

メタボロミクスの技術開発と応用 (メタボロミクスはものづくりバイオのナビゲータ)

大阪大学大学院工学研究科
生命先端工学専攻 教授

福崎 英一郎

1. はじめに

21世紀を迎え、環境、食糧、エネルギー問題が深刻化しています。今こそ「バイオテクノロジー」を鍵とした環境に優しい持続可能な社会システムの構築が熱望されています。我々は、メタボロミクス（代謝物総体解析）をコア・コンピタンスとして問題解決に取り組みながら、バイオ業界の国際的リーダーたる人材を育成することをミッションと考えています。

生体内代謝産物の網羅的解析に基づくオーム科学である『メタボロミクス (Metabolomics)』は、ポストゲノム科学の一分野として生まれた最も新しいオーム科学（網羅的代謝物解析情報に基づく科学）です。メタボロミクスは、機能未知遺伝子の機能解明の有力な研究手段として注目されているだけでなく、医療、食品、工業微生物分子育種への応用が期待されています。

メタボロミクスの最大の特長（図1）は、その一般性です。基幹代謝は、生物間で互換性を有するので、メタボロミクスは、ゲノム情報を必須としません。すなわち、ゲノム情報が利用できない実用植物や実用微生物に適用可能な唯一のオーム科学であり、応用運用が先行する所以でもあります。さて、上記のように有望技術として期待されているメタボロミクスですが、

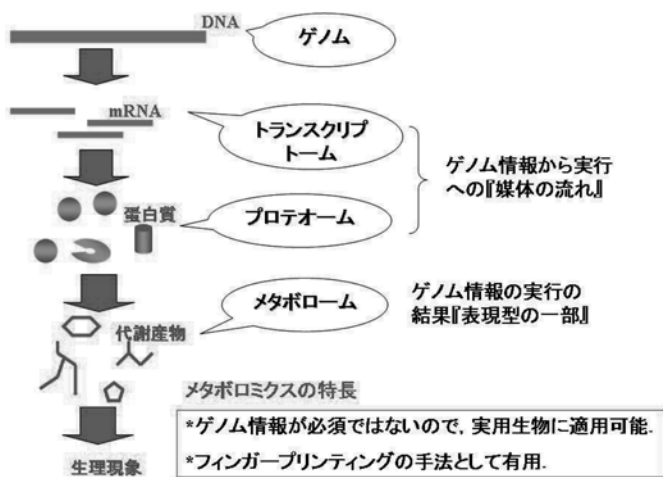


図1 ポストゲノム科学におけるメタボロミクス

トランスクリプトミクスやプロテオミクスと異なり、観測対象の化学的性質が多岐に渡る故に、手法の標準化が困難であり、自動化も進んでいません。メタボロミクスの各ステップ（図2）は、すべてが誤差を発生する要素を含み、標準技術の確立が極めて困難です。生命科学、有機化学、分析化学、情報科学の複合領域であるメタボロミクスは、技術開発、運用法開発の両面でまだまだ、端緒についたばかりです。我々は、メタボロミクスの解析システムの新技術を開発するとともに、新しい運用方法の開発を行っています。

2. 研究トピックス

<微生物のメタボロミクス>

生体内の代謝物総体であるメタボロームは、ゲノム情報発現過程の最下流に相当します。このことからメタボロミクスは、表現型に近い所から生物学的な特徴の違いを捉えるのに適していると考えています。我々は、そのメタボロミクスの解像度の高さを利用して、これまで、酵母の種々の表現型が、メタボロームから予測できることを示してきました。表現型予測システムの概略を図3に示します。酵母は表現型として種々の機能を備えますが、まず機能の一つに注目して、い

