

KEIO IAB RESEARCH DIGEST

www.iab.keio.ac.jp

VOL
10
2014



RESEARCH HIGHLIGHT

- » 心筋細胞の発生過程をたどる網羅的シミュレーション
- » 藻類が二酸化炭素からバイオマスを作る代謝過程を解析
- » アルツハイマー病をはじめとした変性性認知症特有の代謝物質を明らかに
- » バクテリアにおける環境応答機構の進化の一端を明らかに
- » プロテオームデータからの網羅的なタンパク質の定量
- » 物理結合ドメインを考慮したタンパク質複合体の高精度予測
- » 細胞周期における microRNA の役割の解明

RESEARCHER INTERVIEW

第14回 **平山 明由** 特任助教（分析化学）

分析化学によって代謝測定技術を極め、医療・健康に貢献する。

心筋細胞の発生過程をたどる 網羅的シミュレーション

胎生期の心臓を構成する心筋細胞の分化の機序をコンピュータで予測する

Okubo, C., Sano, H.I., Naito, Y., Tomita, M. (2013) **Contribution of quantitative changes in individual ionic current systems to the embryonic development of ventricular myocytes: a simulation study.** *J Physiol Sci.*, **63**: 355-367.

成人の心臓を構成する心筋細胞は、心臓の拍動を制御するペースメーカー細胞や、刺激を受け取って収縮する細胞など、細胞の種類によって役割が分担されている。しかし実は胎児の未成熟な心臓では多くの心筋細胞が「一人二役」で働いており、成人の心臓におけるペースメーカー細胞のように拍動を制御しながら、収縮・弛緩も行う「ポンプ」としての機能も果たしている。心臓の発生過程では、心臓自身の形や構成する細胞の役割分担を変えながら、未成熟な個体の全身に血液や栄養分を常に運び続け、他の器官の成長を促す大切な使命を担っている。心臓が高度に分化しつつ常に拍動を維持する過程は、数分でも破綻すると個体の生命に関わることから、緻密に制御されていると考えられるが、その全容は明らかになっていない。動物実験では胎生期における1つの心筋細胞の分化を追跡するのは難しく、複数のイオンチャンネルの機能発現の変動を検証するのは困難であることから、自律的に拍動していた心筋細胞が、成熟して自律性を失い、大きな収縮力をもつ受動的な心筋細胞へと変化する際に、細胞の電気的興奮をつかさどるイオンチャンネルがどのように変化するかについては定量的な議論が不足している。

そこで、大久保氏らはコンピュータ・シミュレーションを用いて、心筋細胞の自律性の変化を電気生理学的に再現し、

その要因を推定することに挑戦した。大久保氏らはまず2007年に発表した自律性を持つ胎生初期と自律性を持たない胎生後期の活動電位を再現できる心筋細胞モデル (Itoh *et al.*, 2007, *Syst. Synth. Biol.*) を用い、胎生初期と胎生後期で電流密度の異なる9つの電流に着目した。さらに、胎生初期と胎生後期の中間段階としてありうる512通りの状況について網羅的にシミュレーションを行った。その結果、9つの電流のうち4つについては全体への影響が小さいことが示され、残る5つの電流の中でも Na^+ チャネル電流 (I_{Na})、ペースメーカー電流 (I_f)、内向き整流 K^+ 電流 (I_{K1})の電流密度が、胎生初期/後期のいずれの値であるかによって自律性の有無が決定されることが示された。さらにシミュレーション結果は、胎生期の心室筋細胞でこれまでに報告されている特徴も再現していた。自律拍動は胎生期の心室筋細胞においても見られ、また胎生初期の心室筋細胞の活動電位における脱分極を担っているL型 Ca^{2+} チャネル電流 (I_{CaL})から胎生期を経るにつれて I_{Na} がその役割を担うことが明らかとなっているが、これらの傾向もシミュレーション結果において確認された。加えて、胎生期を経るにつれて静止膜電位がマイナス方向に大きく変動することも再現されていた。

これらの結果により確認された1) I_{Na} の増加、2) I_f の消失、3) I_{K1} の増加、が順

番に起こる意義は、次のように説明される。まず自律的に拍動する細胞の活動電位である I_{CaL} から受動的に拍動する細胞の活動電位である I_{Na} によって脱分極を行う細胞に分化する。また、これらの受動的に拍動する細胞において、自律的な活動電位を作り出す I_f が減少し、さらにペースメーカー細胞からの刺激を受けた時のみ活動電位を作り出せるように静止膜電位を低く保つための I_{K1} の成長が必要となる。以上のことから、本成果は自律性の消失や、発生過程における最大弛緩期電位や電流の役割の変化を説明する定量的な証拠となった。図1はこの順に変化させた場合の活動電位波形である。また、 I_{Na} と I_f の量が心筋細胞の自律的な拍動における基本周期長の決定に寄与し、 I_f と I_{K1} の量によって細胞内 Ca^{2+} 濃度が増加するケースがあることも明らかとなった。さらに、この細胞内 Ca^{2+} 濃度の動態は、Kyoto model, Luo-Rudy model, ten-Tusscher modelの3つの心筋細胞数理モデルにおいても同様に予測された (図2)。

本研究は、心筋細胞の分化の機序の解明を通して、ES細胞やiPS細胞から心筋細胞を分化させる再生医療への応用や、心疾患の新しい治療法の開発への貢献が今後大いに期待される。

(初出：14年3月12日 編集：上瀧萌)

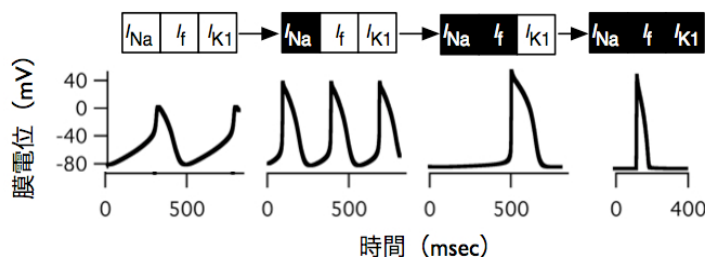


図1：自律的な活動電位の消失には3種のイオン電流に関わることが予測された。黒字は胎生初期の電流密度、白字は胎生後期の電流密度に設定された電流を示す。左側の3つの結果は自律性を有しており、一番右側の全ての電流が胎生後期の場合では、自律性を消失しているが、外部刺激を印加することで活動電位の発生が見られる。

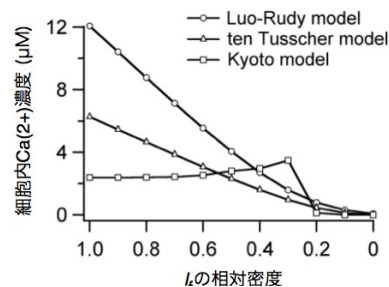


図2： I_f の相対密度と細胞内 Ca^{2+} 濃度の関係。 I_{K1} の相対密度を胎生後期の値に設定し、徐々に I_f の相対密度を胎生後期の値に近づけるシミュレーションを3つの数理モデルで行った。 I_f の相対密度を胎生初期の値(1.0)に設定した組合せでは、全てのモデルにおいて、細胞内 Ca^{2+} 濃度が異常に高い値になることが予測された。

藻類が二酸化炭素からバイオマスを作る代謝過程を解析

炭素安定同位体を用いた大規模な代謝追跡に成功

Ito, T., Sugimoto, M., Toya, Y., Ano, Y., Kurano, N., Soga, T., Tomita, M. (2013) Time-resolved metabolomics of a novel trebouxiohycean alga using $^{13}\text{CO}_2$ feeding. *J Biosci Bioeng.*, 116: 408-415.

