

KEIO IAB RESEARCH DIGEST

www.iab.keio.ac.jp

VOL
15

2020

RESEARCH HIGHLIGHT

- » シースレス CE-MS：超高感度の代謝物一斉分析法の開発
- » アスベストが原因で発症する悪性腫瘍のメタボローム解析
- » 放射線がん治療効果の診断を助ける指標を発見
- » 周期的な配列を有するゲノム編集関連配列を検出する新規ソフトウェアを開発
- » ヒト免疫不全ウイルス (HIV) 進化の軌跡を俯瞰する
- » 海藻に含まれる物質の大解剖
- » 複製プロセスがバクテリアのゲノム構造を決定していることを証明

RESEARCHER INTERVIEW

第 19 回 **齋藤 輪太郎** 特任教授 (バイオインフォマティクス・ネットワーク生物学)
鶴岡市民 1 万人のメタボロームデータを解析し、新規バイオマーカーを見つける

シースレス CE-MS : 超高感度の代謝物一斉分析法の開発

先端生命科学研究所におけるメタボローム解析技術に大きな進歩

Hirayama, A., Abe, H., Yamaguchi, N., Tabata, S., Tomita, M., & Soga, T. (2018). Development of a sheathless CE-ESI-MS interface. *Electrophoresis*, 39(11):1382–1389.

私たちの体は代謝、つまり化学変化を絶えず繰り返すことによって、エネルギーや物質を生成する。このとき、アミノ酸などを含んだ低分子量代謝物質も多く産生される。どのような代謝物質が多く含まれているかを測定することによって、生体内で起こっている代謝の実態を予測することができる。慶應義塾大学先端生命科学研究所では、この代謝物を一斉に分析する手法を開発し、医療、環境、農業、食品をはじめ、様々な分野に貢献してきている。この一斉分析で利用されているのが、キャピラリー電気泳動-質量分析法 (CE-MS) と呼ばれる生体内のイオン性の代謝物を一斉分析に分析する手法だ。通常の CE-MS においては、測定対象化合物を含んだ泳動液が金属性のキャピラリー中を流れていき、最後にはキャピラリーの先端でシース液と呼ばれる液体と混合される。その後、スプレーへと噴霧されることで質量分析装置に送られる仕組みだ。

CE-MS では、シース液の存在が欠かせない。なぜなら、シース液の中にはメタノール等の有機溶媒が含まれるため、代謝物質のイオン化が促進される。その結果、測定対象化合物中に含まれる様々な代謝物が効率よく分離されることで、正確な測定を可能にするからだ。またそれだけでなく、シース液中の有機溶媒の存在が電気分解による酸素や水素等のガスを効率的に除去し、安定した分析を実現している。その一方で、シース液の流量は泳動液の流量と比べて約 200 倍と圧倒的に多いため、スプレーの先端においてサンプルの希釈がおり、測定感度低下の原因ともなっていた (図)。

そこで、慶應義塾大学の平山明由特任講師、曾我朋義教授らのグループはシース液を用いない CE-MS (シースレス CE-MS) の新規開発を試みた。その結果、シースレス CE-MS を可能にするデバイスの発明に成功し、従来のシース液を用いた CE-MS と比較して代謝物の測定感度を最大 13 倍、平均で約 4.4 倍向上させることに成功した。今回の発明

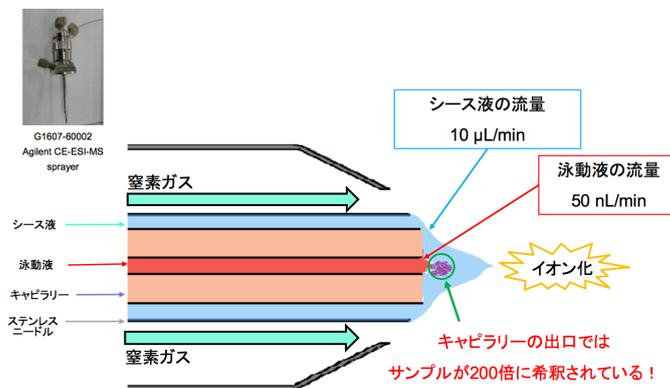
では、まず分析用キャピラリーの出口から約 2 cm 上流に小さなクラック (きず) を作成する、という工夫を行っている。もちろん、クラックから外に代謝物が漏洩することも予防されている。キャピラリー上を進んできている測定対象化合物を含んだ泳動液とは別に、このクラックの真上に設置した容器にも泳動液を加える。この泳動液に対し、容器中に挿入した白金電極によって電圧を加えることで、クラックを介して電子の移動が可能となりイオン化が促進する。その後、クラックまで泳動してきている各代謝物は、電気浸透流と呼ばれる液の流れによって、キャピラリーの出口まで移動する。この間に、各代謝物質の分離がさらに進み、その状態で質量分析計へと導入されることで測定感度の上昇を実現している。このデバイスは、高価な顕微鏡や工作機械を一切必要とせず、安価に作成可能であり、またあらゆる市販のキャピラリーにも適用可能であるというメリットがある。

平山らによって開発されたデバイスを使用し、シースレス CE-MS をおこなったところ、アミノ酸やアミン、核酸塩基といった陽イオン性代謝物質 52 物質で、従来法と比べて平均 4.4 倍の高感度化が達成されていた。具体的には、平均で面積積が 72.4 倍、ピーク高さが 18.2 倍、感度を表す指標であるシグナルノイズ比が 4.4 倍を示していた。ま

た、シースレス CE-MS は対象化合物の希釈を行わないため、測定試料のコスト削減にもつながる。シースレス CE-MS 法でがん培養細胞のメタボローム解析を行ったところ、従来の約 1/100 に相当する 12000 細胞しか使用していないにもかかわらず、従来法の約 2.5 倍のピーク数を検出できた。驚くべきことに、より少ない細胞数から多くの代謝物ピークの検出が実現されているのだ。このように、培養する細胞数が少なく済めば、用いる試薬量や培養スペースが削減されるため、同じ研究予算内でより多くの実験が可能になる。

曾我朋義教授は、「平山特任講師を中心に、シースレス CE-MS 法という高感度測定法が開発できました。メタボローム解析の強力な武器になると思います。特許登録の見込みなので、今後、大手分析メーカーにライセンスアウトするなど商品開発にも取り組みたい」と話す。また、慶應義塾大学先端生命科学研究所の富田勝所長も、「感度が 4.4 倍にアップしたことで、今まで検出できなかったごく微量な代謝物でも検出できるようになりました。慶應鶴岡の世界最高峰のメタボローム解析拠点にはさらに進化を続けます」と語った。

(初出:19年1月10日 編集:川本夏鈴)



図：従来法におけるサンプル希釈の問題点

アスベストが原因で発症する悪性腫瘍のメタボローム解析

悪性胸膜中皮腫における薬剤抵抗に関連する代謝産物を発見

Sato, Y., Matsuda, S., Maruyama, A., Nakayama, J., Miyashita, T., Udagawa, H., Umemura, S., Yanagihara, K., Ochiai, A., Tomita, M., Soga, T., Tsuchihara, K., & Makinoshima, H. (2018). **Metabolic Characterization of Antifolate Responsiveness and Non-responsiveness in Malignant Pleural Mesothelioma Cells.** *Front Pharmacol*, 9:1129.

アスベスト（石綿）は、その耐久性や耐熱性から過去に広く建築材料などとして利用されたが、肺がんや悪性胸膜中皮腫などの健康被害を引き起こすことから大きな問題となっている。アスベストは丈夫で変化しにくい材料、蓄積されたアスベストが肺を覆う膜である胸膜に刺さり、約40年もの潜伏期間を経て悪性中皮腫として発症する可能性が非常に高い。それ故に、取り返しのつかない被害をもたらすことになり、現在では、「静かな時限爆弾」とも呼ばれるほど恐れられている。現状としては、悪性胸膜中皮腫の治療には第一選択薬として抗がん剤の一種である「ペメトレキセド（商品名：アリムタ）」が使われており、これは分子構造が似ているビタミンB群の一種である葉酸に拮抗して、DNA合成に関わる3つの酵素を阻害することで作用する。しかし、残念ながら治療成績の指標となる腫瘍縮小効果は36.8%とあまり芳しくない。日本国内では、アスベストを原因とする悪性胸膜中皮腫による死亡者数が増加傾向にあることもあり、希少がんであるがゆえに研究が進展しない側面を超えて、全く新たな治療方法の開発が望まれている。

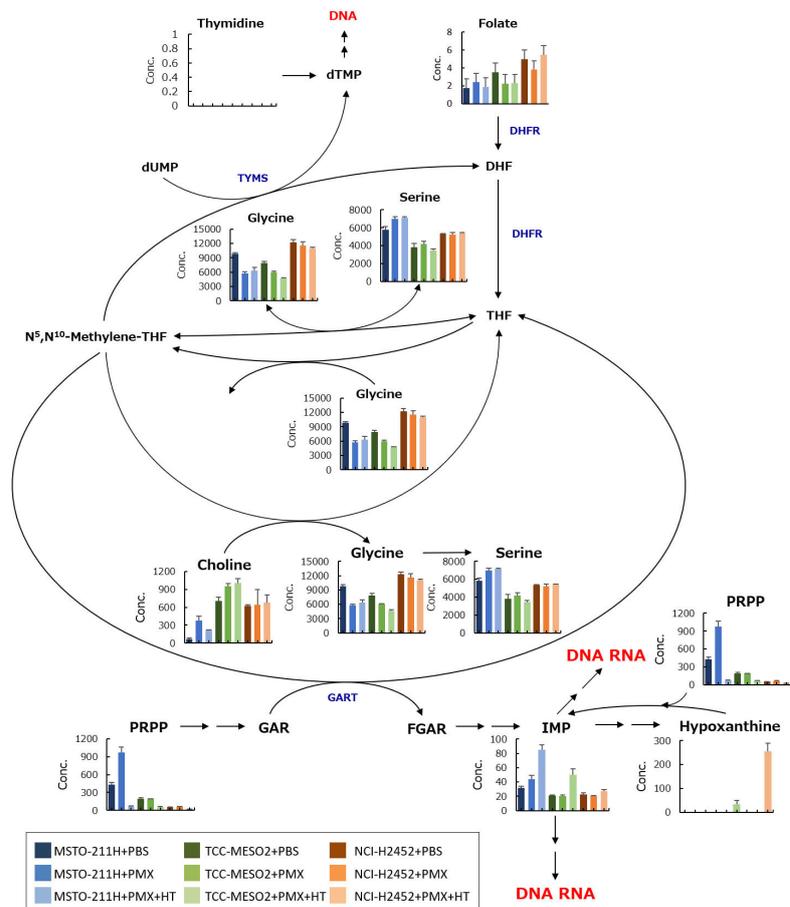
そこで、慶應義塾大学大学院政策・メディア研究科博士課程の佐藤雄三氏は国立がん研究センターの牧野嶋秀樹氏らとともに、ペメトレキセドがDNAやRNAの合成に関わる核酸の代謝の一部を阻害することに着目した。薬剤による代謝応答を調べることで、治療の難しい悪性胸膜中皮腫における核酸関連代謝産物の変化を捉えることができる。すなわち、代謝バイオマーカー探索・薬剤耐性機構解明こそ悪性胸膜中皮腫における研究の進展の要と考え、佐藤氏は本研究に取り組んだ。まず、複数の悪性胸膜中皮腫細胞株において、治療薬であるペメトレキセドに対する感受性の違いについて探索した。その結果、細胞株が感受性株と耐性株に分類されることを明らかにし、さらにその中から感受性の高い細胞株2種と最も薬剤耐性の高い細胞株1

