. ***Molecular BioSystems,*** 4: 967-973. (2008)

19. Hirai, M.Y. A robust omics-based approach for the identification of glucosinolate biosynthetic genes. ***Phytochemistry Reviews,*** 8: 15-23. (2008)

20. 平井優美. オミクス解析による植物の有用物質生産遺伝子の発見. *バイオサイエンスとインダストリー* 66: 15-19. (2008)

21. 笠井光治. 高等植物とバクテリアにおける多様な合成系とその生理学的機能. *バイオサイエンスとインダストリー* 66: 293. (2008)

22. 平井優美. オミクス統合解析による植物代謝の解明. メタボロミクスの先端技術と応用. 福崎英一郎 編（シーエムシー出版）, pp.212-221. (2008)

23. 真保陽子、高橋弘喜、田中健一、草場亮、Md.Altaf-Ul-Amin、Aziza Kawsar Parvin、旭弘子、平井晶、黒川顕、金谷重彦. 生物種-代謝物関係データベース:KNApSAcK. メタボロミクスの先端技術と応用. 福崎英一郎 編（シーエムシー出版）, pp.130-149. (2008)

24. 尾之内均、内藤哲. シロイヌナズナからの RNA 抽出. 無敵のバイオテクニカルシリーズ『RNA 実験ノート』稲田利文, 塩見春彦 編（羊土社） pp.42-43. (2008)

25. Takano, J., Miwa, K., and Fujiwara, T. Boron transport mechanisms: collaboration of channels and transporters. ***Trends in Plant Science***, 13: 451-457. (2008)

(3)国際学会発表及び主要な国内学会発表
① 招待講演 （国内会議 40 件、国際会議 28 件）

1. 平井優美、澤田有司(理研植物科学研究センター) シロイヌナズナのナチュラルバリエーションを利用した代謝解析. 日本植物生理学会シンポジウム「シロイヌナズナ野生株と近縁種～研究最前線と未来」, 岡山, 2013.3.22

2. Masami Yokota Hirai (RIKEN Plant Science Center) A pathway-based technique for analysis of metabolic reaction networks. International Plant & Animal Genome (PAG) XXI, San Diego, 2013.1.13

3. 平井優美(理研植物科学研究センター) メタボロミクスによる代謝システムの解明とその先への展開. 文部科学省特定領域研究「植物メリステム」・「植物科学グローバルトップ教育推進プログラム」共催「明日の植物科学を探るーゲノムから細胞機能の統合を目指してー」, 奈良, 2012.11.6

4. Hitoshi Onouchi (Hokkaido Univ.) Identification of novel *Arabidopsis* upstream open reading frames that control translation of the main coding sequences in a peptide sequence-dependent manner. Frontiers in Plant RNA Research, Sapporo, 2012.10.17

5. 澤田有司(理研植物科学研究センター) ReSpect: 植物代謝産物の MS/MS データベースの構築と応用利用. 第 7 回メタボロームシンポジウム, 鶴岡, 2012.10.10-12

6. Kansuporn Sriyudthsak(理研植物科学研究センター) 代謝反応ネットワークのコンピューター解析. 第 7 回メタボロームシンポジウム, 鶴岡, 2012.10.10-12

7. Masami Yokota Hirai (RIKEN Plant Science Center) Omics approach to elucidation of plant metabolism. International Symposium “New Frontiers of Metabolism Research in Biomedical Sciences”, Tokyo, 2012.9.28

8. 平井優美（理研植物科学研究センター）個体成長システムの部分としての代謝システムーその新たな理解に向けてー．日本植物学会第 76 回大会 シンポジウム「植物個体成長システムの統合的理解に向けて：発生・代謝・数理モデル研究からのアプローチ」，姫路， 2012.9.15

9. Toru Fujiwara (Univ. Tokyo) Regulation of transport and growth in response to boron. ICAR2012, Vienna, 2012.7.6

10. 金谷重彦（NAIST）第1回日米「藻類メタボロミクス」ワークショップ，大阪, 2012.7

11. 金谷重彦（NAIST） KNApSAcK Family DB:オミックス研究における医食同源の体系化．2012 年度第1回 CAC フォーラムセミナー，大阪, 2012.7

12. Shigehiko Kanaya (NAIST) International Conference of Natural Products Biosynthesis, Hyougo, 2012.6

13. 金谷重彦（NAIST）日本食品化学学会 第18回総会・学術大会，北海道, 2012.6

14. 山下由衣，尾上典之，室田勝功，青野志郎，大橋悠文，長谷川傑，中嶋一恵，尾之内均，内藤 哲（北海道大学）栄養センサーとしてのリボソーム：シロイヌナズナにおけるメチオニン生合成のフィードバック制御，第 54 回日本植物生理学会年会シンポジウム，岡山, 2012.3.22

15. 金谷重彦（NAIST） 生物代謝物データベース KNApSAcK Family DB : 多目的利用に向けて．第 202 回生存圏シンポジウム，京都, 2012.3.

16. 金谷重彦（NAIST） 植物代謝データに基づいたシステムズバイオロジー基盤技術の開発：植物代謝大規模シュミレーションに向けて．農芸化学会シンポジウム「ゲノムスケールの数理モデリングに基づく代謝システムの理解とデザイン」，京都, 2012.3.

17. 金谷重彦（NAIST） Integrated metabolite-plant species databases for multifaceted plant researches: KNApSAcK Family. 第 53 回日本植物生理学会年会，京都, 2012.3.

18. 藤原徹（東京大学）亜鉛生物学とトランスポーター，日光シンポジウム，日光, 2011.12.18

19. Noriyuki Onoue, Yui Yamashita, Katsunori Murota, Shiro Aono, Yoko Tajima, Suguru Hasegawa, Kazue Nakajima, Hitoshi Onouchi, and Satoshi Naito (Hokkaido Univ.) Nascent peptide-mediated translation arrest of arabidopsis *CGS1* mRNA that occurs in response to *S*-Adenosyl-L-methionine. 第 34 回日本分子生物学会年会，横浜, 2011.12.15

20. 藤原徹（東京大学）未来を支える植物の栄養研究，第 41 回東京大学農学部公開セミナー，東京, 2011.11.26

21. 金谷重彦（NAIST） KNApSAcK ファミリー：生物種-代謝物データベース(KNApSAcK Family). トーゴーの日シンポジウム，東京, 2011.10.

22. 平井優美（理研植物科学研究センター）植物二次代謝の遺伝子同定ーオミクスが最も力を発揮する場ー．日本植物学会第 75 回大会 シンポジウム「多様な物質を生み出す力ー二次代謝の機能と制御ー」，東京，2011.9.17

23. 金谷重彦（NAIST） 生物代謝物データベース KNApSAcKー生物活性物質構造多様性創出システムの解明と制御に向けたデータベースの構築. 生合成マシナリー第 1 回ブレーンストームミーティング, 北海道, 2011.9.

24. Kansuporn Sriyudthsak, Eiji Okamura, Yuji Sawada, Masami Yokota Hirai (RIKEN Plant Science Center) An omics approach to elucidating amino acid metabolism in plant. 12th International Congress on Amino Acids, Peptides and Proteins. Beijing, 2011.8.4

25. Hitoshi Onouchi, Isao Ebina, Mariko Takemoto, Shun Watanabe, Noriyuki Onoue, Yui Yamashita, Yayoi Endo, Hiroaki Koyama, Yoko Yamashita-Nagami, Hiro Takahashi, Satoshi Naito (Hokkaido Univ.) Nascent peptide-mediated control of gene expression in Arabidopsis: Feedback regulation of methionine biosynthesis and beyond. 12th International Congress on Amino Acids, Peptides and Protein, Beijing, 2011.8.4

26. Shigehiko Kanaya (NAIST) Species-metabolite relation database KNApSAcK and its multifaceted retrieval system KNApSAcK Family. Globalization of Jamu Brand Indonesia, Indonesia, 2011.5

27. Shigehiko Kanaya (NAIST) Species metabolite relation KNApSAcK and its multifaceted retrieval system, KNApSAcK Family. 26th Philippine Chemistry Congress, Philippine, 2011.4.

28. Shigehiko Kanaya (NAIST) Metabolomics application of species-metabolite relation database KNApSAcK. 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, USA, 2010.12

29. 藤原徹（東京大学）ホウ素、モリブデントランスポーターの構造と機能. 日本分子生物学会, 日本生化学会合同大会 Biochemistry and Molecular Biology 2010, 神戸, 2010.12.7

30. 金谷重彦（NAIST） 生物代謝物データベース KNApSAcK -世界の薬用／食用植物の悉皆的代謝物解析に向けて-. 電子情報通信学会技術研究報告, 奈良, 2010.12

31. Toru Fujiwara (Univ. Tokyo) Rice transporters for minor mineral nutrients and toxic elements. 3rd International Rice Congress, Vietnam, 2010.11.8

32. Masami Yokota Hirai (RIKEN Plant Science Center) Omics approach to elucidation of plant metabolism. 2010 International Symposium on Agricultural Biotechnology: Application and New Development on Metabolomics, Taipei, 2010.10.8

33. 尾之内均（北海道大学） uORF がコードするペプチドにより翻訳が制御されるシロイヌナズナ遺伝子の探索と解析. 日本植物学会第 74 回大会シンポジウム, 春日井, 2010. 9. 10

34. 藤原徹（東京大学） ホウ素栄養の分子生理の温故知新. 日本土壌肥料学会 2010 年度北海道大会, 札幌, 2010.9.7

35. 尾之内均（北海道大学） uORF がコードするペプチドにより制御されるシロイヌナズナ遺伝子の探索と解析. シンポジウム「RNA から植物を考える−植物 RNA 研究の最先端−, 札幌, 2010. 8. 27

36. Toru Fujiwara (Univ. Tokyo) Boron transporters: Identification, regulation and application for improvement of plant growth. KAOBS conference, Seoul, 2010.8.19

