九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

[032]九州大学生体防御医学研究所年報 : 2017年

https://hdl.handle.net/2324/2195867

出版情報：九州大学生体防御医学研究所年報. 32, pp.1-, 2018. Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University
バージョン：
権利関係：

トランスオミクス医学研究センター

Research Center for Transomics Medicine

ゲノミクス分野
Division of Genomics

准　教　授：柴田　弘紀
Associate Professor：Hiroki Shibata, Ph.D.

当研究室では，疾病や適応進化と深い関わりを持つ遺伝的多様性の解析を行うことにより，遺伝情報制御機構や分子進化の観点から生命現象を理解することを目指している．疾患原因遺伝子変異の同定のみならず，発症機序解明を目指した動物モデルによる遺伝子変異機能解析，及び新規診断法・治療法開発を目指したゲノム・エピゲノム疫学研究を展開している．また非モデル生物のゲノム解析として，さらに近年は，潰瘍性大腸炎のメタゲノム解析や古人骨のゲノム解析にも着手している．

Ａ．神経疾患の分子基盤の解明

ａ．遺伝性運動感覚ニューロパチーの解析

久留米大学で見出された遺伝性運動感覚ニューロパチーの家系において，エクソーム解析を用いることにより，責任変異の同定を行った．発症者である父親と息子，非発症である母親の３人に対してエクソームシークエンスを行った．常染色体優性遺伝を想定して発症者が共有しているヘテロ接合の SNV（Single nucleotide variant）を 24,755 個同定した．これまでニューロパチーとの関連が知られている 89 個の遺伝子セットについて検索した結果，*GNB4*（guanine nucleotide-binding protein, beta-4）遺伝子内に新規の非同義変異（Q220R）を見出した．この変異は，WD40 ドメイン内の非常に保存性の高い領域に位置し，Polyphen-2 によりタンパク質の機能に大きな影響を及ぼすと予測された．このアレルは，北部九州健常者 1000 アレルのサンガーシークエンスでは見出されなかった．*GNB4* の変異に起因するニューR おパチーは，優性遺伝性 Charcot-Marie-Tooth 病Ｆ型（CMTDIF）と分子診断され，日本で初めての報告となった（Miura et al 2017）．

ｂ．Rippling muscle を伴う家族性ミオパチーの解析

波紋筋病 Rippling muscle disease (RMD)は，打撃誘発による急速な筋収縮，筋肉全体に渡る波紋等の症状を特徴とする筋疾患であり，責任遺伝子として *CAV3* 及び *PTRF* のみが報告されている．本研究では，国立病院機構大牟田病院で見出された常染色体優性と想定される Rippling muscle 症状を伴うミオパチー家系（Familial myopathy with rippling muscle movement (FMRM)）の遺伝解析を行なった．まず家系内患者由来の筋肉組織を用いた免疫染色を行った結果，通常は筋膜に一様に見られる CAV3 タンパク質の染色が，パッチ状に変化していることが確認された．しかし，*CAV3* および *PTRF* の遺伝子配

列に変異が確認できなかったことから，FMRM は新規な遺伝子座の変異による疾患であると考え責任遺伝子変異の探索を行った．連鎖解析の結果，7 つの染色体にわたる 12 の領域に中程度の連鎖を見出した（LOD ＞ 1.0）．また，エクソーム解析で患者特異的な SNV を 14,779 個取得し，上記連鎖領域の情報とタンパク質機能への影響に着目した絞込みを行った結果，第 11 染色体上の USP47 のエクソン 22 に位置する非同義置換（R1065W）を同定した．1000G や ExAC などの公的 db で極めて稀な SNV であることを確認したのち，北部九州健常者 511 人を用いたサンガーシークエンスを行い，疾患家系の地域集団でも極めて頻度の低い変異であることを確認した．さらに，患者の筋肉組織から抽出した RNA をシークエンス解析し，発現変動する遺伝子を 8,114 個同定した．このうち 2 倍以上の発現上昇を示す 2,959 個の遺伝子を用いて，Gene Set Enrichment Analysis を行ったところ，筋収縮関連の多くのタームとともに，″protein ubiquitination″が上位のタームとして確認できた．USP47 遺伝子は，ユビキチン特異的ペプチダーゼをコードし，プロテアソーム系に関与することが知られている．FMRM 類似の筋疾患である肢帯筋ジストロフィーでは，変異型 CAV3 タンパク質がユビキチン化及びプロテアソーム分解を受けることや，プロテアソーム阻害剤によって CAV3 タンパク質の機能が改善されるという報告などと合わせて，USP47 の非同義置換（R1065W）が FMRM 発症の責任遺伝子変異であることが強く示唆された．

B．ゲノム・エピゲノム疫学研究

a．抹消血と不死化細胞株でのエピゲノム状態の比較解析

ヒト集団を対照とするゲノム研究では，検体から採取した一次試料はしばしば貴重であるため，EB ウイルスによって不死化された LCL が代用試料としてしばしば用いられる．しかし，エピゲノム研究においても LCL が一次試料の代用となりうるかは明確になっていなかった．そこで，一次試料である PBC（192 名分）と LCL（92 名分）についてアレイによるエピゲノム解析を行ない，全検体についてメチル化状態を正確に測定できた約 40 万箇所を選択した．それらを解析した結果，LCL においてメチル化状態の全般的な低下を確認した．また，メチル化状態が LCL で変動している領域は，CpG アイランドの外側に位置している傾向を見出した．同じく，転写開始点から遠ざかるほど，LCL でのメチル化状態が変動している傾向を見出した．さらに，プロモーターとの相関を見たところ，CpG の含有が低いプロモーター領域において，特にメチル化状態が変動していることを見出した．加えて，先行研究で年齢に相関してメチル化状態が上昇することが知られていたサイトでは，LCL では年齢とメチル化状態の相関が失われてしまっていることが確認できた．以上のことから，LCL のメチル化状態は必ずしも一次試料のメチル化状態を反映していないと結論した（Taniguchi et al 2017）．

ｂ．加齢のエピジェネティックバイオマーカー同定と疾病罹患との関連に関する研究

ヒト一般住民集団 480 名より得た末梢血由来 DNA とイルミナメチレーションアレイを用いたエピゲノムワイド関連解析（EWAS）を行ない，年齢と有意に相関してメチレーションレベルの変化する CpG サイトを 22 個同定した．22 個のうち，成人病発症の疾患感受性遺伝子としても報告のあった 4 遺伝子（*ELOVL2*, *KLF14*, *FHL2*, *TRIM59*）に注目し，マウスを用いてさらに年齢，肥満，糖尿病とメチル化レベルの関係を解析した．4 遺伝子のうち，*Elovl2* と *Klf14* でのみヒトと同様の年齢と相関したメチル化レベルの上昇がマウスでも確認できた．*Klf14* ではさらに，メチル化レベルの上昇にともなって遺伝子発現量が有意に減少することが，脾臓，脂肪組織，抹消血などが観察できた．肥満マウスおよび糖尿病モデルマウスにおいても，同様の *Klf14* のメチル化レベルの有意な上昇が観察された．*Klf14* は転写因子であり，メチル化レベルの上昇にともなって下流の遺伝子群の発現低下と炎症メディエーターの発現上昇を引き起こすことも示された．さらに肥満マウスで観察された *Klf14* のメチル化レベル上昇は，高脂肪食から低脂肪食への食事改善による体重増加の停止に引き続いて，通常レベルまで減少することも示された．本研究で見出された *KLF14* 遺伝子領域における DNA メチル化レベル変化は，抹消血でも検出が可能であるため，加齢や糖尿病さらには脂肪組織の炎症状態を反映するエピジェネティックバイオマーカーとしての可能性が示され，肥満型糖尿病を始めとする生活習慣病とエピゲノム変化との関連を理解するための重要な情報を提供すると考えられた（Iwaya et al, in press）．

Ｃ．毒生物のオミクス解析

生物毒は，生理活性物質の新たな創薬シーズとして，近年大変注目を浴びている．当研究室では，日本独自の創薬シーズ開発を目指して日本固有の毒蛇ハブ（*Protobothrops flavoviridis*）を対象に，次世代シークエンサを用いたオミクス解析及び遺伝的多様性の解析を行っている．

ａ．ハブの全ゲノム配列決定による毒液関連遺伝子群の解析

(1) 奄美ハブの遺伝子モデル作製

昨年度までの研究で完成した奄美ハブのゲノムドラフト配列（HabAm1）の遺伝子モデルを作製した．そこから得られた合計 324 個の毒液関連遺伝子セットは，24 の遺伝子族に分類された．また，アミノ酸配列にもとづいた系統樹解析により，73 個の毒液構成タンパク質遺伝子（SV）と 251 個の非毒型パラログ（NV）に弁別できた．重複遺伝子の構成は遺伝子族間でかなり異なっているが，おおむね以下の 3 つのカテゴリに分類することができた．

カテゴリ I：1 コピーの SV と少数コピーの NV（1〜11）からなる.
カテゴリ II：2-6 コピーの SV と少数コピーの NV（2〜10）からなる.
カテゴリ III：10 コピー以上の SV と多数コピーの NV（31〜59）からなる.
毒液の主要構成成分である金属プロテアーゼ，セリンプロテアーゼ，ホスホリパーゼ A2，C 型レクチンの 4 遺伝子族（= カテゴリ III）は，毒液遺伝子コピーと非毒型パラログともに高度に多重化していた．それ以外の毒液遺伝子では毒型遺伝子 1 コピーと非毒型パラログ 2〜10 コピーであり，脊椎動物の初期進化過程で起きた 2 回のゲノム重複の後に 1 コピーが毒液機能を獲得したことが示唆された（論文リバイス中）.

(2) ハブ毒液関連タンパク質の分子進化学的解析

奄美ハブゲノムドラフト HabAm1 から同定された毒液関連遺伝子について，遺伝子族ごとに進化速度（厳密にはコピー間の分化の速度（K_a/K_s））の比較を行なった．その結果，カテゴリ III の毒液タンパク質遺伝子群（SV）においてのみ顕著な加速的進化が観察された（図 1）．またカテゴリ II も加速進化の傾向が見られた．それに対してそれぞれの非

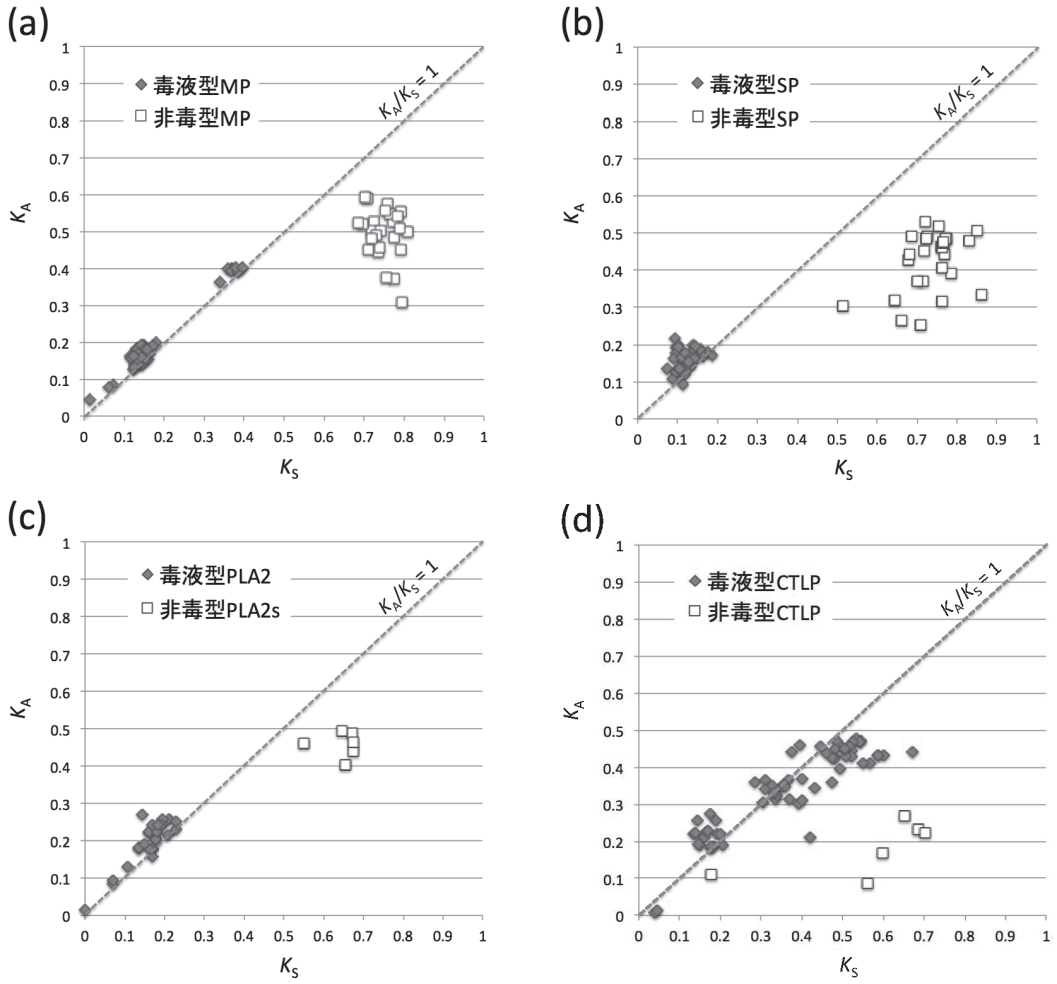

図1：毒液関連遺伝子の進化速度（K_A/K_S）の比較.
(a) MP（金属プロテアーゼ）; (b) SP（セリンプロテアーゼ）; (c) PLA2（ホスホリパーゼA2）; (d) CTLP（C型レクチン）.

