

3Ga14 質量分析統合利用による網羅的時空間分解代謝変動の解析

○入江 美穂¹, 藤村 由紀², 三浦 大典², 大和 真由美², 割石 博之^{2,3}
 (¹ 九大院・生資環, ² 九大・レドックスナビ, ³ 九大・基教)
 hirowari@agr.kyushu-u.ac.jp

近年、ゲノム情報の最終表現型である代謝物を網羅的に解析するメタボロミクスが注目されており、分析手法として定量性・網羅性の高いGC-MSやLC-MSが広く用いられている。しかしこれらの手法には、組織抽出物中の代謝物を対象としているため局在情報が失われるという問題点がある。一方我々は、MALDI-MSを用いた質量分析イメージングにより、組織切片上にある代謝物の分布を直接可視化する技術を開発した。そこで本研究では、一過性中大脳動脈虚血再灌流ラットをモデルとして用い、質量分析イメージングとLC-MSのデータを組み合わせることで、ラット脳内における代謝動態の包括的な時空間分解的解析手法の構築を試みた。
 虚血再灌流後のラット脳内の代謝変動を明らかにするために、左脳側中大脳動脈に対し虚血処理を施したラットを作製し、1時間虚血後に再灌流(0、3、24時間)処理を行った。所定時間後、ラットから脳を摘出し、皮質・海馬・線条体を含む脳切片を作製後、質量分析イメージングに供した。一方皮質・海馬・線条体それぞれの詳細な代謝変動について検討するために、各領域を切り出し、代謝物を抽出後、LC-MSに供した。
 質量分析イメージングとLC-MSデータを組み合わせることで、微小領域における詳細な代謝変動を可視化することができ、病態レベルに応じた特異的な代謝物の動態を明らかにすることに成功した。本手法は様々な組織に適用でき、これまで明らかとなっていない生命現象を理解する画期的手法になると期待される。

Analysis of Comprehensive and Spatiotemporal Metabolic Dynamics by Integrated MS Technique

○Miho Irie¹, Yoshinori Fujimura², Daisuke Miura², Mayumi Yamato², Hiroyuki Wariishi^{2,3}
 (¹ Grad. Sch. Biores. Bioenviron. Sci., Kyushu Univ., ² ICMRN, Kyushu Univ., ³ Fac. Arts and Sci., Kyushu Univ.)

Key words LC-MS, MALDI-MS imaging, metabolomics

3Gp01 進化実験から得られたエタノール耐性大腸菌のマルチオミックス解析

○堀之内 貴明¹, 鈴木 真吾¹, 小野 直亮², 玉岡 邦康³, 平沢 敬³, 四方 哲也^{3,4,5}, 清水 浩³, 古澤 力^{1,3}
 (¹ 理研・QBIC, ² 奈良先端大・情報, ³ 阪大院・情報・バイオ情報, ⁴ 阪大院・生命機能, ⁵ ERATO, JST)
 takaaki_horinouchi@riken.jp

【目的】微生物による物質生産プロセスにおいて、宿主細胞はさまざまなストレスを受け生産効率の低下を引き起こすことから、ストレス耐性株の育種は工業的に重要な課題であるといえる。本研究では、大腸菌のエタノール耐性のメカニズムの理解を目的として、大腸菌をエタノールストレス存在下で長期間培養することによってエタノール耐性株を6株取得した。これらの耐性株に対して、次世代シーケンサによる全ゲノム変異解析、マイクロアレイによるトランスクリプトーム解析、およびCE-TOFMSによるメタボローム解析を実施し、これらのマルチオミックスデータから、エタノール耐性に関与する因子の探索を行い、耐性をもたらすメカニズムの抽出を試みた。
 【結果】トランスクリプトーム解析、メタボローム解析の結果からは、6株の耐性株に共通するような細胞内部状態の変化が見られ、それらの機能のエタノール耐性への関与が示唆された。一方で全ゲノム変異解析の結果からは、変異が生じた箇所の株間でのオーバーラップは少数であった。また、見出したそれぞれの変異がエタノール耐性に関与しているかどうかを検証するために、当該変異を親株に導入した組換え体の構築を行った。これらの情報を元に、エタノール耐性のメカニズムについて議論する。

Multi-omics analysis of ethanol-tolerant *Escherichia coli* strains obtained by experimental evolutions