種を選定した。こうして選定された細胞株における遺伝子発現やタンパク質の発現の解析では薬剤の感受性との関連は見られなかったものの、薬剤が直接阻害する酵素の下流代謝産物（ヒポキサンチンとチミジンの混合液）を加えて薬剤効果が消失するかを調べたところ、感受性株・耐性株いずれにおいても下流代謝産物の添加により薬剤効果が消失されることを見出した。よって、耐性株であってもペメトレキセドによる対象酵素の阻害は起きていることが確認された。

最後に、薬剤単体または薬剤と下流代謝産物を加えた場合の悪性胸膜中皮腫細胞株の代謝産物の変化を捉えるため、メ

タボローム解析を行った(図)。その結果、感受性株において核酸の合成に関連する一部の代謝産物、特にイノシン酸 (IMP) が増減すること、一方で耐性株では大きな変化が見られないことが明らかになった。このことから、悪性胸膜中皮腫において薬剤の効力を予測するためには、イノシン酸などの代謝産物が重要であり、代謝バイオマーカーとなる可能性があることを意味する。本結果を元に、今後悪性胸膜中皮腫における薬剤耐性機構の解明や新規治療法の開発に繋がることが期待される。

(初出:19年3月14日 編集:武田知己)



図：悪性胸膜中皮腫細胞株への葉酸代謝拮抗薬投与、また阻害対象となる下流の代謝産物であるヒポキサンチンやチミジンの混合液 (HT) を加えた場合の代謝応答。

放射線がん治療効果の診断を助ける指標を発見

α線がん治療薬に特異的に応答する 4 遺伝子を特定

Ohshima, Y., Kono, N., Yokota, Y., Watanabe, S., Sasaki, I., Ishioka, NS., Sakashita, T., & Arakawa, K. (2019). **Anti-tumor effects and potential therapeutic response biomarkers in α-emitting meta-211At-astato-benzylguanidine therapy for malignant pheochromocytoma explored by RNA-sequencing.** *Theranostics*, 9(6):1538-1549.

がんには薬の効きやすさや症状に大きな個人差があることから、近年、治療 (Therapy) をしながら同時にその効果の診断 (Diagnosis) を行う、セラノスティクス (Theranostics) と呼ばれる画期的な治療法が注目されている。そのために、こうした治療と診断を同時に行うことのできる放射性医薬品の開発が活発に進められており、バイオマーカー (生体指標) の探索が重要な研究課題となっている。

放射線治療の一種である α 線がん治療は、全身に転移したがんにも威力を発揮するがん治療法として注目されている。例えば、国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構 (以下、「量研機構」) が開発した 211At で標識したノルアドレナリン類似体 211At-MABG (アスタチン 211-メタアスタトベンジルグアニジン) はマウス実験で副腎に生じる悪性褐色細胞腫がん細胞に高い治療効果を示すことが報告されている。しかし、α 線放射核種を用いたがん治療薬の開発については比較的研究例が少ない上に、体外からの診断が難しいといった課題があり、セラノスティクス実現のために診断を可能にする新たなバイオマーカーの探索が強く望まれている。

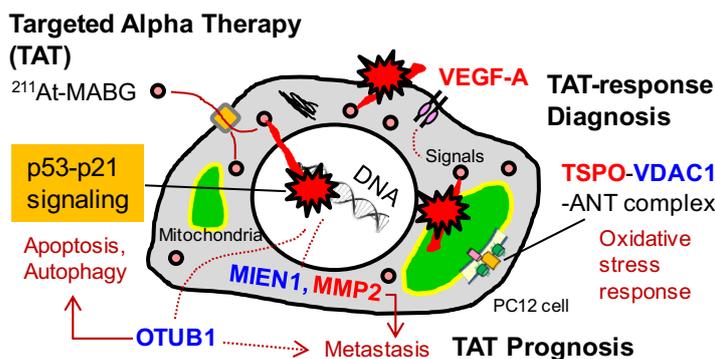
そこで、慶應義塾大学先端生命科学研究所の荒川和晴准教授、河野暢明特任講師らは量研機構の坂下哲哉上席研究員らと共に、211At-MABG に特異的なバイオマーカーを見つける手法として、近年発達が著しい次世代シーケンス技術を用いた RNA シーケンス解析 (全遺伝子の発現変動解析) に着目した。これまでも、α 線がん治療薬の細胞応答については、マイクロアレイを用いた研究が数例行われているものの、効果的な遺伝子バイオマーカーの発見には至っていない。本研究では、より感度の高い遺伝子解読技術である RNA シーケンス解析を用いて、211At-MABG の治療効果の診断に役立つ指標遺伝子を探索することを研究の目的として定めた。そして、褐色細胞腫の細胞株 PC12 に対して合成し

た 211At-MABG を処置し、処置直後から継続的な遺伝子発現変動を未処理や γ 線の照射後のそれと比較した。その結果、211At-MABG を処置した細胞では数千の遺伝子が特異的な応答を示し、中でも最も顕著に変動した 161 の遺伝子が統計的に絞り込まれた。それらを先行研究など参考に徹底的に調べたところ、211At-MABG に特異的な 4 つの指標候補遺伝子 (Otub1, Mien1, Vdac1, Vegfa) を選定した。いずれも、γ 線照射や未処理細胞と比べて著しく高い発現を示すとともに、低濃度の 211At-MABG の投与初期から発現量が増加し持続的な応答を示す、効率的なバイオマーカー候補である。

今回特定された遺伝子の中には、例えば TSPO と複合体を形成する VDACL のように、PET などの放射線イメージング法と組み合わせて体の外からその応

答を可視化できるものがあり、本性質を指標として正確な α 線がんの診断が可能になることが期待される。さらに他の各遺伝子では、がん細胞の死滅や転移などに関わることが知られており、最適ながん治療法の選択や新たながん治療法の開発に役立つことにもつながる。荒川准教授は、「がん細胞を用いて得られた本成果を今後はラット生体内で検証し、将来的にはヒトの臨床応用研究に向けて取り組みたい」と語った。

(初出:19年5月9日 編集:武田知己)



図：がん治療効果の診断に役立つ 4 つの指標候補遺伝子の動き
タンパク質の分解を抑制する Otub1 遺伝子のがん細胞の殺傷と転移に、がん細胞の遊走を促進する Mien1 遺伝子が転移に関わることが知られている。ミトコンドリア膜上のチャネルをコードする Vdac1 遺伝子は酸化ストレス応答に関係し、血管内皮増殖因子の 1 つである Vegfa 遺伝子は、血管形成誘導に関わることが知られている。Otub1 遺伝子と Mien1 遺伝子は治療効果の向上 (治療) に、Vdac1 遺伝子と Vegfa 遺伝子は放射線イメージング等による効果の予測 (診断) に役立つ可能性がある。

周期的な配列を有するゲノム編集関連配列を検出する新規ソフトウェアを開発

大規模ゲノムデータからの周期的 DNA/ タンパク質配列の網羅的捕捉に成功

Mori, H., Evans-Yamamoto, D., Ishiguro, S., Tomita, M., & Yachie, N. (2019). **Fast and global detection of periodic sequence repeats in large genomic resources.** *Nucleic Acids Res*, 47(2):e8.

近年、CRISPR-Cas9 などのゲノム編集技術の開発が進み、様々な生物種において任意の染色体 DNA 配列を自在に書き換えることが可能になりつつある。これらの技術は生物学を大きく推進することはもちろん、医療分野、産業分野への応用開発も進んでいる。一方、世界中でこれらの技術とこれらに関連した知財を巡る争いも熾烈で、高性能で新たなゲノム編集技術を開発することも重要な課題である。

これまで開発されてきたゲノム編集技術に関連するタンパク質や核酸は、周期的反復構造をもつという特徴がある。それらは反復構造内の可変アミノ酸残基（または塩基配列）の組み合わせで特定の塩基対を認識している。例えば、Zinc finger (ZNF) や Transcriptional activator-like effector (TALE) は反復構造を持つアミノ酸配列を有する。さらに、近年急速に利用が広がっている CRISPR-Cas9 も、元来はバクテリアのプラスミドやウイルスなどの外来から侵入してくる DNA 配列に対する免疫獲得機構として発見され、免疫の際に、リピート配列間の領域に一定の長さの外来 DNA 配列が保存されていくことで周期性が生じる。加えて、反復配列はゲノムの進化に深く関連していることが知られており、原核生物では反復単位の収縮、拡張によって遺伝子の発現や機能を変化させることで、環境変化や宿主からの免疫に応答する相変異 (Phase variation) という仕組みを持っている。その他にも Tetratricopeptide リピート (TPR)、Ankyrin リピート (ANK)、WD40 リピート等の大規模で周期的な反復タンパク質ファミリーは、タンパク質間相互作用を仲介し、遺伝子発現、細胞周期、シグナル伝達等の様々な生物学的プロセスの制御に関連している。このように、周期的な反復配列を探索することは、生物学的に重要な発見及び、新規ゲノム編集ツール候補の発見・開発につながる可能性があるにもかかわらず、これまでゲノム・メタゲノムリソースからの周期性を有

する反復配列をその種類に関係なく de novo かつ高スループットに検出するソフトウェアは現状まだ少ない。

今回、慶應義塾大学大学院政策・メディア研究科後期博士課程 1 年 (当時) の森秀人氏は、k-mer を用いた反復性及び周期性評価に基づいて大規模なゲノムリソースから網羅的に周期的リピート配列を de novo に検出することができるソフトウェア SPADE (Search for Patterned DNA Elements) を開発した。筆者らは実際に 18 の TALE 遺伝子領域と 1 つの CRISPR 領域を有する *Xanthomonas oryzae* のゲノムを SPADE で解析したところ、それら既知の周期的配列をアノテーション通りに全て検出した (図 a、b)。また、7,006 の原核生物ゲノムを対象に、CRISPR 領域の予測に広く用いられているソフトウェアの CRISPRFinder と検出精度をベンチマークセットに対し比較した。その結果、SPADE と CRISPRFinder はそれぞれを 99.5% 及び 98.1% 捕捉し、同等以上の検出精度があることを示した。さらに、タンパク質において反復モチーフ配列に揺らぎがある変性リピートのデータセットについても、タンパク質性リピートの検出ソフトウェアである XSTREAM、