毒型パラログ群では加速進化は見られなかった．我々はすでにこれまでの解析で，毒液関連遺伝子群が微小染色体に濃縮していることを見出しており，毒液関連遺伝子群の加速進化に，微小染色体の特異な構造が関与している可能性が示唆された（論文リバイス中）．

b．近縁種ハブの全ゲノム比較解析

以前の我々のミトコンドリアゲノム DNA などの解析（Shibata et al 2016）から，奄美諸島の個体群と，沖縄諸島の個体群が大きく遺伝的に分化していることがわかっている．これを受けて，沖縄島産ハブの全ゲノム解析を行なった．イルミナ HiSeq2500 により，ショットガンリードを 363 Gb を取得し（シークエンス深度 202x 相当），さらに 6 種類の異なった断片長のメイトペアリードを合計 153 Gb を取得した．Platanus ソフトウェア v1.2.1 を用いて得られたリードのアセンブリを行ったところ，断片数，N50 長ともに既存の奄美ハブゲノムアセンブリ（HabAm1）を凌ぐクオリティであることが確認できたため，これを沖縄ハブゲノムアセンブリ（HabOk1）とした（表 1）．合わせて BUSCO v2.0 による解析で，HabOk1 は脊椎動物のコア遺伝子セットの 98%以上を含む完全性の高いアセンブリであること確認した（表 2）．さらに，Augustus ソフトウェアを用いて，HabOk1 から遺伝子モデルの構築（全遺伝子セットの推定）を行った．その結果，タンパク質をコードする遺伝子を 20,613 個検出した．これらから予想されるアミノ酸配列の相同性検索を行い，16,986 個については，既知のタンパク質との関連性によりアノテーションをすることができた．現在これらの遺伝子セットから毒遺伝子セットの抽出を進めている．

表1: 沖縄ハブと奄美ハブのスキャッフォールディングの成績

種	アセンブリ種別	アセンブリ名	断片数	アセンブリ全長	平均断片長	N50長
沖縄ハブ	コンティグ	ー	80,951	1.38 Gb	17.1 kb	33.8 kb
沖縄ハブ	スキャッフォールド	HabOk1	2,413	1.44 Gb	596.6 kb	5.5 Mb
奄美ハブ	スキャッフォールド	HabAm1	84,502	1.41 Gb	16.7 kb	467 kb

表2: ゲノムアセンブリの完全性の評価

BUSCO結果*	奄美ハブ HabAm1	沖縄ハブ HabOk1
完全に含まれていたコア遺伝子数	216 (92.70%)	223 (95.71%)
部分的に含まれていたコア遺伝子数	226 (97.00%)	230 (98.71%)
見つからなかったコア遺伝子数	7 (3.00%)	3 (1.29%)

*コア遺伝子233個をクエリにした。

業績目録

原著論文

1. Hirano A, Umeno J, Okamoto Y, Shibata H, Ogura Y, Moriyama T, Torisu T, Fujioka S, Fuyuno Y, Kawarabayashi Y, Matsumoto T, Kitazono T, Esaki M. 2018.
   A comparison of the microbial community structure between inflamed and non-inflamed sites in patients with ulcerative colitis.
   J Gastroenterol Hepatol. In press.
2. Yamaji F, Soeda A, Shibata H, Morikawa T, Suzuki K, Yoshida S, Ogura S. 2018.
   A new mutation of congenital methemoglobinemia exacerbated after methylene blue treatment.
   Acute Med Surg. 5: 199-201.
3. Iwaya C, Kitajima H, Yamamoto K, Maeda Y, Sonoda Y, Shibata H, Inoguchi T. 2018.
   DNA methylation of the Klf14 gene region on whole blood provide prediction for the chronic inflammation at the adipose tissue.
   Biochem Biophys Res Commun. 497: 908-915.
4. Fujioka R, Miura S, Yamada K, Shibata H. 2018.
   Genetic analysis of a sporadic case with spinocerebellar ataxia type6 (SCA6).
   Bulletin of Beppu Univ JC. 37: 87-91.
5. Shibata H, Sakata S, Hirano Y, Nitasaka E, Sakabe A. 2017.
   Facultative parthenogenesis validated by DNA analyses in the green anaconda (*Eunectes murinus*).
   PLoS ONE 12(12): e0189654.
6. Miura S, Morikawa T, Fujioka R, Noda K, Kosaka K, Taniwaki T, Shibata H. 2017.
   A novel missense variation (Q220R) of GNB4 encoding a guanine nucleotide-binding protein, beta-4 in a Japanese autosomal dominant motor and sensory neuropathy family.
   Eur J Med Genet. 60(9): 474-478.
7. Taniguchi I, Iwaya C, Ohnaka K, Shibata H, Ken Yamamoto K. 2017.
   Genome-wide DNA methylation analysis reveals hypomethylation in the low-CpG promoter regions in lymphoblastoid cell lines.
   Hum Genomics. 11:8.
8. Romero V, Hosomichi K, Nakaoka H, Shibata H, Inoue I. 2017.
   Structural comparison and evolution of filaggrin gene within primates.
   BMC Evol Biol. 17(1):10.

学会発表

1. 小川智久, 千々岩崇仁, 小田-上田直子, 中村仁美, 服部正策, 松原和純, 松田洋一, 森一樹, 田代康介, 久原哲, 山崎慎一, 藤江学, 後藤大輝, 小柳亮, 竹内猛, 服巻保幸, 大野素徳, 将口栄一. 久田香奈子, 佐藤矩行, 柴田弘紀 (2017/12/06-09).
   ハブゲノム解読により明らかになった毒関連遺伝子の進化.
   第 40 回日本分子生物学会年会, 神戸ポートアイランド, 神戸.
2. 土生津光, 齋藤浩唯, 柴田弘紀, 大野素徳, 服部正策, 松井崇, 田中良和, 村本光二, 小川智久 (2017/12/06-09).
   ハブゲノム解読から見出された新規 Three-finger toxins の発現と機能解析.
   第 40 回日本分子生物学会年会, 神戸ポートアイランド, 神戸.
3. 岩谷千寿, 柴田弘紀, 山本健, 北島秀俊, 前田泰孝, 園田紀之, 小川佳宏, 井口登與志 (2017/12/06-09).
   末梢血における *KLF14* 遺伝子領域の DNA メチル化は 2 型糖尿病の発症を予測しうる.
   第 40 回日本分子生物学会年会, 神戸ポートアイランド, 神戸.
4. 岩西修造, 財津 将平, 柴田弘紀, 仁田坂英二 (2017/12/06-09).
   「岩国のシロヘビ」アルビノ変異原因遺伝子の同定.
   第 40 回日本分子生物学会年会, 神戸ポートアイランド, 神戸.
5. 稲丸賢人, 千々岩崇仁, 柴田弘紀, 服巻保幸, 服部正策, 大野素徳 (2017/12/06-09).
   SSP をコードする新規遺伝子の発見と SSP 遺伝子の獲得過程の考察.
   第 40 回日本分子生物学会年会, 神戸ポートアイランド, 神戸.
6. 青木浩介, 荒畑創, 古谷博和, 柴田弘紀 (2017/12/06-09).
   エクソーム解析及び連鎖解析を用いた Rippling muscle disease (RMD)における新規責任遺伝子変異の同定.
   第 40 回日本分子生物学会年会, 神戸ポートアイランド, 神戸.
7. 森川拓弥, 三浦史郎, 大石裕晃, 藤岡竜太, 森山耕成, 小坂健悟, 下條智史, 柴田弘紀 (2017/12/06-09).
   DDHD1 の新規責任変異の同定と CRISPR/Cas9 による Ddhd1 ノックアウトマウスの作成.
   第 40 回日本分子生物学会年会, 神戸ポートアイランド, 神戸.
8. 小坂健悟, 三浦史郎, 下條智史, 長田周治, 森川拓弥, 藤岡竜太, 野村拓夫, 谷脇考恭, 柴田弘紀 (2017/12/06-09).
   常染色体優性遺伝運動性ニューロパチー家系で同定した *TDRKH* 内の新規非同義変異.
   第 40 回日本分子生物学会年会, 神戸ポートアイランド, 神戸.
9. 岩西修造, 財津将平,柴田弘紀, 仁田坂英二 (2017/11/25-26).
   アオダイショウにおけるアルビノ変異体の遺伝子解析 :「岩国のシロヘビ」のアルビノ変異原因遺伝子の同定.

日本爬虫両棲類学会第 56 回大会, 熊本大学, 熊本.

10. 岩谷千寿, 北島秀俊,山本健,前田泰孝, 園田紀之, 柴田弘紀, 井口登與志 (2017/11/15-18).
EWAS 研究で得られた *KLF14* 遺伝子領域のエピゲノム変化は脂肪組織の炎症と相関する.
日本人類遺伝学会第 62 回大会, 神戸国際会議場, 神戸.

11. 小坂健悟, 三浦史郎, 下條智史, 長田周治, 森川拓弥, 藤岡竜太, 野村拓夫, 谷脇考恭, 柴田弘紀 (2017/11/15-18).
常染色体優性遺伝運動性ニューロパチー家系で同定した *TDRKH* 内の新規非同義変異.
日本人類遺伝学会第 62 回大会, 神戸国際会議場, 神戸.

12. 森川拓弥, 三浦史郎, 大石裕晃, 藤岡竜太, 小坂健悟, 下條智史, 森山耕成, 柴田弘紀 (2017/11/15-18).
DDHD1 の新規責任変異の同定とノックアウトマウスの作成.
日本人類遺伝学会第 62 回大会, 神戸国際会議場, 神戸.

13. 小金渕佳江, 覚張隆史, 武島弘彦, 笠木聡, 佐藤丈寛, 田嶋敦, 柴田弘紀, 小川元之, 太田博樹 (2017/11/3-5).
古代ゲノム解析への応用に向けた BAC ダブルキャプチャー法の検討.
第 71 回日本人類学会大会, 東京大学本郷キャンパス, 東京.

14. Koganebuchi K, Gakuhari T, Kasagi S, Sato T, Tajima A, Shibata H, Ogawa M, Oota H (2017/10/31).
An attempt of a new method, “BAC-double capture,” for applying to ancient genome analysis.
U. of Ryukyus & OIST Joint Symposium 2017, OIST, Okinawa.

15. Kosaka K, Miura S, Shimojo T, Nagata S, Morikawa T, Fujioka R, Nomura T, Taniwaki T, Shibata H (2017/10/17-21).
Heterozygous missense variant in *TDRKH* encoding tudor and KH domain-containing protein associated with autosomal dominant motor neuropathy.
67th Annual Meeting of The American Society of Human Genetics, Orlando, FL.

16. Furuya H, Arahata H, Furuta K, Shibata H, Fuji N. (2017/10/15-17).
A case of familial Rippling muscle disease showing mosaic pattern of caveolin-3 in muscle biopsy suggesting an immunologic mechanism.
American Neurological Association’s (ANA) 2017 Annual Meeting, San Diego, CA.

17. 小坂健悟, 三浦史郎, 下條智史, 長田周治, 森川拓弥, 藤岡竜太, 野村拓夫, 谷脇考恭, 柴田弘紀 (2017/9/14-16).
常染色体優性遺伝運動性ニューロパチー家系で同定した TDRKH 内の新規非同義変異.
日本遺伝学会第 89 回大会, 岡山大学津島キャンパス, 岡山.

18. 森川拓弥, 三浦史郎, 藤岡竜太, 野田和人, 小坂健悟, 谷脇孝恭, 柴田弘紀 (2017/9/14-16).
Charcot-Marie-Tooth 病における *GNB4* 内の新規ミスセンス変異の同定.
日本遺伝学会第 89 回大会, 岡山大学津島キャンパス, 岡山.

