

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

論文題名：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視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)

論文審査の結果の要旨

代謝物が遺伝情報の物質的な最終表現型であることから、生命システムの動的特性を理解するという観点より、時間分解メタボロミクスが注目されている。そ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スループット性の高い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ていた。そこで本研究では、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) のスループット性に注目し、代謝物分析系への適用とその評価を行った。

まず、微生物細胞内代謝物分析を想定し、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から抽出工程を経ることなく短時間でサンプル化するという簡便な手法であることに加え、*in vivo* に近いメタボローム分析を定量的に行うことを可能とした新規技術である。これにより、分析時間を従来法と比較して、数十分の一以下にすることに成功した。また、MALDI-MS による代謝物分析法の拡張性を考えた場合、検出標的物質に応じたマトリックスの分子構造最適化が重要な課題となる。そこで、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」プロセスとすることを目指し、イオン化の可否やイオン化効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法により検討した。代謝物分析によく用いる 9-アミノアクリジンの誘導体等 50 種 (合成品) をマトリックスとし、200 種の代謝物について二重モデルを構築した結果、代謝物分子間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ことが示された。

本分析手法の応用として、飢餓状態においた大腸菌に一過的にグルコースを投与し、直後数分内における細胞内のメタボロームを秒オーダーで追跡した。代謝物量の相関解析を動的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摂動後 1~2 分程度で定常状態となり、摂動後数分間のブランクがあるとされる遺伝子発現摂動の開始に先立つ様子が観察された。さらに、この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ところ、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。代謝物量変動時期のずれといった時間変動情報とネットワーク解析法を組み合わせることで、既存の代謝経路や機能分子に関する知識から単純には類推できない代謝システムの動態について新規な知見が獲得可能であることを示した。

以上要するに、本研究は、これまでにない時間分解メタボロミクス技術を開発し、大腸菌の生命現象を解明するための手法として用いたものであり、システム生物学および微生物学の発展に寄与する価値ある業績と認める。よって、本研究者は博士 (農学) の学位を得る資格を有するものと認める。