T-REKS との検出精度の比較を行った。SPADE はデータセットに含まれる各タンパク質ファミリーの全てをこれらのソフトウェア間で最も良く検出すると同時に、その反復モチーフに揺らぎがある変性リピートに対しても、その周期を正確に決定できることが示された (図 c)。加えて、SPADE によって検出された新規ゲノム編集関連遺伝子の候補には、近年植物から発見され国産ゲノム編集技術としての応用が期待される PPR 様の遺伝子も存在し、さらには微生物ゲノム進化の推進に関わったと考えられる周期的リピート配列等も確認された。

現在、森氏らは新たな新規ゲノム編集関連遺伝子候補群の検証実験を進めるとともに、SPADE をもちいた解析対象を、真核生物ゲノムやメタゲノムといった対象に広げている。「今後、現在利用されているゲノム編集ツールを超えるような新たなゲノム編集ツールの開発や、このような自然界にありながら人工的にも見える規則的な配列から、全く新しい生物学的発見をしたい」と森氏は語った。

(初出:19年5月23日 編集:山本楠)

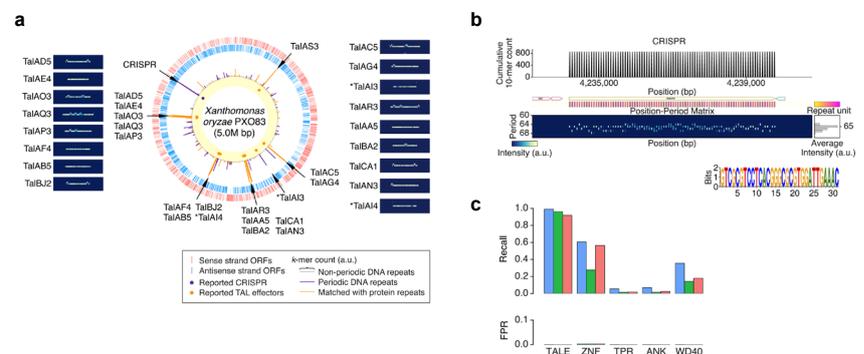


図 a : SPADE の解析例。 *Xanthomonas oryzae* ゲノムにおいて全ての TALE 遺伝子群と CRISPR 領域が捕捉された。

図 b : *Xanthomonas oryzae* ゲノム中で SPADE が捕捉した CRISPR 領域。正確にその領域、リピート周波数、繰返しモチーフが捉えられている。

図 c : 周期的アミノ酸配列を捕捉するソフトウェア群と SPADE を比較した例。様々な既知のリピート構造を SPADE が最も高感度に捉えた。

ヒト免疫不全ウイルス (HIV) 進化の軌跡を俯瞰する

配列類似性ネットワークによるヒト免疫不全ウイルス (HIV) の分子進化解析

Nagata, S., Imai, J., Makino, G., Tomita, M., & Kanai, A. (2017). **Evolutionary Analysis of HIV-1 Pol Proteins Reveals Representative Residues for Viral Subtype Differentiation.** *Front Microbiol*, 8:2151.

1型ヒト免疫不全ウイルス (HIV-1) は、後天性免疫不全症候群 (AIDS) の原因ウイルスであり、アフリカで祖先ウイルスがチンパンジーからヒトに種間感染した後、世界中へ感染が拡大した。HIV-1 は高い進化速度と遺伝的多様性を持ち、ゲノム配列の違いにより複数の系統に分類されている。世界で主に流行している系統はグループ M と呼ばれ、さらに細かな系統関係の違いにより9種類のサブタイプに分類されている。また、HIV-1 のサブタイプによって病気の進行率や感染率の違いがあることが確認されている。その一方で、どのような機能を持つ領域がサブタイプの分化と対応して変化しているか、の全体像は、ほとんど明らかにされていなかった。

HIV-1 のサブタイプは、これまで主にコア遺伝子 (*gag*, *pol*, *env*) の塩基やアミノ酸配列で系統樹を構築して、その系統関係を見ることにより分類されてきた。系統樹として表すことで各々の配列の関係を二分枝のモデルとして把握することができる一方、HIV-1 で頻繁に発生するような組換え体を含む配列では、適切な系統樹を構築するには限界があった。そこで、慶應義塾大学環境情報学部 (当時) の永田祥平氏は、まず各 Pol タンパク質配列間の類似度に基づいて重み付き無向グラフ (配列類似性ネットワーク) を構築して描画することで、HIV-1 サブタイプ全体の類似関係を可視化して俯瞰した。次に Pol タンパク質上の機能性ドメイン領域配列を抽出し、ドメインごとの配列類似性ネットワークを構築して比較することで、サブタイプの違いを特徴付ける機能性領域が逆転写酵素コネクションドメインと RNase H 領域と呼ばれるドメインであることを突き止めた (図 A)。さらにこれら領域の中でどのアミノ酸残基がサブタイプの違いを特徴付けているのか明らかにするため、アライメントサイトごとにアミノ酸出現頻度の違いを分析した。その結果、得られたアミノ酸出現のパターンが大きく異なる残基はウイルス酵素の立体構造

上で比較的近接して位置しており、また酵素の表面に存在することが明らかとなった (図 B)。

さて、逆転写酵素コネクションドメインは逆転写酵素において結合溝を形成し、N 末端ポリメラーゼ活性領域と C 末端 RNase H 領域を結んでいる領域であり、RNase H はウイルスゲノム複製時に DNA/RNA 複合鎖の RNA 鎖を特異的に分解する酵素である。逆転写酵素コネクションドメインと RNase H 領域の2領域における変異が抗 HIV-1 薬 (逆転写酵素阻害剤) に対する感受性を変化させていることが知られており、これは本研究で明らかになった Pol タンパク質上でサブタイプを特徴付ける領域とドメインレベルで一致している。さらに、アミノ酸レベルで薬剤耐性変異残基と比較してみると、これら変異箇所とサブタイプ分化に対応している領域は完全に一致することはなく、お互いが非常に近傍に存在していた。薬剤耐性に強く関わる変異は逆転写酵素の活性との関連が深く、この位置への変異は逆転写酵素の構造を大きく変えてしまってその活性を下げってしまう可能性がある。そこで HIV-1 は、

これらの位置と非常に近傍に位置しているものの、配列保存性が低く、活性へ与える影響が小さい領域に変異を蓄積させて酵素機能をうまく最適化していきながらサブタイプを分化させていったものと推察される。

近年、感染が急拡大して問題となったエボラウイルスやジカウイルス等のエマージング・ウイルスも多くが HIV-1 と同じ RNA ウイルスの一種であり、高い変異速度が特徴となっている。既にこれらウイルスのゲノム解析によって、感染が拡大していくと同時に配列上にも変異が蓄積していき、流行地域ごとの違いが生まれていることが明らかになっている。永田氏は「ウイルスが進化していく際に、ウイルスタンパク質の構造や機能にとって非常に重要な領域そのものではなく、その近傍を変化させるという考えは、これから新たに現れると考えられるエマージング・ウイルスの進化とそのサブタイプ分化に対しても適用できるだろう。」と語った。

(初出:19年6月27日 編集:山本楠)

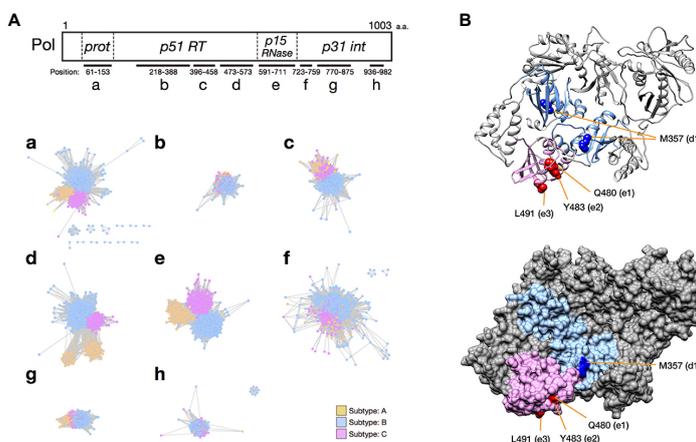


図 A : HIV-1 Pol タンパク質上の機能ドメイン領域ごとの配列類似性ネットワークの比較。a-h が各ドメインを表しており、d が逆転写酵素コネクションドメイン、e が RNase H 領域である。
図 B : サブタイプを特徴付ける領域の逆転写酵素立体構造上へのマッピング。水色領域が逆転写酵素コネクションドメインで、桃色領域が RNase H を表している。アミノ酸レベルで分析した結果を濃く着色している。

海藻に含まれる物質の大解剖

乾燥保存が海藻の水溶性代謝物質に与える影響を明らかに

Hamid, SS., Wakayama, M., Soga, T., Tomita, M. (2018). **Drying and extraction effects on three edible brown seaweeds for metabolomics.** *J Appl Phycol*, 30:3335–3350.

ワカメ、コンブやモズクなどの海藻は、ミネラルやビタミンなど栄養が豊富に含まれる食材で私たちの食卓には欠かせない存在だ。実際に、日本は世界一の海藻の生産量と消費量を誇っている。一般的に、私たちの手元に届く海藻類は長期保存のために乾燥させる。その乾燥方法としては、天日干しや凍結乾燥（フリーズドライ）、オープンなどで高温にさらす乾熱処理など、さまざまな方法が取られ、海藻の栄養分は大きく影響を受けることが知られている。しかしながら、うまみ成分である「グルタミン酸」などに代表される水溶性の代謝物質の量がどのように変化するのは理解されていなかった。

慶應義塾大学大学院政策・メディア研究科博士課程の Shahlizah Saul Hamid 氏、特任講師の若山 正隆氏らは、乾燥処理が海藻の水溶性代謝物質に与える影響の詳細を明らかにすることを目指した。日本の代表的な海藻であるモズク（オキナワモズク）、ワカメ、コンブに対して、フリーズドライ法、40℃もしくは80℃の乾熱処理を行い、サンプルに含まれる代謝物を包括的に計測する手法であるメタボローム計測を行った。今回、特に標的とした水溶性代謝物質の計測については、数あるメタボローム計測のなかでもキャピラリー電気泳動・質量分析法（CE-MS）が適していることが知られている。慶應義塾大学先端生命科学研究所が誇る CE-MS 設備を最大限に利用することで、これまで理解されていなかった乾燥処理による水溶性代謝物質の変化について、包括的な計測が可能となった。