19. 岩西修造, 財津将平, 柴田弘紀, 仁田坂英二 (2017/9/14-16).
「岩国のシロヘビ」のアルビノ変異遺伝子の同定.
日本遺伝学会第 89 回大会, 岡山大学津島キャンパス, 岡山.
20. Iwaya C, Yamamoto K, Maeda Y, Sonoda N, Shibata H, Inoguchi (2017/09/11-15).
Investigate of epigenetic biomarkers for pre-type 2 diabetes.
53rd Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes, Lisbon, Portugal.
21. 岩谷千寿, 柴田弘紀, 山本健, 北島秀俊, 池田陽介, 前田泰孝, 園田紀之, 小川佳宏, 井口登與志 (2017/08/19).
肥満マウスにおける *Klf14* 遺伝子領域のエピゲノム変化と炎症との関連.
日本肥満学会第 22 回アディポサイエンス・シンポジウム, 千里ライフサイエンスセンター, 大阪府豊中市.
22. Iwaya C, Kimura Y, Ikeda Y, Kitajima H, Yamamoto K, Shibata H, Maeda Y, Sonoda N, Ogawa Y, Inoguchi T (2017/06/09-13).
The relation between epigenome changes of *Klf14* region and chronic inflammation in obese mice.
American Diabetes Association, the 77th Scientific Sessions, San Diego, CA.
23. Miura S, Morikawa T, Fujioka R, Noda K, Kosaka K, Taniwaki T, Shibata H (2017/05/27-30).
A novel missense variation (Q220R) of *GNB4* encoding a guanine nucleotide-binding protein, beta-4 in a Japanese neuropathy family.
The European Human Genetics Conference 2017, Copenhagen, Denmark.
24. 覚張隆史, Ryan Schmidt, 佐藤丈寛, 松前ひろみ, Martin Sikora, Korneliussen Sand Thorfinn, Peter Damgaard, 埴原恒彦, 小川元之, 木村亮介, 石田肇, 設楽博己, 山田康弘, 柴田弘紀, 田嶋敦, Eske Willerslev, 太田博樹 (2017/05/22-24).
縄文時代人骨の古代ゲノム解析～3000 年前の劣化 DNA をいかにして読むか～.
NGS 現場の会 第五回研究会, 仙台国際センター, 仙台.
25. 岩谷千寿, 木村裕佳, 池田陽介, 山本健, 北島秀俊, 柴田弘紀, 前田泰孝, 園田紀之, 小川佳宏, 井口登與志 (2017/05/18-20).
脂肪細胞における *KLF14* 遺伝子のエピゲノム変化-加齢と肥満糖尿病における変化.
第 60 回日本糖尿病学会年次学術総会, 名古屋国際会議場, 名古屋.
26. 岩谷千寿, 木村裕佳, 池田陽介, 山本健, 北島秀俊, 柴田弘紀, 前田泰孝, 園田紀之, 小川佳宏, 井口登與志 (2017/04/20-22).
脂肪細胞における *KLF14* 遺伝子の DNA メチル化変化が及ぼす炎症性変化.
第 90 回日本内分泌学会学術総会, ロームシアター京都, 京都.

エピゲノミクス分野

Division of Epigenomics

教　授：佐々木　裕之

Professor：Hiroyuki Sasaki, M.D., Ph.D.

当分野はトランスオミクス医学研究センターの設置に伴い，平成 25 年 4 月に開設された．平成 29 年度もエピゲノム制御学分野の主幹教授・佐々木裕之が担当教員として兼任し，研究・教育を実施した．

エピゲノミクス分野では疾患における細胞の質的変化をエピゲノムの観点から理解することを目指し，3 台の高速 DNA シーケンサーを用いてエピゲノム解析（WGBS, mRNA-seq, ChIP-seq, small RNA-seq）を行っているほか，国際ヒトエピゲノムコンソーシアム（IHEC）の一員としてエピゲノム解読を進め，進化医学の観点からも研究を展開した．また，学内外の研究室との共同研究を積極的に行い，エピゲノム解析を支援した．最終的に，他のオミクス情報と合わせた横断的・統合的な研究を展開し，様々な病気を克服することを目指している．

具体的な研究成果は，エピゲノム制御学分野のＡ，Ｂ，Ｄ，Ｆ，Ｇを参照．

業績目録

原著論文

1. Ohta, H., Kurimoto, K., Okamoto, I., Nakamura, T., Yabuta, Y., Miyauchi, H., Yamamoto, T., Okuno, Y., Hagiwara, M., Shirane, K., Sasaki, H. & Saitou, M. 2017.
   In vitro expansion of mouse primordial germ cell-like cells recapitulates an epigenetic blank slate.
   EMBO J. 36, 1888-1907.
2. Fukuda, K., Inoguchi, Y., Ichiyanagi, K., Ichiyanagi, T., Go, Y., Nagano, M., Yanagawa, Y., Takaesu, N., Ohkawa, Y., Imai, H. & Sasaki, H. 2017.
   Evolution of the sperm methylome of primates is associated with retrotransposon insertions and genome instability.
   Hum. Mol. Genet. 26, 3508-3519.
3. Inoue, K., Ichiyanagi, K., Fukuda, K., Glinka, M. & Sasaki, H. 2017.
   Switching of dominant retrotransposon silencing strategies from posttranscriptional to transcriptional mechanisms during male germ-cell development in mice.
   PLoS Genet. 13, e1006926.

4. Maenohara, S., Unoki, M., Toh, H., Ohishi, H., Sharif, J., Koseki, H. & Sasaki, H. 2017.
   Role of UHRF1 in de novo DNA methylation in oocytes and maintenance methylation in preimplantation embryos.
   PLoS Genet. 13, e1007042.
5. Shimosuga, K., Fukuda, K., Sasaki, H. & Ichiyanagi, K. 2017.
   Locus-specific hypomethylation of the mouse IAP retrotransposon is associated with transcription factor-binding sites.
   Mobile DNA 8, 20.
6. Suzuki, A., Kawano, S., Mituyama, T., Suyama, M., Kanai, Y., Shirahige, K., Sasaki, H., Tokunaga, K., Tsuchihara, K., Sugano, S., Nakai, K. & Suzuki, Y. 2018.
   DBTSS/DBKERO for integrated analysis of transcriptional regulation.
   Nucl. Acids Res. 46, D229-D238.
7. Okae, H., Toh, H., Sato, T., Hiura, H., Takahashi, S., Shirane, K., Kabayama, Y., Suyama, M., Sasaki, H. & Arima, T. 2018.
   Derivation of human trophoblast stem cells.
   Cell Stem Cell 22, 50-63.

学会発表（口頭発表）

1. 佐々木裕之 (2017.5.17) 招待講演
   エピジェネティクスと細胞記憶と疾患
   ゲノム創薬・医療フォーラム（第 7 回談話会）東京
2. 阿部周策，石内崇士，佐々木裕之 (2017.6.7-9)
   ヒストン修飾の機能解明-conditional knock-in mouse をもちいて-
   新学術領域合同若手勉強会 2017，和歌山
3. 木部加奈子，白根健次郎，大石裕晃，佐々木裕之 (2017.6.7-9)
   マウスの発生における Dnmt3a PWWP ドメインの機能解析
   新学術領域合同若手勉強会 2017，和歌山
4. Shirane, K., Kurimoto, K., Hayashi, K., Saitou, M., Sasaki, H. (2017.7.13-16) 招待講演
   Global landscape and regulatory principles of DNA methylation reprogramming during germ cell specification in vitro
   The 50th Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction, Washington, US
5. Ishiuchi, T. , Sato, T., Ohishi, H., Suyama, M., Sasaki, H.(2017.10.31-11.1)
   Epigenetic barrier screen identifies a regulator for extraembryonic development
   The 27th Hot Spring Harbor International Symposium 2017, Fukuoka
6. Sasaki, H. (2017.11.6-8) 招待講演

Epigenetic events in mammalian germ cell development
France-Japan Epigenetics Workshop-2017: Chromatin and methylation mechanisms in development and disease, Paris, France

7. 佐々木裕之 (2017.12.6-9) 招待講演
哺乳類の個体発生を支える卵子エピ遺伝学因子へのトランスオミクスアプローチ
第 40 回日本分子生物学会年会 2017 年度生命科学系学会合同年次大会（ConBio2017），神戸

8. 佐々木裕之 (2017.12.15) 招待講演
エピジェネティクスと個体発生と疾患： 予測と偶然の科学
第 2 回 生体調節研究所 内分泌代謝学 共同利用共同研究拠点 若手研究者育成プログラムセミナー，前橋

9. Ishiuchi, T. , Ohishi, H., Sato, T., Suyama, M., Sasaki, H. (2018.1.11-12) 招待講演
Epigenetic barrier screen identifies a regulator for extraembryonic development
KEY Forum: Stem Cell Traits and Developmental Systems, Kumamoto

10. 佐々木裕之 (2018.2.1) 招待講演
エピジェネティクスと発生と疾患
文部科学省共同利用・共同研究事業 徳島大学先端酵素学研究所シンポジウム「医学研究のインパクトと健康長寿社会への貢献」，徳島

11. Sasaki, H. (2018.2.20) 基調講演，招待講演
Strategy and Serendipity in Science
第 10 回ルドウィグボルツマンフォーラム，東京

12. 佐々木裕之 (2018.3.3) 特別講演，招待講演
エピジェネティクスと細胞記憶と疾患
第 34 回大分大学眼科研究会，大分

トランスクリプトミクス分野

Division of Transcriptomics

教　授：大川　恭行
Professor：Yasuyuki Ohkawa, Ph.D.

当分野は平成 28 年 1 月より発足し,原田哲仁助教，前原一満助教の 2 名，特任助教 1 名,学術研究員 1 名,博士課程学生 3 名，修士課程学生 2 名，テクニカルスタッフ 4 名,秘書 1 名の計 14 名により研究活動を展開している.

当分野はトランスクリプトミクスにより遺伝子発現を定量,定性の両面から網羅的に解析することで生体防御システムの解明に貢献することを目指している.特に高速シークエンサーを用いた全遺伝子転写量測定,ゲノムワイドな転写制御解析およびその技術開発を行っている．現在は，骨格筋分化等の細胞分化をモデルとして，遺伝子が転写可能になるクロマチン構造（クロマチンコード）の解明を行っている．今後も本分野は,トランスクリプトームの測定およびその成立機序を体系的に解析し,ゲノムと他のオミクス解析を繋ぐハブとして，トランスオミクス研究を担うことを目指していく.

Ａ．クロマチンコードの解明：コードを形成する分子の網羅的同定とその機能解析

DNA とヒストンの複合体であるヌクレオソームが連なって形成されるクロマチン構造は,ヒストンの翻訳後修飾やヒストンバリアント(ヒストン亜種)の取り込みによる動的な構造変換によって転写因子のプロモーター領域への結合を規定し,分化や発生の局面に応じたゲノム情報の取捨選択，つまり選択的な遺伝子発現の足場となっている．ヒストンの翻訳後修飾が活発に研究されている一方で,ヒストンバリアントの選択機序は未だ明らかとなっていない.その大きな原因はゲノムにコードされているヒストン遺伝子の全容が明らかでなかったことによる．ヒストン遺伝子は，パラログ間の相同性が極めて高く，ヒトゲノム計画が終了し 15 年が経過した現段階においても，いまだ解析が滞っている．我々は 2015 年に，コンピュータを用いた新規手法により未知ヒストンバリアント遺伝子の網羅的探索に成功し，マウスゲノムに存在する未知のヒストン H3 様のバリアント遺伝子を 14 種同定した．以降，新たに同定したヒストン H3 バリアントが構成するクロマチン構造が,遺伝子発現をどのように制御しているのか解明を進めている.昨年度では精巣特異的ヒストンバリアント H3t の解析を展開し,新規ヒストン H3t は精子形成の特定の時期に発現し,元々ゲノムに取り込まれていた H3 と置き換わり,精子固有のクロマチン構造を形成すること,またこの構造が精子形成に不可欠であること明らかにした．本年度はさらに,骨格筋幹細胞特異的なヒストン H3mm7 について解析を行っ

た．1 細胞 RNAseq 技術を用いた解析により H3mm7 は静止期骨格筋サテライト細胞に発現し分化に伴い発現が低下することを発見した．そこで,H3mm7 ノックアウトマウスを作出し，その表現型を解析したところ骨格筋再生不全を示した．そこで，H3mm7 の機能を解析するため各種エピゲノム解析を行った結果,H3mm7 は活性化クロマチン構造形成，とくに弛緩したクロマチン構造形成に寄与していることが明らかとなった．X 線結晶構造解析の結果，この弛緩したクロマチン構造は不安定なヌクレオソームの構造に起因していた．これらの結果から,H3mm7 は骨格筋再生過程において,特定の時期に発現し機能するヒストンであると考えられた(Harada A et al., Nature Communications, In press)．すなわち,ヒストンバリアントは,各々の組織に特徴的な転写状態をもたらす働きを持つことが示唆された．そこで現在，様々な組織において特異的に機能するヒストンバリアントを継続して解析中である．

B．クロマチンコードの解明：コードを認識する分子の機能解析

我々は，クロマチンコードを認識する分子の同定を通じて，転写における各コードの機能解明を進めている．特に，特定のヒストン修飾とヒストンバリアントを認識して，クロマチン構造を変化させ転写制御を行う ATP 依存的なクロマチンリモデリング酵素分子(SWI/SNF ファミリー)に着目して解析を進めている．現在 SWI/SNF ファミリーの中でも特に，Chd ファミリーの解析を行っている．これまでに我々は Chd2 が転写因子やヒストン H3 バリアント H3.3 と結合し転写制御を行うことで，骨格筋分化を制御することを明らかにした．そこで様々な分化系での機能を明らかにするため，初期発生における Chd2 の機能を解析した．マウス ES 細胞株を用いて Chd2 遺伝子破壊株(Chd2KO)を樹立し表現型を解析した．結果，Chd2KO 細胞では，増殖段階では野生型と比較してトランスクリプトームと形態に大きな差異がないにも関わらず，分化能を失っていた．エピゲノム解析の結果，Chd2 が分化後発現する遺伝子周囲に転写因子 Oct3/4 と結合し，クロマチン構造を特定のパターンに変化させることを明らかにした．このことから，マウス ES 細胞株において Chd2 が転写誘導前からクロマチン構造を支配することで細胞分化を制御していることが示唆された（Semba Y et al., Nucleic Acids Research 2017）．本研究では，トランスクリプトーム解析とゲノムワイドなクロマチン構造解析を複合したトランスクリプトミクス解析を進めた．