○Takaaki Horinouchi¹, Shingo Suzuki¹, Naoaki Ono², Kuniyasu Tamaoka³, Takashi Hirasawa³, Tetsuya Yomo^{3,4,5}, Hiroshi Shimizu³, Chikara Furusawa^{1,3}
 (¹ QBIC, RIKEN, ² Grad. Sch. Info. Sci., NAIST, ³ Dept. Bioinfo. Eng., Grad. Sch. IST, Osaka Univ., ⁴ Grad. Sch. Info. Sci. Tech., Osaka Univ., ⁵ ERATO, JST)

Key words *Escherichia coli*, ethanol stress, evolutionary engineering, multi-omics analysis

3Ga15 MALDI-MSによる代謝物／タンパク質統合イメージング技術の開発

○山口 歩¹, 三浦 大典², 藤村 由紀², 割石 博之^{2,3}
 (¹ 九大院・生資環, ² 九大・レドックスナビ, ³ 九大・基教)
 hirowari@agr.kyushu-u.ac.jp

近年、MALDI-MSを用いた質量分析イメージング(MSI)が生体分子の組織内分布解析手法として注目されており、タンパク質、代謝物等の生体分子に広く応用されている。生体内ではこれらの生体分子が相互作用することで生命現象が成り立っている。それゆえ、多層的な生体分子の分布情報を組み合わせて解析することで、生命現象のより詳細な理解に繋がると期待される。しかし、質量分析イメージングでは測定対象物質に合わせたサンプル調製、マトリックス選択等が必要のため、タンパク質と代謝物等を同時に測定することは困難である。異なる組織切片からそれぞれの分布情報を得た場合、正確な分布比較が困難であるため、同一切片の情報が求められる。
 本研究では単一切片を用いた連続的な代謝物およびタンパク質MSI条件を最適化し、組織内における多層的な生体分子の正確な局在情報比較を試みた。高感度な代謝物MSI条件、続いて代謝物用マトリックスの洗浄・除去、インクジェットプリンターによる最適なトリプシン消化処理およびインキュベート条件、ペプチド用マトリックス添加法に対する徹底的な条件検討の結果、同一切片上の代謝物およびタンパク質の高感度な検出、さらに局在可視化に成功した。同一切片を用いることにより、画像を重ね合わせた詳細な分布の比較、同ポイント間のスペクトル比較も可能である。今回、代謝物およびタンパク質間で共通または相補的に局在する物質が確認されており、今後新たな知識発見に期待が持たれる。

Development of Metabolite/Protein Imaging Technique using MALDI-MS in a Single Tissue Section

○Ayumi Yamaguchi¹, Daisuke Miura², Yoshinori Fujimura², Hiroyuki Wariishi^{2,3}
 (¹ Grad. Sch. Biores. Bioenviron. Sci., Kyushu Univ., ² ICMRN, Kyushu Univ., ³ Fac. Arts and Sci., Kyushu Univ.)

Key words MALDI-MS, metabolite imaging, protein imaging

3Gp02 高温適応酵母のオミックス解析による耐熱性獲得機構の考察

○勝山 義明¹, 黒田 浩一¹, 富尾 紋子², 馬場 健史², 福崎 英一郎², 植田 充美¹
 (¹ 京大院・農・応用生命, ² 阪大院・工・生命先端)
 katsu8ma@kais.kyoto-u.ac.jp

【目的】バイオ燃料生産において、発酵時の熱ストレスによる生産効率の低下への抵抗性や、生産されたエタノールの分離の際の効率向上を見込めるため、高温でも良好に生育し、発酵が可能な耐熱性酵母の育種が有用であると考えられる。我々は以前に、実験室酵母 *Saccharomyces cerevisiae* MT8-1株を親株として、適応育種により高温耐性株を獲得しており、さらにオミックス解析を用いて耐性株の耐熱性獲得機構を考察した。
 【方法と結果】耐性株と親株を通常条件である30℃、もしくは高温条件である40℃で培養した後、親水性低分子量分子群を抽出し、GC/MSを用いてメタボローム解析を行った。この結果と、DNAマイクロアレイによるトランスクリプトームのデータをもとに、高温適応株と親株との間でのメタボローム、トランスクリプトームの変化を統合的に分析し、酵母が耐熱性を獲得した機構を考察した。

Consideration of mechanism how high-temperature-adapted yeast acquired thermotolerance by omics analysis

○Yoshiaki Katsuyama¹, Kouichi Kuroda¹, Ayako Tomio², Takeshi Bamba², Eiichiro Fukusaki², Mitsuyoshi Ueda¹
 (¹ Div. Appl. Life Sci., Grad. Sch. Agric., Kyoto Univ., ² Dept. Biotech., Grad. Sch. Eng., Osaka Univ.)

Key words *Saccharomyces cerevisiae*, thermotolerance, DNA microarray, metabolic analysis