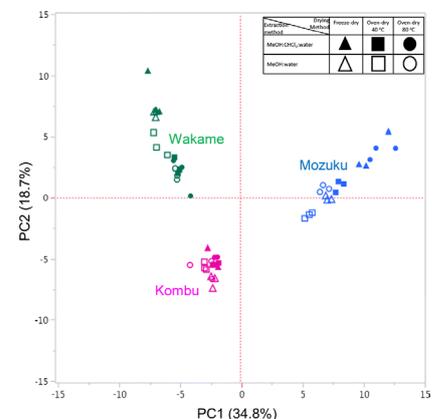
まず Hamid 氏らは、異なる乾燥方法で海藻に含まれる水分量が変化するかを検討したが、最終的に海藻に含まれる水分量は異なる乾燥方法でも変化しなかった。このことから、メタボローム解析の結果で見られる水溶性代謝物質の違いは、海藻に含まれる水分量の違いによるものではなく、乾燥処理の違いによるものであると考えられる。そこで次に、ワカメ・コンブ・モズク内に含まれる水溶

性代謝物質の詳細を海藻間で比較したところ、水溶性代謝物質は、乾燥・抽出方法よりも、海藻の種類によって大きく異なっていた（図）。つまり、乾燥方法は海藻の特徴的な水溶性代謝物の傾向をまきり変えてしまうようなことはないと考えられる。また、どの海藻においても乾燥処理の結果は類似しており、乾熱処理と比較して、フリーズドライ法を使った海藻サンプルのほうが、より多様な水溶性代謝物が保存されていた。次に水溶性代謝物質の保存具合が良好だったのは40℃で乾熱処理を行った場合だった。先行研究でも、40℃の乾熱処理で水分量を50%にした場合は酸化防止物質の増加に伴い、生の海藻よりも栄養が多くなることが報告されており、妥当な結果であると言える。一方で、80℃の乾熱処理を行った海藻では栄養素となる物質が減少しており、海藻は高温にさらされることでダメージを受けるといえる。

最後にワカメ・コンブ・モズクの各サンプルが含んでいる水溶性代謝物質について、詳細な解析を行った。その結果、フリーズドライしたワカメとコンブでは、うまみ成分であるグルタミン酸が特に多く含まれていた一方で、モズクにグルタミン酸はわずかにしか含まれていなかった。また興味深いことに、グルタミン酸を最も多く含むのは、出汁をとるのに使われるコンブではなくワカメであり、さらにワカメにはその他のアミノ酸も多く含まれていた。今回、Hamid 氏らが採用した手法と併せると、ワカメにはタンパク質を構成していない状態のアミノ酸（遊離アミノ酸）が多く含まれていると考えられる。この他にも、多く含まれる特徴的な代謝物は、海藻の種類ごとに異なっていることが明らかになった。これらの特徴的な代謝物が乾燥前後にどう変化するかを検討した結果、減少する代謝物がある一方で、ゲノムを構成する核酸であるシトシン、グアニン、アデニンなどの量は乾燥後に増加が見られるなど、乾燥による影響は代謝物ごとにも異なっていることが明らかとなった。

Hamid 氏らの研究によって、乾燥処理が海藻の水溶性代謝物に与える影響の詳細が明らかとなり、特に凍結保存した海藻では栄養素が保存されること、海藻ごとに多く含まれる水溶性代謝物質が大きく異なることや、乾燥処理の影響が代謝物ごとに異なることなどが明らかになった。これらの結果を踏まえ、各代謝物質の特徴の詳細を明らかにしたり、海藻の味との関係性を検討したりできれば、より美味しく栄養も豊富な海藻の生産や栄養素を失いにくい保存方法の確立にも繋がり、私たちの食卓がより充実したものになると期待できる。

（初出：19年8月22日 編集：川本夏鈴）



図：3種類の海藻における水溶性代謝物質の主成分解析結果。海藻ごと、乾燥・抽出手法ごとに特徴的な水溶性代謝物質が異なっていることを示している。

複製プロセスがバクテリアのゲノム構造を決定していることを証明

時間の早送りによってゲノム上で塩基組成の偏りが発生するメカニズムを明らかに

Kono, N., Tomita, M., Arakawa, K. (2018). Accelerated Laboratory Evolution Reveals the Influence of Replication on the GC Skew in *Escherichia coli*. *Genome Biol Evol.* 10(11):3110-3117.

遺伝情報が ATGC の 4 種類の塩基から構成される点は生物に共通したルールであるが、ゲノムのかたちは人間とバクテリアで大きく異なり、ヒトゲノムは線上の構造を持つ一方で、バクテリアゲノムの多くは環状の構造を持っている。バクテリアゲノムのさらなる特徴として、対称的な構造がゲノム上に存在し、例えば、一对の複製開始・終結点が時計の 12 時、6 時の位置にそれぞれ配置されている。さらに、複製開始・終結点を結ぶ軸を中心に、遺伝子 (1,000 塩基対程度) やオリゴ配列 (~ 20 塩基対程度) の配置など、さまざまな長さのスケールの構造がゲノム上で対称に配置されている。その対称な構造の根幹となるのが、環状ゲノムの塩基組成の偏りであり、複製開始点から終結点に向かう鎖では G 塩基が多く、逆に終結点から開始点に向かう鎖では C 塩基が多くなっている。これらの対称な配置や塩基組成の偏りは、バクテリア内で種を超えて保存され増殖の根幹にも関わる重要なゲノム構造である。それにも関わらず、これらの構造がどのような進化の過程を経て獲得されてきたのか、その実態は明らかになっていなかった。

慶應義塾大学先端生命科学研究所の河野暢明特任講師らは、バクテリアの環状ゲノムが特徴的な塩基組成を獲得する仕組みを実験的に明らかにすることを目指した。河野氏は既にコンピュータ・シミュレーションを利用し、バクテリアが増殖時に行うゲノムのコピー (複製) の過程が、塩基組成の偏りの構築に影響することを明らかにしていた。シミュレーション結果を実証するためには、実験室内でバクテリアを増殖させながら、ゲノム配列の変化の過程を解析する必要がある。しかしながら、このようなゲノムの変化は、自然界では数百万年かけて起こった変化であり、従来の実験方法で再現しようとする、実に約 4,000 年もの時間が必要になってしまう。そこで河野氏は、脱アミノ化による C 塩基の置換を起こしやすい変異を持った大腸

菌株を使用し、さらに、高効率に増殖させ続けることで、変異が入るスピードを加速させることで時間の問題の解決を試みた。また、従来法では検出感度の限界から、通常バクテリアを一度コロニー化させ、特定の遺伝型を「選択」して増幅を伴い観測する必要があったが、この過程で多様な変異が都度収束されてしまい、またその収束にも恣意性が残ってしまう。そこで河野氏は、バクテリアのコロニー化をあえて行わず、超高感度にゲノム配列を解析することで、多様な母集団に存在するレアな変異を含めて網羅的に観測する手法を用いた。「変異が入るスピードの高速化」と「高感度のゲノム解析技術」を組み合わせた結果、実験室内進化後の大腸菌ゲノムからは、従来の実験室内進化と比較して 250 倍の変異率である ~960,000 個もの塩基置換が検出された。つまり、数百万年レベルのバクテリアゲノムの進化を実験室内で再現することに成功し、これまでは追えなかったゲノム配列の変化過程を解析可能にしたのだ。

実験室内進化によって生じた塩基置換は、ゲノム上で偏って生じているのだろうか? 今回の実験で使用された大腸菌株では脱アミノ化による塩基置換を誘導しているため、C 塩基の置換が起こりやす

い。実験室内進化後の集団に基づいて構築されたゲノムでも、G 塩基と C 塩基の含有量が減少していたことから、予想通り脱アミノ化による C 塩基の置換がゲノム中で頻繁に起こっていると考えられた。驚くべきことに、C 塩基の量は複製開始点から終結点に向かう鎖ではあまり変化しておらず、終結点から開始点に向かう鎖でばかり C 塩基の量が減少し、塩基組成の偏りが強くなっていることが明らかになった。しかしながら、この結果だけでは塩基組成の変化が人為的に発生させた塩基置換によるかは不明である。そこで河野氏は、脱アミノ化による C 塩基置換は一本鎖の DNA で発生することを利用して、DNA 変異が脱アミノ化によるものかを判断することを試みた。具体的には、C 塩基の置換が起きている位置と一本鎖 DNA が多い領域が一致していれば、DNA 変異が脱アミノ化によるものだと考えられる。河野氏は、二本鎖 DNA 特異的な消化酵素などを利用して、バクテリアゲノムの一本鎖 DNA 検出に利用できる「4S-seq」技術を新規に開発し、DNA の一本鎖が多い領域を特定することに成功した。その結果、一本鎖 DNA が多い領域は C 塩基の置換が多い領域と一致しており、今回の実験室内進化で得られ

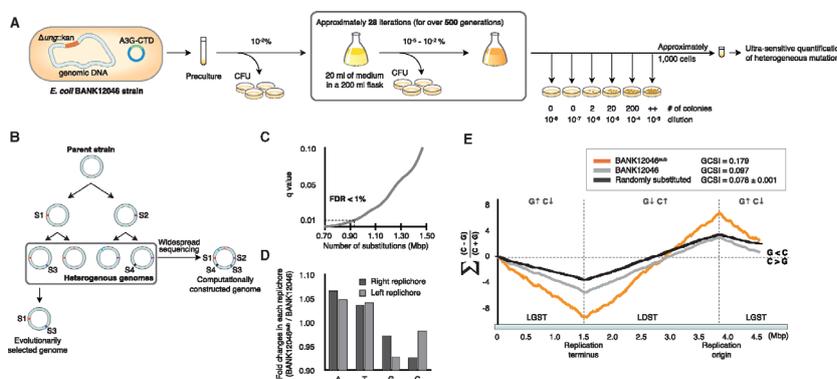


図 A-B: 本研究の手法の概要図。バクテリアのコロニー化によるボトルネックをなくし、ゲノム集団の多様性を維持したまま継代培養していく。最終的にゲノム集団を一括シーケンスし、パイオインフォマティクスによって変異箇所を収集する。
図 C: 本手法によって、ゲノム中の塩基組成の偏りを再現することに成功した。

「4S-seq」技術を新規に開発し、DNAの一本鎖が多い領域を特定することに成功した。その結果、一本鎖DNAが多い領域はC塩基の置換が多い領域と一致しており、今回の実験室内進化で得られた塩基組成の偏りは、C塩基に対する脱アミノ化によるものであると考えられた。

では、なぜ脱アミノ化は終結点から開始点に向かう鎖で多く発生したのだろうか？河野氏は、ゲノムの複製プロセスと転写プロセスに着目し、それぞれの影響を検討した。まず転写プロセスの影響を調べるため、河野氏は転写が多く発生している領域とC塩基の置換との関係性を検討したが、両者に相関関係は見られず、転写プロセスがC塩基の置換を引き起こす可能性は低いと考えられた。そこで、次に複製プロセスの影響を検討するため、4S-seqを用いて、リーディング・ラギング鎖と変異の相関を調べた。その結果、ラギング鎖が合成されている領域では想定通り一本鎖DNAが