化石燃料に強く依存する現代社会は二酸化炭素濃度の上昇や石油枯渇などの環境問題に直面しており、それを解決すべく近年あらゆるバイオ燃料の開発が進められてきている。特に中性脂質を蓄積する微細藻類は、従来のダイズやナタネなどの油糧作物以上の生産性が期待されることから「オイル産生藻類」と呼ばれ、バイオ燃料の原料として注目されている。多くのオイル産生藻類では、栄養素や光の強さや温度が最適とされる条件から大きく変化した場合にオイルを蓄積することが知られている一方で、微細藻類におけるオイル蓄積時の代謝メカニズムは未知の部分が多く、これらを解明する事で品種改良を論理的に進める事が可能となる。

"シュードコリスティス・エリブソイデア" (*Pseudochoricystis ellipsoidea*)；以下「シュードコリスティス」) は、オイル生産への利用が検討されている緑藻類の一つであり、伊藤卓朗助教らのメタボローム解析によって既に代表的なオイル蓄積条件である

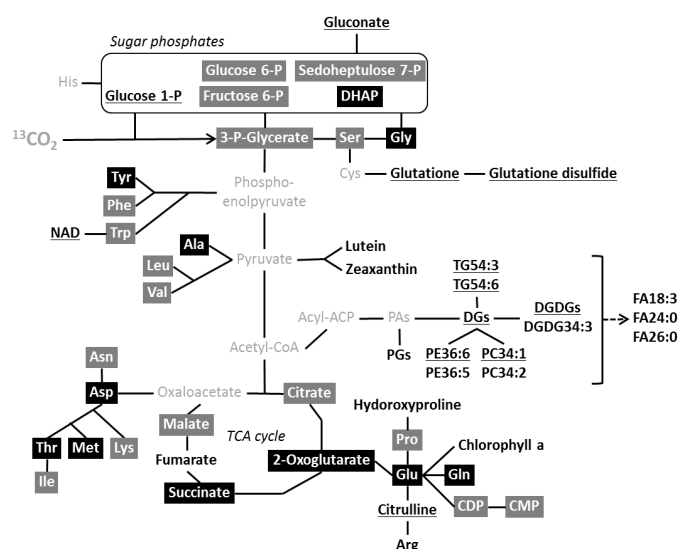
窒素栄養欠乏時の代謝物質量的変化が明らかにされている (Ito *et al.*, 2013, *Metabolomics*)。しかし、通常のメタボローム解析では代謝物質量的変化は捉えられるものの、代謝による物質の移り変わりを追う事はできない。そこで伊藤博士らは、メタボローム解析に用いられる質量分析計が代謝物質の同位体を検出できる事を利用し、天然には1%ほどしか存在しない炭素安定同位体・ ^{13}C を濃縮して作られた二酸化炭素をシュードコリスティスに与える事で、光合成により取り込まれた ^{13}C が代謝物質に取り込まれる過程を経時的に解析した。

本研究では、安定同位体添加前から1, 3, 6, 12, 24, 48時間後まで経時的に同位体メタボローム解析を行い、中心代謝物質やアミノ酸、プリン、脂肪酸、リン脂質、糖脂質、色素など代謝の広範囲に渡る78物質において ^{13}C が代謝物質に取り込まれていることを確認できた。代謝物質間で ^{13}C に置き換わった分子の比率の時間変化を階層的クラスター分析により4つに分類し、緑藻・クラミドモ

ナスの代謝経路に描写した(図)。概ね予想される代謝経路に沿って ^{13}C への置換が進んだが、いくつかの有機酸やアミノ酸では予想される順番と合わない事象が発見された。そのため今後は、細胞内小器官の局在や異なる代謝経路の存在等を解析することにより新しい知見を得られる可能性がある。脂質においては、グリセロ脂質の構成要素でもある脂肪酸の置換速度が遅いことから、グリセロ脂質への新規生成経路からの脱離ではない事が示唆された。

本研究は、光合成により固定された炭素を分子レベルで脂質まで追った初めての成果であり、研究知見の少ないシュードコリスティスの俯瞰的な代謝経路について考察した。今後、これらの成果を基に、シュードコリスティスの代謝解明および産業利用が促進する事が望まれる。

(初出:14年4月17日 編集:上瀧萌)



図：代謝物質を ^{13}C 置換率の変化で階層的クラスター分析し、クラミドモナスにおいて想定される代謝経路上に描画した。置換スピードの早いクラスターから順に、黒地に白文字、グレー地に白文字、下線付き黒文字、装飾無しの黒文字とし、測定できなかった分子はグレー文字とした。

アルツハイマー病をはじめとした変性性認知症特有の代謝物質を明らかに

認知症の診断に応用できる可能性を示唆

Tsuruoka, M., Hara, J., Hirayama, A., Sugimoto, M., Soga, T., Shankle, W.R., Tomita, M. (2013) **Capillary electrophoresis-mass spectrometry-based metabolome analysis of serum and saliva from neurodegenerative dementia patients.** *Electrophoresis*, **34**: 2865–2872.

変性性認知症は加齢に関連して発症する疾患の中でも特に一般的な疾患であり、人口の高齢化に伴い世界的にその患者数は増え続けている。脳の神経細胞の異常が原因である変性性認知症には、アルツハイマー型、前頭側頭型、レビー小体型などがある。これらは心理検査や血液検査、さらに、CTやMRI、SPECTやPETなどによる脳の形の画像診断などによって総合的に判別されるが、いずれも脳内特定部位の委縮や、タンパク質の異常凝集などの変性が見られる点が共通した特徴であることが明らかにされてきている。一方で、詳しい発症メカニズムや客観的な診断指標は未だに議論的になっており、適切な処置も病型によって異なるため、総合的な調査と理解が求められている。

そこで当時慶應義塾大学大学院 政策・メディア研究科修士一年の鶴岡茉佑子らは、変性性認知症に分類される各病型間での代謝プロファイルの比較解析を目的とした研究を行った。アルツハイマー型・

前頭側頭型・レビー小体型の三種の変性性認知症患者 (N=10)、及び対照群である非認知症患者 (N=9) から侵襲度が低いサンプルとして血清と唾液を採取し、キャピラリー電気泳動・飛行時間型質量分析装置 (CE-TOFMS) によるメタボローム解析を行った。この解析によって各病型に特異的な代謝物質を発見することができれば、病理の解明や、診断に応用することが期待される。

結果として、血清ではβ-アラニン、クレアチニン、ヒドロキシプロリン、グルタミン、イソクエン酸、シチジンの6つ、唾液ではアルギニン、チロシンの2つの代謝物について、患者群と対照群との間で差が見られた。また多変量解析の結果から、唾液と比べて血清の方が、疾患に由来する代謝プロファイルの変異を観察しやすく、診断に用いる材料として有用であることが確認された。さらに、各病型を分離できるバイオマーカー候補として45個の代謝物が特定された。なかでも m/z 171.14、m/z 242.18 の質

量電荷比で検出された2つの代謝物は、病型によって傾向が異なるため、二重のスクリーニングを行う事で病型間での分離が可能であることが分かった (図)。これらの代謝物をはじめとするバイオマーカー候補を併用した多重スクリーニングは、手軽で客観的な病型診断につながる有用な手法である。加えて、各病型に特有の代謝変動がクエン酸回路上の複数の代謝物で検出され、認知症患者体内では糖代謝の一部に変異が起きている可能性が示唆された。

本研究は変性性認知症の代謝的な変動を病型間で比較した初の例となる。更なる研究の発展によって、病因によって異なる代謝プロファイルを診断に応用できる可能性を秘めており、病理解明への貢献が期待される。

(初出: 14年4月22日 編集: 池田香織)

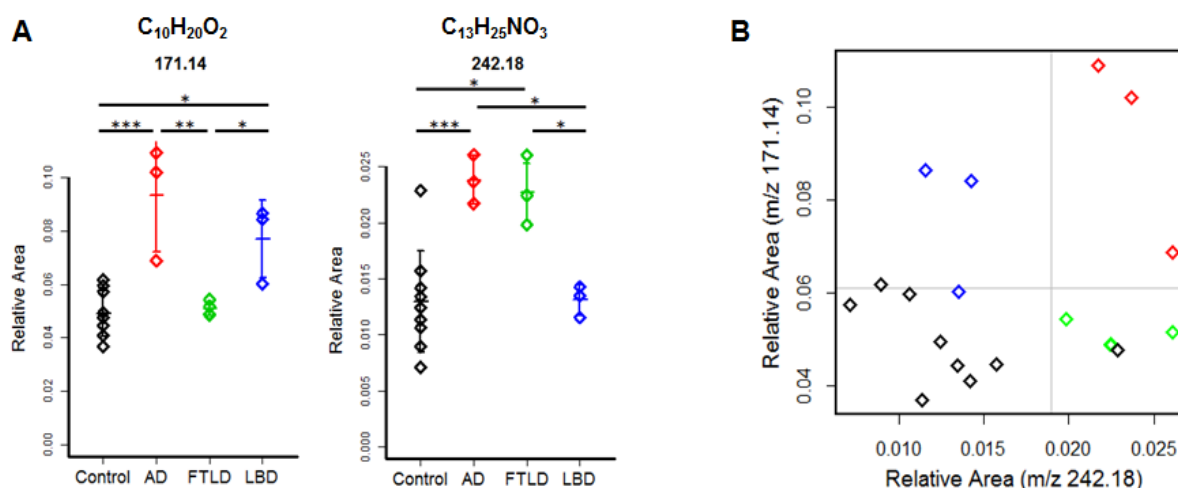


図:(A) バイオマーカー候補として得られた m/z 171.14、m/z 242.18 の代謝物。質量電荷比の値から、分子式はそれぞれ C₁₀H₂₀O₂、C₁₃H₂₅NO₃ と推定された。(B) これらのバイオマーカー候補を用いた二重スクリーニングのイメージ図。病型によって代謝変動のパターンが異なるため、2つの代謝物の量から病型を判断できる。

