

Dynamic Metabolomics for Exploring a Novel View of Metabolic Network: from Development of High-throughput Techniques to Correlation Network Analysis

行平, 大地

<https://doi.org/10.15017/1441324>

出版情報：九州大学, 2013, 博士（農学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：全文ファイル公表済



氏 名 : 行平 大地

論文題目 : Dynamic Metabolomics for Exploring a Novel View of Metabolic Network: from Development of High-throughput Techniques to Correlation Network Analysis
(代謝ネットワークに関する新規観点の獲得を目指した動的メタボロミクス :
ハイスループット技術の開発から相関ネットワーク解析まで)

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

【背景】生物において代謝物は遺伝情報の物質的な最終表現型と捉えることができ、代謝物量の動態を網羅的に解析するメタボロミクスはポストゲノミクス研究の重要な一角として認識されるようになった。特に近年では生命システムの動的な特性を理解するという観点から時間分解メタボロミクスのアプローチが注目されている。

【研究要旨 1】現在のところ、時間分解メタボロミクスの技術的課題として多数の時系列サンプルを実用的に分析可能なハイスループットな代謝物分析系と時系列データの解析手法の二点が挙げられる。しかしながら、代謝物分析の網羅性・定量性を追求した技術開発に比べ、サンプル調製を含めたスループット性には多くの課題が残されたままであった。本研究では微生物細胞内代謝物分析を想定し、マトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析装置 (MALDI-MS) を用いたハイスループット代謝物分析系を構築した。本手法は生育状態にある細胞を 1 ステップにてサンプル化するという簡便な処理で分析が実施可能であることに加え、より *in vivo* に近いメタボローム分析を可能とした。

【研究要旨 2】本手法の応用として、栄養環境変動を与えた直後数分内における大腸菌細胞内のメタボロームの摂動を追跡した。代謝物量の相関解析を動的メタボロームデータに適用することで、大腸菌の代謝経路における代謝バランスは環境変動後 1~2 分程度で定常となり、変動後数分間のブランクがあるとされる遺伝子発現変動の開始に先立つ様子が観察された。

【研究要旨 3】動的相関解析を応用し、代謝バランスを基準として大腸菌が多様な栄養環境を感知している可能性について検討した。大腸菌に 10 種の基質を与え、栄養刺激応答的な代謝物量の変動や代謝物相関ネットワークを比較した。基質の物質種グループに特異的な代謝バランス変動から、代謝経路の初期制御が行われている可能性のある経路を見出した。

【研究要旨 4】ひとつのマトリックスにより検出可能な分子種は限られており、検出目的物質に応じたマトリックスの分子構造最適化技術が重大な課題である。そこで本研究では MALDI-MS による代謝物分析の可用性をさらに拡大させることを目指し、マトリックス分子のデザイン戦略について検討を行った。MALDI 法におけるマトリックス分子と代謝物分子との構造的関連を「計算的に予測可能な」理解を目指し、イオン化の可否やイオン収率に影響を与える化学構造的要因を定量的構造物性相関 (QSPR) の手法によりモデル化した。まず 200 種の代謝物について MALDI-MS 分析によりイオン化の可否を評価し、その結果について代謝物の物性指標よりモデルを構築したところ、代謝物分子の水素結合強度および負電荷表面積がイオン化の可否を決定づける傾向が示された。また、分子骨格の形状あるいは柔軟性がマトリックス分子との相性を生み出している可能性が示された。さらに 9-AA の誘導体や類似体 50 種をマトリックスとして用いてモデルを構築した結果、代謝物分子の水素結合強度とマトリックス分子の疎水性が相助作用をもたらす可能性が示唆された。