37. Toru Fujiwara (Univ. Tokyo) Optimisation of nutrient transport processes by plants -boron transport as an example. ,19th World Congress of Soil Science, Brisbane, 2010.8.5

38. Toru Fujiwara (Univ. Tokyo) Influence of molybdenum deficiency on nitrogen metabolism in Arabidopsis. 1st International Symposium on the Nitrogen Nutrition of Plants, Inuyama, 2010.7.26

39. 平井優美（理研植物科学研究センター） メタボローム解析の現状と展望. ラン藻ゲノム研究交流会，東京, 2010.7.24

40. 藤原徹（東京大学） 植物のホウ素輸送体の局在と分解の制御, 第 10 回日本蛋白質科学会年会,札幌, 2010.6.17

41. Toru Fujiwara (Univ. Tokyo) Boron transporters: Identification, characterization and application. Switzerland, 2010.6.4

42. Masami Yokota Hirai (RIKEN Plant Science Center) An omics approach to understanding plant metabolism. International Symposium on Plant Membrane Transport, Tokyo, 2010.3.12-13

43. 澤田有司、平井優美（理研植物科学研究センター） 大規模オミクスデータ解析に基づく植物代謝の機能ゲノミクス. ワークショップ「ファイトケミカルゲノミクスのための生物情報学」，第 32 回日本分子生物学会年会，横浜, 2009.12.12

44. 澤田有司（理研植物科学研究センター） マメ科植物リソースのワイドターゲットメタボロミクス. 第 5 回ミヤコグサ・ダイズシンポジウムー遺伝子機能解析の最前線と実用作物への展開, 2009.12.2

45. Masami Yokota Hirai (RIKEN Plant Science Center) Omics approach to elucidation of glucosinolate metabolism. 2009 Annual Autumn Conference of the Korean Society for Horticultural Science, Seoul, Korea, 2009.10.24

46. Toru Fujiwara (Univ. Tokyo) Boron transporters: regulation of expression and coordination for efficient transport, Plant Biology Symposium 2009, 煙台, 2009.8.11

47. Masami Yokota Hirai (RIKEN Plant Science Center) Amino acid metabolism as an entry point to secondary metabolism, 11th International Congress on Amino Acids, Peptides and Proteins, Vienna, Austria, 2009.8.3

48. Shigehiko Kanaya (NAIST) Metabolomic system database for harbal medicine. Simposium Penelitian Bahan Obat Alami XIV Muktamar Perhipba XI, Indonesia, 2009.8

49. 平井優美（理研植物科学研究センター） ワイドターゲットメタボロミクスによる代謝プロファイリング.シンポジウム「メタボロミクス：植物機能ゲノミクスとバイオテクノロジーにおける役割」，第27回日本植物細胞分子生物学会（藤沢）大会, 2009.7.30

50. 藤原徹（東京大学） ホウ素輸送の分子機構の解明とホウ素ストレス耐性植物の作出. 第 48 回ガンマーフィールドシンポジウム，水戸, 2009.7.15

51. 尾之内均（北海道大学）植物の新生ペプチドによる転写後制御. 第 872 回生物科学セミナー，東京大学，2009.6.10

52. Masami Yokota Hirai (RIKEN Plant Science Center) Omics-based understanding of plant metabolism—Met-derived glucosinolate biosynthesis as a case study. 2nd Conference on Glucosinolates - *taking the field into the next decade*, Denmark, 2009.5.24-27

53. 原口雄飛、室田勝功、尾上典之、長谷川傑、川崎大輔、小松陽平、永見陽子、門倉嘉知、平

田健、中嶋一恵、中本真理、尾之内均、内藤哲（北海道大学） 新生ペプチドによる翻訳伸長の停止と共役した mRNA 分解．第 50 回日本植物生理学会年会シンポジウム，名古屋，2009. 3. 24

54. 平井優美（理研植物科学研究センター） システム生物学を目指した植物代謝研究．第50回日本植物生理学会年会シンポジウム，名古屋, 2009.3.22

55. 藤原徹（東京大学） ホウ素トランスポーターの発現強化によるホウ素欠乏およびホウ素過剰ストレス耐性植物の作出．植物ストレス科学研究ネットワーク発足シンポジウム「ストレスと戦う 植物の戦略と次世代作物の作出」，倉敷，2009.2.23

56. 平井優美（理研植物科学研究センター） オミクス解析による植物代謝研究―代謝の多様性から代謝システムの解明へ―．第 40 回種生物学会シンポジウム「遺伝子レベルからみた適応進化～生態学と機能ゲノミクスの接点を探る～」，守谷, 2008.12.7

57. 平井優美（理研植物科学研究センター） オミクス解析による健康成分グルコシノレート代謝ネットワークの同定と健康成分の向上．植物科学シンポジウム-植物の力を人類の未来に活用する-，品川， 2008.12.1（品川）

58. Shigehiko Kanaya (NAIST) Metabolome Informatics, NAIST-MediconValley -Lund University seminar, Copenhagen, 2008.12

59. 平井優美（理研植物科学研究センター） ポストゲノムの植物代謝研究．第5回コンビナトリアル・バイオエンジニアリング会議，大阪, 2008. 11. 7

60. 金谷重彦（NAIST） 生物種−代謝物の関係データベースの構築とメタボロミクス研究への応用.コンピュータ化学部会第 74回例会，大阪, 2008.11

61. 澤田有司（理研植物科学研究センター）大規模植物バイオリソースの代謝産物データの取得を目指した全自動メタボロミクスの構築．第3回メタボロームシンポジウム，鶴岡, 2008. 11.1

62. Toru Fujiwara (Univ. Tokyo) Identification and characterization of Arabidopsis molybdate transporters. 日中植物栄養ワークショップ，北京, 2008.10.8

63. Masami Yokota Hirai (RIKEN Plant Science Center) Omics-based approach to secondary metabolism in Arabidopsis. Japan-Korea Symposium - Plant Growth and Signal Transduction, Yokohama, 2008. 6. 9-10

64. Toru Fujiwara (Univ. Tokyo) Regulation of transporters responsible for boron transport in response to boron conditions in the environment. 4th Int'l Symposium on Plant Neurobiology, Fukuoka, 2008.6.9

65. 藤原徹（東京大学）植物ミネラルトランスポーターを利用した栄養欠乏や過剰に耐性な植物の作出.バイオウィーク in Sapporo2008，札幌, 2008.6.3

66. Toru Fujiwara (Univ. Tokyo) Toward comprehensive understanding of regulatory network of sulfur metabolism. 7th Workshop on Sulfur Metabolism in Plants, Warsaw, Poland, 2008.5.13

67. 平井優美（理研植物科学研究センター） メタボロミクスをツールとする植物代謝研究．第849回生物科学セミナー，東京大学, 2008. 4. 30

68. 金谷重彦（NAIST） 植物代謝物データベースとバイオインフォマティクス．第44回植物化学シンポジウム，東京, 2007.11

② 口頭発表　　（国内会議 51 件、国際会議 8 件）

1. 山下由衣, 門倉嘉知, 尾之内均, 内藤 哲（北海道大学） シロイヌナズナ *CGS1* mRNA におけるリボソームの停滞と新生ペプチドの収縮, 第 54 回日本植物生理学会年会, 岡山, 2013.3.22

2. シユタサ カンスポーン、白石文秀、平井優美, 時系列データに基づくラクトコッカス属の解糖経路予測, 日本農芸化学会 2012 年度大会, 京都, 2012.3.24

3. 岡村 英治、平井 優美（理研植物科学研究センター） *Arabidopsis thaliana* 由来 3-ホスホグリセリン酸デヒドロゲナーゼの活性制御機構に関する研究日本農芸化学会 2012 年度大会, 京都, 2012.3.23

4. 澤田有司, 中林亮, 山田豊, 鈴木実, 佐藤心郎, 坂田あかね, 秋山顕治, 櫻井哲也, 松田史生, 青木俊夫, 平井優美, 斎藤和季（理研植物科学研究センター） ReSpect: 植物代謝産物の MS/MS データベース. 第 53 回日本植物生理学会年会, 京都, 2012.3.17

5. Sriyudthsak Kansuporn, 澤田 有司, 山下 由衣, 千葉 由佳子, 尾之内 均, 内藤 哲, 白石 文秀, 平井 優美（理研植物科学研究センター） 植物代謝システムの特徴を明らかにするための方法論の構築. 第 53 回日本植物生理学会年会, 京都, 2012.3.17

6. 山下由衣, 尾上典之, 尾之内均, 内藤 哲（北海道大学） シロイヌナズナ *CGS1* mRNA における複数のリボソームの停滞とその部分翻訳産物の解析」、第 53 回日本植物生理学会年会、京都産業大学 (京都市)、2012.3.17

7. 室田勝功, 薦田（萩原）優香, 薦田圭介, 尾之内均, 石川雅之, 内藤 哲（北海道大学） シロイヌナズナ細胞抽出液を用いたシロイヌナズナのシスタチオニン γ-シンターゼ mRNA の分解中間体の解析、第 53 回日本植物生理学会年会、京都産業大学 (京都市)、2012.3.17

8. 戸田智美、渡部峻、竹本まり子、蝦名績、遠洞弥生、小山博彰、瀬戸隆太、高橋広夫、高橋アンナ、内藤哲、尾之内均（北海道大学） uORF にコードされるペプチドが関与する遺伝子発現制御機構、第 53 回日本植物生理学会年会、京都産業大学 (京都市)、2012.3.17

9. 竹本まり子、渡部峻、蝦名績、遠洞弥生、小山博彰、瀬戸隆太、戸田智美、高橋広夫、高橋アンナ、内藤哲、尾之内均（北海道大学） uORF がコードするペプチドにより発現が制御されるシロイヌナズナ遺伝子の探索、第 53 回日本植物生理学会年会、京都産業大学 (京都市)、2012.3.17

10. 箱山雅生, Guilan Duan, 神谷岳洋, Fabien Lombardo, 横田圭祐, 三輪大樹, 佐藤修正, 田畑哲之, Zheng Chen, 渡部敏裕, 信濃卓郎, 林誠, 藤原徹 (東京大学) ミヤコグサ AtMOT1 相同遺伝子の機能解析, 植物生理学会年会, 京都, 2012.3.16

11. 津坂宜宏、神谷岳洋、平井優美、藤原徹 (東京大学) シロイヌナズナにおけるモリブデン欠乏応答の解析, 植物生理学会年会, 京都, 2012.3.16

12. 高橋弘喜(奈良先端科学技術大学院大学) R を用いた動的数理モデルの研究例. R でつなぐ次世代オミックス情報統合解析研究会、神奈川、2012.2.

