

質量分析インフォマティクス研究会・第6回ワークショップ (2021年)

質量分析情報で代謝を理解する

開催概要

開催日時： 2021 年 6 月 10 日 (木)
10 時 30 分 ～ 17 時 40 分 (10 時開場)
(意見交換会 18 時 ～)

開催場所： オンライン開催 (ZOOM Webinar)

主 催： 質量分析インフォマティクス研究会※ (<http://ms-bio.info/>)
(日本バイオインフォマティクス学会 (JSBi)) (<http://www.jsbi.org/>)



協 賛： 理化学研究所 環境資源科学研究センター (CSRS)



※本ワークショップは、質量分析インフォマティクス研究会が、JSBiの公募研究会として活動する一環として開催しています。



プログラム

1. 開会挨拶・概要説明	10:30~10:40 (10分)
2. セッション1	
招待講演 1	10:40~11:20 (40分)
タンパク質分析における質量分析インフォマティクス	
新保 和高	(味の素 バイオ・ファイン研)
招待講演 2	11:20~12:00 (40分)
脂肪細胞におけるインスリン依存性糖代謝の速度論的トランスオミクス解析	
大野 聡	(東京大・理・生物科学)
休憩	12:10~13:40 (90分)
3. セッション2	
プロトコール・セッション講演 1	13:40~14:00 (20分)
メタボロミクスに資する質量分析データ処理プロトコール	
津川 裕司	(東京農工大／理研／横浜市立大)
プロトコール・セッション講演 2	14:00~14:20 (20分)
質量分析インフォマティクスによる未知化合物のアノテーション	
早川 英介	(沖縄科技大)
プロトコール・セッション講演 3	14:20~14:40 (20分)
MetaboAnalystを用いた主成分分析とエンリッチメント解析	
山本 博之	(HMT)
プロトコール・セッション講演 4	14:40~15:00 (20分)
トランスオミクス解析のための多階層パスウェイ可視化の自動化	
西田 孝三	(理研BDR)
セッション・パネルディスカッション	15:00~15:20 (20分)
休憩	15:30~15:50 (20分)



4. セッション3

一般講演1

15:50～16:00 (10分)

ネットワーク解析に基づくがんメタボロームデータの統合解析

松田 りら (慶応大・HMT)

一般講演2

16:00～16:10 (10分)

マルチセット多変量解析を用いたマルチオミックスデータの解析

山本 博之 (HMT)

招待講演3

16:10～16:50 (40分)

定量メタボロームデータ取得に向けた分析技術およびソフトウェア開発

馬場 健史 中尾 素直 (九州大・生体防御研)

5. パネルディスカッション・総合討論

16:50～17:30 (40分)

6. 研究会活動報告・閉会挨拶

17:30～17:40 (10分)

7. 意見交換会

18:00～21:00 (最大180分)

講演要旨

招待講演 1

タンパク質分析における質量分析インフォマティクス

味の素株式会社 バイオ・ファイン研究所
新保 和高

質量分析の進歩は著しく、ライフサイエンス、食品、法医学、環境、セキュリティーなど様々な分野においての活用がなされてる。

タンパク質の分析においても、これまでに観測できなかった微量のペプチド、タンパク質が高い確度で同定でき、複雑な翻訳後修飾の解析も可能になってきている。また、ターゲットプロテオミクスのようなタンパク質の網羅的定量解析も実施されるようになってきている。

その背景には、質量分析装置の感度や質量精度、分解能の向上、前処理技術の高度化だけではなく、データ処理、データ解析技術に支えられている点も大きい。

本発表では、ペプチドN末端アミノ酸を選択的に標識する方法を用いたCaspase分解物の網羅的分析[1]で実施したターゲットプロテオミクスを中心に、当時実施していたデータ処理について紹介する。また、ターゲットプロテオミクスのために開発されてきたSkyline[2]の紹介、ならびに、日常のタンパク質などのデータ処理や解析で感じている現状の課題や今後の期待について報告する。

参考文献

- 1) Shimbo et al., *Proc Natl Acad Sci USA*, 109, 12432-12437 (2012)
- 2) MacLean et al., *Bioinformatics*, 26, 966-968 (2010)