バクテリアにおける環境応答機構の進化の一端を明らかに

ネットワーク理論を応用した新たな進化解析手法を開発

Matsui, M., Tomita, M., Kanai, A. (2013) **Comprehensive computational analysis of bacterial CRP/FNR superfamily and its target motifs reveals stepwise evolution of transcriptional networks.** *Genome Biol Evol.*, 5: 267–282.

ゲノムの一部を RNA に写し取る “転写” は、セントラルドグマの根幹を担う重要な細胞内プロセスの一つである。この転写の過程は “転写因子” というタンパク質によって制御されている。転写因子は標的となる DNA の遺伝子上流配列に結合することによって転写の時期や転写の量の調節を行う機能を持っている。

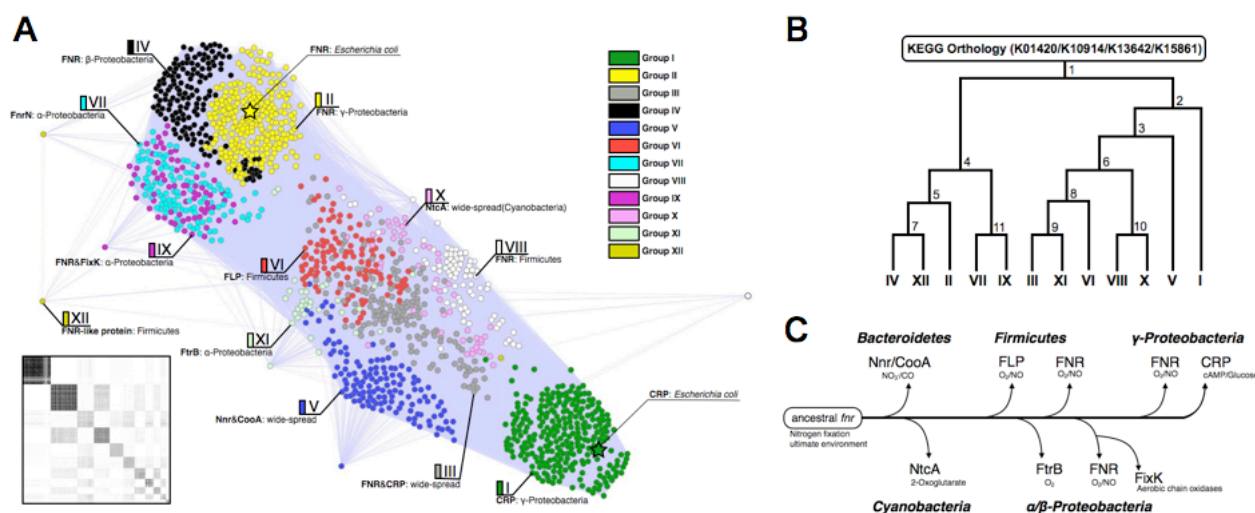
CRP/FNR スーパーファミリーは多くのバクテリアに分布するグローバルな転写因子群であり、類似した DNA 結合モチーフを共有する一方で、それぞれが cAMP や NO といった多様な低分子との結合能を持ち、主要な環境応答機構に関わっている。従って、その進化モデル構築の意義は大きい。CRP/FNR スーパーファミリーは巨大、かつ非常に配列多様性に富んでいるため、従来の系統解析手法を適用することは困難であった。そこで当時政策・メディア研究科後期博士課程の松井求氏は、既存の “ボトム

アップ型” の系統解析手法ではなく、グラフ分割問題としてのクラスタリングを出発点とする “トップダウン型” の系統解析手法を提案し、それに基づいた進化モデル構築を試みた。

まず、1,455 の既知ファミリー転写因子について配列類似性に基づいたスペクトラルクラスタリングを行った結果、これらが 12 グループへ分かれ、CRP を始めとする多くの転写因子については結合する低分子ごとに高純度で分画された。しかし一方で FNR については複数のグループへまたがるように分画され、また Aquifex 門 から Proteobacteria 門まで広く分布していた。これは CRP/FNR ファミリーの起源は FNR タイプの転写因子、すなわち窒素代謝に関わる制御因子であったことを強く示唆している。さらに 1,969 本のバクテリアゲノムを対象に系統的プロファイリングを行ったところ、CRP/FNR ファミリー、

及びそのターゲットモチーフの組み合わせは進化の過程で門を超えたダイナミックな変化を繰り返してきたことが明らかになった。このような柔軟な進化が現在の多様な環境応答機構を生んだと考えられる。同時にこのような複雑な構造を持つスーパーファミリーの進化モデルが構築できたことは、分子進化、さらには生物の進化を解き明かす上で非常に意義深い。松井氏の開発した系統解析手法は幅広い生物種におけるさまざまな因子に適用可能である。本手法を応用することで、従来の系統解析手法ではわからなかった新たな進化モデルが提唱されることが期待される。

(初出：14 年 4 月 22 日 編集：池田香織)



図：本手法の概要 (A) CRP/FNR ファミリー転写因子の配列類似性ネットワーク、及びスペクトラルクラスタリングによる分画。 (B) クラスタ単位での系統樹。 (C) CRP/FNR ファミリー転写因子の進化モデル。

プロテオームデータからの網羅的なタンパク質の定量

迅速で簡便なタンパク質の一斉定量法を実現

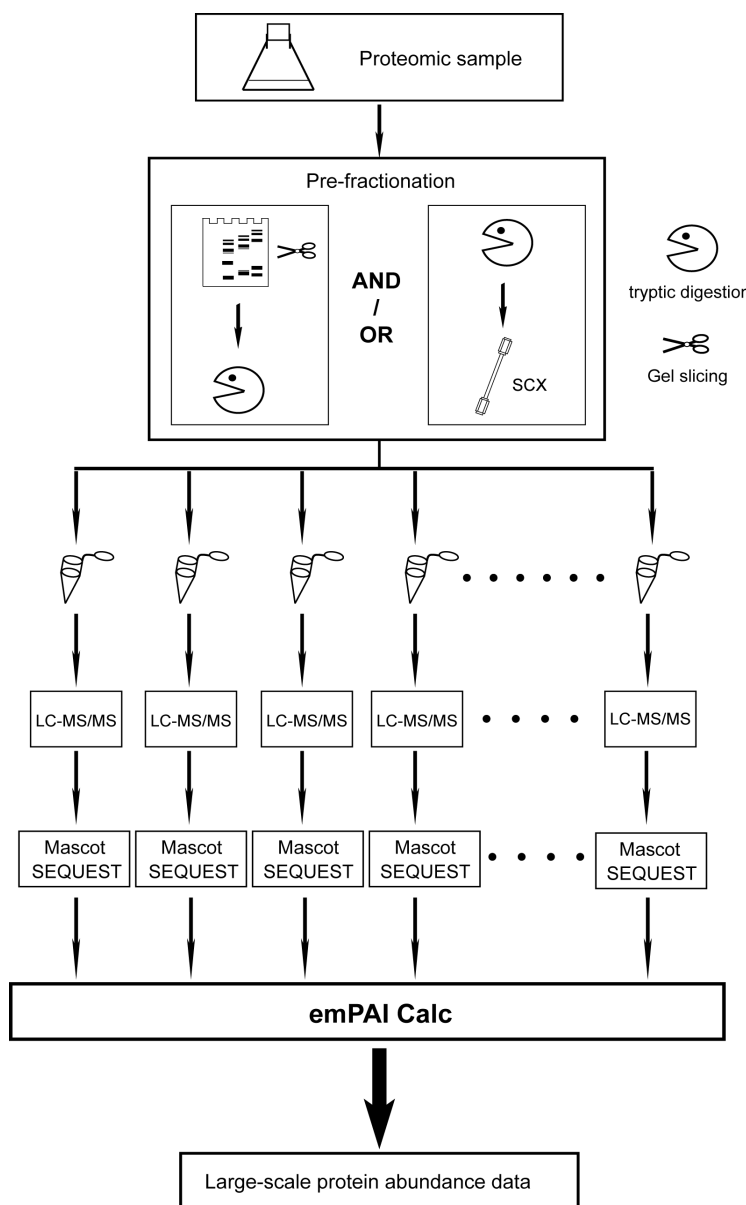
Shinoda, K., Tomita, M., Ishihama, Y. (2010) **emPAI Calc** — for the estimation of protein abundance from large-scale identification data by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Bioinformatics.*, 26(4), 576-577.