13. 室田勝功, 薦田（萩原）優香, 薦田圭介, 尾之内均, 石川雅之, 内藤 哲（北海道大学） シロイヌナズナの試験管翻訳系を用いた 5′-3′エキソヌクレアーゼ AtXRN4 による 5′キャップ構造を

持たない mRNA の分解に関する解析、第 34 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜 (横浜市)、2011.12.16

14. 山下由衣, 門倉嘉知, 尾之内均, 内藤 哲（北海道大学） シロイヌナズナ *CGS1* mRNA におけるリボソームの追突によって生じる複数の部分翻訳産物の解析、第 34 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜 (横浜市)、2011.12.15

15. 金谷重彦 (奈良先端科学技術大学院大学) 生物代謝物データベース KNApSAcK一生物活性物質構造多様性創出システムの解明と制御に向けたデータベースの構築一. 生合成マシナリー第 3 回公開シンポジウム、東京、2011.12.

16. 金谷重彦 (奈良先端科学技術大学院大学) 植物の持続可能な利用に向けた多目的データベース(KNApSAcK Family)の構築、第 48 回植物化学シンポジウム、大阪、2011.11

17. Kansuporn SRIYUDTHSAK, 澤田有司, 山下由衣, 千葉由佳子, 尾之内均, 内藤哲, 白石文秀, 平井優美（理研植物科学研究センター） 植物代謝システムのトポロジカルな特徴を明らかにするための新しい方法: アスパラギン酸代謝を例として, 第 29 回日本植物細胞分子生物学会, 福岡, 2011.9.6-8

18. 澤田有司, 山田豊, 佐藤心郎, 中林亮, 鈴木実, 松田史生, 斎藤和季, 平井優美（理研植物科学研究センター） 非ターゲットな代謝産物の MS/MS 検出情報に基づく高感度検出方法の開発, 第 29 回日本植物細胞分子生物学会, 福岡, 2011.9.6-8

19. 山下由衣, 尾上典之, 尾之内均, 内藤 哲（北海道大学） *S*-アデノシルメチオニンに応答したシロイヌナズナ *CGS1* mRNA における翻訳伸長の一時停止とリボソーム内新生ペプチドの収縮構造、第 29 回日本植物細胞分子生物学会, 福岡, 2011.9.7

20. Yuji Sawada, Yutaka Yamada, Muneo Sato, Ryo Nakabayashi, Makoto Suzuki, Fumio Matsuda, Kazuki Saito and Masami Yokota Hirai (RIKEN Plant Science Center) Large-scale SRM assay system for un-targeted MS/MS of phytochemicals. 7th International Conference of the Metabolomics Society, Cairns, Australia, 2011.6.27-30

21. Kansuporn SRIYUDTHSAK (RIKEN Plant Science Center) A primary approach for topologically characterizing metabolic systems: combination of biochemical systems theory and Fick's law of diffusion. The XII International Congress on Molecular Systems Biology, Lleida, Spain, 2011.5

22. Y. Sawada, F. Matsuda, Y. Yamada, M. Nagano, M. Suzuki, K. Saito, M.Y. Hirai (RIKEN Plant Science Center) Advances in LC-MS based targeted plant metabolomics. Pacidichem 2010, Hawaii, USA, 2010.12.15

23. 藤原徹、神谷岳洋、乾（辻本）弥生、三輪京子（東京大学） 異なる栄養条件での生育を指標にした新規シロイヌナズナ栄養変異株の単離の試み, 日本土壌肥料学会 2010 年度北海道大会, 札幌, 2010.9.7

24. 金谷重彦（奈良先端科学技術大学院大学） 生物種-代謝物データベース KNApSAcK: 世界の薬用/食用植物の悉皆的代謝物解析に向けて. 第311回CBI学会研究講演会, 日本, 東京, 2010.7

25. 渡部峻、竹本まり子、蝦名績、遠洞弥生、小山博彰、高橋広夫、内藤哲、尾之内均（北海道大学）シロイヌナズナにおけるペプチド配列依存的に制御を行う新規 uORF のゲノムワイドな探索、第 12 回日本 RNA 学会年会、東京、2010.7.28

26. 金谷重彦（奈良先端科学技術大学院大学） Metabolite flux and Bioinfomatics. CREST Workshop on Plant metabolism（CREST 植物代謝研究会），日本，京都，2010.6

27. Doris Albinsky, Ayuko Kuwahara, Yuji Sawada, Mutsumi Nagano, Yukiko Kamide, Tomoko Narisawa, Kazuki Saito, Masami Yokota Hirai (RIKEN Plant Science Center) Coexpression analysis as a powerful tool to identify genes in amino acid and glucosinolate biosynthesis. 第 51 回日本植物生理学会年会（熊本）、2010.3.18-21

28. 清田浩史、桑原亜由子、平井優美、池内昌彦（理研植物科学研究センター） GC-MS によるシアノバクテリア中の遊離アミノ酸定量、第 51 回日本植物生理学会年会（熊本）、2010.3.18-21

29. 澤田有司、松田史生、山田豊、長野睦、鈴木実、斉藤和季、平井優美（理研植物科学研究センター） ワイドターゲットメタボロミクスと非ターゲットメタボロミクスの統合解析、第 51 回日本植物生理学会年会（熊本）、2010.3.18-21

30. 金谷重彦（奈良先端科学技術大学院大学） 生物種-代謝物関係データベース KNApSAcK：世界の薬用植物由来の代謝物の悉皆的解析に向けて．第 30 回 和漢医薬学総合研究所特別セミナー「和漢薬とインフォマティクス」，日本，富山, 2009.10

31. Fabien Lombard, Miwa Hiroki, Sato Shusei, Tabata Satoshi, Chen Zheng, Watanabe Toshihiro, Shinano Takuro, Fujiwara Toru (東京大学) Characterization of a Lotus japonicus mutant showing strong reduction in Molybdenum accumulation, 日本土壌肥料学会年会，京都，2009.9.16

32. 金谷重彦（奈良先端科学技術大学院大学） 生物種-代謝物関係データベース KNApSAcK：世界の薬用植物由来の代謝物の悉皆的解析に向けて．第26回和漢医薬学会学術大会，日本，千葉, 2009.8

33. 金谷重彦（奈良先端科学技術大学院大学） Metabolomic System Database for Harbal Medicine. National Symposium of Natural Drug Research, インドネシア，ジャカルタ, 2009.8

34. 澤田有司、長野睦、坂田あかね、桑原亜由子、斉藤和季、平井優美（理研植物科学研究センター）、ワイドターゲットメタボロミクス：基盤技術開発と適応例．第 27 回日本植物細胞分子生物学会（藤沢）大会、2009.7.31

35. 岡咲洋三、下嶋美恵、澤田有司、豊岡公徳、成澤知子、持田恵一、田中宏憲、松田史生、平井晶子、平井優美、太田啓之、斉藤和季（理研植物科学研究センター） LC-MS を用いたシロイヌナズナ *ugp3* 変異体の脂質代謝プロファイル分析．第 27 回日本植物細胞分子生物学会（藤沢）大会、2009.7.31

36. 藤原 徹(東京大学) Generation of boron-stress tolerant plants by modification of boron transorters,EU COST E50 Workshop `Systems Biology for Plant Design`, ワーゲニンゲン（オランダ）, 2009.7.8

37. 金谷重彦（奈良先端科学技術大学院大学） 生物種ー代謝物データベース(KNApSAcK)の構築：オミックス解析の統合に向けて. Metabolome Informatics ワークショップ,日本，山形, 2009.3

38. 井出曜子、及川彰、草野都、福島敦史、遠藤亮、南原英司、斉藤和季、平井優美、藤原徹（東京大学） シロイヌナズナのモリブデン欠乏応答のメタボローム、トランスクリプトーム解析．第 50 回日本植物生理学会年会．名古屋， 2009. 3.21-24

39. 澤田有司、坂田あかね、桑原亜由子、斉藤和季、平井優美（理研植物科学研究センター） アミノ酸由来化合物の生産の制御モデル：転写制御、生合成および代謝産物輸送. 第 50 回日本植物生理学会年会. 名古屋, 2009.3.21-24

40. 金谷重彦（奈良先端科学技術大学院大学）, 生物種一代謝物データベース(KNApSAcK)の構築：オミックス解析の統合に向けて, 6th Metabolome Informatics Workshop, 日本, 富山, 2009.1

41. 藤原 徹 (東京大学) Boron transporters and generation of boron stress-tolerant plants, BMB2008（第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会 合同大会）, 神戸, 2008.12.11

42. 澤田有司、坂田あかね、桑原亜由子、大槻 瞳、金谷重彦、Romy Klausnitzer、黒森 崇、小林正智、鈴木あかね、斉藤和季、平井優美（理研植物科学研究センター） 大規模ターゲット代謝産物分析による植物代謝制御機構の解明. 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会合同大会、神戸、2008.12.9-12

43. 坂本卓也、乾（辻本）弥生、Kiichi Fukui, 藤原 徹(東京大学) Arabidopsis thaliana Condensin 2 is involved in boron txicity tolerance, 第3回アジア染色体コロキウム, 大阪, 2008.12.1

44. 藤原 徹 (東京大学) ホウ酸トランスポーターBOR や NIP の過剰発現によるホウ酸ストレス耐性植物の作出, トランスポーターワークショップ in 鶴岡, 鶴岡, 2008.11.15