招待講演 2

脂肪細胞におけるインスリン依存性糖代謝の速度論的トランスオミクス解析

東京大学 大学院理学系研究科
大野 聡

細胞の代謝は、栄養の蓄積やエネルギー産生を制御する重要な機能であり、細胞内外の状態に応じて動的に変化する。例えば生体内の脂肪細胞では、摂食に伴う血糖値上昇やインスリン分泌に応答し、糖分解や脂質合成が促進することが知られている。このような代謝変化は、代謝反応の基質となる代謝物だけでなく、反応を触媒する代謝酵素の翻訳後修飾（リン酸化など）や、基質以外の代謝物によるアロステリック制御が短時間の制御として挙げられる。しかし、代謝変化の際には数千もの分子が同時にかつ動的に変化する。そのため、これまでの個別研究で蓄積されてきた辞書のような知見から、対象とする細胞・条件で実際にどの代謝制御機構がどの程度寄与しているのかを理解することは難しい。

本研究では、インスリン刺激下の脂肪細胞から取得したオミクスデータを統合し、糖代謝フラックスの時間変化とその制御機構について研究した。インスリン刺激後60分までの脂肪培養細胞からリン酸化プロテオームデータを取得した。また、インスリン刺激と同時に、 ^{13}C -グルコースによるトレーサー実験を行い、 ^{13}C 標識メタボロームデータを取得した。これらのリン酸化プロテオームデータと ^{13}C 標識メタボロームデータを反応速度論に基づき統合する「速度論的トランスオミクス解析」を開発・実施した。その結果、インスリン依存的に増加した解糖・中性脂肪合成の代謝フラックスの制御は、シグナル分子AS160のリン酸化によるグルコース膜輸送の活性化とグルコース6リン酸またはフルクトース6リン酸による中性脂肪合成の活性化がカギであることが明らかとなった。一方で、解糖系の多くの反応には特別な制御は機能しておらず、単純に基質代謝物により駆動されることが示された。つまり、少数のカギとなる酵素のリン酸化制御およびアロステリック制御が、インスリンによる糖代謝全体の変化を引き起こすことが明らかとなった。

招待講演 3

定量メタボロームデータ取得に向けた分析技術およびソフトウェア開発

九州大学 生体防御医学研究所
馬場 健史, 中尾 素直

メタボロミクス（メタボローム解析）は俯瞰的視点から代謝とそれに関連する生体分子を広く見出せることから、近年その利用価値が高まっている。これまでに各種クロマトグラフと質量分析計を組み合わせたメタボローム分析手法が開発され、それらを用いた応用研究が盛んに行われている。現在用いられているメタボローム分析方法には使用する装置や解析対象の分析条件ごとに様々な手法が存在し、それぞれの研究者が選択した分析方法を用いてメタボローム解析を実施している。また、試料調製方法やデータ解析方法についても使用する分析方法により異なってくるため、使用する手法により異なるメタボロームデータが取得されているのが現状である。さらに、試料調製、機器分析、データ解析のそれぞれのプロセスにおいて、技術開発やバリデーションが不十分なところがあり、現在においても様々な技術的課題を抱えている。なかでも、定量値、すなわち代謝物の濃度値を取得については、早期に解決が望まれている重要な課題である。メタボローム分析法のほとんどが比較対象とするサンプル間のピークエリア（ピーク高さ）比較に基づく相対比較であり、サンプル内の各代謝物の濃度値は算出できていない。質量分析計は、感度、選択性が高く、化合物情報を得られることから、バラエティーに富んだ代謝物の一斉分析を行うメタボローム分析において非常に有用な検出器であるが、一方で共溶出が頻発するメタボローム分析においてはマトリックス効果による影響を受けるため一般的な外部検量線を用いた定量方法を使用することができない。また、質量分析においては安定同位体ラベル化体を用いた絶対定量値の取得が可能であるが、解析対象化合物の全ての標準品を入手することができず、メタボローム解析における絶対定量は事実上困難な状況にある。近年では、メタボロームと他のオミクスデータを統合して解析するトランスオミクス解析が試みられてきている。生体内における代謝変動を理解するためには、表現型や他のオミクスデータと対応させながら解析する必要がある。このためには代謝ネットワークを構成する変数である化合物濃度と酵素濃度・速度定数などのデータを必要とする。代謝物濃度の絶対定量値が取得できない現状では、メタボローム解析結果を多階層オミクスデータと対応させながら生理学的・生化学的考察を深めるトランスオミクス研究を実施することは困難である。また、異なる施設間での異なる分析装置や異なる分析手法で取得したデータを直接比較できないことも複数機関で取得したデータの統合解析の大きな障壁となっている。



本講演では、メタボロームデータの取得における現状および課題について言及するとともに、定量メタボロームデータ取得に向けた様々な取り組みについてソフトウェア開発も含めて紹介し、その重要性や今後の課題について議論したい。

プロトコール・セッション講演 1

メタボロミクスに資する質量分析データ処理プロトコール

- 1) 東京農工大学 大学院グローバルイノベーション研究院
- 2) 理化学研究所 生命医科学研究センター
- 3) 理化学研究所 環境資源科学研究センター
- 4) 横浜市立大学 大学院生命医科学研究科

