

2018年度日本質量分析学会

奨励賞

松田史生氏 [大阪大学, 博士(農学)]

〔業績〕 質量分析を用いた一次代謝の定量分析に関する研究



松田史生氏は、1997年京都大学農学部を卒業、2002年に京都大学大学院農学研究科博士課程を修了し、博士(農学)を取得した。その後、日本学術振興会特別研究員、科学技術振興機構CREST研究員、理化学研究所植物科学研究センター研究員として植物二次代謝物メタボローム解析法の開発と農学への応用を行った。2009年からは神戸大学自然科学系先端融合研究環重点研究部准教授として、有用微生物一次代謝のメタボローム解析へと研究対象を展開した。2012年に大阪大学大学院情報科学研究科バイオ情報工学専攻准教授(2017年に教授)として着任後は、有用微生物および動物細胞内一次代謝のメタボローム解析、定量プロテオーム解析、代謝フラックス解析法の開発と、バイオプロダクションおよび医学分野への応用に着手している。

一次代謝は生命の根幹を担う重要なシステムであり、個々の構成要素の生化学、分子生物学的解析が進んでいる。しかし、定量的な知見が不足しているため、それらが相互作用しながら恒常性を維持する機構は未解明な点が多い。そこで、松田氏は質量分析計を有効に活用し、特に安定同位体標識化合物を駆使して、ミカエリスメンテン式に登場する代謝物濃度、酵素発現量、代謝フラックスの一斉定量を実現することで、代謝恒常性維持機構を解明し、その知見をバイオプロダクションおよび医学分野に応用してきた。

【定量プロテオーム解析技術の開発と応用】定量プロテオーム解析技術で一次代謝酵素の発現量を網羅的に定量するには、定量に適したトリプシン消化ペプチドの選抜作業を測定対象タンパクごとに行う必要がある。松田氏はこの作業を簡便化する一つの手段として、選抜されそうにないhopeless peptideをペプチドの配列から予測する手法を開発し、候補ペプチドを30%程度減少することに成功した¹⁾。さらに島津製作所と共同で出芽酵母一次代謝酵素の一斉定量法を確立し²⁾、一次代謝酵素の発現が、タンパク合成コストに制約を受けつつ、協調的に制御されていることを明らかにした³⁾。

【メタボローム解析技術の開発と応用】質量分析を用いたメタボローム解析技術の課題は、代謝物の構造推定と、正確な定量の実現である^{4),5)}。そのなかで松田氏の研究は、安定同位体標識培地で培養した微生物の代謝物量を、非標識の内部標準化合物を用いて定量するなどの工夫により、信頼性の高い代謝物濃度の定量が行われている点で高く評価されている^{6),7)}。代謝物濃度の実測値から、各代謝反応のギブス自由エネルギー変化(ΔG)を算出して、解糖系のロバスト性に関する知見を得るなどの応用につなげている⁷⁾。また、インフォマティクス技術を用い、質量分析データから部分構造を推定する手法を提案している⁸⁾。

【¹³C-代謝フラックス解析技術の開発と応用】代謝流束(フラックス)は直接計測できないため、¹³C標識グルコース培地で培養した細胞から代謝物を抽出し、各代謝物の¹³C標識割合を質量分析法で測定し、その結果から代謝フラックス分布を推定する。松田氏は、数理モデル作成とフラックス推定を半自動化した代謝フラックス解析用ソフトウェアの開発、公開を行うことで本法の基盤構築と普及に貢献した⁹⁾。さらに、¹³C標識割合の測定へのGC-MS/MS法の適用⁵⁾、¹³C標識グルコースの選択法⁴⁾、時系列データを用いた解析法¹⁰⁾の開発を行った。インフォマティクスを援用しつつ代謝フラックス推定精度を向上させ、SAM生産酵母、メバロン酸、イソプロピルアルコール生産大腸菌の代謝ボトルネックの推定が可能なることを示し、光合成細菌(シアノバクテリア)の窒素欠乏状態への代謝適応メカニズム¹⁰⁾、がん細胞特異的な代謝の解明などにも応用している点が高く評価されている。また一方で、松田氏は質量分析計を駆使して取得した一次代謝定量データを、階層をまたいで解析するトランスオミクス解析に着手し、その成果を質量分析総合討論会にて発表している。