45. 澤田有司, 秋山顕治, 松田史生, 坂田あかね, 桑原亜由子, 大槻 瞳, 櫻井哲也, 斉藤和季, 平井優美（理研植物科学研究センター） ハイスループット代謝産物分析系を用いた大規模バイオリソースの解析、第 29 回種子生理生化学研究会年会、小樽、2008. 10. 23-24

46. 金谷重彦（奈良先端科学技術大学院大学） 生物種一代謝物データベース(KNApSAcK)の構築：オミックス解析の統合に向けて, 第 3 回メタボロームシンポジウム, 日本, 山形, 2008.10

47. 藤原 徹 (東京大学) ホウ素の植物濃縮と不良環境でのバイオマス生産, SORSTシンポジウム, 東京, 2008.9.29

48. 藤原 徹 (東京大学) ホウ素トランスポーターの発現によるトマトのホウ素欠乏耐性付与, 日本土壌肥料学会 2008 年大会（愛知）, 名古屋, 2008.9.9

49. 澤田有司, 及川 彰, 松田史生, 金谷重彦, 坂田あかね, 鈴木あかね, 斉藤和季, 平井優美（理研植物科学研究センター） 転写因子 PMG ノックアウトラインの転写産物および代謝産物の変動」第26回日本植物細胞分子生物学会大会・シンポジウム、大阪、2008. 9. 1-2

50. 藤原 徹 (東京大学) ホウ酸トランスポーターの発現によるトマトへのホウ素栄養ストレスの付与, 第 26 回日本植物細胞分子生物学会（大阪）大会シンポジウム, 大阪, 2008.9.1

51. Sawada, Y., Araki, R., Oikawa, A., Matsuda, F., Suzuki, A., Sakata, A., Nishizawa, O.I., Saito, K., Hirai, M.Y. (RIKEN Plant Science Center) Omics-based identification of the genes involved in methionine-derived glucosinolate biosynthesis. 7th Workshop on Sulfur in Plants, Warsaw, Poland, 2008. 5. 13-17

52. 井出曜子 (東京大学) Arabidopsis mutants with altered responses to sulfur deficiency, 7th Workshop on Sulfur Metabolism in Plants, Warsaw, Poland, 2008.5.13

53. 藤田春佳、AHMED Iftikhar,三輪大樹、笠井光治、藤原徹 (東京大学) 高濃度ホウ酸耐性細菌 Bacillus boroniphilus からのホウ酸耐性遺伝子のスクリーニング, 農芸化学会 2008 年名古屋大会, 名古屋, 2008.3.28

54. 澤田有司、坂田あかね、小林正智、斉藤和季、平井優美（理研植物科学研究センター） シロイヌナズナに含まれる遊離アミノ酸およびアミノ酸由来化合物のエコタイプ間比較. 日本農芸化学会 2008 年度大会、名古屋、2008.3.26-29

55. 澤田有司、坂田あかね、鈴木あかね、Romy Klausnitzer、斉藤和季、平井優美（理研植物科学研究センター） メチオニン由来グルコシノレート生合成を制御する転写因子の同定と機能解析 I. 第 49 回日本植物生理学会年会、札幌、2008.3.20-22

56. 荒木良一、澤田有司、鈴木あかね、小川俊也、斉藤和季、平井優美（理研植物科学研究センター） メチオニン由来グルコシノレート生合成を制御する転写因子の同定と機能解析 II. 第 49 回日本植物生理学会年会、札幌、2008.3.20-22

57. 松田史生、及川彰、澤田有司、平井優美、矢野昌裕、斉藤和季（理研植物科学研究センター） イネ胚乳中のアミノ酸含量に関する QTL 解析. 第 49 回日本植物生理学会年会、札幌、2008.3.20-22

58. 井出曜子、藤原徹 (東京大学) フェレドキシン依存性グルタミン酸合成酵素は硫黄欠乏応答に重要である, 第 49 回植物生理学会年会,札幌, 2008.3.20

59. 笠島一郎、井出曜子、横田（平井）優美、藤原徹 (東京大学) Boron transcriptome - Indentification of high-boron induced genes and role of WRKY6 under boron deficiency,The 18th International Conference on Arabidopsis Research, 北京, 2007.6.21

③ ポスター発表 （国内会議 51 件、国際会議 56 件）

1. 山下由衣, 門倉嘉知, 佐竹暁子, 尾之内均, 内藤 哲（北海道大学）シロイヌナズナ *CGS1* mRNA における複数のリボソームの停滞:ピューロマイシンを用いた翻訳伸長停止段階の特定, 第 14 回日本 RNA 学会年会, 仙台, 2012.7.18

2. 小山博彰, 大谷美沙都, 高橋広夫, 高橋アンナ, 内藤哲, 尾之内均（北海道大学）双子葉植物間で保存されたペプチド配列を持つ 2 つの uORF が関与する翻訳制御機構, 第 14 回日本 RNA 学会年会, 仙台, 2012.7.18

3. Satoshi Naito, Yui Yamashita, Noriyuki Onoue, Katsunori Murota, Shiro Aono, Yubun Ohashi, Suguru Hasegawa, Hitoshi Onouchi (Hokkaido Univ.) Ribosome as a nutrient sensor: mechanism of feedback regulation of methionine biosynthesis in Arabidopsis. 23rd International Conference on Arabidopsis Research, Vienna, Austria, 2012.7.3-7

4. Yui Yamashita, Yoshitomo Kadokura, Hitoshi Onouchi, and Satoshi Naito (Hokkaido Univ) Autonomously arrested ribosome and those stacked behind it are in different states during translation elongation arrest induced by *S*-adenosyl-L-methionine in Arabidopsis *CGS1* mRNA, 23rd International Conference on Arabidopsis Research, Vienna, Austria, 2012.7.3-7

5. Yui Yamashita, Yoshitomo Kadokura, Hitoshi Onouchi, and Satoshi Naito (Hokkaido Univ) Autonomously arrested ribosome and those stacked behind it are in different states during translation elongation arrest induced by *S*-adenosyl-L-methionine in Arabidopsis *CGS1* mRNA, Plant RNA Workshop, Vienna, Austria, 2012.7.8-9

6. 箱山雅生, Guilan Duan, 神谷岳洋, Fabien Lombardo, 横田圭祐, 三輪大樹, 佐藤修正, 田畑哲之, Zheng Chen, 渡部敏裕, 信濃卓郎, 林誠, 藤原徹（東京大学）ミヤコグサ *AtMOT1* 相同遺伝子の機能解析. 日本植物生理学会年会 京都産業大学 2012.3.16

7. 津坂 宜宏, 神谷 岳洋, 平井 優美, 藤原 徹（東京大学） シロイヌナズナにおけるモリブデン欠乏応答の解析. 日本植物生理学会年会 京都産業大学 2012.3.16

8. 金谷重彦(NAIST) KNApSAcK ファミリー:生物種-代謝物データベース(KNApSAcK Family)、第 34 回日本分子生物学会年会、神奈川、2011.12.

9. 池田俊(NAIST) Synonym codon usage bias analysis in pathogenic bacteria、第 34 回日本分子生物学会年会、神奈川、2011.12.

10. 竹本まり子、蝦名績、渡部峻、遠洞弥生、小山博彰、高橋広夫、内藤哲、尾之内均（北海道大学）シロイヌナズナにおけるペプチド配列依存的に翻訳を制御する uORF の探索と解析. 第 34 回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜 (横浜市)、2011.12.15

11. 金谷重彦(NAIST) KNApSAcK ファミリー:生物種-代謝物データベース(KNApSAcK Family)、漢方薬日中シンポジウム、奈良、2011.11

12. Yui Yamashita, Noriyuki Onoue, Hitoshi Onouchi, and Satoshi Naito (Hokkaido Univ.) Translation Arrest and CGS1 Nascent Peptide Compaction in Arabidopsis. The 16th Annual Meeting of the RNA Society, Kyoto International Conference Center (Kyoto), 2011. 6. 17

13. Isao Ebina, Shun Watanabe, Mariko Takemoto, Yayoi Endo, Hiroaki Koyama, Hiro Takahashi, Satoshi Naito, and Hitoshi Onouchi (Hokkaido Univ.) Identification of Regulatory Upstream Open Reading Frames in *Arabidopsis* that Control Translation of the Main Coding Sequence in an Amino Acid Sequence-Dependent Manner. The 16th Annual Meeting of the RNA Society, Kyoto International Conference Center (Kyoto), 2011. 6. 17

14. Masami Yokota Hirai, Kansuporn Sriyudthsak, Yuji Sawada, Yui Yamashita, Yukako Chiba, Hitoshi Onouchi, Satoshi Naito, Fumihide Shiraishi (RIKEN Plant Science Center) Validation of a new method for characterization and analysis of metabolic networks. The XII International Congress on Molecular Systems Biology, Lleida, Spain, 2011.5

15. Farit M Afendi, Sulistiyani, Aki Hirai, Md Altaf-Ul-Amin, Hiroki Takahashi, Kensuke Nakamura, and Shigehiko Kanaya (NAIST) Bootstrapping Jamu Dataset to Examine Assignment Consistency of Plants to Jamu Efficacy. The 2nd International Symposium on Temulawak, ボゴール, 2011.5

16. Farit Mochamad Afendi (NAIST) Bootstrapping Jamu Dataset to Examine Assignment Consistency of Plants to Jamu Efficacy.The 2nd International Symposium on Temulawak、インドネシア、2011.5.