津川 裕司^{1,2,3,4}

Metabolomeという言葉が初めて使われたとされるOliver S.G. et al.の論文[1]から現在に至るまで20年を超える時が流れた。現在では、メタボローム解析における様々なプロトコールが提唱され、従来問題視されていたデータ解析の行程は間違いなく解決されてきた。更にこのデータ解析におけるボトルネックが解決されてきたことで、今度は将来のデータサイエンスへ向けたデータ形式の標準化がMetabolomics Standards Initiative (MSI) [2]やLipidomics Standards Initiative (LSI) [3]で議論・定義されており、各データ解析プログラムもこれら国際標準に則った出力ができる時代になってきた。また、データ処理やマススペクトルデータベースの充実に伴い、今後、メタボロミクスに資する情報科学研究の着眼点も明確になってきた（アノテーションの網羅性および信頼性向上は挑戦的な課題の1つである）。

本発表では、発表者が開発しているMS-DIAL[4]環境によるGC-MSメタボロミクスおよびLC-MS/MSリピドミクスの概要を説明する。そしてこのようなツールが、現在MetaboLightsやMetabolomicsWorkbench、そしてMetaboBankに格納されている質量分析データレポジトリに対してどのように利活用することができ、ライフサイエンス研究における新たな知見を得ることが可能になるかを示す。

参考文献

- 1) Oliver, S. G. *et al.*, Systematic Functional Analysis of the Yeast Genome. *Trends Biotechnol.* 1998, 16, 373–378.
- 2) Sumner, L. W. *et al.*, Proposed Minimum Reporting Standards for Chemical Analysis: Chemical Analysis Working Group (CAWG) Metabolomics Standards Initiative (MSI). *Metabolomics* 2007, 3, 211–221.
- 3) Lipidomics Standards Initiative Consortium. *et al.*, Lipidomics needs more standardization. *Nat. Metab.* 2019, 1, 745–747.



- 4) Tsugawa, H. *et al.*, A Lipidome Atlas in MS-DIAL 4. *Nat. Biotechnol.* 2020, 38 (10), 1159–1163.

プロトコール・セッション講演2

質量分析インフォマティクスによる未知化合物のアノテーション

沖縄科学技術大学院大
早川 英介

近年、分析対象の代謝物を限定せず試料中の代謝物を網羅的に分析するノンターゲットメタボロミクスに注目が集まり、様々な分野で利用され始めている。その一方で、ノンターゲット分析では検出された質量ピークがどの代謝物由来かを明らかにするアノテーションが必要になるが、得られた分析データをもとに膨大な候補化合物データベースの中からアノテーションを行うのは未だに困難なことが多い。

近年発展が目覚ましい質量分析インフォマティクスでは、これまでに様々なアプローチによる未知化合物のアノテーションのためのプログラムが開発されてきた。本講演では、in silicoフラグメンテーションによる代表的なアノテーションツールや、部分構造予測、データ可視化などの多様な手法を紹介するとともに、インフォマティクスツールによるアノテーションの注意点についても解説を行う。さらに、未知化合物のアノテーションを中心とした質量分析インフォマティクスにおける各種データ解析に有益なツールや環境構築に関しても議論したい。

プロトコール・セッション講演3

MetaboAnalystを用いた主成分分析とエンリッチメント解析

ヒューマン・メタボローム・テクノロジーズ株式会社
山本 博之

MetaboAnalyst[1]は、フリーで利用可能なWebサービスであり、メタボロミクスで標準的に用いられている多変量解析手法である主成分分析やPartial Least Squares が容易に実行可能であることから、ここ数年でその利用が急速に拡がっている。MetaboAnalystの解析手順に関する資料[2]や、これまで質量分析インフォマティクス研究会の活動として行ってきたメタボロミクスソフトウェア講習会における講習動画[3,4]が、ライフサイエンス統合データベースセンターにより運営されている統合TVで公開されていることから、詳細はそちらを参照して頂くとして、今回はその中でも特に主成分分析と主成分負荷量の計算方法について紹介する。

また、統計解析の結果を生物学的な解釈へとつなげるために、代謝パスウェイとの関連解析であるmetabolite set enrichment analysis (MSEA)が行われている。MetaboAnalystでもMSEAを実行することが出来るが、現時点ではHuman Metabolome DataBaseに登録されている代謝物のみ利用可能である等の問題点もある。本発表では、MetaboAnalystを用いてMSEAを行う際の現状の問題点を紹介し、今後望まれるMSEAのツールについても議論したい。