C．トランスクリプトミクス解析

各種トランスクリプトミクス解析についても精力的に行っている．本年度特に取り組んだ課題は RNA 修飾である．現在 N^6-methyladenosine(m^6A)は，哺乳類の mRNA に最も広く認められる修飾で，近年 mRNA のスプライシングや翻訳，安定性に関与する等多様な役割が明らかになりつつある．一方で，m^6A の機能については未だ議論が多く，統一の

見解は得られていない．本研究では m^6A を含む RNA を骨格筋前駆細胞より生化学的に分画し，NGS による網羅的な配列決定を行った．これにより，増殖期にある骨格筋前駆細胞では RNA の m^6A 修飾を介して RNA の安定化を行っていることを明らかにした．特に骨格筋分化のマスター遺伝子 MyoD の mRNA レベルを維持することで，骨格筋分化能を保持することを報告した（Kudo et al Open Biol. 2017）．今後，トランスクリプトミクスにおいても修飾 RNA を踏まえた解析が重要性を増すと考えている．クロマチンにおけるヒストンのバリアント・化学修飾やタンパク質結合および立体的配置を含む局所的構造（パターン）が遺伝子の転写制御とどのような対応関係にあるか，次世代シークエンサーにより取得したゲノムワイドデータから，数理科学的手法を応用した対応規則の抽出による理解を試みている．本年度は早稲田大学との共同研究により，ヒストンの六量体と八量体の組み合わせから構成される特殊なヌクレオソーム（Overlapping dinucleosome）の機能解明を行った（Kato et al., Science, 2017）．そのなかで我々は，*in vivo* における Overlapping dinucleosome のゲノム上の配置を MNase-seq により評価する手法を確立した．

D．トランスクリプトミクス技術開発

本年度も protein coding gene を中心に，特に微量検体を用いたトランスクリプトミクス解析を進めた（Kajitani et al., PNAS, 2017; Shimaji et al., Scientific Reports, 2017）．今後は，1 細胞レベルの解析がより普及していくことと考えられる．本分野においても Drop-Seq, CEL-Seq2 の既存の手法による解析を行った（Harada A et al., Nature Communications, In press, Hara M et al., Nature Medicine, 2017 他）．またハイスループットな独自解析手法の解析を進めている．現在，今後多様化するトランスクリプトミクス解析に対応すべく新たな技術開発として，従来の転写因子，クロマチンリモデリング因子に加えて，新たに RNA, DNA 等の修飾核酸認識型特異的モノクローナル抗体の作成と単一細胞レベルでのエピゲノムプロファイリング技術の開発を進めている．単一細胞レベルのエピゲノムプロファイリングについては九州大学を代表として特許出願中であり，発表準備を進めている．

業績目録

原著論文

1. Harada A, Maehara K, Ono Y, Taguchi H, Yoshioka K, Kitajima Y, Xie Y, Sato Y, Iwasaki T, Nogami J, Okada S, Komatsu T, Semba Y, Takemoto T, Kimura H, Kurumizaka H, *Ohkawa Y. 2018. Histone H3.3 sub-variant H3mm7 is required for normal skeletal muscle regeneration. ***Nat Commun.*** in press

2. Takizawa Y, Tanaka H, Machida S, Koyama M, Maehara K, Ohkawa Y, Wade PA, Wolf M, Kurumizaka H. 2018.
Cryo-EM structure of the nucleosome containing the ALB1 enhancer DNA sequence.
Open Biol. 8(3). pii: 170255.
3. Noda T, Meas SJ, Nogami J, Amemiya Y, Uchi R, Ohkawa Y, Nishimura K, Dabdoub A. 2018.
Direct Reprogramming of Spiral Ganglion Non-neuronal Cells into Neurons: Toward Ameliorating Sensorineural Hearing Loss by Gene Therapy.
Front Cell Dev Biol. 6:16.
4. Kondo Y, Higa S, Iwasaki T, Matsumoto T, Maehara K, Harada A, Baba Y, Fujita M, *Ohkawa Y. 2018.
Sensitive detection of fluorescence in western blotting by merging images.
PLoS One. 13(1):e0191532.
5. Ueda M, Sato T, Ohkawa Y, Inoue YH. 2018.
Identification of miR-305, a microRNA that promotes aging, and its target mRNAs in Drosophila.
Genes Cells. 23(2):80-93.
6. Kajitani T, Kato H, Chikashige Y, Tsutsumi C, Hiraoka Y, Kimura H, Ohkawa Y, Obuse C, Hermand D, Murakami Y. 2017.
Ser7 of RNAPII-CTD facilitates heterochromatin formation by linking ncRNA to RNAi.
Proc Natl Acad Sci U S A. 114(52):E11208-E11217.
7. Shimaji K, Tanaka R, Maeda T, Ozaki M, Yoshida H, Ohkawa Y, Sato T, Suyama M, Yamaguchi M. 2017.
Histone methyltransferase G9a is a key regulator of the starvation-induced behaviors in Drosophila melanogaster.
Sci Rep. 7(1):14763.
8. Harada A, *Ohkawa Y, *Imbalzano AN. 2017.
Temporal regulation of chromatin during myoblast differentiation.
Semin Cell Dev Biol. 72:77-86.
9. Sasaki F, Koga T, Saeki K, Okuno T, Kazuno S, Fujimura T, Ohkawa Y, Yokomizo T. 2017.
Biochemical and immunological characterization of a novel monoclonal antibody against mouse leukotriene B4 receptor 1.
PLoS One. 12(9):e0185133.
10. Kudou K, Komatsu T, Nogami J, Maehara K, Harada A, Saeki H, Oki E, Maehara Y, *Ohkawa Y. 2017.
The requirement of Mettl3-promoted MyoD mRNA maintenance in proliferative myoblasts for skeletal muscle differentiation.

Open Biol. 7(9). pii: 170119.

11. Adachi Y, Umeda M, Kawazoe A, Sato T, Ohkawa Y, Kitajima S, Izawa S, Sagami I, Taketani S. 2017. The novel heme-dependent inducible protein, SRRD regulates heme biosynthesis and circadian rhythms.
Arch Biochem Biophys. 631:19-29.
12. Yuda J, Miyamoto T, Odawara J, Ohkawa Y, Semba Y, Hayashi M, Miyamura K, Tanimoto M, Yamamoto K, Taniwaki M, Akashi K. 2017.
Persistent detection of alternatively spliced BCR-ABL variant results in a failure to achieve deep molecular response.
Cancer Sci. 108(11):2204-2212.
13. Fukuda K, Inoguchi Y, Ichiyanagi K, Ichiyanagi T, Go Y, Nagano M, Yanagawa Y, Takaesu N, Ohkawa Y, Imai H, Sasaki H. 2017.
Evolution of the sperm methylome of primates is associated with retrotransposon insertions and genome instability.
Hum Mol Genet. 26(18):3508-3519.
14. Hara M, Kobayakawa K, Ohkawa Y, Kumamaru H, Yokota K, Saito T, Kijima K, Yoshizaki S, Harimaya K, Nakashima Y, Okada S. 2017.
Interaction of reactive astrocytes with type I collagen induces astrocytic scar formation through the integrin-N-cadherin pathway after spinal cord injury.
Nat Med. 23(7):818-828.
15. Semba Y, Harada A, Maehara K, Oki S, Meno C, Ueda J, Yamagata K, Suzuki A, Onimaru M, Nogami J, Okada S, Akashi K, *Ohkawa Y. 2017.
Chd2 regulates chromatin for proper gene expression toward differentiation in mouse embryonic stem cells.
Nucleic Acids Res. 45(15):8758-8772.
16. Kato D, Osakabe A, Arimura Y, Mizukami Y, Horikoshi N, Saikusa K, Akashi S, Nishimura Y, Park SY, Nogami J, Maehara K, Ohkawa Y, Matsumoto A, Kono H, Inoue R, Sugiyama M, Kurumizaka H. 2017.
Crystal structure of the overlapping dinucleosome composed of hexasome and octasome.
Science. 356(6334):205-208.
17. Umegawachi T, Yoshida H, Koshida H, Yamada M, Ohkawa Y, Sato T, Suyama M, Krause HM, Yamaguchi M. 2017.
Control of tissue size and development by a regulatory element in the yorkie 3'UTR.
Am J Cancer Res. 7(3):673-687.
18. Taguchi H, Xie Y, Horikoshi N, Maehara K, Harada A, Nogami J, Sato K, Arimura Y, Osakabe A,

Kujirai T, Iwasaki T, Semba Y, Tachibana T, Kimura H, *Ohkawa Y, *Kurumizaka H. 2017.
Crystal Structure and Characterization of Novel Human Histone H3 Variants, H3.6, H3.7, and H3.8.
Biochemistry. 56(16):2184-2196.

19. Nakamura T, Murakami K, Tada H, Uehara Y, Nogami J, Maehara K, Ohkawa Y, Saitoh H, Nishitani H, Ono T, Nishi R, Yokoi M, Sakai W, Sugasawa K. 2017.
Thymine DNA glycosylase modulates DNA damage response and gene expression by base excision repair-dependent and independent mechanisms.
Genes Cells. 22(4):392-405.

学会発表（口頭発表）

1. Yasuyuki Ohkawa（2018, 3/28).
ChILT- an Epigenomic Profiling for Single Cell Analysis.
The CDB Symposium“Dynamic Homeostasis: from Development to Aging” 2018, 兵庫.
2. 大川恭行 (2018, 3/22).
ヒストン H3 の選択による細胞分化制御機構～トランスクリプトミクスによるアプローチ～.
よこはま NMR 研究会, 神奈川.
3. 大川恭行 (2018, 2/21).
ヒストン H3 の選択による細胞分化制御機構～トランスクリプトミクスによるアプローチ～.
群馬大学生調研セミナー, 群馬.
4. 大川恭行 (2017, 2/17).
骨格筋再生を制御するゲノムワイドな遺伝子制御機構～ヒストンの組成変化が拓く新たなエピゲノム制御～.
PROS 学術シンポジウム, 愛媛.
5. 大川恭行 (2018, 1/23-1/24).
1 細胞エピゲノム解析技術の開発.
日本がん分子標的治療学会 TR ワークショップ, 東京.
6. 大川恭行 (2018, 1/8-8/9).
ゲノムから遺伝子が選ばれる仕組み.
クロマチン一般公開シンポジウム, 東京.
7. Jumpei Nogami (2018, 1/11-1/12).
Regulatory forms of chromatin learned from various epigenomic data.
The 3rd International Symposium on Stem Cell Traits and Developmental Systems, Kumamoto.
8. 大川恭行 (2017, 12/21).
ヒストンバリアントによる細胞運命決定機構.

京都大学 学術講演会, 京都.

9. 前原 一満 (2017, 12/6-12/9).
ヒストン H3.3 のサブバリアント H3mm7 は正常な骨格筋再生に必要とされる.
2017 年度生命科学系学会合同年次大会, 兵庫.

10. 原田哲仁, 半田哲也, 野上順平, 有村泰宏, 関根慧, 中尾勝, 藤田理紗, 前原一満, 胡桃坂仁志, 木村宏, 大川 恭行 (2017, 12/6-12/9).
非免疫沈降法 ChILT 法による少数細胞のエピゲノム解析.
2017 年度生命科学系学会合同年次大会, 兵庫.

11. 大川恭行 (2017, 12/6-12/9).
ヒストン H3 バリアントで制御される組織特異的構造.
2017 年度生命科学系学会合同年次大会, 兵庫.

12. Yasuyuki Ohkawa (2017, 11/28-11/29).
ChILT - an immunoprecipitation-free epigenome profiling technology.
第 12 回研究所ネットワーク国際シンポジウム, 東京.

13. 原田哲仁 (2017, 11/21-11/22).
生殖細胞におけるヒストンバリアントによるゲノムマーキング機構の解明.
生殖細胞のエピゲノムダイナミクスとその制御 第 5 回公開シンポジウム, 茨城.

14. 小松哲郎, 大川恭行 (2017, 11/13-11/14).
新規ヒストン H3 バリアントは骨格筋再生に必要である.
第 5 回若手による骨格筋細胞研究会, 兵庫.

15. 大川恭行 (2017, 9/13-9/16).
ヒストンバリアントによる組織特異的クロマチン構造の形成.
日本遺伝学会第 89 回大会, 岡山.

16. Yasuyuki Ohkawa (2017, 10/18).
Tissue-specific Chromatin Structures According to Histone H3 Variants.
Research Seminar, Korea.