17. 高橋弘喜、森岡涼子、伊藤遼佑、大島拓、小笠原直毅、金谷重彦 (NAIST) タイムラグを考慮した大腸菌統合オミックス解析, 第五回日本ゲノム微生物学会,宮城県仙台市, 2011.3

18. 森本拓也、高橋弘喜、影山泰、眞鍋憲二、志波優、荒勝俊、尾崎克也、吉川博文、中村健介、金谷重彦、小笠原直毅,枯草菌ゲノム縮小株の構築と特徴,,第五回日本ゲノム微生物学会,宮城県仙台市, 2011.3

19. Chumsakul Onuma、高橋弘喜、大島拓、菱本貴弘、小笠原直毅、石川周,ChAP-chip 解析、トランスクリプトーム解析から見えてきた AbrB/Abh の転写制御機構, 第五回日本ゲノム微生物学会, 宮城県仙台市, 2011.3

20. 川添 麻衣, 高橋 弘喜, 和田 眞昌, 平井 晶, 中村 建介, Md. Altaf-Ul-Amin, 金谷 重

彦(NAIST) オーソログ関係に基づく植物遺伝子の多様性. 第 33 回日本分子生物学会, 兵庫県神戸市, 2010.12

21. Shun Ikeda, Kensuke Nakamura, Takuya Morimoto, Takashi Abe, Toshimichi Ikemura, Naotake Ogasawara, Shigehiko Kanaya (NAIST) Whole genome Sequencing of reduced-genome Bucillus subtilius. 第 33 回日本分子生物学会, 兵庫県神戸市, 2010.12

22. Kensuke Nakamura, Shun Ikeda, Masaki Akiba, Hiroki Takahashi, Md Altaf-Ul-Amin, Aki Hirai, Shigehiko Kanaya, Takuya Morimoto, Taku Oshima and Naotake Ogasawara (NAIST) A New Mapping Tool for Short Read Sequences. 日本バイオインフォマティクス学会, 福岡県福岡市, 2010.12

23. Farit Mochamad Afendi, Latifah K. Darusmanz, Aki Hirai, Md. Altaf-Ul-Amin, Hiroki Takahashi, Kensuke Nakamura and Shigehiko Kanaya (NAIST) System Biology Approach for Elucidating the Relationship Between Indonesian Herbal Plants and the Efficacy of Jamu, 国際学会,2010 IEEE International Conference on Data Mining Workshops 14th - 17th December, Sydney, 2010.12

24. 平井優美、澤田有司、斉藤和季（理研植物科学研究センター）ワイドターゲットメタボロミクスによる植物代謝の解明. 第 33 回日本分子生物学会年会 第 83 回日本生化学会大会 合同年会（BMB2010）、神戸、2010.12.7-10

25. Masami Yokota Hirai (RIKEN Plant Science Center) Metabolomics-based Approach to Elucidation of Plant Metabolism, The 8th International Workshop on Sulfur Metabolism in Higher Plants, Australia, 2010.11.22-27

26. 井出曜子、藤原徹 (東京大学) Transcriptome and metabolome analysis of molybdenum deficiency responses in Arabidopsis thaliana, CREST シンポジウム, 東京, 2010.10.16

27. 藤田春佳、井出曜子、箱山雅生、藤原 徹(東京大学) シロイヌナズナのモリブデン輸送とモリブデンに対する応答, CRESTシンポジウム, 東京, 2010.10.21

28. 井出曜子、笠島一郎、平井優美、藤原徹（東京大学）シロイヌナズナのCPL1は硫黄欠乏応答の調節に関わっている. 日本土壌肥料学会 2010 年度北海道大会 札幌 2010.9.7

29. 藤田 春佳、戸松 創 、高橋 秀樹 、藤原 徹 (東京大学) シロイヌナズナの硫酸トランスポーターSULTR1;2 の Mo 吸収への寄与,日本土壌肥料学会 2010 年度北海道大会,札幌, 2010.9.7

30. Hiroki Takahashi, Takuya Morimoto, Naotake Ogasawara, Md. Altaf-Ul Amin and Shigehiko Kanaya (NAIST) Construction of an analytical platform of metabolomics by LTQ-Orbitrap: toward elucidation of cellular metabolome in Bacillus subtlis. GIM 2010 28th, メルボルン, 2010.7

31. 竹本まり子, 内山尚子, 蝦名績, 渡部峻, 内藤 哲, 尾之内均（北海道大学）シロイヌナズナの uORF にコードされるペプチドが関与する転写後制御機構の解析. 第 12 回日本 RNA 学会年会、東京、2010.7.28

32. 山下由衣,尾之内均, 内藤 哲（北海道大学）CGS1 遺伝子発現制御における翻訳伸長停止時のリボソーム出口トンネル内部の変化と新生ペプチドの二次構造形成. 第 12 回日本 RNA 学会年会、東京、2010.7.27

33. Kaori Matsuda, Md.Altaf-Ul-Amin, Kensuke Nakamura, Hiroki Takahashi, Daisaku Ohta, Shigehiko Kanaya (NAIST) InChI データを用いた代謝物質の構造的特徴の解析, CBRC2010（BiWO2010), 東京, 2010.7

34. Yuji Sawada et al. "Data resources and methodology for widely targeted metabolomics." Banff Conference on Plant Metabolism 2010, Banff, Canada, 2010. 6.24-28

35. 山下由衣, 尾上典之, 尾之内均, 内藤 哲（北海道大学）シロイヌナズナ *CGS1* mRNA の翻訳停止における新生ペプチドのフォールディングの解析. 第 10 回日本蛋白質科学会年会、札幌、2010.6.16-18

36. Yoko Ide, Miyako Kusano, Akira Oikawa, Atsushi Fukushima, Kazuki Saito, Toru Fujiwara and Masami Yokota Hirai (Univ. Tokyo) Graduate School of Agricultural and Life Sciences, the University of Tokyo,Transcriptome and metabolome analysis of molybdenum deficiency responses in Arabidopsis thaliana, CREST 植物代謝研究会, 京都, 2010.6.11

37. Doris Albinsky, Ayuko Kuwahara, Yuji Sawada, Mutsumi Nagano, Akiko Hirai, Yukiko Kamide, Kazuki Saito, Masami Yokota Hirai "Tackling the regulation of glucosinolate biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*". 21st International Conference on Arabidopsis Research, Yokohama, 2010.6.6-10

38. Takashi Osanai, Akira Oikawa, Miyuki Azuma, Kan Tanaka, Kazuki Saito, Masahiko Ikeuchi, Masami Yokota Hirai (RIKEN Plant Science Center) SigE is a global regulator controlling sugar catabolism of a unicellular cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC6803. 21st International Conference on Arabidopsis Research, Yokohama, 2010.6.6-10

39. Yuji Sawada, Fumio Matsuda, Yutaka Yamada, Mutsumi Nagano, Makoto Suzuki, Kazuki Saito, Masami Yokota Hirai (RIKEN Plant Science Center) Plant metabolomics: Widely targeted and un-targeted analysis. 21st International Conference on Arabidopsis Research, Yokohama, 2010.6.6-10

40. Yui Yamashita, Noriyuki Onoue, Hitoshi Onouchi, Satoshi Naito (Hokkaido Univ.) Folding of nascent peptide is important for translation arret in *Arabidopsis CGS1* mRNA. 21st International Conference on Arabidopsis Research, Yokohama, 2010.6.6-10

41. Yoko Ide, Ichiro Kasajima, Masami Yokota Hirai and Toru Fujiwara (Univ. Tokyo) CPL1 is involved in sulfur-deficiency response and tolerance in Arabidopsis thaliana, 21st International Conference on Arabidopsis Research, 横浜, 2010.6.6

42. Albinsky Doris, Ayuko Kuwahara, Yukiko Kamide , Yuji Sawada, Kazuki Saito, Masami Yokota Hirai (RIKEN Plant Science Center), Understanding glucosinolate biosynthesis by means of transcriptomics and metabolomics、第 32 回日本分子生物学会年会、横浜、2009.12.10

43. Mai Kawazoe, Hiroki Takahashi, Masayoshi Wada, Aki Hirai, Kensuke Nakamura, Md. Altaf-Ul-Amin, Shigehiko Kanaya (NAIST) Comparative Genomic Analysis of Unicellular to Seed Plants by Using Gene Functions of A.thaliana. GIW2009 The 20th International Conference on Genome Informatics, 横浜市, 2009.12

44. Kaori Matsuda, Md Altaf-Ul-Amin, Kensuke Nakamura, Hiroki Takahashi, Daisaku Ohta, Shigehiko Kanaya (NAIST) Applied Method of Extending Van Krevelen Diagrams for Exhaustive Analysis of Metabolites. GIW2009 The 20th International Conference on Genome Informatics, 横浜市, 2009.12

45. Masayuki Shojo, Akira Katoh, Tatsuhiko Ikeda, Yuka Ninomiya, Masatomo Sakurai, Tomoyuki Hayasaki, Toshihiko Hanawa, Hiroki Takahashi, Md. Altaf-Ul-Amin, Kyosuke Nomoto, Shigehiko Kanaya (NAIST) A statistical method of analyzing global gene expression data obtained from experiments using Japanese herbal medicine. GIW2009 The 20th International Conference on Genome Informatics, 横浜市, 2009.12

46. Kenichi Tanaka, Kensuke Nakamura, Tamio Saito, Hiroyuki Osada, Hiroki Takahashi, Aki Hirai, Shigehiko Kanaya, Md. Altaf-Ul-Amin (NAIST) Pathway Prediction Focusing on Inclusive Relation of Substructures. GIW2009 The 20th International Conference on Genome Informatics, 横浜市, 2009.12

47. Kozo Nishida, Hiroki Takahashi, Kensuke Nakamura, Md Altaf-Ul Amin, Shigehiko Kanaya (NAIST) Reconstruction and Analysis of Integrated Metabolic Reaction Network of Bacillus Subtilis. GIW2009 The 20th International Conference on Genome Informatics, 横浜市, 2009,12

48. Yuta Hamano, Kozo Nishida, Takuya Morimoto, Hiroki Takahashi, Md Altaf-Ul-Amin, Shigehiko Kanaya (NAIST) Elucidation of Metabolic Pathway under the Influence of Gene Regulatory Network. GIW2009 The 20th International Conference on Genome Informatics, 横浜市, 2009.12

49. Tatsuya Nosho, Ko Kato, Hiroki Takahashi, Md. Altaf-Ul-Amin, Shigehiko Kanaya (NAIST) A Method for Extracting Optimal Sequence Related to Biological Activity. GIW2009 The 20th International Conference on Genome Informatics, 横浜市, 2009.12