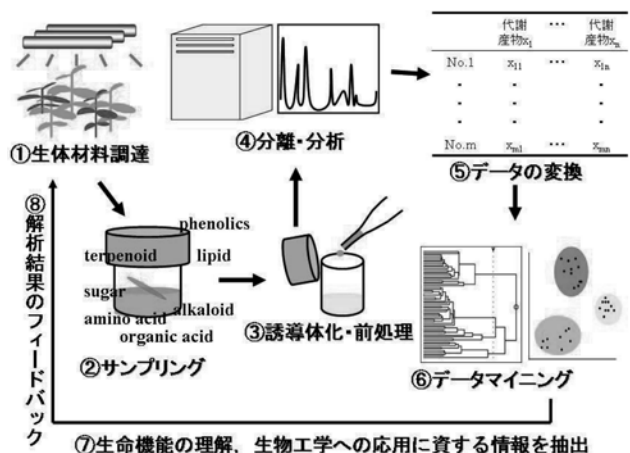


図2 メタボロミクスのスキーム

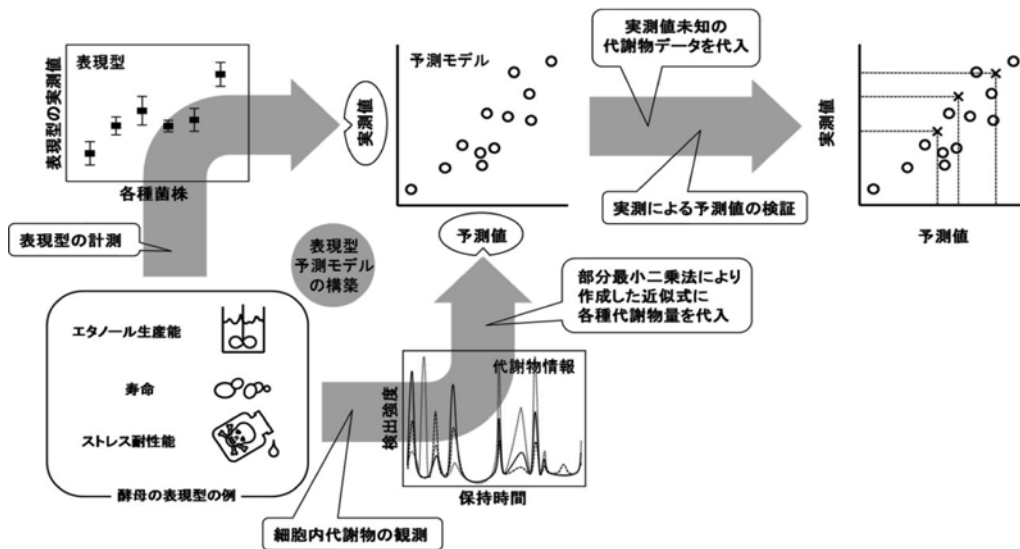


図3 微生物のメタボロミクスの概念

くつかの株でそれを表す値を測定します。我々がこれまでに注目にした表現型は、エタノール生産速度、細胞が一生の間に繰り返す出芽の総数（寿命）、ストレス条件下での比増殖速度等です。一方で、同じ株から代謝物を抽出し、クロマトグラフィー技術を用いた分離、質量分析計を用いた検出により、代謝物情報も取得します。このようにして得られた、表現型情報、代謝物情報の各情報の相関関係を明らかにし、代謝情報から表現型を予測するモデルを作成します。作成したモデルから表現型を增强するための戦略が生まれます。当戦略の過程あるいは結果で得られた情報をもと

に、様々な研究展開が可能です。例えば、予測値が検証された株を新たに予測モデルに追加することによる予測精度の改善、モデル構築に寄与した代謝物を手掛かりとした酵母の表現型改変等を試んでいます。

<動物のメタボロミクス>

メタボロミクスの最も重要な出口のひとつは、メディカル研究分野への応用です。そのためには、動物のダイナミズムをメタボロームで表現できることが重要です。我々は、ダイナミズム観測システム開発のため基礎技術開発を行っています。例えば、モデル実験魚類であるゼブラフィッシュの初期胚発生を題材として、発生段階における詳細なメタボロームを解析(図4)し、発生時の代謝変動を精査するとともに、発生段階予測システムの構築を試んでいます。また、製薬企業との共同研究として、極めて微細な容量での薬物応答を解析する精密表現型解析手法としてのメタボロミクスの可能性を追求しています。