17. 原田哲仁 (2017, 10/26).
トランスクリプトミクス研究における新しい展開.
タカラバイオ主催 TGCA セミナー”【特別企画】次世代シーケンスで開く新たな世界 NGS プレミアムセミナー”, 東京.

18. Yasuyuki Ohkawa (2017, 9/6-9/8).
Myogenic chromatin structure is formed with the novel histone H3 variant.
EMBO Workshop Histone Vriants, Germany.

19. Yasuyuki Ohkawa (2017, 9/4-9/5).
ChILT - an Immunoprecipitation-free Epigenome Profiling Technology.

1st München-Japan Mini Symposium “Chromatin Structure and Function”, Germany.

20. 大川恭行 (2017, 9/01-9/02).
骨格筋再生の核内プログラム～トランスクリプトミクス解析の新たな展開～.
運動器科学研究会, 広島.

21. Yasuyuki Ohkawa (2017, 6/27-6/29).
Tissue‐specific Chromatin Structures According to Histone H3 Variants.
第 12 回国際ゲノム会議, 東京.

22. 大川恭行 (2017, 6/25).
生命を形作る未知の暗号を解読する.
システム生命科学夏の学校, 福岡.

プロテオミクス分野

Division of Proteomics

教　授：中山　敬一
Professor : Keiichi Nakayama, M.D., Ph.D.

プロテオミクス分野では，タンパク質の総体であるプロテオームを解析するための技術開発とその応用を目指すと共に，多くの研究者に対して最先端技術の提供を行っている．基本技術としては精密質量分析によるショットガン・プロテオミクス，ターゲット・プロテオミクス，ペプチドマスフィンガープリンティング等を用い，さらにICAT，iTRAQ,SILAC,mTRAQ 等の安定同位体標識を用いた定量情報付加による高度のプロテオミクス技術を擁している．さらに従来個別解析であった MRM 技術を改変して大規模データ取得を目指す次世代プロテオミクス技術の開発を行っている．現在，16 台の質量分析計を有し，幅広いプロテオミクス技術への要請に対応が可能となっている．

プロテオミクス分野は，中山敬一が兼任として教授を務めている．さらに分野専任として松本雅記准教授と学術研究員 1 名（高見知代），テクニカルスタッフ 1 名（中山明日香）に加え，技術室所属の技術専門職員 1 名（木庭絵美子）とテクニカルスタッフ 1 名（小田瑞穂），で実際の研究開発及びサービス業務を進めている（2018 年 3 月 31 日現在）．

Ａ．ユビキチンリガーゼ SCF^{Fbxw7} の新規基質としての ER 膜アンカー型転写因子 MyRF の解析

ユビキチン―プロテアソーム系による選択的タンパク質分解は，基質分子を特異的に分解することでタンパク質の量的制御に重要な役割を果たしている．SCF 複合体型ユビキチンリガーゼにおいては，複合体中の可変サブユニットである F-box タンパク質が基質特異性を担っている．Fbxw7 は F-box タンパク質の 1 つであり，その代表的な基質として c-Myc などが報告されているが，それ以外にも多くの転写調節因子を標的にしていることが知られており，まだ未同定の基質も多数あると推測されている．われわれはディファレンシャルプロテオミクスを用いてユビキチンリガーゼの基質を網羅的に同定する方法として，DiPIUS (Differential Proteomics-based Identification of Ubiquitylation Substrate)を開発したが，本発表では DiPIUS 法によって mHepa 細胞から Fbxw7 の新規基質候補として同定された ER 膜アンカー型転写因子である MyRF (Myelin regulatory factor) について報告する．われわれは，mHepa 細胞内での共免疫沈降実験により，Fbxw7 と MyRF が結合することを確認した．また，リン酸化依存的に Fbxw7 により認識される degron 配列 (CPD) をアラニンに置換した MyRF 変異体は，Fbxw7 との結合が阻害された．シクロヘキシミド処理を行って分解時

間について検討したところ，野生型と比較して MyRF 変異体では分解時間が延長した．さらに，組み換えタンパク質を作製して *in vitro* ユビキチン化アッセイを行ったところ，MyRF は Fbxw7 依存的にユビキチン化を受けることが判明した．以上より，MyRF は Fbxw7 の基質であることが示唆された．

MyRF は中枢神経系でのターゲットは報告があるものの，その他の臓器における機能は未知である．しかしながら，われわれは MyRF が中枢神経系以外にも様々な臓器で発現していることを明らかにした．そこで，肝細胞株を用いて mRNA-seq を行ったところ，MyRF の下流分子を多数同定した．このことから Fbxw7 は多様な細胞において MyRF の量的調節を行うことにより，その転写物の量を間接的に制御していることが示唆された．

Ｂ．ユビキチンリガーゼ SCF^{Fbxl5} の脳における役割の解析

Fbxl5 は SCF 複合体の基質認識サブユニットであり，哺乳類細胞で鉄代謝のマスター制御分子として機能する．われわれは以前に全身性の Fbxl5 の欠損は胎生早期（E8.5）に鉄過剰とそれに引き続く酸化ストレスによって致死になることを以前に示したが，この胎生期致死性によって脳における Fbxl5 の重要性の研究は進んでいなかった．そこでわれわれは脳で Nestin 発現する神経幹・前駆細胞（Neural stem progenitor cell：NSPCs）で Fbxl5 を特異的に欠失するコンディショナルノックアウトマウスを作製したところ，出生後 1 日以内に脊柱後彎と前肢の下垂を伴って死亡することが明らかとなった．表現型から脳神経発達の不全を疑い，胎仔の病理学的検索をおこなったところ，予想外に変異マウス胎仔の大脳皮質における NSPCs とアストログリアの数は増加していた．この変異マウス脳では Fbxl5 の基質である iron regulatory protein 2（IRP2）が増加して二価鉄と三価鉄の蓄積を引き起こし，さらに活性酸素種の発生を促していた．薬理学的実験によって，この変異マウスの表現型は mTOR シグナル伝達系の異常な活性化に起因していることが判明した．これらの結果は Fbxl5 が哺乳類における脳発達に関与していることを示すものである．

業績目録

原著論文

1. Yamauchi, T., Nishiyama, M., Moroishi, T., Kawamura, A., Nakayama, K. I. 2017. FBXL5 inactivation in mouse brain induces aberrant proliferation of neural stem progenitor cells. Mol. Cell. Biol., in press.
2. Yachie, N., Robotic Biology Consortium (incl. Nakayama, K. I. and Matsumoto, M), Natsume, T. 2017.

Robotic crowd biology with Maholo LabDroids.
Nature Biotechnol., 35, 310-312.

3. Zhang, S., Chen, Q., Liu, Q., Li, Y., Sun, X., Hong, L., Ji, S., Liu, C., Geng, J., Zhang, W., Lu, Z., Yin, Z. Y., Zeng, Y., Lin, K. H., Wu, Q., Li, Q., Nakayama, K., Nakayama, K. I., Deng, X., Johnson, R. L., Zhu, L., Gao, D., Chen, L., Zhou, D. 2017.
Hippo signaling suppresses cell ploidy and tumorigenesis through Skp2.
Cancer Cell, 31, 669-684.
4. Muto, Y., Nishiyama, M., Nita, A., Moroishi, T., Nakayama, K. I. 2017.
Essential role of FBXL5-mediated cellular iron homeostasis in maintenance of hematopoietic stem cells.
Nature Commun., 8, 16114.
5. Kita, K., Shiota, M., Tanaka, M., Otsuka, A., Matsumoto, M., Kato, M., Tamada, S., Iwao, H., Miura, K., Nakatani, T. & Tomita, S. 2017.
Heat shock protein 70 inhibitors suppress androgen receptor expression in LNCaP95 prostate cancer cells.
Cancer Science. 108, 9, p. 1820-1827.
6. Nakatsumi, H., Matsumoto, M., Nakayama, K. I. 2017.
Noncanonical pathway for regulation of CCL2 expression by an mTORC1-FOXK1 axis promotes recruitment of tumor-associated macrophages.
Cell Rep., 21, 2471-2486.
7. Yonehara, R., Nada, S., Nakai, T., Nakai, M., Kitamura, A., Ogawa, A., Nakatsumi, H., Nakayama, K. I., Li, S., Standley, D. M., Yamashita, E., Nakagawa, A., Okada, M. 2017.
Structural basis for the assembly of the Ragulator-Rag GTPase complex.
Nature Commun., 8, 1625.
8. Fukushima, H., Shimizu, K., Watahiki, A., Hoshikawa, S., Kosho, T., Oba, D., Sakano, S., Arakaki, M., Yamada, A., Nagashima, K., Okabe, K., Fukumoto, S., Jimi, E., Bigas, A., Nakayama, K. I., Nakayama, K., Aoki, Y., Wei, W., Inuzuka, H. 2017.
NOTCH2 Hajdu-Cheney mutations escape SCF^{FBW7}-dependent proteolysis to promote osteoporosis.
Mol. Cell, 68, 645-658.e645.
9. Yaguchi, H., Yabe, I., Takahashi, H., Watanabe, M., Nomura, T., Kano, T., Matsumoto, M., Nakayama, K. I., Watanabe, M., Hatakeyama, S. 2017.
Sez6l2 regulates phosphorylation of ADD and neuritogenesis.
Biochem. Biophys. Res. Commun., 494, 234-241.
10. Sakai, E., Nakayama, M., Oshima, H., Kouyama, Y., Niida, A., Fujii, S., Ochiai, A., Nakayama, K. I., Mimori, K., Suzuki, Y., Hong, C. P., Ock, C. Y., Kim, S. J., Oshima, M. 2017.

Combined mutation of Apc, Kras and Tgfbr2 effectively drives metastasis of intestinal cancer.
Cancer Res., in press.

11. Hagihara, H., Catts, V. S., Katayama, Y., Shoji, H., Takagi, T., Huang, F. L., Nakao, A., Mori, Y., Huang, K. P., Ishii, S., Graef, I. A., Nakayama, K. I., Shannon Weickert, C., Miyakawa, T. 2018.
Decreased brain pH as a shared endophenotype of psychiatric disorders.
Neuropsychopharmacology, 43, 459-468.
12. Mikamo, M., Kitagawa, K., Sakai, S., Uchida, C., Ohhata, T., Nishimoto, K., Niida, H., Suzuki, S., Nakayama, K. I., Inui, N., Suda, T., Kitagawa, M. 2018.
Inhibiting Skp2 E3 ligase suppresses bleomycin-induced pulmonary fibrosis.
Int. J. Mol. Sci., in press.
13. Morita, M., Sato, T., Nomura, M., Sakamoto, Y., Inoue, Y., Tanaka, R., Ito, S., Kurosawa, K., Yamaguchi, K., Sugiura, Y., Takizaki, H., Yamashita, Y., Katakura, R., Sato, I., Kawai, M., Okada, Y., Watanabe, H., Kondoh, G., Matsumoto, S., Kishimoto, A., Obata, M., Matsumoto, M., Fukuhara, T., Motohashi, H., Suematsu, M., Komatsu, M., Nakayama, K. I., Watanabe, T., Soga, T., Shima, H., Maemondo, M., Tanuma, N. 2018.
PKM1 confers metabolic advantages and promotes cell-autonomous tumor cell growth.
Cancer Cell, 33, 355-367.
14. Hashimoto, Y., Shirane, M., Nakayama, K. I. 2018.
TMEM55B contributes to lysosomal homeostasis and amino acid–induced mTORC1 activation.
Genes Cells, in press.
15. Nakayama, S., Yumimoto, K., Kawamura, A., Nakayama, K. I. 2018.
Degradation of the endoplasmic reticulum-anchored transcription factor MyRF by the ubiquitin ligase SCF^{Fbxw7} in a manner dependent on the kinase GSK-3.
J. Biol. Chem., in press.

総説

1. Matsumoto, M., Nakayama, K. I. 2018.
The promise of targeted proteomics for quantitative network biology.
Curr. Opin. Biotechnol., 54, 88-97.
2. 松本雅記, 中山敬一. 2017.
次世代プロテオミクスによるがんの代謝解析.
実験医学（増刊）「がん代謝：ワールブルグを超えて全容解明に挑む」, 1773-1780.
3. 木藤有紀, 中山敬一. 2017.
がん幹細胞の撲滅による新しいがん治療法.
日本口腔科学会雑誌, 66, 259-263.
4. 木藤有紀, 杉山成明, 中山敬一. 2018.

c-Myc のユビキチン化制御機構とがん幹細胞における役割.
実験医学, 36, 508-513.