50. Kensuke Nakamura, Aki Hirai, Hiroki Takahashi, Md. Altaf-Ul-Amin, Shigehiko Kanaya (NAIST) MetalMine: a database of functional metal-ion-binding sites in proteins. GIW2009 The 20th International Conference on Genome Informatics, 横浜市, 2009.12

51. Kozo Nishida, Hiroki Takahashi, Kensuke Nakamura, Md. Altaf-Ul-Amin, Shigehiko Kanaya (NAIST) Reconstruction and analysis of integrated metabolic reaction network of Bacillus subtilis. GIW2009 The 20th International Conference on Genome Informatics, 横浜市, 2009.12

52. 蝦名績、渡部峻、内藤哲、尾之内均（北海道大学）シロイヌナズナにおける uORF にコードされるペプチドによる翻訳制御の探索、第 32 回日本分子生物学会年会、横浜、2009.12.11

53. 小松陽平、原口雄飛、門倉嘉知、尾之内均, 内藤哲（北海道大学）シロイヌナズナ *CGS1* 遺伝子の発現制御における mRNA 分解機構の解析、第 32 回日本分子生物学会年会、横浜、2009.12.12

54. 山下由衣、尾上典之、尾之内均、内藤哲（北海道大学）、新生ペプチドのフォールディングがシロイヌナズナ *CGS1* mRNA の翻訳停止に与える影響、第 32 回日本分子生物学会年会、横浜、2009.12.11

55. 藤田春佳 (東京大学) Roles of Sultr5;1(MOT2) and Sultr1;2 in Mo transport and distribution in Arabidopsis thaliana,8th Int'l Workshop "Sulfur Metabolism in Higher Plants. メルボルン, 2009.11.22

56. 井出曜子、草野都、及川彰、福島敦史、斉藤和季、平井優美、藤原徹 (東京大学) シロイヌナズナのモリブデン欠乏応答のメタボローム解析,メタボロームシンポジウム, 横浜, 2009.11.18

57. 松田かおり、Md.Altaf-Ul-Amin、中村建介、高橋弘喜、太田大策、金谷重彦（NAIST） 拡張 van Krevelen diagram による代謝物質の悉皆的解析. 第 4 回メタボロームシンポジウム、横浜、2009.11.18-19

58. 庄條昌之、加藤彰、池田達彦、二宮由佳、櫻井正智、早崎知幸、花輪壽彦、高橋弘喜、Md. Altaf-Ul-Amin、中村建介、野本享資、金谷重彦（NAIST） 和漢薬服用実験における遺伝子発現データの一統計解析法. 第 4 回メタボロームシンポジウム、横浜、2009.11.18-19

59. 濱野裕太、西田孝三、森本拓也、高橋弘喜、Md.Altaf-Ul-Amin、中村健介、金谷重彦（NAIST）遺伝子発現調節の影響下にある代謝経路の解明. 第 4 回メタボロームシンポジウム、横浜、2009.11.18-19

60. 西田孝三、高橋弘喜、Md.Altaf-Ul-Amin、中村健介、金谷重彦（NAIST） 枯草菌における代謝反応ネットワークの解析. 第 4 回メタボロームシンポジウム、横浜、2009.11.18-19

61. 澤田有司、松田史生、長野睦、鈴木実、斉藤和季、平井優美（理研、神大、千葉大院）、ワイドターゲット解析と非ターゲット解析の統合、第 4 回メタボロームシンポジウム、横浜、2009.11.18-19

62. Doris Albinsky, Ayuko Kuwahara, Yukiko Kamide, Yuji Sawada, Kazuki Saito, Masami Yokota Hirai (RIKEN Plant Science Center) Understanding glucosinolate biosynthesis by means of an omics-based approach、第 4 回メタボロームシンポジウム、横浜、2009.11.18-19

63. 井出曜子、草野都、及川彰、福島敦史、斉藤和季、平井優美、藤原徹（東京大学） シロイヌナズナのモリブデン欠乏応答のメタボローム解析、第 4 回メタボロームシンポジウム、横浜、2009.11.18-19

64. H. Takahashi, R. Morioka, K. Kai, D. Ohta, T. Oshima, M. Altaf-Ul-Amin, N. Ogasawara, S. Kanaya (NAIST) Gene-to-gene and gene-to-metabolite network analysis based on the time lag between gene and metabolite in Escherichia coli. Proka GENOMICS 2009, Goettingen, 2009.10

65. Kozo Nishida (NAIST) Reconstruction and visualization of the genetic and metabolic networks of Bacillus subtilis. PSC-MPI-Umea Univ. Joint Workshop on Plant Bioinformatics, ウーメオ, 2009.9

66. Noriyuki Onoue, Yoshimi Takehara, Yui Yamashita, Yuri Furuya, Hitoshi Onouchi, Satoshi Naito (Hokkaido Univ), Translation arrest by *CGS1* nascent peptide and *S*-adenosylmethionine in *Arabidopsis*, 21st IUBMB and 12th FAOBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, 上海, 2009.8.2-7

67. 尾上典之、古家由理、竹原好美、尾之内均、内藤 哲（北海道大学）リボソームの翻訳制御：シロイヌナズナ *CGS1* 遺伝子の新生ペプチドと *S*-アデノシルメチオニンによる翻訳伸長停止機構の解析、第 11 回日本 RNA 学会年会、新潟、2009.7.27-28

68. 西口達也、長谷川傑、中嶋一恵、室田勝功、尾之内均、内藤 哲（北海道大学）植物の翻訳アレストにおけるリボソーム exit トンネルの役割、第 11 回日本 RNA 学会年会、新潟、2009.7.27-28

69. Kaori Matsuda, Aki Hirai, Aziza Kawsar Parvin, Hiroko Asahi,Daisaku Ohta,Hiroki Takahashi, Kensuke Nakamura, Md.Altaf-Ul-Amin andShigehiko Kanaya (NAIST) Applied method of widening van Krevelen diagrams for exhaustive analysis of metabolites. 1st Australasian Symposium on Metabolomics, オークランド, 2009.7

70. Shigehiko Kanaya, Ken-ichi Tanaka, Hiroki Takahashi, Kaori Matsuda,Hiroko Asahi, Kensuke Nakamura, Aki Hirai, Md. Altaf-Ul Amin (NAIST) Species-metabolite relation database KNApSAcK: An approach to peak detection in GC-MS chromatograms to predict candidate metabolites. 1st Australasian Symposium on METABOLOMICS, オークランド, 2009.7

71. Hiroki Takahashi, Kosuke Kai, Daisaku Ohta, Taku Oshima, Kensuke Nakamura,Md. Altaf-Ul Amin, Naotake Ogasawara, and Shigehiko Kanaya (NAIST) lucidation of stage-specific metabolites in Escherichia coli by metabolomics approach based on FT-ICR/MS and bioinformatics. 1st Australasian Symposium on METABOLOMICS, オークランド, 2009.7

72. 山下由衣, 飯田篤史, 千葉由佳子, 尾之内均, 内藤哲（北海道大学） CGS1 の mRNA 分解に影響を与える温度感受性変異株の解析. 第 50 回日本植物生理学会年会, 名古屋, 2009. 3.22

73. 澤田有司、秋山顕治、長野睦、坂田あかね、桑原亜由子、大槻瞳、斉藤和季、櫻井哲也、平井優美（理研植物科学研究センター） 新規メタボロミクスプラットフォーム: 高感度、高速、広範囲測定への挑戦. 日本農芸化学会 2009 年度大会、福岡, 2009. 3. 27-29

74. 宮崎菜穂, 森宙史, 大島健志朗, 服部正平, 金谷重彦, 林哲也, 黒川顕 (NAIST) 16S rRNA 遺伝子を用いたヒト常在細菌フローラの多様性解析. 第 3 回日本ゲノム微生物学会, 東京, 2009.3

75. 伊藤世士洋, 森宙史, 服部正平, 金谷重彦, 林哲也, 黒川顕 (NAIST) ヒト腸内メタゲノムと既知の大腸菌ゲノムの比較解析. 第 3 回日本ゲノム微生物学会, 東京, 2009.3

76. Fabien Lombardo, Hiroki Miwa, Shusei Sato, Satoshi Tabata, Zheng Chen, Toshihiro Watanabe, Takuro Shinano, Toru Fujiwara (東京大学) A mutant of Lotus japanicus shows strong reduction in Molybdenum accumulation. 植物ストレス科学研究ネットワーク発足シンポジウム「ストレスと戦う 植物の戦略と次世代作物の作出」, 倉敷市, 2009.2.23

77. 井出曜子、及川彰、草野都、福島敦史、遠藤亮、南原英司、斉藤和季、平井優美、藤原 徹 (東京大学) シロイヌナズナのモリブデン欠乏応答のメタボローム、トランスクリプトーム解析. 植物ストレス科学研究ネットワーク発足シンポジウム「ストレスと戦う 植物の戦略と次世代作物の作出」 倉敷市, 2009.2.23

78. Kenichi Tanaka, Yoko Shinbo, Md Altaf-Ul-Amin, Aki Hirai, Hideaki Konno, Tamio Saito, Hiroyuki Osada, Shigehiko Kanaya (NAIST) MetClassifier: metabolite classification system based on structural and metabolic pathway information. 日本バイオインフォマティクス学会 2008, 大阪, 2008.12

79. Hiroki Takahashi, Ryoko Morioka, Kosuke Kai, Yoko Shinbo, Daisaku Ohta, Taku Oshima, Md. Altaf-Ul-Amin, Naotake Ogasawara, Shigehiko Kanaya (NAIST) Network analysis of gene-to-gene and gene-to-metabolite on the basis of the time lag between gene and metabolite,国際学会,日本バイオインフォマティクス学会 2008, 大阪, 2008.12