多く検出され、偏ったC塩基の置換は転写プロセスよりも複製プロセスが密接に関わっており、ラギング鎖の複製プロセスの過程で生じた一本鎖DNAで置換が頻繁に生じていると考えられる。さらに、変異バイアスが複製プロセスによるものであることをより明確にするため、複製の終結に関連するタンパク質やゲノム構造を欠損させた大腸菌株を利用し、複製の終結点をずらした状態でこれまでと同様の実験室内進化実験とゲノム解析を行った結果、C塩基の置換が多い領域の境界も複製終結点同様にずれた位置に観察された。これらの結果から、バクテリアゲノムにおけるDNA変異のバイアスは、複製プロセスによって引き起こされるものであると河野氏は結論づけた。

本研究の成果について、河野特任講師は「過去の論文3報 (Kono, et al., 2017; Kono, et al., 2014; Kono, et al., 2012) の集大成であり、人生でもっとも長く時間をかけた論文です。この論

文によって、DNA複製がゲノム構造の大きな方向性を決定づけることを示唆できたと思っています。」と語る。今後の展開については、「微生物全般に広げてみると、塩基置換の方向性にもバラエティがあることから、塩基置換を引き起こすさまざまなメカニズムが協調することで、バクテリア固有の塩基配列が獲得されてきたのではないかと考えられます。今回、我々が開発した4S-seqの手法は他の種に対しても有効なので、この手法を利用して各バクテリアが辿ってきた過程を明らかにしたいです。最終的には、生命やゲノムがどのようにデザインされてきたかを理解して生命・ゲノムのデザインルールを整備し、近い未来に訪れるであろう全ゲノム合成時代の基盤を作っていきたいです。」と語った。

(初出:19年10月18日 編集:川本夏鈴)

論文ハイライト 著者紹介



研究テーマ：シーストレス CE-MS：超高感度の代謝物一斉分析法の開発
平山 明由

現職：慶應義塾大学先端生命科学研究所 特任講師
夢：世界一周旅行
一言：今年は研究と畑作の二刀流で頑張ります！



初コアラ



研究テーマ：アスベストが原因で発症する悪性腫瘍のメタボローム解析
佐藤 雄三

現職：慶應義塾大学大学院 政策・メディア研究科 後期博士課程
夢：がん研究で患者の方々に貢献したい。
一言：為せばなる為さねばならぬ何事も、成らぬは人の為さぬなりけり。



遊佐町の胴腹滝にて



研究テーマ：複製プロセスがバクテリアのゲノム構造を決定していることを証明
河野 暢明

現職：慶應義塾大学先端生命科学研究所 特任講師
夢：新たな学術領域を作る。
一言：プロフェッショナルとしての哲学を大切に。



樹氷にて



研究テーマ：ヒト免疫不全ウイルス (HIV) 進化の軌跡を俯瞰する
永田 祥平

現職：Cloud Solution Architect (Data & AI) at Microsoft Japan Co., Ltd.
夢：複数の専門性を掛け合わせ誰も見たことのない景色を見る。
一言：分野は違えど IAB で学んだことは今の仕事に大いに役立っています。



SFC Open Research Forum 2019にて



特任教授

齋藤 輪太郎

Project Professor
Rintaro Saito

専門：バイオインフォマティクス・ネットワーク生物学

メタボロームデータの解析を通じて人々の健康に貢献したい

—現在はどうのような研究テーマに取り組んでいますか？

現在は人を健康にするための研究、いわばヘルスサイエンス研究に取り組んでいます。具体的には、鶴岡市民1万人の方々の協力のもと、生活習慣病の予防法確立に向けた「鶴岡メタボロームコホート研究」というプロジェクトを進めています。このプロジェクトでは、ご協力いただける市民の方から尿や血液サンプルをいただいて、サンプル中に含まれる低分子代謝産物を網羅的に測定するメタボローム解析を行います。また、それと同時に人間ドック健診や職域検診の結果から得られる食事や運動、喫煙の有無などの健康状態に関する情報も集めて、メタボロームデータとの関係性を調べています。2012年に開始されてから最初の数年間は初期段階でして、鶴岡市民の方々のサンプルにどのような代謝物質プロファイルがあって、どういう健康状態が維持されているのかを大まかに評価しました。その後、同様の追跡調査を25年間続けていくことで、健康状態と代謝物質の関係性を明らかにしていくというわけです。

これによって何が可能になるのかというと、生活習慣病の予防法を確立させることができます。例えばプロジェクトにご協力していただいた方の中で、20年後に糖尿病を患ってしまった方がいたとします。その人たちを対象に、20年前はどのようなメタボロームのプロファイルだったのか、を振り返ってみます。すると、糖尿病予備群のサンプルのみで確認できるメタボロームのプロファイリング結果が得られます。そうなれば、過去の情報をベースとして、今から20年後の方々の健康状態を予測することが可能になります。このように、どのような代謝物質がどれだけあるかという情報をもとに疾患等の健康リスクを評価して、例えば「あなたは〇〇病になるリスクが高いので、食生活に気をつけましょう」というような予防の促進や治療の早期開始に繋げることで、新しい生活習慣病の予防システムを社会レベルで実装することを目指しています。

—具体的にはどのような研究をされているのでしょうか？

このコホート研究はとて大きなプロジェクトなので、もちろん僕一人や先端生命科学研究所だけで行っているものではなく、塾内では医学部やSFC、塾外では、鶴岡地区医師会、市

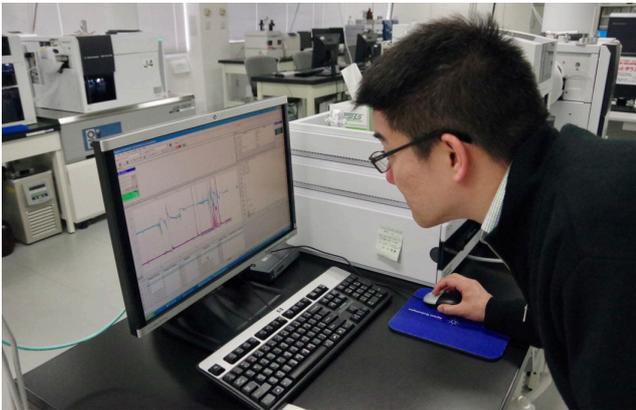
立荘内病院、鶴岡市、庄内保健所をはじめとした様々なコラボレーターと共同で行っています。僕が主に担当しているのは、収集したメタボローム情報のデータベース構築です。具体的には、市民の方々のメタボロームデータをどのように効率よく格納するか、誰が、いつ、どこで、どのような条件で実験を行ったか、などの、細かい情報の格納などを手がけています。メタボローム解析は測定条件によって変動が大きいことがあるのですが、鶴岡コホートではサンプルを測定する際の前処理を極めて迅速に行うことで、高い品質を保っています。こうして得られた品質の高いデータがあるのならば、細かい実験条件等の情報も全て含めることで、さらに信頼性の評価もできるようなシステムも作りたいたいと思い、データの収集およびデータベースの構築を進めているところです。

加えて、やや専門的な話になるのですが、現在未知ピークの解析というものにも取り掛かっています。メタボロームのデータ、特に当研究所が得意とするCE-MS（キャピラリー電気泳動-質量分析法）のデータは、代謝物質を測定する際の移動時間（Migration Time）をX軸に、質量電荷比（m/z）をY軸に、そして信号強度をZ軸に指定することで3次元的なデータが出力されるようになっています。したがって、代謝物を解析する探索平面として、特定の移動時間と質量電荷比で囲った範囲内に存在するZ軸方向へのピークを見るのですが、このように移動時間と質量電荷比の組み合わせで特定の代謝物質と照合できる平面部分は、驚くべきことに全体の1%以下なんです。裏を返せば、その他のメタボロームデータは全て切り捨ててしまっているというのが現状です。勿体無いと思うかもしれませんが、現段階では残りの99%の部分が果たして生体内の代謝物質の情報を含んでいるのか、もし含んでいるとしたら何の代謝物質なのか、を解釈することが難しいというのが実情です。またそれらを検証することは途方もない作業になってしまうため、止むを得ず切り捨てているというわけです。そこで僕は現状ゴミと見なされている99%のメタボロームデータに注目し、意義のあるデータを得ようと研究に取り組んでいます。

—未知ピークの解析というのはどのように行うのでしょうか？

現状まだ模索中なのですが、大規模なコホート研究を進めていくうちに突破口が見えてくるだろうと考えています。例えば

100人について共通の未知ピークが見られるような場合、それは何か意味を持つ可能性がありますよね。それらのピークが統計的に有意であったときに、そのピークはどういう性質を持っているか、ということ調べています。具体的には、特定ピークがあると〇〇病になりやすいというように、ピーク自体は未知でも特定の生活習慣病の予測に用いるようなことができると思うんですね。言い換えると、未知ピークとして検出できた代謝物質から疾患の予測につながるバイオマーカーの探索をしています。現在は未知ピークを統計的に処理するためのシステムを開発している最中です。



—このようなプロジェクトに取り組まれた経緯を教えてください。

2011年から2017年の間、アメリカのカリフォルニア大学サンディエゴ校にてプロジェクト研究員として働いていました。ちょうどこの時に僕のボスにあたる先生から、一緒に腎臓の研究をしないかと打診され、今思えばこれが大きな転機だったと感じています。それまで僕は、ゲノムやトランスクリプトーム、プロテオームなど単一のオミクスに焦点を当てた、どちらかというと基礎研究に近い仕事に取り組んでいました。ところが、腎臓を研究対象にすると聞いたとき、細胞さらには組織の集合体である臓器について普段は考えたこともなかったもので、どんな研究をすればいいのか見当もつきませんでした。ただ、腎臓がどれほど重要な臓器なのかはもちろん知っていました。腎臓は血液から毒素などの余分な成分をフィルタリングして尿として排泄しますが、この機能が狂ってしまうと、血液の中に毒素が蓄積されて命に関わる事態となります。また日本に限って言えば、1300万人以上（東京都の人口が約900万人）が慢性腎臓病（CKD）の患者というデータもあり、当時はこうした現状に驚かされました。僕はそれまでインフォマティクスに関する研究をやっていたので、逆にとても新鮮で面白そうだったので腎臓の世界に入りました。研究を進める中で、実際に患者さんの年齢や性別、体重、身長等のいろいろな情報と血液中の糖分濃度などを解析していくうちに、データ同士の関連性が見えるようになっていき、次第に研究の面白さが増していくようになりました。ここで言う面白さというのは、医学研究のゴールが明確であることに起因しています。人の健康を維持したり治療したり、あるいは健康リスクを評価したりと医学研究は直接人の役に立つので、基礎研究も面白いのですが、やはり直接人の役に立つことが実感できる研究も面白いと思うようになりました。腎臓関係の研究がまとまってきた頃合いに、たまたま鶴岡で1万人規模のコホート研究が実施されるという話を耳にしたので、これまで僕のやってきたことが多少なりとも役に立つのではないかと、あるいは僕が持っている技術を持って人々を幸せにすることができるのではないかと考え、現在の研究に至りました。