<植物のメタボロミクス>

植物の代謝を遺伝子組み換え等の技術により人為的に改変し、環境浄化、物質生産等に利用しようという試みは世界中で活発になされています。ところが、当初の目論見どおりに都合よく代謝が改変されることはむしろ稀です。複数遺伝子を協調的に改変して全体のバランスを整えることは極めて困難です。我々は葉緑体遺伝子改変植物、植物核内遺伝子改変植物、遺伝子欠損体などを用いて生命活動に必須である基幹代謝を中心とした代謝プロファイリングをGC/TOF-MS、

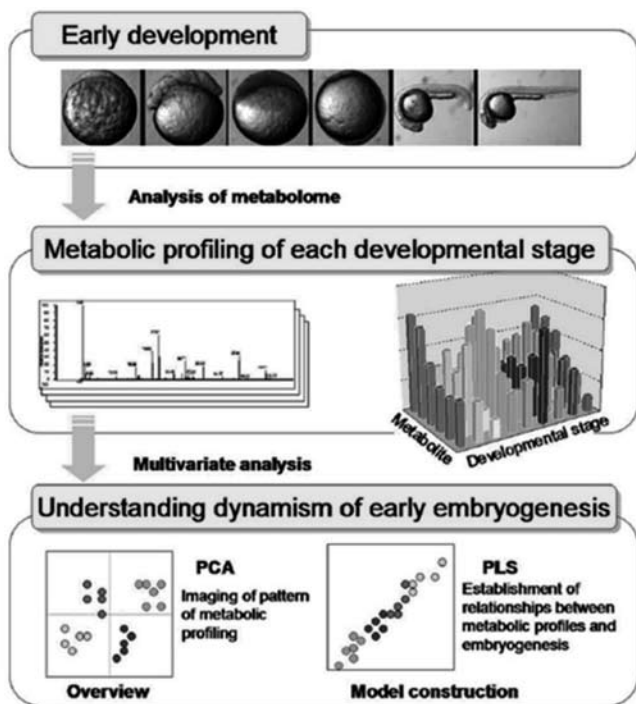


図4 ゼブラフィッシュ初期発生胚のメタボローム解析

CE/QQQ-MS 分析により実行し、目的達成のための戦略情報の取得を目的としてメタボロミクス技術の運用を行っています。

＜食品・生薬のメタボリックプロファイリング＞

食品・生薬は、その機能に寄与する成分が一般に多数存在します。そのような成分の中でも食品や生薬の品質に欠かせない機能であるおいしさに関わる成分を評価することは、各成分間に比例関係ではない非線形のような相関関係が存在するため困難です。例えば、ジュースの甘味を比較するとき、ヒトはショ糖含有量が多いけれども酸味や苦みの強いアミノ酸が多く含まれているジュースに比べてショ糖含有量が少なくても酸味の弱いジュースをより甘いと感じる場合があります。そのような含有成分間の相互作用が、食品・生薬の評価を困難にしている所以です。

そこで本研究室では、「メタボリックプロファイリング」（代謝物プロファイリング）の技術により非線

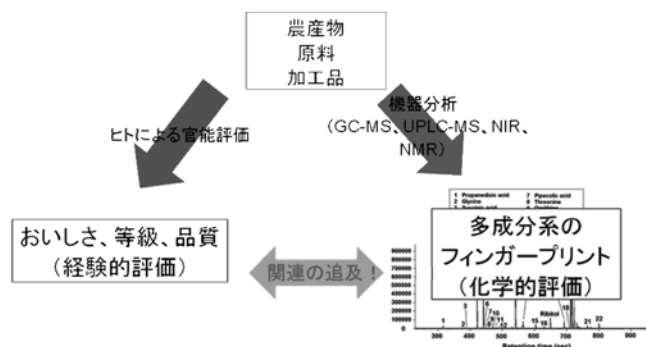


図5 食品・生薬のメタボローム解析の概念

形関係にある複数成分間の関係を明らかにして産業への応用を目指します。メタボリックプロファイリングとは生合成経路や特定の代謝物を定量分析することです。

食品を分析してメタボリックプロファイリングを行うことで成分情報を得ます。メタボロミクス技術の応用により得られた情報とヒトのおいしさ評価項目スコア（官能試験評価項目）を組み合わせることで、味やにおいに相関する成分情報を特定できます。メタボロミクス技術はサンプルを採取し、抽出を行い、誘導体化・機器分析・データ変換・多変量解析によるデータマイニングの過程で構成されています。メタボロミクス技術を応用することで多成分の分析データより有用な成分情報を得ることが可能となります。