80. 阿部貴志, 金谷重彦, 池村淑道(NAIST) 一括学習型自己組織化地図法(Batch Learning Self-Organizing Map: BLSOM)による環境微生物ゲノム由来断片配列からの知識発見. BMB2008,兵庫, 2008.12

81. 澤田有司, 坂田あかね, 桑原亜由子, 大槻瞳, 金谷重彦, クラウスニッツァーロミー, 黒森崇, 小林正智, 鈴木あかね, 斉藤和季, 平井優美（理研植物科学研究センター） 大規模ターゲット代謝産物分析による植物代謝制御機構の解明. BMB2008, 兵庫, 2008.12

82. 阿部貴志, 池村淑道, 小原康雄, 上原啓史, 中泉友紀, 平野晋也, 木ノ内誠, 金谷重彦, 山田優子, 武藤晃, 井口八郎 (NAIST) エキスパートがキュレートした tRNA 遺伝子データベース. BMB2008, 兵庫, 2008.12

83. Ken Yamakura, Md.Altaf-Ul-Amin, Shigehiko Kanaya (NAIST) Genome Strategy for recognition sites of restriction enzymes. 日本バイオインフォマティクス学会 2008, 大阪, 2008.12

84. Masayoshi Wada,Md.Altaf-Ul-Amin,Aki Hirai,Yukiko Nakamura,Masami Yokota Hirai,Kazuki Saito,Atsushi Fukushima,Arita Masanori,Shigehiko Kanaya (NAIST) Analysis on Functional Relations of Co-Expressed Gene Pairs of Arabidopsis thaliana. 日本バイオインフォマティクス学会 2008, 大阪, 2008.12

85. Masayuki Shojo, Md.Altaf-Ul-Amin, Shigehiko Kanaya (NAIST) Detection of genes with statistically significant expression levelsbased on FDR: Comparison between normalized and non-normalized data. 日本バイオインフォマティクス学会 2008, 大阪, 2008.12

86. Kozo Nishida, Shigehiko Kanaya, Aki Hirai, Hiroko Asahi, Md Altaf-Ul-Amin (NAIST) Identifying gene regulatory networks from experimental data using bipartite graph. 日本バイオインフォマティクス学会 2008, 大阪, 2008.12

87. Kozo Nishida, Hiroshi Mori, Hideki Noguchi, Takeaki Taniguchi, Yoshitoshi Ogura, Masahira Hattori, Tomomi Kuwahara, Takehiko Itoh, Tetsuya Hayashi, Shigehiko Kanaya, Ken Kurokawa (NAIST) Functional variation analysis of human gut metagenomic data. METAGENOMICS 2008, カリフォルニア, 2008.11

88. 飯田篤史、尾之内均、内藤哲（北海道大学）シロイヌナズナのシスタチオニン γ-シンターゼ mRNA 分解制御の温度感受性欠損変異体の単離と解析. 日本植物学会第 72 回大会. 高知、2008. 9. 25

89. Yuji Sawada, Shigehiko Kanaya, Takashi Kuromori, Kazuki Saito and Masami Yokota Hirai (RIKEN Plant Science Center) Automated metabolomics for large-scale bioresource of Arabidopsis. Banff Conference on Plant Metabolism 2008, Banff, 2008. 7. 30-8. 3

90. Yuji Sawada, Akira Oikawa, Fumio Matsuda, Shigehiko Kanaya, Akane Suzuki, Akane Sakata, Kazuki Saito and Masami Yokota Hirai (RIKEN Plant Science Center) Metabolic systems of methionine-derived glucosinolate in Arabidopsis. 19th International Conference on Arabidopsis Research, Montreal, 2008. 7. 23-27

91. Yuji Sawada, Akira Oikawa, Fumio Matsuda, Shigehiko Kanaya, Akane Suzuki, Akane Sakata, Kazuki Saito, Masami Yokota Hirai (RIKEN Plant Science Center) Metabolic engineering of methionine-derived glucosinolate in Arabidopsis. 5th International Conference on Plant Metabolomics, Yokohama, 2008. 7.15-18

92. Masayoshi Wada, Md.Altaf-Ul-Amin, Aki Hirai, Yukiko Nakamura, Masami Yokota Hirai, Kazuki Saito, Atsushi Fukushima, Masanori Arita, Daisuke Shibata, Shigehiko Kanaya (NAIST) Analysis on functional relations of co-expressed gene pairs of Arabidopsis thaliana. 5th International Conference on Plant Metabolomics, 神奈川, 2008.7

93. Takashi Oishi, Takuya Hashimoto, Tatsuhiko Ikeda, Takeshi Bamba, Md.Altaf-Ul-Amin, Eiichiro Fukusaki and Shigehiko Kanaya (NAIST) Peak detection algorithm based on correlation of the intensity in neighbor peaks in retention time of chromatography mass spectrometry. 5th

International Conference on Plant Metabolomics, 神奈川, 2008.7

94. Yukio Nakagawa, Masayoshi Wada, Aki Hirai, Yoko Shinbo, Md.Altaf-Ul-Amin, Masami Yokota Hirai, Masanori Arita, Kazuki Saito, Shigehiko Kanaya (NAIST) Diversity of arabidopsis thaliana genes homologous with essential genes in unicellular secies. 5th International Conference on Plant Metabolomics, 神奈川, 2008.7

95. Shigehiko Kanaya, Ken-ichi Tanaka, Yoko Shinbo, Md.Altaf-Ul-Amin,Hiroko Asahi, Atsushi Fukushima, Aki Hirai, Kazuki Saito, Daisaku Ohta, Daisuke Shibata (NAIST) Estimation methodology of substrate-product pairs based on reaction rules of enzymes using KNApSAcK DB. 5th International Conference on Plant Metabolomics, 神奈川, 2008.7

96. 山倉健 (NAIST) Genome Strategy for recognition sites of restriction enzymes. 16th Annual International Conference Intelligent Systems for Molecular Biology, トロント, 2008.7

97. 西田孝三 (NAIST) Graph-based clustering of heterogeneous genome-wide datasets for the prediction of regulatory networks. 16th Annual International Conference Intelligent Systems for Molecular Biology, トロント, 2008.7

98. Hiroki Takahashi, Yoko Shinbo, Md.Altaf-Ul-Amin, Ken Kurokawa, Shigehiko Kanaya (NAIST) Metabolomics approach for determining growth-specific metabolites based on Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. 8th International Conference on Chemical Structures, Noordwijkerhout, 2008.6

99. 井出曜子、藤原徹（東京大学） フェレドキシン依存性グルタミン酸合成酵素は硫黄欠乏応答に重要である. 第 49 回日本植物生理学会年会、札幌、2008.3.20-22

100. 長谷川傑，中嶋一恵，室田勝功，尾上典之，尾之内均，内藤哲（北海道大学）シスタチオニン γ-シンターゼ遺伝子の転写後制御機構:リボソーム出口トンネルの関与，第 49 回日本植物生理学会年会，札幌，2008.3.21

101. Hiroki Takahashi, Kosuke Kai, Yoko Shinbo, Daisaku Ohta, Taku Oshima, Kenichi Tanaka, Md.Altaf-Ul Amin, Ken Kurokawa, Naotake Ogasawara and Shigehiko Kanaya (NAIST) Elucidation of stage-specific metabolites in Escherichia coli based on FT-ICR/MS and bioinformatics. The Sixth Asia Pacific Bioinformatics Conference, 京都, 2008.1

102. Masayoshi Wada,Kensaku Nishikata, Md.Altaf-Ul-Amin,Hiroko Asahi,Yoko Shinbo, Ken Kurokawa,Shigehiko Kanaya (NAIST) Functional units determined by integrated analysis based on protein-protein interaction and co-expression data in Arabidopsis thaliana. The Sixth Asia Pacific Bioinformatics Conference, 京都, 2008.1

103. Kozo Nishida, Md-Altaf-Ul Amin, Hirokazu Kobayashi, Hiroko Asahi, Ken Kurokawa and Shigehiko Kanaya (NAIST) Graph-based clustering of heterogeneous genome-wide datasets for the inference of global regulatory networks. The Sixth Asia Pacific Bioinformatics Conference, 京都, 2008.1

104. 金谷重彦(NAIST) 生物種−代謝物関係データベース:KNApSKcK. 第 25 回バイオテクノロジーシンポジウム, 東京, 2007.11

105. 田中健一, 真保陽子, Md.Altaf-Ul-Amin, 旭弘子, 黒川顕, 有田正規, 時松敏明 ,金谷重彦(NAIST) 構造情報に基づいたメタボライト分類支援システムの開発. 第30回情報化学討論会, 京都, 2007.11

106. Kozo Nishida, Md.Altaf-Ul-Amin, Hirokazu Kobayashi, Hiroko Asahi, Ken Kurokawa, Shigehiko Kanaya (NAIST) Inference of global regulatory networks from the large scale expression data of Bacillus subtilis. 第7回国際ゲノム会議, 東京, 2007.11

107. Hiroshi Mori, Kazuhiro Sakurai,Yoko Shinbo, Md.Altaf-Ul-Amin, Naotake Ogasawara, Ken Kurokawa, and Shigehiko Kanaya (NAIST) Sequence conservation of 16S rRNA gene copies. 第7回国際ゲノム会議, 東京, 2007.11

(4)知財出願

①国内出願 (7 件)

1. スケジューリング装置、スケジューリング方法、スケジューリングプログラム、記録媒体、および質量分析システム・澤田 有司, 平井 優美・(独)理化学研究所・2010-04-28・特願 2010-104563
2. メチオニン由来グルコシノレート及びメチオニンの蓄積量が制御された植物及びその作出方法・平井 優美, 澤田 有司, 斉藤 和季・(独)理化学研究所・2008-07-15・特願 2008-183655
3. Myb29遺伝子を用いる、グルコシノレート類化合物の組成比が変化した植物体のスクリーニング方法・平井 優美, 澤田 有司, 峠 隆之, 斉藤 和季, 西澤 治, 荒木 良一・(独)理化学研究所, キリンホールディングス株式会社・2008-03-31・特願 2008-090578
4. 金谷重彦,奈良中小企業センター 特願 2008-073821,2008
5. 金谷重彦,特願 2009-181805「当帰芍薬散の評価方法およびその評価用マーカー遺伝子の同定方法」
6. 金谷重彦,特願 2009-190179
7. 植物における環境ストレスによる翻訳抑制を回避させる特定配列及びその予測方法(2009/08),2009