—渡米される以前は鶴岡で研究をされていたと伺っています。なぜ戻って来られたのでしょうか？

アメリカに住んでいる間、現地の料理よりも日本の方が美味しいとずっと感じていました。日本の料理の中でも特に鶴岡の料理はとても美味しく、自分がまだ独身で若い頃はラボの学生とも年齢が近かったので、一緒に市内の居酒屋へ足を運んでいました。そこで美味しい料理と美味しい日本酒を飲むというような習慣が体に染み付いていたせいか、アメリカに滞在している間、数ヶ月に一回は鶴岡の居酒屋が夢の中に現れるんです。これ、嘘じゃなくて、本当に夢に出てくるんですよ（笑）。なので鶴岡に戻ってこれることができて本当に嬉しいです。鶴岡には家族と一緒に帰ってきたのですが、羽黒山の五重塔や最上川の川下りなど、懐かしいところをたくさん周りました。顔なじみの方もいたので、「お帰りなさい」と歓迎してくれたのも僕としては嬉しかったですね。

—余暇はどのように過ごされているのでしょうか？

家族全員でアメリカから鶴岡に戻ってきたこともあって、休日は家族でドライブを楽しんで温泉に行くというのが定番です。僕自身、鶴岡の温泉とは若い頃から付き合いがあるので、人一倍思い入れがあります。特に好きな温泉は、ゆぼか、ぼぼの湯、でんでん、龍の湯とか、もう挙げればきりがありませんが...毎週どこかしらの温泉に行ってますね。リフレッシュのために少なくとも週に一回は行くようにしていて、平日ですら行くこともあります。平日に行くときは、子供と二人で行くことが多いのですが、子供も一緒に喜んでくれるので親子共通の趣味ができてよかったです。言葉で表現するのが難しいのですが、それくらい僕は温泉が大好きです。特に真冬の時期、雪が積もっている時に鶴岡の温泉に行けば、空を見上げると澄んだ空気に無数のきらめく光があって、正面にはあたり一面銀世界が広がっていて、身体を包み込むのは僅かに硫黄が香る温泉と湯けむりなんです。これはもう最高ですね。

—ありがとうございました。

(2019年12月17日 インタビューア：山本楠，編集・写真：武田知己)

NEWS HEADLINE 2019 Jan. - 2019 Dec.

明治安田生命保険相互会社と健康増進に関する包括連携協定締結

慶應義塾大学先端生命科学研究所（所長：冨田 勝）と明治安田生命保険相互会社（執行役社長：根岸 秋男）は、健康増進に関する分野において、先端科学技術を活用した社会課題の解決および地域社会の発展に貢献することを目的とした包括連携協定を締結しました。

[<http://www.iab.keio.ac.jp/news-events/2019/01111419.html>](19.01.11)

冨田勝所長、第 68 回河北文化賞を受賞

冨田勝所長が、第 68 回河北文化賞を受賞しました。冨田所長は、東北の研究施設として最先端の研究成果を上げ、地域産業の活性化に寄与したことにより、この賞を受賞しました。贈呈式は 1 月 17 日（木）、仙台市の仙台国際ホテルで行われました。

[<http://www.iab.keio.ac.jp/news-events/2019/01171227.html>](19.01.17)

がん治療効果の予測と向上に役立つ指標遺伝子を発見

慶應義塾大学先端生命科学研究所の荒川和晴准教授・河野暢明特任講師と、国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構（理事長 平野俊夫）量子ビーム科学研究部門高崎量子応用研究所の坂下哲哉 席研究員・大島康宏主任研究員・横田裕一郎主幹研究員らは共同で、 α 線がん治療薬 211At-MABG（アスタチン 211-メタアスタトベンジルグアニジン）の治療や診断の新たな指標となる遺伝子候補を世界で初めて発見しました。

[<http://www.iab.keio.ac.jp/news-events/2019/02280912.html>](19.02.28)

乳がんの細胞増殖と治療薬効果のカギとなるタンパク質を発見

慶應義塾大学先端生命科学研究所の齊藤康弘特任講師、曾我朋義教授らのグループは、乳がんの増殖や乳がん治療薬の効果の鍵となるタンパク質を発見しました。ヒトの体内でがん細胞は、栄養、酸性度（pH）、酸素濃度など様々な厳しい環境の中でも異常に増殖することが知られています。特に、栄養が限られた（栄養ストレス）環境でがん細胞は、周囲の環境から効率よく栄養を取り込むよう適応する必要があります。研究グループは乳がん細胞が栄養ストレス環境に適応し増殖するためには、LLGL2 と SLC7A5 の 2 つのタンパク質の働きによるアミノ酸「ロイシン」の細胞内取り込みが鍵となることを見出しました。本研究はハーバード大学医学大学院（アメリカ・ボストン）との共同研究にて行われ、2019 年 4 月 18 日（日本時間）に英国科学誌『Nature』のオンライン速報版に掲載されました。

[<http://www.iab.keio.ac.jp/news-events/2019/04181447.html>](19.04.18)

ミノムシのゲノム解明 –ミノムシが魅せる糸の強さに関する遺伝子配列の特性を発見–

慶應義塾大学先端生命科学研究所の河野暢明特任講師と荒川和晴准教授は理化学研究所沼田圭司チームリーダー、Spiber 株式会社（山形県鶴岡市）中村浩之研究員らのチームと共同で、鱗翅目ミノガ科のオオミノガ（*Eumeta variegata*）の糸が一部のカイコガやヤマモユガよりも強いことを解明し、その強靭さが糸遺伝子に含まれている特殊な配列構造に起因する可能性を報告しました。ゲノムレベルで糸の強さと遺伝子の関係を比較解析した研究は本論文が初めてであり、高機能タンパク質の研究開発に大きく貢献すると考えられます。この研究内容は 2019 年 4 月 29 日、英国科学誌「Communications Biology」にて発表されました。

[<http://www.iab.keio.ac.jp/news-events/2019/05221414.html>](19.05.22)

メタゲノム・メタボローム解析により大腸がん発症関連細菌を特定

慶應義塾大学先端生命科学研究所の福田真嗣特任教授と大阪大学 大学院医学系研究科の谷内田真一教授（がんゲノム情報学、前国立がん研究センター研究所・ユニット長）、東京工業大学 生命理工学院 生命理工学系の山田拓司准教授、東京大学 医科学研究所 ヒトゲノム解析センター ゲノム医科学分野（国立がん研究センター研究所 兼任）の柴田龍弘教授らの研究グループは、多発ポリープ（腺腫）や大腸がんの患者さんを対象に、凍結便を収集しメタゲノム解析やメタボローム解析を行いました。その結果、多発ポリープ（腺腫）や非常に早期の大腸がん（粘膜内がん）患者さんの便中に特徴的な細菌や代謝物質を同定しました。

[<http://www.iab.keio.ac.jp/news-events/2019/06071451.html>](19.06.07)

「人工鮫肌」を 3D プリンターで作成 –生命の表面構造を簡単に再現できる仕組み–

慶應義塾大学先端生命科学研究所で研究活動を進める、環境情報学部 4 年の安田侑史君とガリポン ジョゼフィーヌ特任助教の研究グループは、カナダ オンタリオ州の Queen's 大学 David Rival 准教授ら、東北大学総合学術博物館 佐々木理准教授と共同で、一般的な 3D プリンターを用いて、顕微鏡データに基づいた人工鮫肌の作成に成功し、その作成法が米国科学専門誌「Journal of the Electrochemical Society」（電子版）で 2019 年 6 月 13 日に発表されました。

[<http://www.iab.keio.ac.jp/news-events/2019/06141158.html>](19.06.14)

「クモの糸」強さの秘密が明らかに —新遺伝子発見で新素材開発に期待—

慶應義塾大学先端生命科学研究所の河野暢明特任講師と荒川和晴准教授のグループは Spiber 株式会社（山形県鶴岡市）中村浩之研究員らのチームと共同で、コナゲモ科オニグモ (*Araneus ventricosus*) のゲノムを決定し、世界で初めて多様なクモ糸タンパクとそれに関連する遺伝子の全貌を明らかにし、糸遺伝子の系統解析に成功しました。この研究では新たなクモ糸遺伝子や、糸の強さに影響を与える低分子タンパクの存在も発見されており、今後の人工クモ糸開発に大きく貢献すると考えられます。この研究内容は 2019 年 6 月 10 日、英国科学誌「Scientific Reports」にて発表されました。
[<http://www.iab.keio.ac.jp/news-events/2019/06181423.html>](19.06.18)

120 年の謎・がんの鬼の目を閉じるには？ —がんのエネルギー産生と配分の仕組みを発見—

細胞には DNA を包む核があり、その中に核小体と呼ばれる小さな目があります。悪性度の高いがんでは、核小体は「鬼の目」のように恐ろしいほど大きくなるのが分かっています。肥大化した核小体は、約 120 年前に、がんにかかる変化として発見され、がんの診断や悪性度の指標として利用されています。今回、シンシナティ大学・広島大学・慶應義塾大学を核とした国際研究チームは、いくつもの先端技術を結集し、がん著しく増大する GTP（グアノシン 3 リン酸）エネルギーが核小体肥大を引き起こすことを明らかにしました。
[<http://www.iab.keio.ac.jp/news-events/2019/08021719.html>](19.08.22)

日本ユニシスと先端科学技術活用に関する包括連携協定を締結

ユニシスと慶應義塾大学先端生命科学研究所は、先端科学技術を活用した社会課題の解決および地域社会の発展に貢献することを目的とした包括連携協定を 2019 年 9 月 27 日に締結しました。本包括連携協定による取り組みを通じて、両者は、国際社会にインパクトのある課題解決や地域社会の発展への貢献に鶴岡フィールドで取り組みます。また、本包括連携協定の一環として、日本ユニシスから慶應義塾大学大学院政策・メディア研究科修士課程に社会人学生が就学し、生命科学、ビッグデータの解析技術などの研究を通じて生命科学とデジタルの融合による価値創造を目指します。
[<http://www.iab.keio.ac.jp/news-events/2019/10111016.html>](19.10.11)

皮膚常在アクネ菌で個人識別ができる可能性 —アクネ菌組成が個人に特異的かつ長期的に安定である事を発見—

慶應義塾大学先端生命科学研究所の福田真嗣特任教授、楊佳約（ヨウ・カヤク）研究員、政策・メディア研究科修士課程の月見友哉さん、吉川実亜さん（当時）、理化学研究所の鈴木健大開発研究員らを中心とした研究グループは、皮膚に常在するアクネ菌 (*Cutibacterium acnes*) の組成が個人特異的であり、かつ長期的にも安定であるため、個人識別や持ち物の所有者識別に応用できる可能性を明らかにしました。
[<http://www.iab.keio.ac.jp/news-events/2019/12021122.html>](19.12.02)

長期熟成ハムの熟成期間とおいしさの関係をメタボローム解析で解明

慶應義塾大学先端生命科学研究所の杉本昌弘特任教授・東北ハム（山形県鶴岡市、社長 帯谷伸一）・山形県工業技術センター庄内試験場（山形県東田川郡三川町、場長 石塚健）との共同により進めてきた長期熟成ハムの研究に関して、熟成期間とおいしさの関係をメタボローム解析によって明らかにしました。熟成期間とともに味の変化を味センサーで調べると、一定期間までは旨味後味が増加しますが、熟成期間が長すぎると低下します。ハムに含まれる味の成分を一斉分析すると、旨味に関するアミノ酸のバランスの変化がこの味の変化と相関することが分かりました。これらの研究成果が国際雑誌に採択され、2019 年 12 月 18 日に Food Research International にオンライン版が掲載されました。
[<http://www.iab.keio.ac.jp/news-events/2019/12191439.html>](19.12.19)

新規スタッフ

慶應義塾大学先端生命科学研究所@鶴岡
Here we introduce our new faces.