また、これまで官能試験評価に依存してきた食品・

生薬の評価系を開発するとともに、製造・保管・流通技術への応用を志向しています。プロファイリングにより得たメタボローム（代謝物）情報と鑑定士による官能試験評価スコアを多変量解析により関連付けることで、実際に鑑定士が評価している成分を特定します。その結果を製造加工・保管方法の改良のフィードバックを行うことで、産業界に役立つ技術開発を目指しています。

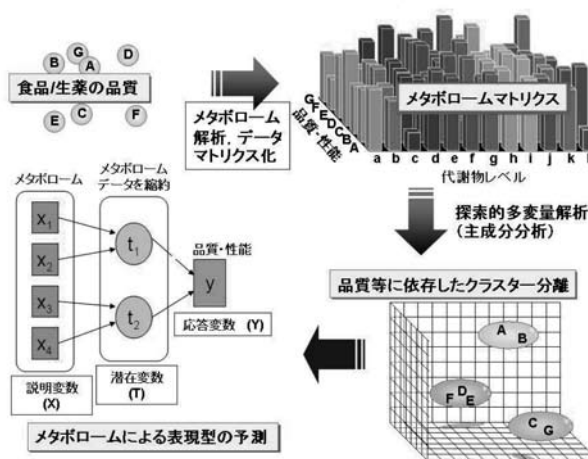


図6 食品・生薬等の品質予測への応用

＜生理活性物質の微量定量システムの開発＞

生体内には、微量で活性を有する数多くの生理活性物質が存在します。例えば、植物ホルモンはその内生量が pmol/gFW、もしくはそれ以下であり、通常の一次、二次代謝産物の内生量（nmol-mmol/gFW）の 10^{-9} - 10^{-3} 微量となります。分析化学の側面から考えた場合、これらの問題を解決するためには“分析系の高感度化”が最重要課題に挙げられます。そこで、我々はカラム内径のスケールダウンによる高感度化を達成することで生理活性物質の微量定量分析（図7）に取り組んでいます。

ナノフローLC/MS/MS（流速 350 nL/min、カラム内径 75 μ m）による網羅的植物ホルモン定量分析系の検出限界（ $S/N = 3$ ）は 66 amol-18 fmol であり、タバコの乾燥種子約 17 粒（1 mg DW）からサイトカイニン、アブシシン酸、オーキシンの網羅的植物ホルモン類の定量に成功しています（従来法の 100 倍超の高感度）。今後、遺伝子欠損体や組み換え体の網羅的内生植物ホルモンを定量していくことで植物ホルモンを介した新たな代謝制御機構を解明できることが示唆されます。将来的には植物による有用物質生産やバイオマス資源としての植物を有効活用していくための代

謝改変戦略に応用できると考えられます。

一方、プロスタグランジン (PG) は動物組織で合成されるプロスタノ酸を基本構造とした生理活性物質であり、五員環部分につく酸素原子と二重結合の数によって多様な構造を有しており、また個々の PG は血圧降下や睡眠誘発などの多くの生理作用があります。PG の中には PGD₂ と PGE₂ のように構造異性体が存在するために MS のみでの識別は困難となります。

よって、感度のみならず LC クロマト分離も重要となるため、我々はキャピラリー LC/MS/MS (流速 4 μL/min、カラム内径 300 μm) 分析系を運用して 6.4 fmol–27 fmol の検出感度で PGA₂、B₂、D₂、E₁、E₂、E₃、F_{2α}、K₂、I₂ の網羅的高度 PG 定量分析を行っています。現在は神経伝達物質や生理活性を有するポリアミン類も対象として、誘導體化を含めた分析系のさらなる高感度化も検討しています。