タンパク質は生体内で活躍する主力の分子であり、個体の成長や疾患等と大きく関わっている。このためタンパク質に焦点を当てた解析をする意義は大きく、多くの研究者がタンパク質に関する研究を盛り上げている。このようなタンパク質解析は、従来特定のタンパク質に着目してその機能を調べるものが主流であったが、近年では個別のタンパク質に着目することなく細胞全体のタンパク質を網羅的に同定・定量する手法が求められている。例えば、がん患者と健常者の組織からタンパク質を網羅的に調べ、差分をとることでがん患者、あるいは健常者に特異的なタンパク質を検出することができる。さらに、両方で差があった物質を測定することで、どのくらい異なるかということを定量的に数値化することが可能となる。がん患者と健常者など、比較したいサンプル間におけるタンパク質の種類や量の違いを知ることが、疾患のメカニズムを解明する上でも、また治療法を開発する上でも非常に役立つことが期待される。

こういった背景から、タンパク質を網羅的に定量する技術が発達してきた。有力な手法の一つとして、当研究所の石濱教授らの研究グループが考案した "Exponentially Modified Protein Abundance Index (emPAI) 法" が挙げられる (Ishihama *et al.*, 2005, *Mol. Cell Proteomics*)。emPAI 法はタンパク質混合液中に、それぞれのタンパク質がどのくらいの量で存在しているかを定量的に知ることができる画期的な方法である。この emPAI 法を用いることで、サンプルに含まれる数千種類のタンパク質の値を精度良く求めることが可能となった。しかし、emPAI 法を利用し定量値を算出するためにはいくつかの計算式を解く必要があり、情報学的な知識が必要となる。従って情報学の知識が乏しい実験生物学者にとって emPAI 法は利用し難いものであった。

そこで、当時博士課程の篠田幸作氏らは、簡単に emPAI 値を得ることができ、計算ソフトウェアの開発を行った。このソフトウェアでは emPAI 値を算出するための複雑なステップを自動化してあるので、利用者は難しい計算をする必要がなくなる。また、使い方も至ってシンプルであり、プロテオームで得ら

れた測定値情報を入力し、MASCOT や CSV などの出力形式を指定するだけで、emPAI 値を得ることができる。誰でもこのソフトウェアを用いることで、容易に比較したい2サンプル間におけるタンパク質を定量することが可能となるのだ。



図：タンパク質サンプルから emPAI 値を算出するためのフローチャート

現在、生命科学分野の発展に伴い大量のデータが蓄積してきている。膨大なデータの中から生物学的な知見を得る「情報生物学」。この情報生物学と実験生物学を組み合わせた研究は有効であるが、両者の専門家になることはなかなか

難しい。今回篠田氏は、実験生物学者が簡単に情報生物学を扱えるようなソフトウェアを開発したが、これは両者の橋渡し役と位置づけることができるだろう。それぞれの専門分野にとどまらず、実験生物学と情報生物学を融合できるよ

うな仕組みを提供することは、今後のサイエンスを盛り上げていくためにはとても重要なことだ。こういった学問横断的なアプローチによって学問の幅が広がることを期待したい。

(初出: 11 年 12 月 22 日 編集: 高根香織)

物理結合ドメインを考慮したタンパク質複合体の高精度予測

ドメイン間相互作用を考慮することで劇的に偽陽性を低減

Ozawa, Y., Saito, R., Fujimori, S., Kashima, H., Ishizaka, M., Yanagawa, H., Miyamoto-Sato, E., Tomita, M. (2010) **Protein complex prediction via verifying and reconstructing the topology of domain-domain interactions.** *BMC Bioinformatics.*, 11: 350.

タンパク質間相互作用 (PPI: Protein-Protein Interactions) データは、効率の良い実験手法の発展により、近年急速に蓄積されてきている。転写や翻訳、代謝、シグナル伝達などの多くの重要な生命現象には、多様なタンパク質が密に相互作用して形成される複合体が関わっているが、複雑な相互作用データからこのような複合体を予測することができれば、タンパク質のネットワークがどのように生命現象に関与しているのかを理解することが可能となる。しかし、実際に細胞内に存在する複合体を高精度で抽出することは難しく、PPI のグラフ表現から複合体を予測する情報科学的手法は複数存在するものの、いずれも偽陽性が多いことが知られている。その理由の一つは、複合体予測時にタンパク質の同時結合性を考慮していないため、実際には同時に結合できないタンパク質群を複合体として検出しているためである。

そこで小澤陽介氏は、タンパク質のドメイン間の物理結合 (DDI: Domain-Domain Interactions) を考慮した、複合体を形成するタンパク質群の新規予測法を開発した。この予測法では、複合体を構成するタンパク質のリストだけではなく、結合のトポロジと結合を媒介するドメインまで得ることが出来る点が特に画期的である。この物理結合ドメインを考慮することで偽陽性を劇的に低減させ、さらに複合体予測問題を二値整数計画問題に定式化することで、小澤博士らは効率良く複合体を予測することに成功した。本手法の強みの一つは、高精度に複合体を予測することで、機能未知タンパク質に対しても、複合体を形成する別のタンパク質から機能を推定することが出来ることである (図)。本手法を利用することで、233 の酵母タンパク質複合体を予測し、そのうち機能未知であった 64 の複合体のタンパク質の機能決定に成功した。

さらに、本手法をデータベースに登録されている酵母の DDI データを用いて検証したところ、MCL (Markov Cluster Algorithm) 等の従来法より、約 2 倍の精度で候補を取得することに成功した。多くの生物種で実験データが充実している PPI に比べて DDI は入手可能なデータが少なく、DDI を考慮した複合体予測アルゴリズムを構築することは現状非常に困難である。しかし、この予測手法から得られる高精度な複合体の候補は実験的にタンパク質複合体を検出する上で直接応用することができ、理想的なパイオインフォマティクスの形を体現しているといえる。今後、二値整数計画モデルを改良することで、より高精度に生体内の複合体を再現するアルゴリズムを完成させたいと小澤氏は語っている。

(初出: 12 年 3 月 2 日 編集: 喜久田薫)

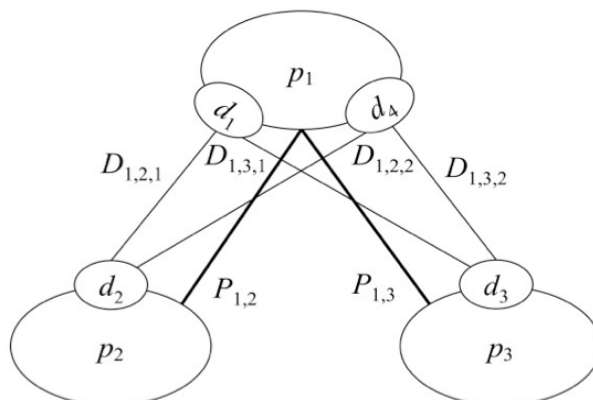


図: 予測された複合体の例 ノード (タンパク質) を繋ぐ実線がタンパク質間相互作用 (PPI)、点線がドメイン間相互作用 (DDI) を示している。下部の例が機能未知タンパク質を含むタンパク質群から構成される複合体を示している。複合体を構成する別のタンパク質における機能的アノテーションから機能未知タンパク質の機能決定を可能としている。