梅津 幸 / メタボローム棟
仲丸 麻帆 / メタボローム棟
福田 紀子 / メタボローム棟
石井 千晴 / メタボローム棟
天野 香 / メタボローム棟
山科 友美 / メタボローム棟

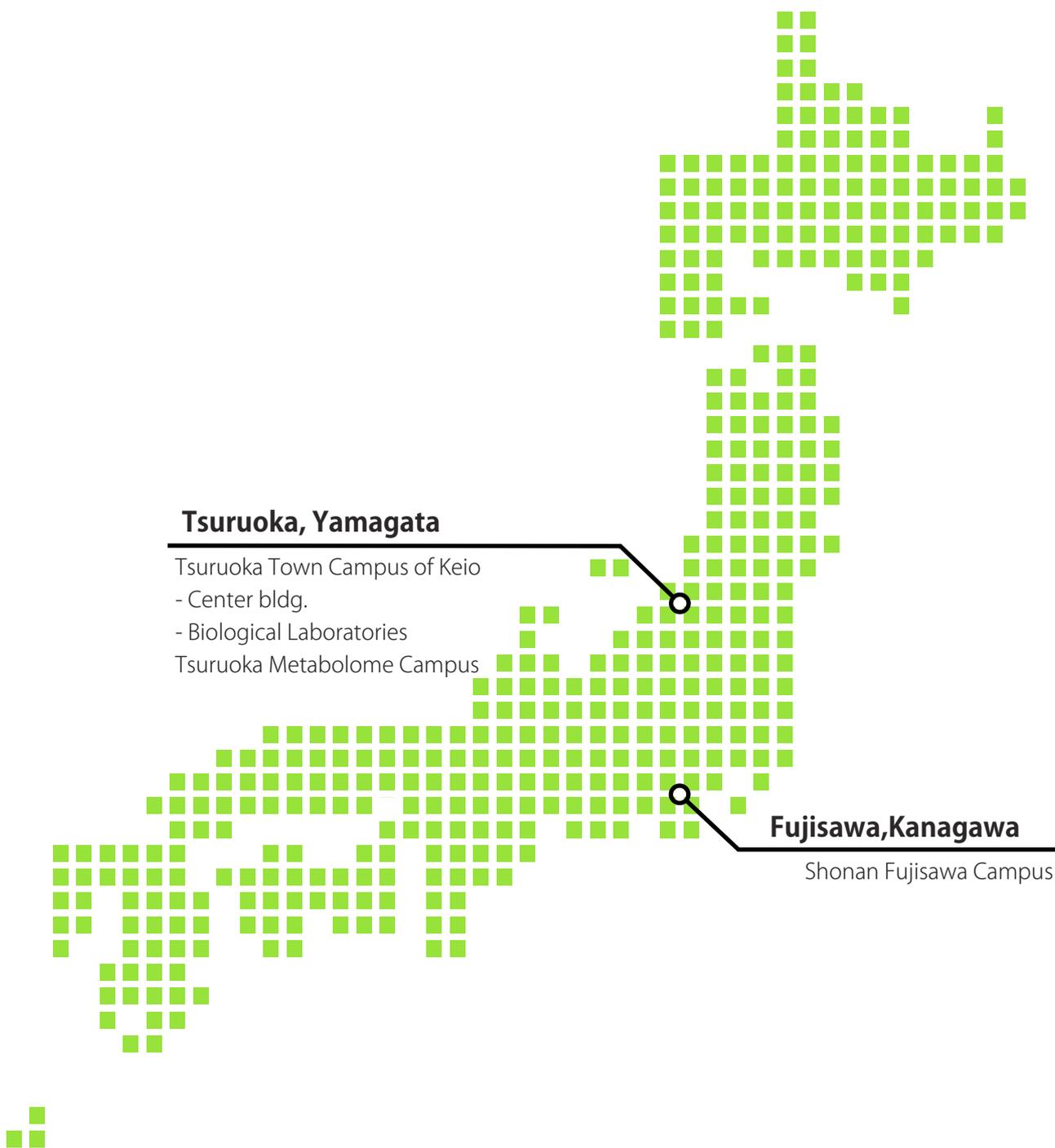
太田 紗菜 / メタボローム棟
佐藤 麻子 / メタボローム棟
五十嵐 千晃 / センター棟

Latest Publications

- Deveaux, W., Hayashi, K., & Selvarajoo, K. (2019). **Defining rules for cancer cell proliferation in TRAIL stimulation.** *NPJ Syst Biol Appl*, **5**:5.
- Yasuda, Y., Zhang, K., Sasaki, O., Tomita, M., Rival, D., & Galipon, J. (2019). **Manufacturing of biomimetic silicone rubber films for experimental fluid mechanics: 3D printed shark skin molds.** *J Electrochem Soc*, **166**(9):3302-3308.
- Yang, J., Tsukimi, T., Yoshikawa, M., Suzuki, K., Takeda, T., Tomita, M *et al.* (2019). **Cutibacterium acnes (Propionibacterium acnes) 16S rRNA Genotyping of Microbial Samples from Possessions Contributes to Owner Identification.** *mSystems*, **4**(6):e00594-19.
- Kitamoto, S., Alteri, C.J., Rodrigues, M., Nagao-Kitamoto, H., Sugihara, K., Himpfl, S.D *et al.* (2019). **Dietary L-serine confers a competitive fitness advantage to Enterobacteriaceae in the inflamed gut.** *Nat Microbiol*, **5**(1):116-125.
- Jo, R., Nishimoto, Y., Umezawa, K., Yama, K., Aita, Y., Ichiba, Y *et al.* (2019). **Comparison of oral microbiome profiles in stimulated and unstimulated saliva, tongue, and mouth-rinsed water.** *Sci Rep*, **9**(1):16124.
- Aw, W., & Fukuda, S. (2019). **Protective effects of bifidobacteria against enteropathogens.** *Microb Biotechnol*, **12**(6):1097-1100.
- Orimo, T., Sasaki, I., Hemmi, H., Ozasa, T., Fukuda-Ohta, Y., Ohta, T *et al.* (2019). **Cholera toxin B induces interleukin-1 β production from resident peritoneal macrophages through the pyrin inflammasome as well as the NLRP3 inflammasome.** *Int Immunol*, **31**(10):657-668.
- Nanto-Hara, F., Kanemitsu, Y., Fukuda, S., Kikuchi, K., Asaji, K., Saigusa, D *et al.* (2019). **The guanylate cyclase C agonist linaclotide ameliorates the gut-cardio-renal axis in an adenine-induced mouse model of chronic kidney disease.** *Nephrol Dial Transplant*, **35**(2):250-264.
- Kikuchi, K., Saigusa, D., Kanemitsu, Y., Matsumoto, Y., Thanai, P., Suzuki, N *et al.* (2019). **Gut microbiome-derived phenyl sulfate contributes to albuminuria in diabetic kidney disease.** *Nat Commun*, 2019;**10**(1):1835.
- Nagata, N., Tohya, M., Fukuda, S., Suda, W., Nishijima, S *et al.* (2019). **Effects of bowel preparation on the human gut microbiome and metabolome.** *Sci Rep*, **9**(1):4042.
- Kushida, M., Sugawara, S., Asano, M., Yamamoto, K., Fukuda, S., & Tsuduki, T. (2019). **Effects of the 1975 Japanese diet on the gut microbiota in younger adults.** *J Nutr Biochem*, **64**:121-127.
- Murai, J., & Pommier, Y. (2019). **Phosphatase 1 Nuclear Targeting Subunit, a Novel DNA Repair Partner of PARP1.** *Cancer Res*, **79**(10):2460-2461.
- Murai, J., & Pommier, Y. (2019). **PARP trapping beyond homologous recombination and platinum sensitivity in cancers.** *Annu Rev Cell Dev Biol*, **3**:131-150.
- Saito, M., Sato, A., Nagata, S., Tamaki, S., Tomita, M., Suzuki, H *et al.* (2019). **Large-scale molecular evolutionary analysis uncovers a variety of polynucleotide kinase Clp1 family proteins in the three domains of life.** *Genome Biol Evol*, **11**(10):2713-2726.
- Kanai, A., & Yoshihisa, T. (2019). **Editorial: Current Advances in the Research of RNA Regulatory Enzymes.** *Front Genet*, **10**:973.
- Saito, Y., Sawa, D., Kinoshita, M., Yamada, A., Kamimura, S., Suekane, A *et al.* (2020). **EVII1 triggers metabolic reprogramming associated with leukemogenesis and increases sensitivity to L-asparaginase.** *Haematologica*, **105**(8), 2118-2129.
- Harada-Shoji, N., Soga, T., Tada, H., Miyashita, M., Harada, M., Watanabe, G *et al.* (2019). **A metabolic profile of routine needle biopsies identified tumor type specific metabolic signatures for breast cancer stratification: a pilot study.** *Metabolomics*, **15**(11):147.
- Louprasitthiphol P., Ledaki I., Chauhan J., Falletta P., Siddaway R., Buffa FM., Mole DR *et al.* (2019). **MITF controls the TCA cycle to modulate the melanoma hypoxia response.** *Pigment Cell Melanoma Res*, **32**(6):792-808.
- Hashimoto, N., Nakamichi, N., Nanmo, H., Kimura, K., Masuo, Y., Sakai, Y *et al.* (2019). **Metabolome analysis reveals dermal histamine accumulation in murine dermatitis provoked by genetic deletion of P-glycoprotein and breast cancer resistance protein.** *Pharm Res*, **36**(11):158.
- Fukushima, K., Harada, S., Takeuchi, A., Kurihara, A., Iida, M., Fukai, K *et al.* (2019). **Association between dyslipidemia and plasma levels of branched-chain amino acids in the Japanese population without diabetes mellitus.** *J Clin Lipidol*, **13**(6):932-939.
- Hayasaki, T., Ishimoto, T., Doke, T., Hirayama, A., Soga, T., Furuhashi, K *et al.* (2019). **Fructose increases the activity of sodium hydrogen exchanger in renal proximal tubules that is dependent on ketohexokinase.** *J Nutr Biochem*, **71**:54-62.
- Yoneshiro, T., Wang, Q., Tajima, K., Matsushita, M., Maki, H., Igarashi, K *et al.* (2019). **BCAA catabolism in brown fat controls energy homeostasis through SLC25A44.** *Nature*, **572**(7771):614-619.
- McCarthy, M.T., Lin, D., Soga, T., Adam, J., & O'Callaghan, C.A *et al.* (2020). **Inosine pranobex enhances human NK cell cytotoxicity by inducing metabolic activation and NKG2D ligand expression.** *Eur J Immunol*, **50**(1):130-137.
- Yatsuoka, W., Ueno, T., Miyano, K., Uezono, Y., Enomoto, A., Kaneko, M *et al.* (2019). **Metabolomic profiling reveals salivary hypotaurine as a potential early detection marker for medication-related osteonecrosis of the jaw.** *PLoS One*, **14**(8):e0220712.
- Kofuji, S., Hirayama, A., Eberhardt, A.O., Kawaguchi, R., Sugiura, Y., Sampetean, O *et al.* (2019). **IMP dehydrogenase-2 drives aberrant nucleolar activity and promotes tumorigenesis in glioblastoma.** *Nat Cell Biol*, **21**(8):1003-1014.
- Valli, A., Morotti, M., Zois, C.E., Albers, P.K., Soga, T., Feldinger, K *et al.* (2019). **Adaptation to HIF1 α deletion in hypoxic cancer cells by upregulation of GLUT14 and creatine metabolism.** *Mol Cancer Res*, **17**(7):1531-1544.
- Osada-Oka, M., Goda, N., Saiga, H., Yamamoto, M., Takeda, K., Ozeki, Y *et al.* (2019). **Metabolic adaptation to glycolysis is a basic defense mechanism of macrophages for Mycobacterium tuberculosis infection.** *Int Immunol*, **31**(12):781-793.
- Yachida, S., Mizutani, S., Shiroma, H., Shiba, S., Nakajima, T., Sakamoto, T *et al.* (2019). **Metagenomic and metabolomic analyses reveal distinct stage-specific phenotypes of the gut microbiota in colorectal cancer.** *Nat Med*, **25**(6):968-976.
- Takai, T., Tsujino, T., Yoshikawa, Y., Inamoto, T., Sugito, N., Kuranaga, Y *et al.* (2019). **Synthetic miR-143 exhibited an anti-cancer effect via the downregulation of K-RAS networks of renal cell cancer cells in vitro and in vivo.** *Mol Ther*, **27**(5): 1017-1027.

