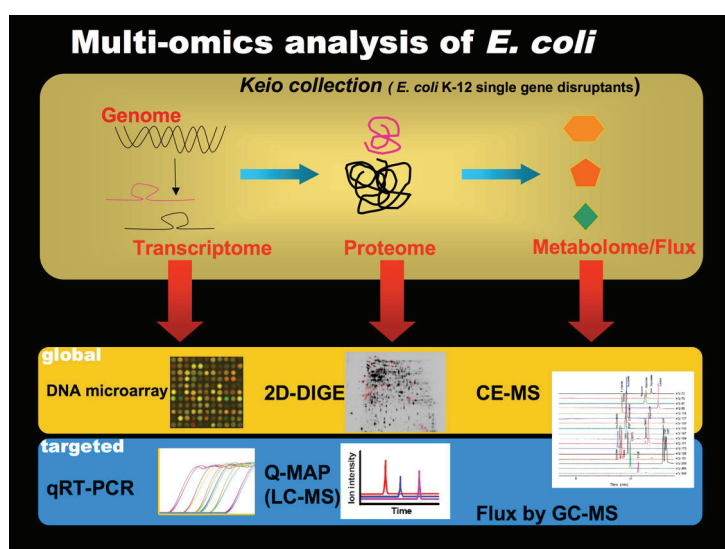


## 大腸菌代謝ネットワークの multi-omics 解析

石井伸佳<sup>1,2</sup>, ○中東憲治<sup>1,2</sup>, 馬場知哉<sup>1,2,3</sup>, Martin Robert<sup>1,2</sup>, 曾我朋義<sup>1,2,6</sup>, 金井昭夫<sup>1,2</sup>, 平沢 敬<sup>1,2</sup>, 那波幹<sup>1</sup>, 平井健太<sup>1</sup>, Aminul Hoque<sup>1,2</sup>, Pei Yee Ho<sup>5</sup>, 嘉数勇二<sup>1</sup>, 菅原香織<sup>1</sup>, 五十嵐沙織<sup>1</sup>, 原田諭<sup>1</sup>, 増田豪<sup>1,2</sup>, 杉山直幸<sup>6</sup>, 富樫貴<sup>1</sup>, 長谷川美紀<sup>1</sup>, 高井幸<sup>1</sup>, 柚木克之<sup>1,2</sup>, 荒川和晴<sup>1</sup>, 岩田那由太<sup>1,2</sup>, 戸谷吉博<sup>1,2</sup>, 中山洋一<sup>1,2</sup>, 西岡孝明<sup>1,2,4</sup>, 清水和幸<sup>1,2,5</sup>, 森浩禎<sup>1,2,3</sup>, 富田勝<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup> 慶大・先端生命研, <sup>2</sup> 慶大・政策メディア・システムズバイオロジープログラム, <sup>3</sup> 奈良先端大・バイオ, <sup>4</sup> 京大院・農, <sup>5</sup> 九工大・情工, <sup>6</sup> ヒューマン・メタボローム・テクノロジーズ(株))

e-mail: knakahig@sfc.keio.ac.jp



細胞システムは、ゲノムに書き込まれた遺伝情報を元に、環境からの働きかけを受けて転写レベル、翻訳レベル、代謝レベルといった様々な階層にわたる発現過程を経て構築されている。近年、測定技術の進歩によって、各種の網羅的信息 (omics 情報) を取得することが可能になってきているが、細胞をシステムとして理解する為には、RNA(トランスクリプトーム)、タンパク質(プロテオーム)、代謝物質(メタボローム)などといった単一の階層情報だけでなく、複数の階層にわたる情報を

同時に取得、解析する手法をとることが望ましい。我々は、細胞システムの総合的な理解をめざし、大腸菌 K-12 株を用いてこのような“multi-omics 解析”に取り組んでいる。

トランスクリプトーム解析では、精密な定量的データが得られる qRT-PCR と、網羅性の高い DNA マイクロアレイを併用し、同様にプロテオーム解析では定量性の高い液体クロマトグラフ-質量分析 (LC-MS/MS) を用いる方法 (新規開発) とウエスタンブロット、網羅性の高い蛍光標識 2 次元ディファレンス電気泳動 (2D-DIGE) を用い、中心炭素代謝に関与する 87 種の RNA、67 種のタンパク質の定量的データ、並びに網羅的 mRNA、タンパク質データを得る。メタボローム解析にはキャピラリー電気泳動-質量分析 (CE-MS) の手法を用い、578 代謝物質に関する測定を行う。さらに、代謝物質の静的濃度だけでなく各代謝ステップの動的情報を得る為、安定同位体 (<sup>13</sup>C) ラベルしたグルコースの取り込みパターンから各代謝反応の流束を推定するフラクソーム解析を行う。目的外の遺伝的変異による影響を避ける為、全ての実験に同一の株 (BW25113 株)、またはそれに由来する単一遺伝子欠損株 (Keio collection) を用いる。菌体の培養は再現性を得にくいフラスコでのバッチ培養でなく、ジャーファーメンターによる連続培養を行って定常状態の細胞から各種 omics 解析用サンプルを同時に取得し、細胞のスナップショットを撮るごとくに細胞内物質の網羅的測定を行う。

この解析システムを用い、大腸菌が環境変動(炭素源の供給量変化)や内的変化(遺伝子欠損)にさらされた際の応答について解析した結果を紹介する。炭素源の供給量を変える為に野生株を数種の希釈率で連続培養し、一方で中心炭素代謝(解糖系, ペントースリン酸経路, TCA 回路)に関する 24 の遺伝子欠損株を同一希釈率(0.2/h, 倍化時間 3.5 時間)で定常培養し、上記 multi-omics 手法による網羅的データを得た。

これらのデータを解析したところ、大腸菌は環境変動(炭素源濃度の変化)に対して転写・翻訳レベルでの積極的な制御によって細胞内の代謝物質レベルを安定に保とうとしていることが観察された。一方、遺伝子欠損による変化では mRNA、たんぱく質レベルにおいて大きな変動は見られず、局所的な代謝物質の蓄積は観察されるものの全体として代謝物質レベルは安定に保たれていた。遺伝子欠損においては、アイソザイムや迂回経路といった代謝経路自体が持つ頑強性によって全体として代謝物質レベルが安定に保たれていることがわかった。さらに、いくつかの欠損株においては別の遺伝子に変異が入ることで代謝の安定性が保たれていた。このように、大腸菌は細胞内の代謝レベルの安定性を維持するために複数のシステムを有していることが示唆された。

#### 参考文献

Ishii *et al.*, *Science*, **316**, 593-597, 2007.

***Escherichia coli* Multi-omics Database (<http://ecoli.iab.keio.ac.jp/>)**