細胞周期における microRNA の役割の解明

静止期から細胞増殖を再開する際の miRNA による遺伝子発現制御ネットワークを明らかに

Iwasaki, W., Y., Kiga, K., Kayo, H., Fukuda-Yuzawa, Y., Weise, J., Inada, T., Tomita, M., Ishihama, Y., Fukao, T. (2013) **Global microRNA elevation by inducible exportin 5 regulates cell cycle entry.** *RNA*, 19: 490-497.

microRNA(miRNA)は20塩基程度の小さなRNA分子であり、翻訳はされずにそれ自身が標的となるmRNAと結合することによって遺伝子発現制御を行う。miRNAは発生や分化、細胞増殖、老化、代謝、疾患など生体内の様々な現象に関与するため、これまでよく知られていると思われていた生命現象においても思わぬ重要な役割を果たしていることがある。そこで、当時博士課程に在籍していた岩崎(渡邊)由香氏らはmiRNAと細胞周期の関連に着目し、細胞周期におけるmiRNAの新たな役割の解明を目指して研究を行ってきた。

細胞周期とは一つの細胞から二つの娘細胞が生まれるまでの周期を指す。細胞周期には決まった順番の期が存在し、DNA合成準備期(G1)、DNA合成期(S期)、分裂準備期(G2)、分裂期(M期)を順に繰り返すことによって細胞は増殖していく。ただし、この細胞周期は無制限に進行するのではなく、ある程度細胞が増えると静止期(G0)に入る。この静止期から細胞周期への出入りは細胞にとって非常に重要であり、例えば、がん細胞は静止期に入れないため細胞増殖を繰り返してしまうのである。

岩崎氏らはこの細胞周期とmiRNAの関連性を明らかにするために、静止期から細胞周期進入時におけるmiRNAの発現量を観察した。その結果、T細胞を用いたin vivoの系およびマウス線維芽細胞を用いたin vitroの系において、miRNAの発現量が大きく上昇するという現象を見いだした。そこで、渡邊氏はmiRNAだけでなくmiRNAを制御する因子も同様に制御されているのではないかと考えた。解析の結果、この現象がmiRNA核外輸送タンパク質Exportin-5の翻訳量の増加に起因することがわかった。次に、この影響をシステムレベルで観察するため、トランスクリプトームおよびプロテオームの変動パターンを網羅的に測定・解析したところ、細胞周期および増殖関連の遺伝子群の発現量に変動が観察され、その一部が実際にmiRNAの標的となっていることが示された。

本解析によって、細胞周期進入時にExportin-5を介したmiRNAによるフィードバック制御が重要な役割を担っている可能性を示唆し、実際に細胞増殖および細胞周期への影響を細胞レベルで確認することができた。先に述べたように、細胞周期の制御はがんと密接に関

わっている。Exportin-5とmiRNAによる制御ネットワークが細胞周期に与える影響を、より深く調べることによって、将来的にはがんの治療薬の開発に役立つことが期待される。

(初出: 14年5月22日 編集: 池田香織)

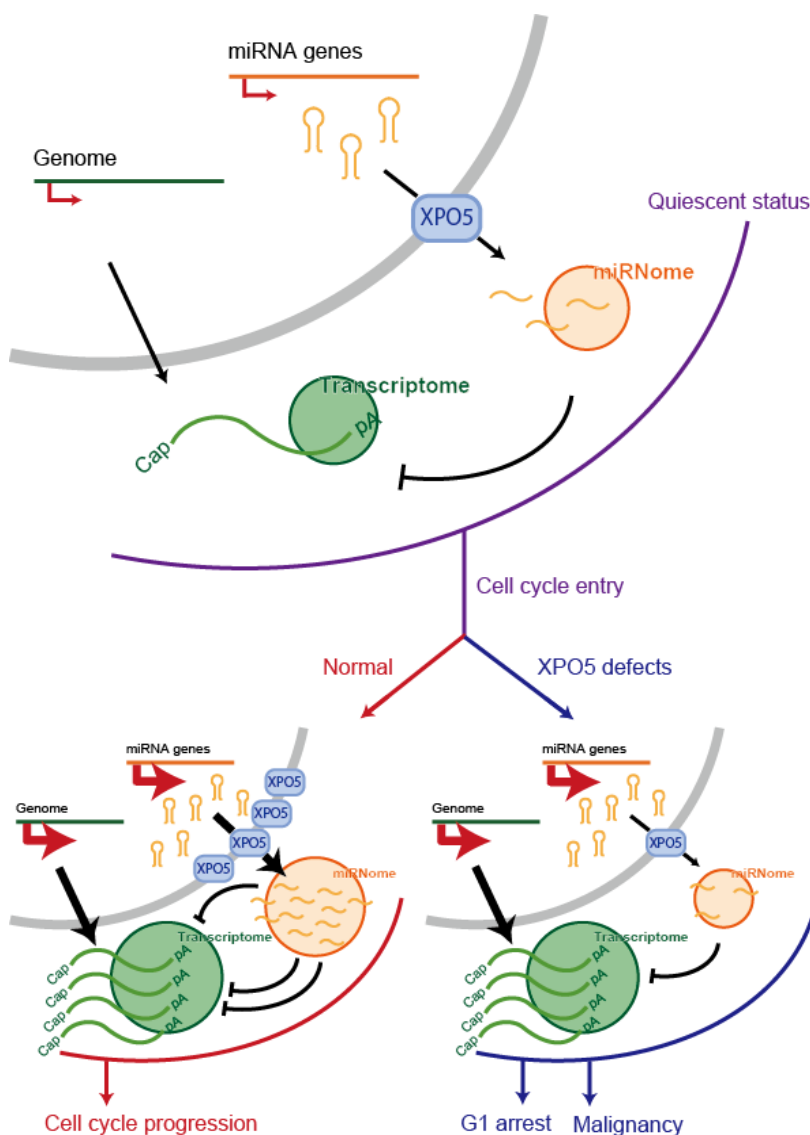
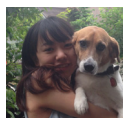


図: 細胞周期において miRNA 発現量が大きく変動する原因因子として、miRNA 核外輸送蛋白質 Exportin-5 を見いだした。この影響をシステムレベルで観察するため、全遺伝子の変動パターンを測定し、情報学的に解析した。結果、細胞周期進入時に Exportin-5 を介した miRNA によるフィードバック制御が重要な役割を担っている可能性を示唆した。

論文ハイライト 著者紹介



研究テーマ：心筋細胞の発生過程をたどる網羅的シミュレーション

大久保 周子

現職：京都大学医学研究科医科学専攻修士 2 年

夢：食いっぱぐれずに楽しく過ごすこと

一言：こころと身体と健康第一



IAB の OG 岩崎未央さんと



研究テーマ：藻類が二酸化炭素からバイオマスを作る代謝過程を解析

伊藤 卓朗

現職：慶應義塾大学先端生命研 特任助教、科学技術振興機構 さきがけ研究者（兼任）

夢：世界中の村を巡る。

一言：藻類の培養は、まだまだ意外な発見があって面白いです。



竜神大吊橋からのバンジージャンプ
(高さ日本最大 100m)



研究テーマ：アルツハイマー病をはじめとした変性性認知症特有の代謝物質を明らかに

鶴岡 茉佑子

現職：慶應義塾大学大学院 政策・メディア研究科 修士課程 2 年

夢：地中海に別荘

一言：鶴岡生活で和食が好きになりました。また遊びに行きます！



温海温泉にて



研究テーマ：バクテリアにおける環境応答機構の進化の一端を明らかに

松井 求

現職：東京大学大学院 特任研究員

夢：範士八段になること。そして博士八段になること。

一言：Special thanks to mutation and selection



弓道（四段）



研究テーマ：プロテオームデータからの網羅的なタンパク質の定量

篠田 幸作

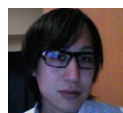
現職：カリフォルニア大学サンフランシスコ校 ポスドク研究員

夢：世界に通用する研究者になること

一言：鶴岡のお財布にやさしくて美味しいご飯が懐かしいです。



テーマパークにて



研究テーマ：物理結合ドメインを考慮したタンパク質複合体の高精度予測

小澤 陽介

現職：eCrebo Engineer (R&D)