②海外出願 (1 件)

1. US12/948001, Scheduling device, scheduling method, scheduling program, storage medium, and mass spectrometry system・Yuji Sawada, Masami Hirai・RIKEN・2010-11-17・USA

(5)受賞・報道等

①受賞

2012 年 6 月 金谷重彦 日本植物細胞分子生物学会報 2012 年 6 月号 2012 年度学会賞論文賞受賞
"Metabolomic characterization of the possible involvement of a Cytochrome P450, CYP81F4, in the biosynthesis of indolic glucosinolate in Arabidopsis,2012"

2009 年 9 月 藤原徹 日本土壌肥料学会賞 「植物の必須微量元素輸送体の同定と機能解析」

2008 年 3 月 藤原徹 日本学術振興会賞 「植物におけるホウ素輸送体の発見」

2008 年 3 月 藤原徹 日本学士院学術奨励賞 「植物におけるホウ素輸送体の発見」

②マスコミ(新聞・TV等)報道

奈良先端科学技術大学院大学

平成 24 年 5 月 29 日　毎日新聞朝刊，金谷重彦
メタボローム全般についての先駆的研究として新聞で取り上げられた。

平成 24 年 6 月 27 日　健康食品新聞（週刊）　金谷重彦
植物と食品におけるメタボローム・データについての先駆的 DB として、本プロジェクトで開発した DB ならびに関連データベースについて新聞で取り上げられた。

平成 23 年　6 月　9 日　奈良新聞　朝刊
同　6 月　9 日　日本経済新聞　夕刊
同　6 月　9 日　化学工業日報　朝刊
同　9 月 15 日　日刊工業新聞

理化学研究所

平成 22 年 8 月 18 日　プレス発表
「メタボローム解析を用いて生命維持機能（頑健性）の仕組みを解明 - 生命維機能は、重複遺伝子と複雑なネットワーク構造による相補が必須 -」

平成 25 年 1 月 10 日　プレス発表
「複雑な代謝反応ネットワークを実測データだけから推定する手法を開発 －未知の代謝経路を理論的に探索することが可能に－」

平成 25 年 1 月 17 日　プレス発表
「硫黄を含んだ代謝物を網羅的に解析する「S-オミクス」を確立 －タマネギを用いた測定で「S-オミクス」の有用性を実証－」

東京大学

平成　年11月30日　科学新聞「モリブデン輸送体シロイヌナズナから単離」
平成　年11月30日　日本経済新聞「不良土壌で育つ植物　東大、遺伝子改変で成功」
平成19年11月30日　朝日新聞「高濃度のホウ酸めげず育つ植物　東大チーム遺伝子特定」
平成19年11月30日　日経産業新聞「ホウ素過剰な土壌でも育つ植物を開発」
平成19年12月7日　科学新聞「高濃度のホウ酸に耐性シロイヌナズナ作出成功」
平成19年12月9日　読売新聞「ホウ素に強い植物　東大チーム作製」
平成20年1月6日　毎日新聞「乾燥地域で作物増産も　東大など強ホウ酸土壌での生育に成功」
平成22年3月2日　日刊工業新聞朝刊24面「ホウ素、リレー式で運搬」
平成22年3月2日　日経産業新聞朝刊11面「栄養分吸収たんぱく質　土触れる部分に偏在」
平成22年3月4日　Yomiuri Online　科学面「植物が細胞から細胞へ栄養運ぶ仕組みを解明」
平成23年12月13日　日本農業新聞　「カドミ吸収半減-稲の関連遺伝子発見」
平成24年5月26日　読売新聞「米のセシウム吸収　品種で差」

§6 研究期間中の活動（主なワークショップ、シンポジウム、アウトリーチ等の活動）

年月日	名称	場所	参加人数	概要
H20.6.16	公開勉強会	理化学研究所	24 人	欄外※1
H20.7.17	JST・CREST 国際ワークショップ	パシフィコ横浜 アネックスホール	150 人	欄外※2
H20.12.8	公開勉強会	理化学研究所	40 人	欄外※3
H21.5.14	白石文秀博士セミナー	理化学研究所	20 人	バイオケミカルシステム理論の紹介
H21.11. 18-19	第 4 回メタボロームシンポジウム（理研 PSC 主催 、JST CREST ・ JST BIRD 共催）CREST ポスターセッション	横浜サイエンスフロンティア高校	270 人	第 4 回メタボロームシンポジウム内で、CREST ポスターコーナーを設けた （三村徹郎チームと共同）
H22.6.9	JST・CREST 国際セッション	パシフィコ横浜	400 人	JST 国際強化支援策のサポートにより、「代謝」領域の研究代表者である柳澤修一博士（東大）、三村徹郎博士（神戸大）と 3 人でオーガナイザーとなり、CREST セッション「代謝とシステム生物学」を開催した（第 21 回国際植シロイヌナズナ研究会議内の concurrent session として）。研究代表者の研究報告と、これに関連する4名の国際的に著名な代謝研究者の招待講演を行った。
H22.6.10- 11	CREST 植物代謝研究会	キャンパスプラザ京都	20 人	CREST 参加研究室の主に若手によるポスター発表17件と、招待演者 Last 博士（ミシガン州立大学）、の Kopriva 博士（ジョン・イネスセンター）の講演
H24.3.25	日本農芸化学会 2012 年度大会シンポジウム「ゲノムスケールの数理モデリングに基づく代謝システムの理解とデザイン」（CREST 共催）	京都女子大学	50 人	シンポジスト5名による数理モデリングに関する講演を行った。

※1
アミノ酸代謝に関する優れた研究を行っている研究者を招聘してセミナーを開催し、チームメンバーの知識の共通基盤を作った。
講演者:

山田哲也博士(北大)「高等植物における芳香族アミノ酸生合成経路の解明とその利用」
木村毅博士(味の素)「メタボロームサブセットとしての生体内アミノ酸濃度の有用性 」

※2
JST 国際強化支援策のサポートにより、「代謝」領域の研究代表者である柳澤修一博士(東大)、三村徹郎博士(神戸大)と3 人でオーガナイザーとなり、CREST ワークショップ「植物代謝とその制御」を開催した(第5回国際植物メタボロミクス会議内の concurrent workshop として)。研究代表者各々の研究報告と、これに関連する3名の国際的に著名な代謝研究者の招待講演を行った。
講演者:
Masami Yokota Hirai
'Omics-based approach to primary and secondary metabolism in Arabidopsis'
Tetsuro Mimura, Miwa Ohnishi, Aya Anegawa, et al.
'Post genome analysis of vacuolar function and control of plant metabolism'
Shuichi Yanagisawa
'Transcriptome, proteome and metabolome analyses for coordination mechanisms of essential element assimilations'
Sang-Dong Yoo, Young-Hee Cho, et al. (Harvard Medical School, USA)
'Glucose & energy signaling networks in plants'
Daniel J. Kliebenstein (University of California, Davis, USA)
'Quantitative systems biology illuminates regulatory cross-communication between the transcriptome and metabolome'
Enrico Martinoia (University of Zurich, Switzerland)
'The role of the vacuole in solute accumulation and its impact in metabolite distribution'

※3
生態ゲノム学の分野でユニークな研究を行っている研究者を招聘してセミナーを開催した。データ解析手法について情報交換するのと同時に、今後の共同研究についてディスカッションした。
講演者:
森長真一博士(九大)
「低地から高地へ:生態ゲノム学で探るシロイヌナズナ属野生植物の環境適応と分化」

§7 結び

プロジェクトのまとめに向けて、先ごろ、CREST に採択された際の申請書を改めて読み返した。自画自賛ではあるが、正直なところ、課題提案の時からほとんどぶれることなく研究を進めることができたと思っている。その一方で、代謝産物の絶対定量値を一斉分析で得ることが想像以上に困難であったこと、申請書で提案した(が、予算減額のために計画を取り下げた)オルガネラ別のメタボロミクスが世界的に見てもほとんど進展を見なかったことなど、現時点でのメタボロミクス技術の限界も痛感させられた。しかし、メタボロミクスを生物学研究のツールとしてさらに利用するためにはこれらの解決が必要であると考えており、今後の検討課題としたい。

4 年半ほど前、「CREST で活躍する女性研究者たち」からのメッセージとして、以下のコメントを掲載していただいた。

> 「・・・ 設定した研究課題は我ながらチャレンジングなものであり、またサポートの大きさに重責を感じつつも、自分のプロジェクトを持たせて頂いた喜びは大きく、研究を楽しむことが結局は成果にもつながっていくのではないかと思っています。」

チーム内外の研究者の方々との密なディスカッションの機会を設け、勉強させていただくのは、まさに楽しいことであった。大型の研究費であることから、「自分の」質量分析器を導入でき、またグループの研究員の多大な努力と苦労によって、生物学者が(比較的)使いやすいメタボロミクス技術を開発できたのは、たいへんありがたいことである。

最後に、当課題を採択してencourageしてくださった鈴木前領域総括、 研究に対するご助言をくださった西島領域総括をはじめとする領域アドバイザーの先生方、事務手続きなどさまざまなサポートをしてくださった CREST「代謝」領域の関係者のみなさまに心より感謝いたします。

左の写真
ワイドターゲットメタボローム分析で使う UPLC-TQMS
(Waterss社製)

次ページの写真
(上)チーム内ミーティングの様子
左から金谷、藤原、尾之内、右から二人目が平井。
H23.2.11 於・鶴岡

(下)三村チームとの合同報告会にて
晩遅くまでのディスカッションの後、西島先生を囲んで。
H24.2.10 於・鶴岡

2012/02/10 22:23