Latest Publications

- Furukawa, T., Yamasaki, Y., Hara, Y., Otsuki, C., Maki, H., Soga, T *et al.* (2019). **Axis elongation during *Xenopus* tail-bud stage is regulated by GABA expressed in the anterior-to-mid neural tube.** *Int J Dev Biol*, **63**(1-2):37–43.
- Saito, T., Kuma, A., Sugiura, Y., Ichimura, Y., Obata, M., Kitamura, H *et al.* (2019). **Autophagy regulates lipid metabolism through selective turnover of NCoR1.** *Nat Commun*, **10**(1):1567.
- Wakasugi, T., Shimizu, I., Yoshida, Y., Hayashi, Y., Ikegami, R., Suda, M *et al.* (2019). **Role of smooth muscle cell p53 in pulmonary arterial hypertension.** *PLoS One*, **14**(2):e0212889.
- Saito, Y., Li, L., Coyaud, E., Luna, A., Sander, C., Raught, B *et al.* (2019). **LLGL2 rescues nutrient stress by promoting leucine uptake in ER+ breast cancer.** *Nature*, **569**(7755):275–279.
- Ii, KM., Kono, N., Paulino-Lima, IG., Tomita, M., Rothschild, L. J., & Arakawa, K. (2019). **Complete genome sequence of arthrobacter sp. strain MN05-02, a UV-resistant bacterium from a manganese deposit in the Sonoran Desert.** *J Genomics*, **7**:18–25.
- Ohshima, Y., Kono, N., Yokota, Y., Watanabe, S., Sasaki, I., Ishioka, NS *et al.* (2019). **Anti-tumor effects and potential therapeutic response biomarkers in α -emitting meta-211At-astato-benzylguanidine therapy for malignant pheochromocytoma explored by RNA-sequencing.** *Theranostics*, **9**(6):1538–1549.
- Sugiura, K., Minato, H., Suzuki, AC., Arakawa, K., Kunieda, T., & Matsumoto, M. (2019). **Comparison of sexual reproductive behaviors in two species of Macrobiotidae (Tardigrada: Eutardigrada).** *Zool Sci*, **36**(2):120–127.
- Evans-Yamamoto, D., Takeuchi, N., Masuda, T., Murai, Y., Onuma, Y., Mori, H *et al.* (2019). **Complete genome sequence of Psychrobacter sp. strain KH172YL61, isolated from deep-sea sediments in the Nankai Trough, Japan.** *Microbiol Resour Announc*, **8**(16):e00326-19.
- Kono, N., Nakamura, H., Ohtoshi, R., Tomita, M., Numata, K., & Arakawa, K. (2019). **The bagworm genome reveals a unique fibroin gene that provides high tensile strength.** *Commun Biol*, **2**:148.
- Kono, N., & Arakawa, K. (2019). **Nanopore sequencing: Review of potential applications in functional genomics.** *Dev Growth Differ*, **61**(5):316–326.
- Saito, M., Nishigata, A., Galipon, J., & Arakawa, K. (2019). **Complete genome sequence of Halomonas sulfidaeris strain Esulfide1 isolated from a metal sulfide rock at a depth of 2,200 meters, obtained using nanopore sequencing.** *Microbiol Resour Announc*, **8**(23):e00327-19.
- Nagata, S., Ii, KM., Tsukimi, T., Miura, MC., Galipon, J., & Arakawa, K. (2019). **Complete genome sequence of Halomonas olivaria, a moderately halophilic bacterium isolated from olive processing effluents, obtained by nanopore sequencing.** *Microbiol Resour Announc*, **8**(18):e00144-19.
- Kono, N., Nakamura, H., Ohtoshi, R., Moran, D., Shinohara, A., Yoshida, Y *et al.* (2019). **Orb-weaving spider araneus ventricosus genome elucidates the spidroin gene catalogue.** *Sci Rep*, **9**(1):8380.
- Masuda T., Kono N., Tomita M., Arakawa K. (2019). **Strand-specific single-stranded DNA Sequencing (4S-seq) of E. coli genomes.** *Bio-protocol*, **9**(15):e3329.
- Yoshida Y., Novel RW., Arakawa K., Baxter M. (2019). **Horizontal gene transfer in metazoa: examples and methods.** *Horizontal Gene Transfer*, 203–226.
- Craig, RJ., Böndel, KB., Arakawa, K., Nakada, T., Ito, T., Bell, G *et al.* (2019). **Patterns of population structure and complex haplotype sharing among field isolates of the green alga Chlamydomonas reinhardtii.** *Mol Ecol*, **28**(17):3977–3993.
- Kondo, K., Mori, M., Tomita, M., & Arakawa, K. (2019). **AMPK activity is required for the induction of anhydrobiosis in a tardigrade Hypsibius exemplaris, and its potential up-regulator is PP2A.** *Genes Cells*, **24**(12):768–780.
- Izumi, Y., Matsuda, F., Hirayama, A., Ikeda, K., Kita, Y., Horie, K *et al.* (2019). **Inter-laboratory comparison of metabolite measurements for metabolomics data integration.** *Metabolites*, **9**(11):257.
- Tanaka, K., Watabe, T., Kato, K., Tsukimi, T., Sato, M. P., Odamaki, T *et al.* (2019). **Draft genome sequences of enterococcus faecalis strains isolated from healthy Japanese individuals.** *Microbiol Resour Announc*, **8**(40):e00832-19.
- Ohnishi, T., Mishima, Y., Takizawa, S., Tsutsumi, K., Amemiya, A., Akiyama, N *et al.* (2020). **Clinical features of febrile urinary tract infection caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli in children.** *Keio J Med*, **69**(2):43–47.
- Murata, T., Yanagisawa, T., Kurihara, T., Kaneko, M., Ota, S., Enomoto, A *et al.* (2019). **Salivary metabolomics with alternative decision tree-based machine learning methods for breast cancer discrimination.** *Breast Cancer Res Treat*, **177**(3):591–601.
- Takasuka, K., Matsumoto, R., & Maeto, K. (2019). **Oviposition behaviour by a spider-ectoparasitoid, Zatypota maculata, exploits the specialized prey capture technique of its spider host.** *J Zool*, **308**(3), 221–230.
- Koshidaka, N., & Takasuka, K. (2019). **Discovery of a bagworm devouring an orb web.** *Arachnology*, **18**(2):147–149.
- Takasuka, K. (2019). **Evaluation of manipulative effects by an ichneumonid spider-ectoparasitoid larva upon an orb-weaving spider host (Araneidae: Cyclosa argenteoalba) by means of surgical removal and transplantation.** *J Arachnol*, **47**(2):181–189.
- Takasuka, K. (2019). **The second record of Allagelena opulenta (Araneae, Agelenidae) parasitized by the spider-ectoparasitoid, Brachyzapus nikkoensis (Hymenoptera, Ichneumonidae).** *Acta Arachnol*, **68**(2):77–80.
- Nakada, T., Tsuchida, Y., & Tomita, M. (2019). **Improved taxon sampling and multigene phylogeny of unicellular chlamydomonads closely related to the colonial volvoclean lineage Tetrabaenaceae-Goniaceae-Volvocaceae (Volvocales, Chlorophyceae).** *Mol Phylogenet Evol*, **130**:1–8.
- Nakada, T., Watanabe, S., Lewis, L. A., & Tomita, M. (2019). **Chlorococcum turfosum comb. nov. (Volvocales, Chlorophyceae) and visualization of chimeric sequences.** *Psychol Res*, **67**(3):239–243.
- Itaya, M., Sato, M., Watanabe, S., Yoshikawa, H., Tomita, M., & Sato, R. (2019). **Stable mutants of restriction-deficient/modification-proficient Bacillus subtilis 168: hub strains for giant DNA engineering.** *J Biochem*, **166**(3):231–236.
- Harada, M., Ito, K., Nakajima, N., Yamamura, S., Tomita, M., Suzuki, H *et al.* (2019). **Genomic Analysis of Pseudomonas sp. Strain SCT, an Iodate-Reducing Bacterium Isolated from Marine Sediment, Reveals a Possible Use for Bioremediation.** *G3*, **9**(5):1321–1329.



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