夢：島を買う

一言：2012 年から、IBM Research 時代の友人が立ち上げたイギリスのスタートアップで働いています。



象と一緒に



研究テーマ：細胞周期における microRNA の役割の解明

岩崎 由香

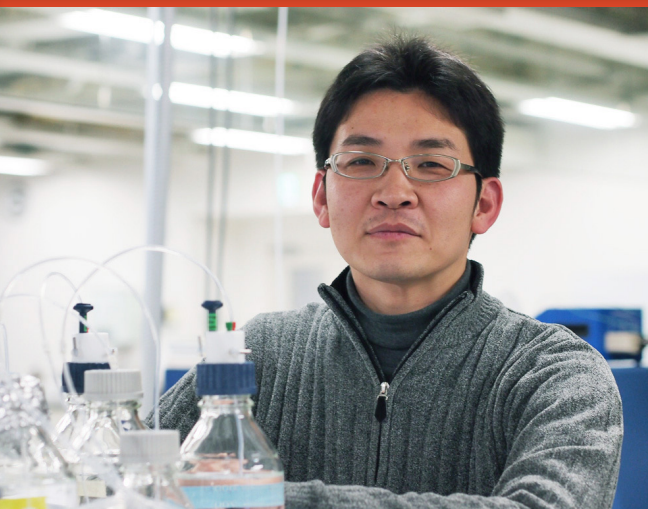
現職：慶應義塾大学医学部分子生物学教室 助教

夢：円満な家庭と充実した研究生活

一言：共著者の皆様と金井さん・富田さんの暖かいサポートに、
この場をお借りして心よりお礼申し上げます。ありがとうございました。



夫と、結婚記念日ディナー



特任助教 平山 明由

Project Research Associate
Akiyoshi Hirayama

専門：分析化学・メタボロミクス

分析化学によって代謝測定技術を極め、医療・健康に貢献する。

— 現在の研究テーマについて教えてください。

ここの研究所ではメタボローム解析をメインに取り組んでいますが、私は分析化学が専門なので、主に代謝物などを測定する際に用いる CE-MS という機器などの技術開発を行っています。CE-MS は極性の物質の測定に適しているのですが、測定の高感度化や、CE-MS では測定が難しい物質に対して新たな分析法の開発を進めています。また他にも CE-MS をアプリケーションとして利用できないかと考えており、主に癌や腎臓病、糖尿病などといった病気を対象とした、医療への応用に向けて取り組んでいます。

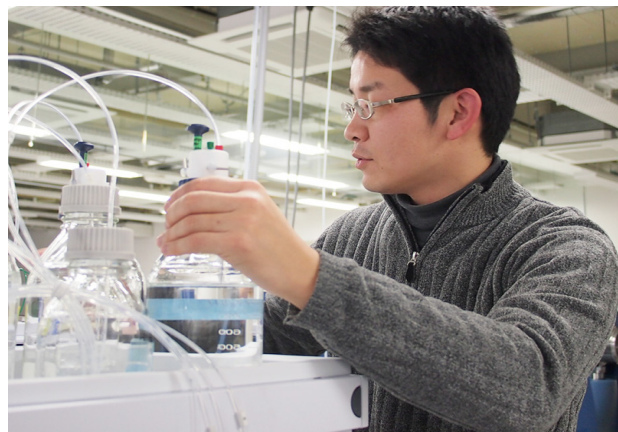
— CE-MS で測れないような物質を測定できるようにするための技術開発を行っているということでしたが、具体的にはどのようなことをおこなっていらっしゃるのでしょうか。

まず CE-MS で条件を少し変えると測定可能になる物質に関しては、条件を変更して測定を行っています。私たちの測定方法というのは、通常陽イオンを測定する方法と陰イオンを測定する方法の二つを行っており、これにより比較的多くの種類の物質が測定できるのですが、全物質が捉えられるわけではありません。なるべく多くの物質を測れるようにと最適化されたのがこの方法なのですが、全部は測れなくてもよいので、特定のある物質を測定したい又は分離したいという要望もあり、そういった場合にはその特定の物質が上記の方法で測定できるとは限りません。しかしながら、CE の条件を少し変えてあげることで測定不可能だった物質も分離でき測定することが可能となる場合もあります。こういった分析法の最適化をすることが取り組んでいる技術開発の一つです。また、糖などの CE-MS で測れないものに対しては LC などを用いた分析方法の開発も行っています。

— メタボロームの医療への応用の現状について教えてください。

まず、私たちは癌の予防に取り組んでいます。現在の所、メタボロミクスから一番アプローチしやすい疾患は癌の代謝だと思います。さらに、CE-MS は実は癌との相性が一番いいのです。癌は膨大なエネルギーを産生しながら増殖していきますが、その過程で必要な物質のほとんどは CE-MS のターゲットになります。また、癌は短い間に増殖しますよね。従って、代謝そのものも劇的に変化していると考えられますので、この点も癌を対象とする利点だと思います。癌になって新しい物質が作られるということは、セントラルドグマの観点からいって確率的に低いと考えられます。遺伝子に変異が入り、それが違う酵素を作り出すような変異でないと、理論的には新規物質は癌になってもできないですよね。私たちが今見ているものは、癌になって変異が入り、この代謝酵素が不活化してターゲットの代謝物が減ったとか増えたなどといった指標のみです。

ただ、これには例外もあって、例えば糖尿病になると AGE という物質が生じる場合があります。どのように生じるかというと、血中のグルコース濃度が上昇すると、酵素の反応を介さずに糖とタンパク質が結合する場合があります。そのような物質は糖尿病で血糖値が高い人に出てきやすくなる物質であり、また糖尿病の患者特異的な代謝物であるということが分かるため、メタボロームを利用して見つけ出せる可能性はあると思います。



ます。また、腎臓病などの慢性疾患は10年以上の長い時間をかけて変化していくので、その微妙な差をCE-MSを含めた今の分析技術で正確に追えるかという点と難しいと思います。マウスを使ったサンプルの調製にも後者の疾患は時間を要します。

そこで、現在私たちが取り組んでいるのがコホート研究です。通常私たちが大学病院などからいただくサンプルは、既に病気になってしまった患者さんのサンプルですので、いつ頃から病気になりかけたか、発症してからどのくらい病状が進んでいるのかといった情報はありますが、病気のなり始めについてはよく分からないのが現状です。しかしながら、一昨年から行っているコホート研究では同じ患者さんに対して25年間ずっと健康調査を行うので、まさにこの問題点を解決できるのです。例えば今60歳の方が10年後に運悪く癌を発症した場合、その患者さんの10年前、もしくはそれ以前のデータまで遡って見ることができますよね。そういったサンプルを解析していくことで、短期間で解析しにくい慢性疾患のメカニズムを追及できたらと思います。

またコホートの研究ではN数を増やすことで性別、年齢、食生活などといったノイズを解消しています。そこで、鶴岡コホート研究では具体的には3年間で1万人の協力者を募ります。その後も採血・採尿を継続する予定で、25年後までは何を食べた、ということや、どういった食生活かといった栄養調査と健康調査を行う予定です。コホート研究の一つの目的として、山形県で特有の病気などがどのように生じているのかを知りたいということがあります。庄内病院の先生方にお聞きしたのですが、ここ山形や東北全般では胃癌の方が多いそうです。やはり寒いので塩分の多い食事を摂取しているため、それが癌の引き金となると言われているようですが、何に起因しているのか今回の疫学調査でより見えてくると思っています。

問診票を見たのですが、最後まで記入の気力が続くか分からないほどの分量の質問がありました。肉やお酒の摂取頻度や喫煙についてなど、疫学で問われるようなフルセットの情報と検体が揃っているというのが重要なのです。つまりサンプリングした検体にどれだけの付加情報があるかが非常に重要となってきます。質問票も多いですが、これによって癌や糖尿病との因果関係を拾ってることが出来ればよいなと思っています。また、栄養とメタボロームの関係が今後明らかになっていくのではないかと期待しております。