学会発表

1. Nakayama, K. I. (2017, 5/28).
   Fbxw7 is essential for quiescence and drug resistance in cancer stem cell. (Symposium)
   Cullin RING ligases and Protein Neddylation: Biology and Therapeutics, Hangzhou, China.
2. Nakayama, K. I. (2017, 11/22).
   Next-generation proteomics unveils a global landscape of cancer metabolism. (Symposium)
   The 1st International Symposium for Trans-Omics, Tokyo.
3. 片山雄太, 西山正章, 昌子浩孝, 大川恭行, 川村淳生, 佐藤哲也, 須山幹太, 中山敬一. (2017, 12/6).
   クロマチンリモデリングの異常によって発症する ASD の分子病態. (ワークショップ)
   第 40 回日本分子生物学会年会, 神戸.
4. 比嘉綱己, 沖田康孝, 松本有樹修, 武石昭一郎, 中津海洋一, 中山敬一. (2017, 12/6).
   p57 陽性細胞の追跡により明らかとなった、消化管+4 ポジション細胞の幹細胞性の差異. (シンポジウム)
   第 40 回日本分子生物学会年会, 神戸.
5. 藤沼駿, 中津海洋一, 中山敬一. (2017, 12/6).
   肝臓特異的な転写因子 FOXK1 の欠失は過栄養による脂肪肝を抑制する. (ポスター)
   第 40 回日本分子生物学会年会, 神戸.
6. 中井昌弘, 岡田雅人, 名田茂之, 小川輝, 北村絢香, 中井友和, 中川敦史, 山下栄樹, 米原涼, 中山敬一, 中津海洋一. (2017, 12/6).
   Ragulator-Rag GTPase 複合体形成の構造基盤. (ポスター)
   第 40 回日本分子生物学会年会, 神戸.
7. 川尻愛子, 喜多泰之, 中山敬一, 白根道子. (2017, 12/6).
   小胞体ネットワーク制御によるモノアミン分泌機構. (ポスター)
   第 40 回日本分子生物学会年会, 神戸.
8. 小玉学, 押川清孝, 松本雅記, 中山敬一. (2017, 12/6).
   グルタミン代謝リモデリングはがんの悪性進展に必須である. (ポスター)
   第 40 回日本分子生物学会年会, 神戸.
9. 押川清孝, 松本雅記, 中山敬一. (2017, 12/6).
   情報基盤多重モニタリング法（ iMPAQT）を用いた細胞老化代謝ネットワークの解析. (ポスター)
   第 40 回日本分子生物学会年会, 神戸.
10. 舟﨑慎太郎, 松本雅記, 中山敬一. (2017, 12/6).

定量的リン酸化プロテオミクスによる胸腺細胞の運命決定機構の解明. (ポスター)
第 40 回日本分子生物学会年会, 神戸.

11. 仁田暁大, 西山正章, 武藤義治, 片山雄太, 中山敬一. (2017, 12/7).
クロマチンリモデリング因子 CHD8 による幹細胞老化の防止機構の解明. (ポスター)
第 40 回日本分子生物学会年会, 神戸.
12. 中山敬一. (2017, 12/8).
次世代プロテオミクスによる「第二のワールブルグ効果」の発見. (シンポジウム)
第 40 回日本分子生物学会年会, 神戸.
13. 武藤義治, 西山正章, 諸石寿朗, 中山敬一. (2017, 12/8).
ユビキチンリガーゼ FBXL5 による鉄代謝制御と肝がん抑制. (一般口頭発表)
第 40 回日本分子生物学会年会, 神戸.
14. 中山省悟, 弓本佳苗, 中山敬一. (2017, 12/8).
ER 膜アンカー型転写因子 MyRF はユビキチンリガーゼ SCFFbxw7 の新規基質である. (シンポジウム)
第 40 回日本分子生物学会年会, 神戸.
15. 中津海洋一, 松本雅記, 中山敬一. (2017, 12/8).
転写因子 FOXK1 の mTORC1 依存的な脱リン酸化メカニズムの解析. (一般口頭発表)
第 40 回日本分子生物学会年会, 神戸.
16. 松本結香, 松本雅記, 中山敬一. (2017, 12/8).
精密定量プロテオミクスが明らかにした培養条件依存的なタンパク質の発現変動. (ポスター)
第 40 回日本分子生物学会年会, 神戸.
17. 松本有樹修, Pandolfi, P. P., 中山敬一. (2017, 12/8).
長鎖ノンコーディング RNA から翻訳される機能性ポリペプチド群の同定. (ワークショップ)
第 40 回日本分子生物学会年会, 神戸.
18. 喜多泰之, 西山正章, 片山雄太, 白根道子, 中山敬一. (2017, 12/8).
自閉症関連因子 CHD8 は C/EBPβ と協調して脂肪分化を制御する. (一般口頭発表)
第 40 回日本分子生物学会年会, 神戸.
19. 清水秀幸, 中津海洋一, 中山敬一. (2017, 12/9).
固形がんにおける Fbxw7 を標的とした静止期追い出し療法. (一般口頭発表)
第 40 回日本分子生物学会年会, 神戸.
20. 松本雅記, 中山敬一. (2017, 12/9).
次世代定量プロテオミクスによる生命システム理解への挑戦. (シンポジウム)
第 40 回日本分子生物学会年会, 神戸.
21. 中山敬一. (2017, 12/16).

次世代プロテオミクスが拓く医学生物学の新地平：90 年来のがんの謎を解く. (特別講演) 第 11 回アドバンス研究会, 東京.

メタボロミクス分野

Division of Metabolomics

教授：馬場　健史

Professor : Takeshi Bamba, Ph.D.

当分野では，代謝物の総体であるメタボロームを解析するための技術開発およびメタボロミクスの応用研究に取り組んでいる．メタボローム解析は，ゲノム情報から転写，翻訳過程を経て生成した酵素に基づく低分子化合物の化学変化を包括的に捉えたものであり，ゲノム情報に最も隣接した高解像度表現型解析手段である．すなわち，遺伝子発現変動や生体内外の環境変動などのさまざまな摂動下において，その影響がはっきりと表現型に現れにくい場合であっても，メタボロームデータを活用することで生体内の変化を代謝物の変動 (プロファイル) として詳細に表現することが可能である．そのため，メタボローム解析によってゲノム情報の実行結果や各種摂動の影響を詳細に理解できれば，病気の診断や病態発症メカニズムの解析，医薬品の薬効・毒性評価など，幅広い分野での応用が期待できる．我々は，細胞内の代謝情報を高精度に観測するために，数種のクロマトグラフと 10 台の質量分析計を駆使した高感度かつ定量的なメタボローム分析手法を開発している．さらに，開発した分析手法を用いて疾患と代謝の関連性について基礎から応用までの幅広い研究を展開するとともに，他のオミクスとの統合解析を目指している．

当分野は平成 27 年 3 月に開設され馬場健史が教授として務めている．平成 29 年度は，馬場健史のほか，和泉自泰 (准教授)，相馬悠希 (助教)，原健士 (特任准教授)，学術研究員 3 名，博士課程大学院生 10 名 (うち社会人博士課程学生 6 名)，テクニカルスタッフ 4 名，事務補佐員 3 名の合計 24 名の体制で研究活動を行った．また，戦略的創造研究推進事業 (JST-CREST)，科研費新学術領域研究，革新的先端研究開発支援事業 (AMED-CREST)，先端的低炭素化技術開発 (JST-ALCA)，科研費基盤研究 C などの補助金による支援を受け研究を実施した．

Ａ．トランスオミクス解析に資するワイドターゲット定量メタボロミクス分析法の開発

メタボロミクスの観測対象となる代謝物は，物理化学的性質の大きく異なる多種多様な低分子化合物の集合であり，個々の化合物は酵素反応によってその存在量と性質が複合的かつ連続的に変化するため，これらの同時一斉分析を実現することは決して容易ではない．我々の研究室では，代謝物を包括的かつ定量的に観測していくための方法論の開発を進めている．

ａ．ワイドターゲット親水性代謝物分析

主幹代謝 (解糖系，ペントースリン酸経路，クエン酸回路，核酸代謝，アミノ酸代謝など) は，生命のエネルギーの生成，細胞の維持ならびに修復プロセスに関わり，また，がんなどの代謝を理解する上でも最も重要な経路である．また，これらの代謝中間体の多くはイオン性高極性物質である．我々はこれら親水性代謝物を包括的に測定するために，イオンクロマトグラフィー高分解能質量分析法 (IC/HRMS) を開発した．IC/HRMS 法により，主幹代謝中間体を包括的かつ高感度で測定できることを見出した．さらに，高濃度の無機イオンを含む生体試料の分析においても保持時間およびピーク面積値の再現性が高い手法であることが分かった．

ｂ．ワイドターゲット疎水性代謝物分析

疎水性代謝物の代表である脂質は，エネルギー貯蔵，生体膜構成成分，細胞内メディエーターなどとして機能するほか，シグナル伝達にも関わっていることが次第に明らかとなってきているものの，未だ数多くの機能未知分子種の存在が示唆されている．従って，各種疾患の発症や進展に関わる機能性脂質を同定し，脂質代謝制御機構を紐解くことが今後の医学・創薬研究には重要である．超臨界流体は気体様の拡散性と液体様の溶解性を有し，クロマトグラフィーにおける移動相として好ましい性質を有している．当該研究では，SFC と三連四重極型 MS (QqQMS) を接続し，多重反応モニタリング (Multiple reaction monitoring, MRM) を用いることで新たなリピドーム分析手法を開発した．本手法は，脂質クラスごとのクロマト分離を行うと同時に，従来困難であった脂肪酸側鎖を含めた脂質分子の識別が可能である．さらに，質量分析計において最大の弱点である定量に関しても，個々の脂質クラスの内部標準物質を添加することで，脂質分子を包括的かつ定量的に測定できることを示した．

Ｂ．１細胞メタボロミクスに向けた要素技術開発

生命の最小単位である細胞は特異的な機能を持つ細胞集団に分類することができるが，近年の研究から同一細胞集団であっても多様性・不均一性を有することが知られている．この多様性が環境適応や疾患発症の過程において極めて重要な役割を担っていると考えられ注目されている．一方で，従来のメタボローム分析は，分析系の感度やその他の技術的限界から，組織 (10~15 mg) や複数細胞 (10^6~10^7 個) などある程度の集団サンプルを対象としており，1 細胞での解析は行えていないのが現状である．本研究においては，液体クロマトグラフィー質量分析を基盤とした代謝物の高感度計測技術および試料調製 (特に前処理技術) と試料導入技術を連携･連動させるシステムを構築し，最終的に，細胞分離から質量分析計への導入までを一体化した“細胞チップ MS システム”を開発し，これまでにない高感度の 1 細胞での分子フェノタイプ解析が

可能なシステムの構築を目指す．充填剤型担体を用いた Nano-LC/MS/MS 分析システムにより，従来分析手法と比べて約 100 倍の高感度化を達成し，100 amol から 10 fmol の感度で親水性代謝物の一部の分析が可能となった．次に，試料調製を微小空間内で実施するために，倒立型蛍光顕微鏡に低流量で溶液を吐出・吸引可能なナノシリンジポンプを搭載したナノピペットデバイスを試作した．本装置を用いて HeLa 1 細胞をキャピラリーに吸引し，直接 nano-LC/MS/MS 分析システムへ導入する技術の開発にも成功した．最終的に，当該技術を組み合わせた一連の分析システムを用いて，生細胞をそのままキャピラリーに導入し，細胞の溶解，分析カラムへの導入までを完全インラインで実施することで，アミノ酸のような比較的内生量の多い代謝物については，動物 1 細胞からでも検出可能であることを示した．

Ｃ．メタボロミクス応用研究

ａ．クローン病モデル IL-10 ノックアウトマウスのメタボローム解析

潰瘍性大腸炎やクローン病に代表される炎症性腸疾患は，近年，その患者数の増加が著しく，難治性疾患に挙げられている．炎症性腸疾患の病態は，遺伝的素因を有する宿主において，その遺伝子異常により免疫学的異常が引き起こされ，腸管内抗原や腸内細菌叢などの環境因子に対して過剰・異常な免疫反応が惹起されて腸管の炎症が生じると考えられている．しかし，いまだ炎症性腸疾患の病態形成に関与する決定的な免疫制御機構は明らかにされていない．そこで，炎症性腸疾患の病態解明を目的として，クローン病モデルマウスである IL-10KO マウスと，野生型マウスから採取した大腸組織，ならびに，血漿のメタボローム解析により，炎症の発症に関与する代謝物を探索した．その結果，大腸組織と血漿中で共通して有意に変動した代謝物は 15 種類あり，その中には，DHA (22:6) やアシル基に DHA をもつ PC など，DHA 関連代謝物が多く存在した．このことは，IL-10 の欠損に伴う腸炎の発症とその慢性化に DHA 代謝が強く関与していることを示唆するものであった．

ｂ．人工遺伝子回路およびバイオセンサーを用いた代謝動態制御ネットワークの再構成

生体分子パーツを任意に組み合せて人工的に再構成された遺伝子回路は，その設計次第で標的とする遺伝子の発現動態の自在な制御を可能とする．代謝酵素遺伝子を標的としてその発現動態を制御することで，任意の局所的な代謝流束を動的に制御し，特定の刺激に応答して代謝状態や表現型を可塑的に変化させる代謝動態制御系の再構築と機能評価に取り組んだ．代謝動態制御を通じて自己増殖を優先する表現型と増殖を停止して環境中に特定のアミノ酸を放出する表現型を増殖フェーズにおける任意の