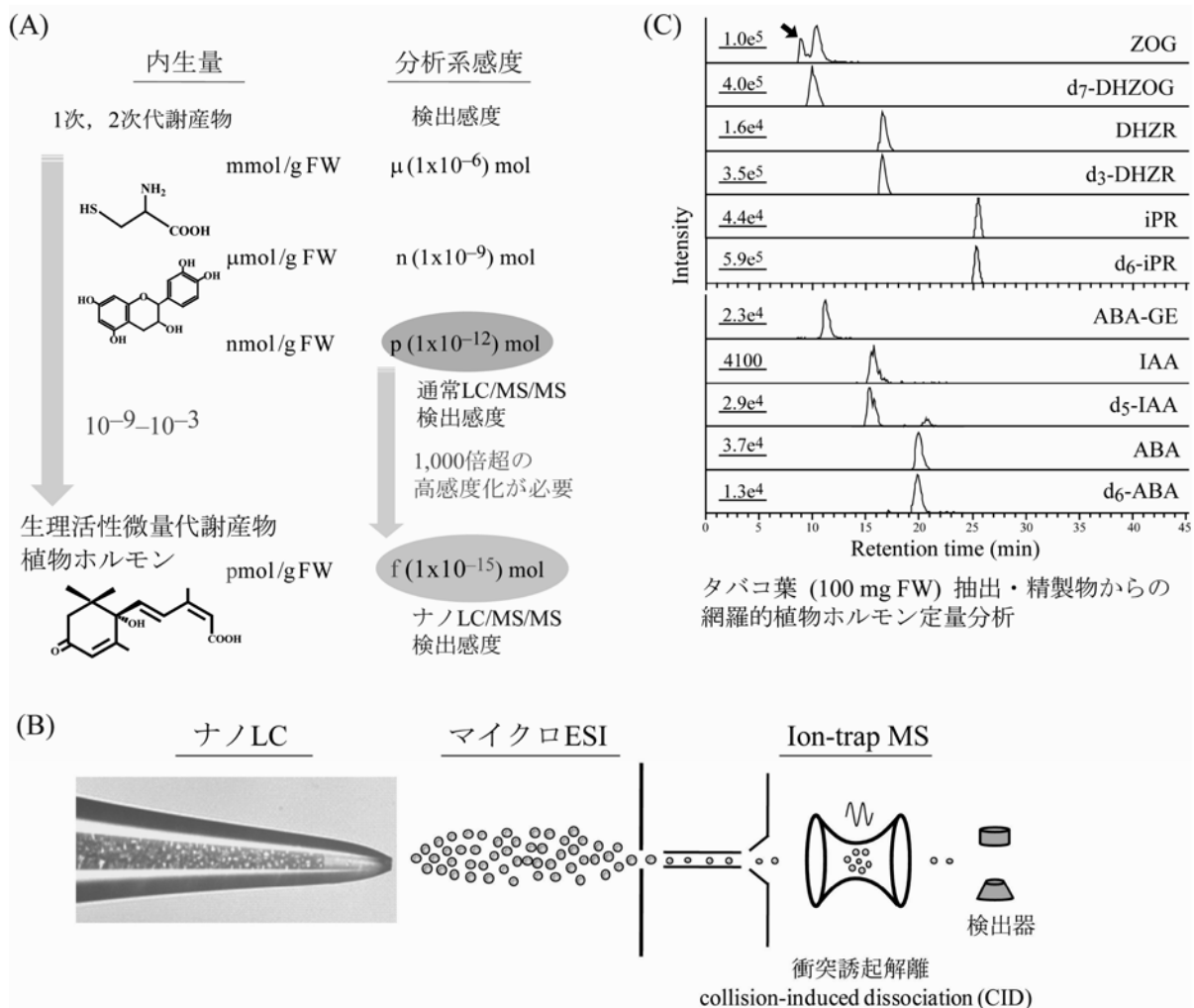


図7 生理活性化合物の微量定量の必要性と技術的戦略

図7. 分析系の検出感度向上の必要性と技術的戦略

- (A) 生理活性物質微量定量分析のための分析系高感度化の必要性
- (B) 高感度ナノフロー LC/MS/MS 定量分析系 (検出感度 < フェムtomol)
- (C) 植物ホルモン類の定量分析結果の一例