— メタボロームを始められるきっかけは何だったのでしょうか。

IABに来てから本格的にメタボロームを始めたのですが、元々大学では分析化学を学んでおり、中でも電気化学を専門と



していました。研究内容はとても細かいことをやっていたり、学部四年生の一年間それに取り組んだのですが、教授に言われたことをやっているだけで自分が何をやっているのかが分からなくなってきた「まずいな」と感じました。その後、地元の北海道大学の大学院に進学し、二年間キャピラリー電気泳動というテーマを扱っていました。研究室にオーバードクターの先輩がたくさんいたこと、英語が得意ではなかったことから博士課程への進学を断念し、一度名古屋にあるジェネリック医薬品の会社の研究開発の部門に就職しました。半年ほど働いていると会社にも慣れて、会社の中も少しずつ見えてきました。新薬の開発には10年くらいかかると言われているのですが、ジェネリック医薬品は、既存の薬を安価で作るのが目的なので、一年で開発のスパンが終わるのです。だから最初の半年で製剤を作り、評価して、その後既に売られている薬と同じ効能だということを証明できたら、膨大な書類を作成して厚労省に出して、また次の年新しい薬を開発するという繰り返しです。私の入社時はまだジェネリックはあまり認知されておらず、それほど薬の種類も多くありませんでした。しかしながら特許が切れた薬はたくさんあり、作りたい薬はたくさんあるが、その開発が追いついていない状態でした。一人で二つないしは三つの薬剤を評価するという仕事をやっていて、それが要は次々控えているのです。この一年の繰り返しが毎年続くのだなと思い、会社とは大変だ感じていました。

そのような日々の中、ある日学生時代に入会していた日本分析化学会の学会誌がたまたま自宅に届いており目に飛び込んできました。家を出るときに鞆に入れ、帰りの電車の中で読んでみると、ヒューマン・メタボローム・テクノロジー株式会社(HMT)の研究開発に関する求人広告が掲載されており、その条件の欄に『CE-MS, LC-MSが出来る人』と記載されていたのです。私はちょうど大学時代にキャピラリー電気泳動をやっていたこともあり、面白いなと思いHMTに入社しました。それがメタボロームをやり始めたきっかけです。だからメタボロームという言葉は最初は知らなかったのです。単純に私がCEをやっていて、曽我さんはそのCE-MSをメタボロームの分野に応用するという話だった、ということです。だから元々メタボロームをやりたいで入ったわけではなくて、CE-MSがやれるということが入ってきたら、それがたまたまメタボロームへの応用であったということです。



— お休みの日はどう過ごされていますか。

2004年の3月に鶴岡にきました。休みの日は家族と買い物に行ったり温泉に行ったりします。海は年に一回ぐらいですが、子供が大きくなったので最近はスキーによく行っており、家族では毎週行こうと話しています。市町村のイベントがあると寒鰯祭りとか、鮭の掴み取りなど、子供たちが自然と触れ合えるようにさせています。

— 日々の生活で大切にしていることは何でしょうか。

子供たちをお風呂に入れることです。生活リズムが家族みんなバラバラで、上の子は朝7時に学校に行き、下の息子は9時くらいに幼稚園に行くため、平日は家族がそろう時間はないので、夜は帰って必ず子供と一緒に風呂に入っています。今日一日あったことなど、子供たちがしゃべることを聞いて、また職場に戻っています。職場と家が近いからこそできることです。東京で電車通勤だとなかなかできないことです。それがここの良いところです。

— 日頃研究をする上で気を付けていることやポリシーはありますか。

ポリシーとは言いませんが、分析は一種のサービス業だと思っています。癌とか腎臓病とかの検体について詳しいのは実は私ではなく、お医者さんであったり病院の先生であったり、そういった方々の方がよっぽど詳しいのです。しかしながら、網羅性や信頼性、定量性などが高いデータを出すということに関しては、私たちが貢献できる部分だと思うのです。こういう物質が測れたらいい、という声や、もう少したくさんの代謝物が測れたらいいのに、という要望を聞いた時にそのような情報を提供できるようにするというのが私たちの一つの使命だと思っています。

— 平山さんが将来成し遂げたいことは何でしょうか。

究極はヒトの代謝物を一回でもいいから全部測ってみたいですね。だいたい3000～4000物質と言われているのですが、何種類あるかもよくは分かっていません。もちろん、全部測りきった、と言い切ることは難しいのですが、これらを世界中のいろいろなメタボローム研究をやっているグループと競争しながら、ギネスのように網羅性のレコードに挑戦してみたいですね。

また、高感度化の技術開発につながるのですが、一細胞でメタボローム測定が出来るようにしたいと考えています。つまり測定の網羅性を上げたいという目標と、測定の個体の数を減らしたいという目標があります。培養細胞だと1×10⁶個なので100万個の細胞の平均値を出しているのですが、将来的には現在の100万倍の高感度を出して一細胞で測定したいです。実際一細胞でやっているグループもありますが、ロイシンとイソロイシンなどの異性体をごっちゃにして測っているの、究極的にはそれらの物質をきちんと分離して測れるようになれば、もう少し世界が変わるのかなと思っています。癌は多様性があると言われていますが、それも現在では100万個の平均値でしか測定できていないので、今後一細胞ずつの違いが見えればと思っています。そして、やはりこの研究所を世界で最もメタボロームを活発にやっている研究所にしたいです。鶴岡の慶應と一緒に研究したら、何でも測れる！といったような真の最先端のメタボローム研究の拠点にしたいと思っています。それをサポートし、世界最先端の研究所になれるようにしていけたら、と思っております。

— ありがとうございました。

(2014年1月20日 インタビューア：池田香織 編集：上瀧萌 写真：三浦あずさ)



NEWS HEADLINE 2013 Nov. - 2014 Jun.

第 10 回国際メタボロミクス会議

2014 年 6 月 23 日（月）～ 26 日（木）、山形県鶴岡市において「第 10 回国際メタボロミクス会議」が開催されました。（主催：国際メタボロミクス学会、共催：国際植物メタボロミクス会議、ホスト機関：慶應義塾大学先端生命科学研究所（所長富田勝、以下慶大先端研））

基調講演 10 件、口頭発表 62 件、ポスター発表 268 件、ワークショップ 4 件が行われ、36 カ国から 550 名が参加して、熱い議論を交わしました。

Metabolomics2014 website(English only): [<http://www.metabolomics2014.org/>] (14.6.26)

慶大先端研

経済産業省の「地域オープンイノベーション促進事業」に採択

経済産業省は 5 月 30 日、「地域オープンイノベーション促進事業のうち大学におけるオープンプラットフォーム構築支援事業」の補助金交付先について発表し、慶大先端研が提案した事業テーマ「統合システム生物学を活用した有用生物資源の生産および新製品開発支援拠点の構築」が採択されました。

[<http://www.iab.keio.ac.jp/jp/content/view/566/153/>] (14.6.6)

研究助手 6 名、特別研究生 15 名、合計 21 名の地元高校生を受け入れ 新たに鶴岡工業高も

慶大先端研は、平成 26 年度「高校生研究助手」として、山形県立鶴岡中央高等学校（井上利也校長）の生徒 6 名を任用することになりました。さらに、平成 26 年度「特別研究生」として、地元高校生計 15 名（山形県立鶴岡南高等学校（柴田曜子校長）生徒 3 名（1 年生 1 名、2 年生 1 名、3 年生 1 名）、山形県立鶴岡北高等学校（高橋克彦校長）生徒 1 名（1 年生）、山形県立鶴岡工業高等学校（菅原和明校長）生徒 1 名（3 年生）、山形県立鶴岡中央高等学校生徒 1 名（1 年生）、学校法人羽黒学園羽黒高等学校（牧静雄校長）生徒 4 名（1 年生）、学校法人齋藤学園鶴岡東高等学校（齋藤哲校長）生徒 5 名（1 年生 2 名、2 年生 3 名））を受け入れることを決定しました。

高校生研究助手任用式／特別研究生入学式が、4 月 24 日（木）17 時 30 分から鶴岡メタボロームキャンパスレクチャーホールにおいて、開催されました。

[<http://www.iab.keio.ac.jp/jp/content/view/571/153/>](14.4.24)

慶大先端研「第 57 回山新 3P 賞」を受賞

地域の平和（Peace）、繁栄（Prosperity）、進歩（Progress）に貢献した山形県内の個人・団体を顕彰する「第 57 回山新 3P 賞」（山形新聞、山形放送主催）で、慶大先端研（山形県鶴岡市、富田勝所長）が「繁栄賞」を受賞し、2 月 18 日、山形市内のホテルで表彰式が行われました。

[<http://www.keio.ac.jp/ja/news/2013/>

kr7a4300000d3a9h.html?tf=140220](14.2.20)