タイミングで可塑的に制御可能な人工遺伝子回路を大腸菌に構築し，そのメタボローム解析を用いてその機能を評価した．

D．共同研究

今年度は，開発したメタボロミクス解析プラットフォームを用いて，生体防御医学研究所内や国内外の大学・研究所との共同研究を精力的に行った．また，製薬会社や食品会社, 化学会社, 装置メーカーなどの民間企業との共同研究についても実施した．

業績目録

原著論文

1. Fujito, Y., Hayakawa, Y., Izumi, Y., Bamba, T. 2017.
   Importance of optimizing chromatographic conditions and mass spectrometric parameters for supercritical fluid chromatography/mass spectrometry.
   J. Chromatogra. A., 1508, 138-147.
2. Sakamoto, T., Sakuradani, E., Okuda, T., Kikukawa, H., Ando, A., Kishino, S., Izumi, Y., Bamba, T., Shima, J., Ogawa, J. 2017.
   Metabolic engineering of oleaginous fungus Mortierella alpina for high production of oleic and linoleic acids.
   Bioresour. Technol., 245, 1610-1615.
3. Sakai, M., Hayakawa, Y., Funada, Y., Ando, T., Fukusaki, E., Bamba, T. 2017.
   Development of a split-flow system for high precision variable sample introduction in supercritical fluid chromatography.
   J. Chromatogra. A., 1515, 218-231.
4. Takeo, E., Sasano, R., Shimma, S., Bamba, T., Fukusaki, E. 2017.
   Solid-phase analytical derivatization for gas-chromatography–mass-spectrometry-based metabolomics.
   J. Biosci. Bioeng., 124(6), 700-706.
5. Bowden, J.A., Heckert A., Ulmer, C.Z., Jones, C.M., Koelmel, J.P., Abdullah, L., Ahonen, L., Alnouti, Y., Armando, A.M., Asara, J.M., Bamba, T., Barr, J.R., Bergquist, J., Borchers, C.H., Brandsma, J., Breitkopf, S.B., Cajka, T., Cazenave-Gassiot, A., Checa, A., Cinel, M.A., Colas, R.A., Cremers, S., Dennis, E,A., Evans, J.E., Fauland, A., Fiehn, O., Gardner, M.S., Garrett, T.J., Gotlinger, K.H., Han, J., Huang, Y., Neo, A.H., Hyötyläinen, T., Izumi, Y., Jiang, H., Jiang, H., Jiang, J., Kachman, M., Kiyonami, R., Klavins, K., Klose, C., Köfeler, H.C., Kolmert, J., Koal, T.,

Koster, G., Kuklenyik, Z., Kurland, I.J., Leadley, M., Lin, K., Maddipati, K.R., McDougall, D., Meikle, P.J., Mellett, N.A., Monnin, C., Moseley, M.A., Nandakumar, R., Oresic, M., Patterson, R., Peake, D., Pierce, J.S., Post, M., Postle, A.D., Pugh, R., Qiu, Y., Quehenberger, O., Ramrup, P., Rees, J., Rembiesa, B., Reynaud, D., Roth, M.R., Sales, S., Schuhmann, K., Schwartzman, M.L., Serhan, C.N., Shevchenko, A., Somerville, S.E., St John-Williams, L., Surma, M.A., Takeda, H., Thakare, R., Thompson, J.W., Torta, F., Triebl, A., Trötzmüller, M., Ubhayasekera, S.J.K., Vuckovic, D., Weir, J.M., Welti, R., Wenk, M.R., Wheelock, C.E., Yao, L., Yuan, M., Zhao, XH., Zhou, S. 2017.
Harmonizing Lipidomics: NIST Interlaboratory Comparison Exercise for Lipidomics using Standard Reference Material 1950 Metabolites in Frozen Human Plasma.
J. Lipid Res., 58(12), 2275-2288.

6. Soma, Y., Fujiwara, Y., Nakagawa, T., Tsuruno, K., Hanai, T. 2017.
Reconstruction of a metabolic regulatory network in Escherichia coli for purposeful switching from cell growth mode to production mode in direct GABA fermentation from glucose.
Metab. Eng., 43, 54-63.
7. Hara, T., Futagami, S., De Malsche, W., Eeltink, S., Terryn, H., Baron, GV., Desmet, G. 2017.
Chromatographic properties of minimal aspect ratio monolithic silica columns.
Anal. Chem., 89(20), 10948-10956.
8. Tamura, S., Koike, Y., Takeda, H., Koike, T., Izumi, Y., Nagasaka, R., Tsunoda, T., Tori, M., Ogawa, K., Bamba, T., Shiomi, M. 2018.
Ameliorating effects of D-47, a newly developed compound, on lipid metabolism in an animal model of familial hypercholesterolemia (WHHLMI rabbits).
Eur J Pharmacol., 5(822), 147-153.
9. Yoshioka, T., Nagatomi, Y., Harayama, K., Bamba, T. 2018.
Development of an analytical method for polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee beverages and dark beer using novel high-sensitivity technique of supercritical fluid chromatography/mass spectrometry.
J. Biosci. Bioeng., in press.
10. Imura, M., Iwakiri,R., Bamba, T., Fukusaki, E. 2018.
Metabolomics approach to reduce the Crabtree effect in continuous culture of Saccharomyces cerevisiae.
J. Biosci. Bioeng., in press.
11. Obata, Y., Kita, S., Koyama, Y., Fukuda, S., Takeda, H., Takahashi, M., Fujishima, Y., Nagao, H., Masuda, S., Tanaka, Y., Nakamura, Y., Nishizawa, H., Funahashi, T., Ranscht, B., Izumi, Y., Bamba, T., Fukusaki, E., Hanayama, R., Shimada, S., Maeda, N., Shimomura, I. 2018.

Adiponectin/T-cadherin system enhances exosome biogenesis and decreases cellular ceramides by exosomal release.

JCI Insight, in press.

12. Nishiumi, S., Izumi, Y., Yoshida, M. 2018.
Alterations in docosahexaenoic acid-related lipid cascades in inflammatory bowel disease model mice.
Dig. Dis. Sci., in press.

総説

1. 馬場健史. 2017.
九州支部：九州から世界へ―マルチオミクスの新拠点九州大学生体防御医学研究所附属トランスオミクス医学研究センターの紹介.
生物工学会誌, 95(10), 623.
2. 馬場健史. 2017.
巻頭言：メタボロミクス特集号の刊行に寄せて.
Journal of the Mass Spectrometry Society of Japan, 65(5), 193-194.
3. 平山明由, 和泉自泰, 松田史生, 石川貴正, 杉浦悠毅, 鈴木隆弘. 2017.
メタボロミクスにおける親水性代謝物解析.
Journal of the Mass Spectrometry Society of Japan, 65(5), 195-198.
4. 池田和貴, 馬場健史. 2017.
メタボロミクスにおける脂溶性代謝物解析.
Journal of the Mass Spectrometry Society of Japan, 65(5), 199-202.

著書

1. Yamada, T., Bamba, T. 2017.
Lipid Profiling by Supercritical Fluid Chromatography/Mass Spectrometry.
“Lipidomics”, Edited by Paul Wood,
Humana Press.

学会発表（口頭発表のみ）

1. 和泉自泰 (2017, 4/18).
イオンモビリティー質量分析によるオリゴ核酸の分離分析.
Waters オリゴ核酸 LC/MS セミナー, 東京.
2. 馬場健史 (2017, 5/13 - 5/14).
メタボローム解析技術の新展開.

平成 29 年度 日本生化学会九州支部例会, 宮崎.

3. 馬場健史, 塩田晃久 (2017, 5/17 - 5/19).
   メタボロミクスにおける前処理自動化の現状とその意義.
   第 65 回 質量分析総合討論会, 茨城.
4. 相馬悠希, 山下俊幸, 高橋政友, 秦康祐, 杉立久仁代, 芹野武, 宮川浩美, 鈴木健一, 川向孝知, 塩田晃久, 山田佳代子, 和泉自泰, 馬場健史 (2017, 5/17 - 5/19).
   GC/MS メタボローム解析に資する calibration-curve-locking データベース構築.
   第 65 回 質量分析総合討論会, 茨城.
5. 馬場健史 (2017, 5/26 - 5/27).
   超臨界流体クロマトグラフィーによる生体成分分析の最新動向と課題.
   分離技術会年会 2017, 神奈川.
6. 加藤英資, 畑毅, 和泉自泰, 馬場健史 (2017, 6/9 - 6/10).
   超臨界流体クロマトグラフィー（SFC)による角層セラミド分析法の開発.
   Development the Ceramides Analysis Method of Stratum Corneum by Supercritical Fluid Chromatography.
   第 42 回 日本香粧品学会, 東京.
7. 相馬悠希 (2017, 6/15).
   人工遺伝子回路を利用した遺伝子制御動態リプログラムによる動的代謝工学基盤の構築.
   第 6 回 新化学技術研究奨励賞授賞式, 東京.
8. Takeshi Bamba (2017, 7/12 - 7/14).
   Opening a New Chapter in Metabolic Profiling by Supercritical Fluid Extraction and Separation Technologies.
   SFC Asia 2017, 11th International Conference on Packed-Column SFC, Osaka , Japan.
9. 馬場健史 (2017, 8/2).
   定量メタボローム解析のための GC/MS データベース構築.
   第 12 回 アジレントメタボロミクスセミナー 2017, 東京.
10. 相馬悠希 (2017, 8/10).
    遺伝子発現制御システムの設計と in vivo 再構成に資する数理モデリング.
    日本生物工学会 研究部会 バイオインフォマティクス相談部会 第一回勉強会, 愛知.
11. 馬場健史 (2017, 9/2).
    超臨界流体クロマトグラフィーを用いた代謝物分析.
    第 158 回 質量分析関西談話会, 大阪.
12. 佐野貴士, 岡部遼, 岩橋舞子, 今義潤, 佐藤俊郎, 山下俊幸, 福崎英一郎, 馬場健史 (2017, 9/11 - 9/13).
    大豆油の明所臭（戻り臭）に及ぼすフラン酸と 3-methyl-2,4-nonanedione の影響.

第 56 回 日本油化学会年会, 東京.

13. 和泉自泰, 原健士, 中谷航太, 秦康祐, 山村昌平, 松本雅記, 馬場健史(2017, 9/11 - 9/14).
1 細胞メタボロミクスに向けた基盤技術開発.
第 69 回 日本生物工学会大会, 東京.
14. 相馬悠希, 花井泰三 (2017, 9/11 - 9/14).
微生物表現型を制御する人工遺伝子回路設計.
第 69 回 日本生物工学会大会, 東京.
15. 相馬悠希, 山下俊幸, 秦康祐, 高橋政友, 杉立久仁代, 芹野武, 宮川浩美, 鈴木健一, 川向孝知, 塩田晃久, 山田佳代子, 和泉自泰, 馬場健史 (2017, 9/11 - 9/14).
GC/MS によるメタボローム解析に資する新規 Calibration-Curve-Locking Database の構築.
第 69 回 日本生物工学会大会, 東京.
16. 馬場健史 (2017, 9/11 - 9/14).
定量メタボローム解析のための GC/MS Calibration-Curve-Locking Database の構築.
第 69 回 日本生物工学会, 東京.
17. Takeshi Bamba (2017,10/18).
Metabolic profiling by supercritical fluid extraction and separation technologies.
The NJ-ACS Mass Spectrometry Discussion Group October Monthly meeting, Somerset, New Jersey, USA.
18. Masuko Kobori, Yumiko Takahashi, Hiroaki Takeda, Masatomo Takahashi, Yukari Akimoto, Mutsumi Sakurai, Hideaki Oike, Yoshihiro Izumi, Takeshi Bamba, Toshiyuki Kimura (2017, 10/22 - 10/25).
Effect of the antioxidant curcumin on transcriptome and lipid profiles in visceral adipose tissues of diet-induced obese mice.
ISNFF 2017, Gunsan, Jeonbuk, Korea.
19. 和泉自泰 (2017, 10/26 - 10/27).
メタボロミクスとマトリックス効果.
第 9 回 LC/MS ワークショップ, 静岡.
20. Yuki Soma, Yuri Fujiwara, Taizo Hanai, Yoshihiro Izumi, Takeshi Bamba (2017, 10/31 - 11/1).
Reprogramming of Collective Microbial Cell Behavior.
The 27th Hot Spring Harbor International Symposium, Fukuoka, Japan.
21. 和泉自泰, 竹田浩章, 高橋政友, Thanai Paxton, 加藤紀子, 堀江真之介, 長瀬勝敏, 馬場健史 (2017, 11/13 - 11/14).
超臨界流体クロマトグラフィー三連四重極型質量分析によるワイドターゲット定量リピドミクス分析法の開発.
第 11 回 メタボロームシンポジウム, 大阪.