<メタボロミクス実践トレーニングコース>

福岡研では、研究室の新人に対してメタボロミクスの理解と技術習得を目的としてメタボロミクスの実践トレーニングコースを開講しています。本コースのポ

リシーを理解し、プログラムをこなすことにより、大学院修了時には、世界最先端のメタボロミクス技術が習得できます。福岡研は、本トレーニングコース修了と学位論文研究完成の両方を大学院修了要件とすることにより、メタボロミクス研究分野における世界最高レベルの即戦力研究者の養成を目指しています。

生命科学・有機化学・分析化学・情報科学の複合領域であるメタボロミクスは、技術開発・運用法開発の両面でまだまだ、端緒についたばかりです。我々は、メタボロミクスの解析システムの新技術を開発すると

ともに、新しい運用方法の開発を行っています。

メタボロミクスでは様々な分析機器の観測データを様々な解析手法でマイニングし、有益な知識を得ることを主眼とします。高度なメタボロミクス研究には、精度と再現性が担保された質の高いデータの取得と、安定したデータ解析システムの運用が必須です。上記達成のためには、研究室内での技術の向上、標準化、共有化が必須となります。

我々は、博士前期課程の学生が中心となって、新しく研究室に配属された学生を対象とした独自のトレーニングコースを実施しています。具体的には、各分析機器について学生が講義と実験を行い、指導を受けた学生が一人で実験からメンテナンスまで行えるようになることを最低限の目標としています。そして、トレーニングコースを受けた学生は次の年度には教える立場に回ります。4年生で「学び」、M1で「教え」、M2で「監督する」ことにより、知識を検証するとともに、OJT (On the Job training) 経験を通して、社会に出てからも重要となるリーダーシップおよびプレゼンテーションの能力を養います。M1学生は上記に加えて、11月には、10月入学の留学生のトレーニングを行い、12月あるいは1月には、企業研究者を対象としたメタボロミクス技術セミナーのインストラクターを務めます。1年間に日本人4年生、外国人M1学生、社会人研究者に対する異なるレクチャーを担当することにより、より深く技術を習得することを目指しています。

3. おわりに

<研究における今後の展望>

メタボロミクスは、確かに役に立つ技術ですが、いまだ発展途上の複合領域研究です。その発展には、「バイオ」、「天然物化学」、「分析」、「インフォマティクス」それぞれの専門技術者の協力が必須です。各方面の方々に興味を持っていただき、メタボロミクス研究に参加していただくことを強く期待する次第です。

<学生諸君へのメッセージ>

大半の学生は、博士後期課程に進学しません。「定職につけないから」というのが理由のようです。しかし、博士のキャリアパスをアカデミックポジションに限定しない場合でも、本当に博士は不利なのでしょうか？ 確かに、以前の高度成長期を支えた民間企業技術者は修士卒でした。しかし、少子高齢化、人件費高騰、国際化に伴う外国人労働者受け入れの波は、これまで聖域とされてきた先端技術部門にも押し寄せます。諸君らが民間企業の中核技術者になる頃には、技術系新入社員の何割かは博士号を有した外国人です。その時、幹部技術者は、「博士号」が必須アイテムとして求められるでしょう。技術立国維持は国是です。先端企業は、優秀な博士人材を求めています。上記を鑑みて博士として産業界で活躍しようという気概のある学生を我々は歓迎します。勿論、数少ないアカデミックポジションを目指す勇気ある学生も大歓迎です。

(醜 昭 和 58 年 卒 60 年 修 士 平 成 5 年 論 文 博 士)

海外赴任または海外在住の皆様へ

海外にお住まいの終身会員の皆様には、エアーメールで会誌を送付させていただきますので、海外赴任されます場合は、必ず送付先をお知らせ下さい。なお、ご転居・ご帰国の際は、速やかにお届けいただきますようお願いいたします。

年会費会員の皆様には、誠に申し訳ございませんが、赴任後の会費納入が困難となりますので、終身会員への移行をお願いいたします。