「細胞を創る」研究会 6.0、開催される

2013年11月14日(木)～15日(金)、鶴岡メタボロームキャンパスにおいて、「細胞を創る」研究会 6.0が開催されました。(主催:「細胞を創る」研究会、共催:慶大先端研、文部科学省科学研究費補助金新学術領域研究「感覚と知能を備えた分子ロボットの創成」、文部科学省科学研究費補助金新学術領域研究「動的・多要素な生体分子ネットワークを理解するための合成生物学の基盤構築」) 全国から大学、研究機関、企業の研究者約200名が鶴岡に結集し、最新の研究成果を基に熱い議論が展開されました。

研究会URL: [<http://www.jscsr.org/sympo2013/>]

[<http://www.iab.keio.ac.jp/jp/content/view/552/151/>] (13.11.15)



腸内細菌が作る酪酸が制御性 T 細胞への分化誘導のカギ

ー炎症性腸疾患の病態解明や新たな治療法の開発に期待ー

理化学研究所(理研、野依良治理事長)、東京大学(濱田純一総長)、慶大先端研は、腸内細菌が作る酪酸が体内に取り込まれ免疫系に作用し、制御性 T 細胞という炎症やアレルギーなどを抑える免疫細胞を増やす働きがあることを明らかにしました。これは、理研統合生命医科学研究センター(小安重夫センター長代行)粘膜システム研究グループの大野博司グループディレクター、東京大学医科学研究所(清野宏所長)の長谷耕二特任教授(JST さきがけ研究者)、慶大先端研の福田真嗣特任教授を中心とする共同研究グループによる成果です。本研究成果は、英国の科学雑誌『Nature』に掲載されるに先立ち、オンライン版(11月13日付:日本時間11月14日)に掲載されました。

[<http://www.iab.keio.ac.jp/jp/content/view/549/151/>] (13.11.14)

Symposium on Complex Biodynamics and Networks、開催される

2013年11月12日(火)～13日(水)、鶴岡メタボロームキャンパスにおいて「Symposium on Complex Biodynamics and Networks」が開催されました。(主催:慶大先端研, Supported by JSPS, Advances in Systems Biology journal) 国内外から大学、研究機関の研究者約50名が参加して、熱い議論を交わしました。Symposium website: [<http://www.cbio2013.org/>]
[<http://www.iab.keio.ac.jp/jp/content/view/551/151/>] (13.11.13)



第一回がんと代謝研究会 開催される

2013年10月30日(水)～11月1日(金)に、鶴岡メタボロームキャンパスにおいて、第1回がんと代謝研究会が開催されました。主催:がんと代謝研究会、共催:慶大先端研、後援:独立行政法人科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業(CREST)(実行委員長:慶大先端研教授 曾我朋義) 全国から大学、研究機関、企業の研究者約340名が鶴岡に結集し、最新の研究成果を基に熱い議論が展開されました。

研究会URL: [<http://can-meta2013.iab.keio.ac.jp/>]

[<http://www.iab.keio.ac.jp/jp/content/view/550/151/>]



慶應義塾大学先端生命科学研究所@鶴岡

2013年度新規スタッフ

佐藤 由佳 / センター棟

高野 祥一 / センター棟

阿部 望美 / ラボ棟

小林 有香 / ラボ棟

齋藤 彩 / ラボ棟

佐藤 紫 / ラボ棟

菅原 和音 / ラボ棟

森 大 / ラボ棟

板垣 健太郎 / メタボローム棟

榎本 文芽 / メタボローム棟

鈴木 千鶴 / メタボローム棟

佐藤 摩耶 / メタボローム棟

佐藤 清敏 / メタボローム棟

田畑 祥 / メタボローム棟

長谷川 あや / メタボローム棟

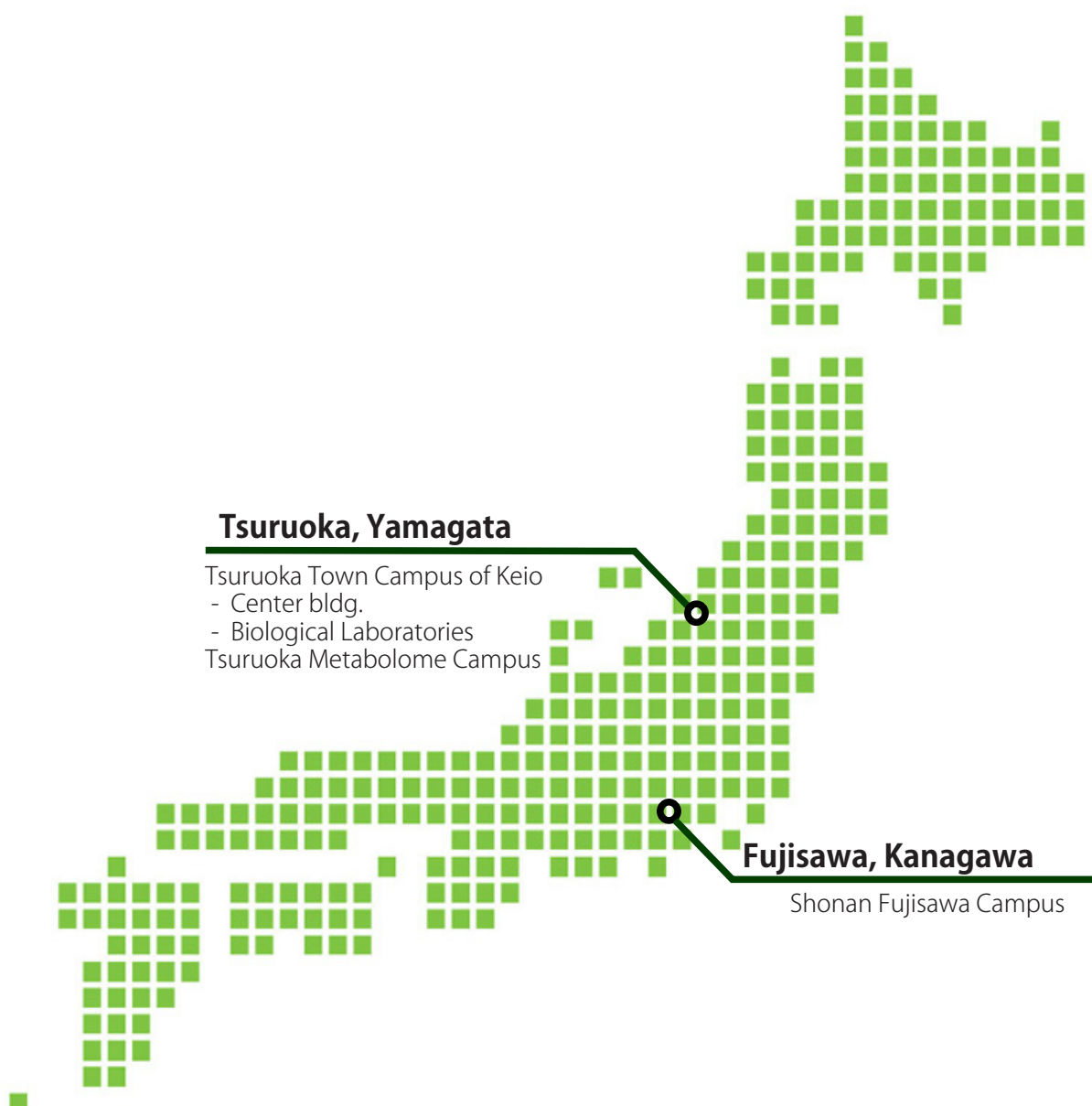
本間 幸 / メタボローム棟

本間 茉由 / メタボローム棟

山口 望美 / メタボローム棟

若山 正隆 / メタボローム棟

渡部 和良 / メタボローム棟



Tsuruoka, Yamagata

Tsuruoka Town Campus of Keio
- Center bldg.
- Biological Laboratories
Tsuruoka Metabolome Campus

Fujisawa, Kanagawa

Shonan Fujisawa Campus



Tsuruoka Town Campus of Keio (TTCK)
14-1 Babacho, Tsuruoka City
Yamagata Pref.
997-0035 JAPAN
Tel +81-235-29-0800 (Fax -0809)

Shonan Fujisawa Campus (SFC)
5322 Endo, Fujisawa City
Kanagawa Pref.
252-0882 JAPAN
Tel/Fax +81-466-47-5099