22. 中谷航太, 和泉自泰, 秦康祐, 馬場健史 (2017, 11/13 - 11/14).
Nano-LC/MS/MS による 1 細胞メタボローム分析システムの開発.
第 11 回 メタボロームシンポジウム, 大阪.
23. 高橋政友, 和泉自泰, 岩橋福松, 中山泰宗, 岩越光彦, 中尾素直, 大和誠司, 福崎英一郎, 馬場健史 (2017, 11/13 - 11/14).
LC/HRMS/MS を基盤とした外因性化学物質の代謝物探索法の開発.
第 11 回 メタボロームシンポジウム, 大阪.
24. 和泉自泰, 馬場健史 (2017, 11/15 - 11/17).
次世代メタボローム解析に向けた新たなクロマトグラフィー質量分析技術の開発.
第 28 回 クロマトグラフィー科学会議, 京都.
25. 原健士, 二上俊太, 馬場健史, 和泉自泰, Wim De Malsche, Gino. V. Baron, Gert Desmet (2017, 11/15 - 11/17).
極小内径キャピラリー内でのモノリス型シリカ分離媒体の調製およびその性能評価.
第 28 回 クロマトグラフィー科学会議, 京都.
26. Takeshi Bamba (2017, 11/21 - 11/22).
Development of next generation metabolome analysis technologies for trans-omics.
The 1st International Symposium for Trans-Omics, Tokyo, Japan.
27. Yuki Soma (2017, 12/18 - 12/20).
Design of synthetic genetic circuit for dynamic metabolic engineering.
8th ASIAN SYMPOSIUM ON INNOVATIVE BIO-PRODUCTION SINGAPORE (i-BioS), Singapore.
28. Takeshi Bamba (2018, 1/11 - 1/12).
Development of metabolic profiling methodologies by supercritical fluid chromatography/mass spectrometry.
KEY Forum 2018, Stem Cell Traits and Developmental Systems, Kumamoto, Japan.
29. 馬場健史 (2018, 2/15).
食品分野における超臨界流体クロマトグラフィーの可能性.
第 3 回 食品 SFC 懇話会, 東京.
30. 馬場健史 (2018, 2/21).
メタボロミクスによるマルチマーカープロファイリングの可能性.
第 85 回 バイオ研究・ビジネス最前線, 福岡.
31. 馬場健史 (2018, 3/9 - 3/10).
次世代メタボローム解析技術の開発.
質量分析オープンイノベーション協働ユニットキックオフシンポジウム・蛋白研セミナー ”質量分析の未来”, 大阪.

32. 村川直美, 加納みずほ, 阪本鷹行, 安藤晃規, 岸野重信, 相馬悠希, 和泉自泰, 馬場健史, 小川順, 櫻谷英治 (2018, 3/15 - 3/18).
廃グリセロール資化性糸状菌が生産する脂肪酸代謝産物.
日本農芸化学会 2018 年度大会, 愛知.

統合オミクス分野
Division of Integrated Omics

教　授：久保田　浩行
Professor：Hiroyuki Kubota, Ph. D.

統合オミクス分野ではゲノム・エピゲノム・トランスクリプトーム・プロテオーム・メタボロームなどのいわゆる「オームデータ」を統合するための手法開発を行うと同時に，細胞または個体の応答，そしてそのメカニズムをまるごと理解することを目的としている．解析手法としてはデータベースなどを用いた情報学的手法や統計的手法の開発や，実験手法についてもトランスオミクス測定のための検討を行っている．現在，多階層にまたがるネットワークを介して主に代謝を制御している個体のインスリン作用に注目して研究を行っている．また，多階層にまたがるネットワークの動的特性を解析するための数理モデルを用いた分子のダイナミクスの解析や，情報理論を用いた解析も行っている．

平成 29 年 4 月に学術研究員として湯通堂紀子さんが参加した．

Ａ．トランスオミクス解析

生命現象は DNA・RNA・タンパク質・代謝物などの各階層にまたがる膨大な数の分子の相互作用，すなわちネットワークによって制御されている．つまり，生命現象全体を俯瞰または理解するには多階層にまたがる複雑なネットワークを同定する必要がある．従来の生物学では，研究者は自分の興味ある数個の分子に注目して研究を行ってきた．これまでの研究により多くの生命現象の理解が進んできたが，これらの研究結果から生命現象全体を俯瞰しようとしても実験条件が異なるために難しい．その一方で，近年の網羅的測定技術の進歩により DNA・RNA・タンパク質・代謝物などの各階層における網羅的データ，いわゆる「オームデータ」が高精度かつ高スループットに取得できるようになってきた．これらの技術により，各階層における全体像を俯瞰することができるようになってきたが，単階層のデータから多階層にまたがるネットワークを明らかにすることはできない．近年，われわれのグループを含めて階層を統合することで生命現象を俯瞰しようとする試み，つまりトランスオミクス解析が行われはじめてきた．現在われわれは，トランスオミクス解析を行うための技術開発や，トランスオミクス解析を理解する上で重要な考え方を提唱している．

ａ．*in vivo* トランスオミクス解析

現在われわれは，個体（マウス）を用いたインスリン作用のトランスオミクス解析を行っている．個体を用いたトランス解析には解決すべき問題点が大きく２つある．

一つはサンプル調製法である．培養細胞のように，単一でほぼ均一な条件を仮定できれば問題ないが，臓器やガンなどを含んだ生体組織では細胞の不均一性と複数のオミクス測定を行うための前処理が問題となる．これらの問題点を解決するために，生体組織を低温で破砕・均一化し分配することで，同一サンプルから異なるオミクス測定を行える手法を開発した．既にわれわれは，この開発した手法を用いてマウスのトランスクリプトーム・発現プロテオーム・リン酸化プロテオーム・メタボロームの４階層の網羅的な時系列データを取得することに成功している．また新たに同じサンプルからエピゲノムデータ（ヒストン修飾）のデータを取得することにも成功した．これにより *in vivo* トランスオミクス解析のための実験条件が整いつつある．

ｂ．トランスオミクスデータの解析手法の開発

トランスオミクス解析の問題点のもう一つが解析手法の開発である．トランスオミクスデータの解析では，目的や対象とする系に応じて適切な手法を使い分ける必要がある．例えば，重要な役割を果たす分子の目星がついていて分子のネットワーク構造の事前知識が豊富で，系の動的挙動に興味がある場合は微分方程式によるモデルの記述が適している．現在我々は遺伝子発現とタンパク質発現を微分方程式モデルで記載するためのプロトコルを開発している．これは今後の大規模データの統合の指針となることが期待される．

一方で，系に対する事前知識が乏しく，興味ある現象に関与する分子が不明な場合は，統計的手法を用いてデータから重要な分子やネットワーク構造などを推定する必要がある．ネットワーク構造の推定では，スパースモデリング，および，エントロピーを用いた解析を行っている．特に，ネットワーク構造の 2 郡間比較に重点をおき，既存手法の適用に加えて新たな解析手法の開発も進めている．2 郡間比較では，例えば，健常郡と疾患郡のネットワーク構造の差異を明らかにすることで，生命システムの理解と疾患の理解に繋がることが期待される．

Ｂ．数理モデルを用いた動的特性の解析

われわれは数理モデルを用いて生命現象を表現し，その動的特性やメカニズムを明らかにすることで生命現象を様々な角度から理解しようと試みている．微分方程式モデルは数理モデルの中でも動的特性やメカニズムを理解するのに良く用いられている．応用においても有用で，任意に入出力を制御できる実験系においては，微分方程式モデルを用いることで出力をある程度任意に制御することができる．

インスリンは血糖値を減少させることのできる唯一のホルモンである．血中インスリンは複数の時間パターンからなることが知られており，これらのパターンが生体内のインスリン応答に重要であることが報告されている．例えば、15 分程度の周期的分

泌を模した刺激パターンは一定刺激よりも血糖値の減少の強い効果が報告されている．また，これらの分泌パターンは糖尿病と深く関係があることが知られているが，これらのメカニズムも不明のままである．われわれは血中インスリンの時間パターンの意義を明らかにするため，培養細胞を用いた研究を行ってきた．これまでにわれわれは，インスリンの時間パターン依存的にインスリンシグナル伝達経路分子や代謝分子、そして遺伝子発現を選択的に制御できることを明らかにしてきた（Mol. Cell, 2012, Mol. Syst. Biol., 2013, Sci. Signal., 2016）．

さらにわれわれは本概念を生体における一般的な概念とすべく，ラットを用いて検討を行った．実際には①ソマトスタチンを経静脈から一定量投与し，内在性のインスリン分泌を抑制した状態で，②同様に経静脈からグルコースを添加することで血糖値を一定にした状態で，③ラットの門脈から任意のインスリンパターンを投与した．得られた時系列サンプルから，インスリン－AKT 経路分子の挙動（pIR, pAKT, pGSK3β, pFox01, pS6K, *G6Pase*）を測定した．さらに，これらの実験データを再現する微分方程式モデルを過去の知見を基に作成した．実験データと微分方程式モデルを用いた解析により，血中インスリンパターンの情報はインスリンレセプター（IR）を介して AKT まであまり減弱することなく伝達されることが明らかになった．その後，伝達された情報は下流分子のネットワーク構造やパラメータの違いにより選択的に伝達されていた．これらの結果は，われわれが提唱してきた概念が実際の生体内においても存在していることを示している．この概念の生体内における実証は他のホルモンにも適用でき，今後のホルモン研究に大きな影響を与えることが期待される．

Ｃ．細胞内シグナル伝達の情報理論を用いた解析

細胞は，環境の変化や他の細胞からのシグナルを検知して情報処理を行うことによって，細胞運命の決定などの適切な制御がなされる．シグナル伝達系は情報処理の要となる部分であり，生化学反応による分子濃度の変化によって情報処理がなされると考えられているが，細胞内の分子濃度にばらつきがあるような状況下において実際にどれぐらいの情報がどのように伝達されるのかということは不明であった．しかし近年，シャノンの情報理論の適用により，情報伝達を定量的に情報量として評価する解析がなされるようになってきた．われわれは，薬理的阻害などによって分子濃度の大きさに変化があっても複数経路で情報が相補的に伝達されることによって情報量がロバストに保たれることをシャノンの情報理論を用いた解析によって既に見出している（Science, 2013, Seminars in Cell & Dev. Bio., 2016）．

業績目録

原著論文

1. Tsuchiya T., Fujii M., Matsuda N., Kunida K., Uda S., Kubota H., Konishi K., and Kuroda S. 2017.
   System identification of signaling dependent gene expression with different time-scale data.
   PLoS Comput. Biol., 13(12): e1005913.
2. Ohashi K., Fujii M., Uda S., Kubota H., Komada H., Sakaguchi, K., Komada, H. and Kuroda S. 2018.
   Increase in hepatic and decrease in peripheral insulin clearance characterize abnormal temporal patterns of serum insulin in diabetic subjects.
   Sys. Biol. Appli, 4, article number 14.
3. Uda, S. and Kubota, H. 2017.
   Sparse Gaussian Graphical Model with Missing values.
   Proceedings of the 21st Conference of Open Innovations Association (FRUCT), 336-343.
4. Konishi, K., Fujii M., Kunida, K., Uda, S., Kuroda, S. 2017.
   Matrix Rank Minimization Approach to Signal Recovery and Nonlinear Function Estimation for Nonlinear ARX Model with Input Nonlinearity.
   Proceedings of the 11th Asian Control Conference, 1428-1431.
5. Matsumoto M., Matsuzaki F., Oshikawa K., Goshima N., Mori M., Kawamura Y., Ogawa K., Fukuda E., Nakatsumi H., Natsume T., Fukui K., Horimoto K., Nagashima T., Funayama R., Nakayama K., and Nakayama K. I. 2017.
   A large-scale targeted proteomics assay resource based on an in vitro human proteome.
   Nat. Methods, 14, 251-258.

総説

1. 鈴木　貴，久保田　浩行　編集.　2017.
   はじめての数理モデルとシミュレーション
   羊土社, 実験医増刊学 Vol.35, No. 5.
2. 久保田　浩行.　2017.
   システム生物学　－数理科学を用いる「いろは」とめざすもの－
   羊土社, 実験医増刊学 Vol.35, No. 5, 46-52.

学会発表（口頭発表のみ）

1. Kubota H., Uda S., Matsuzaki F. and Kuroda S. (2017, 11/21)

Trans-Omic analysis of the acute insulin action in the liver -Toward *in vivo* trans-omic analysis-
The 1st International Symposium for Trans-Omics, Tokyo, Japan. 招待講演

2. 久保田　浩行、宇田　新介、松崎　芙美子、山内　幸代、黒田　真也 (2017, 12/6)
インスリンパターンによる生体内シグナル分子の選択的制御
2017 年度　生命科学系学会合同年次大会、神戸、日本

3. Uda, S. and Kubota, H. (2017, 1/26)
An estimation method of sparse partial correlation matrix for omics data analysis.
11th International Symposium of The Institute Network “Frontiers in Biomedical Sciences”, Tokushima, Japan. 招待講演

4. Uda, S. and Kuroda S. (2017, 4/26)
Information theoretical analysis of signaling pathways.
The 6th Annual World Congress of Molecular & Cell Biology, Dalian, China. 招待講演

5. Uda, S. and Kubota H. (2017, 11/10)
Sparse Gaussian Graphical Model with Missing values.
The 21st Conference of Open Innovations Association FRUCT, Helsinki, Finland.

6. Matsuzaki F. (2017, 8/29)
Metabolic systems analysis with multi-omics data.
9th International Conference and Exhibition on Metabolomics and Systems Biology, Prague, The Czech Republic. 招待講演