以上、質量分析を用いた一次代謝の定量分析に関する松田氏の研究成果は、質量分析学の進歩に寄与する優れたものであり、また、松田氏が現在も活発に質量分析学研究を行い、その将来の発展を大いに期待できるものである。よって、日本質量分析学会奨励賞に値するものとして贈呈を決定した。

授賞対象業績リスト

- 1) F. Matsuda, A. Tomita, and H. Shimizu, "Prediction of hopeless peptides unlikely to be selected for targeted proteome analysis," *Mass Spectrom.* (Tokyo), **6**, A0056 (2017).
- 2) F. Matsuda, T. Ogura, A. Tomita, I. Hirano, and H. Shimizu, "NanoLC-MRM based quantitative platform for analyzing multiple enzymes associated with central metabolic pathways of *Saccharomyces cerevisiae* using ultra-fast mass spectrometry," *Mass Spectrom.* (Tokyo), **6**, A0056 (2017).

- try," *J. Biosci. Bioeng.*, **119**, 117–120 (2015).
- 3) F. Matsuda, S. Kinoshita, S. Nishino, A. Tomita, and H. Shimizu, "Targeted proteome analysis of single-gene deletion strains of *Saccharomyces cerevisiae* lacking enzymes in the central carbon metabolism," *PLOS ONE*, **12**(2), e0172742 (2017).
 - 4) K. Maeda, N. Okahashi, Y. Toya, F. Matsuda, and H. Shimizu, "Investigation of useful carbon tracers for ¹³C-metabolic flux analysis of *Escherichia coli* by considering five experimentally determined flux distributions," *Metabolic Eng. Commun.*, **3**, 187–195 (2016).
 - 5) N. Okahashi, S. Kawana, J. Iida, H. Shimizu, and F. Matsuda, "GC-MS/MS survey of collision-induced dissociation of tert-butyltrimethylsilyl-derivatized amino acids and its application to ¹³C-metabolic flux analysis of *Escherichia coli* central metabolism," *Anal. Bioanal. Chem.*, **408**, 6133–6240 (2016).
 - 6) K. Hayakawa, F. Matsuda, and H. Shimizu, "Metabolome analysis of *Saccharomyces cerevisiae* and optimization of culture medium for S-adenosyl-L-methionine production," *AMB Express*, **6**, 38 (2016).
 - 7) S. Nishino, N. Okahashi, F. Matsuda, and H. Shimizu, "Absolute quantitation of glycolytic intermediates reveals thermodynamic shifts in *Saccharomyces cerevisiae* strains lacking *PFK1* or *ZWF1* genes," *J. Biosci. Bioeng.*, **120**, 280–286 (2015).
 - 8) F. Matsuda, "Regular expressions of MS/MS spectra for partial annotation of metabolite features," *Metabolomics*, **12**, 1–14 (2016).
 - 9) S. Kajihata, C. Furusawa, F. Matsuda, and H. Shimizu, "OpenMebius: An open source software for isotopically nonstationary ¹³C-based metabolic flux analysis," *BioMed Research International*, **2014**, 627014 (2014).
 - 10) T. Nakajima, K. Yoshikawa, Y. Toya, F. Matsuda, and H. Shimizu, "Metabolic flux analysis of *Synechocystis* sp. PCC 6803 $\Delta nrtABCD$ mutant reveals a mechanism for metabolic adaptation to nitrogen-limited conditions," *Plant Cell Physiol.*, **58**, 537–545 (2017).