参考サイト

- 1) MetaboAnalyst : <https://www.metaboanalyst.ca/>
- 2) フリーソフトウェアを通じた多変量解析講習 : https://www.slideshare.net/h_yama2396/ss-54462336
- 3) 多変量解析の背景理論の説明 : <https://togotv.dbcls.jp/en/20190329.html>
- 4) 多変量解析演習(主成分分析・PLS-DA・PLS回帰) : <https://togotv.dbcls.jp/20190330.html>

プロトコール・セッション講演4

トランスオミクス解析のための多階層パスウェイ可視化の自動化

1) 理化学研究所 生命機能科学研究センター

2) 理化学研究所 生命医科学研究センター

西田 孝三¹, 柚木 克之²

オミクス実験技術の発展により、メタボロミクスデータだけではなく複数種のおミクス(マルチオミクス)データを実験条件を揃え計測することが可能となっている。このようなマルチオミクスのプロファイルに対し、相関だけではなく、システム生物学の解析手法やデータベースも統合して解析し、背後にある多階層代謝制御ネットワークを再構築する「トランスオミクス」解析が台頭している。柚木らは2種のおミクスデータ(メタボロミクスとリン酸化プロテオミクス)に基づき、インスリンのシグナル伝達系(代謝酵素のリン酸化とアロステリック調節)を再構築するトランスオミクス研究を2014年に発表した[1]。時を経てこの解析はデータ・解析規模共に増加の一途を辿っている。例えば小鍛治らは、野生型・肥満条件を比較した肝臓のグルコース応答性代謝におけるトランスオミクス研究を、柚木らの再構築手法の拡張(トランスクリプトームデータの追加)を行う形で2020年に発表している[2]。

このようにトランスオミクス解析の大規模化が進んでいるにもかかわらず、柚木らが2014年の研究で提唱した(小鍛治らもそれを踏襲している)、3次元空間でトランスオミクス解析結果の全容を可視化するためのソフトウェアは開発が途絶え、その可視化ワークフローの自動化も行われていなかった。

そこで講演者と柚木は、トランスオミクス解析における可視化ソフトウェアの近代化とそのワークフローの自動化を目指し、R言語を用いたソフトウェアパッケージをtransomics2cytoscapeという名称で開発した。本講演では、1)柚木らの可視化手法がどのように有用か、2)その自動化を行うソフトによってどのように可視化ワークフローが形式化されたか、3)transomics2cytoscapeをベースとしてどのような研究の発展が起こり得るか、を主に情報学的な技術の視点から紹介したい。

参考文献



- 1) Katsuyuki Yugi *et al.*, “Reconstruction of Insulin Signal Flow from Phosphoproteome and Metabolome Data,” *Cell Reports* 8, no. 4 (August 2014): 1171–1183.
- 2) Toshiya Kokaji *et al.*, “Transomics Analysis Reveals Allosteric and Gene Regulation Axes for Altered Hepatic Glucose-Responsive Metabolism in Obesity,” *Science Signaling* 13, no. 660 (December 1, 2020): eaaz1236.

一般演題 1

ネットワーク解析に基づくがんメタボロームデータの統合解析

1) 慶應義塾大学・先端生命科学研究所

2) 慶應義塾大学大学院・政策・メディア研究科・先端生命科学プログラム

3) ヒューマン・メタボローム・テクノロジーズ株式会社

松田 りら^{1,2,3}，山本 博之³，富田 勝^{1,2}，斎藤 輪太郎^{1,2}

メタボロミクスでは、MetabolightsやMetabolomics Workbench、また国内においてもMetaboBankといったリポジトリにデータが蓄積されている。現在、これらのリポジトリのデータは、個々のデータの再解析には利用されてはいるものの、データを統合して解析を行った例はほとんど報告されていない。メタボロームデータを統合して解析することで、単独の研究からは得られなかった新たな生物学的な仮説の構築や目的を同じくする試験の再現性の確認など、様々なメリットが考えられる。しかしながら、異なる研究機関・質量分析計から得られたピーク面積値のデータを統合することは、質量分析の感度の問題等により、現実的には不可能である。

そこで本研究では、ピーク面積値のデータそのものではなく、群間比較で差のあった変動代謝物のリストに基づいたデータの統合を行った。がんメタボローム研究から変動代謝物のリストを収集し解析を行った結果、いくつかの比較群同士の関連が確認出来た。例えば、Hakimiら (Hakimi et al., 2016) のがん組織 (腎細胞がん) /正常組織の比較とLucarelliら (Lucarelli et al., 2018) のがん組織 (腎細胞がん) /正常組織の比較において、対数オッズ比が8.95 ($p\text{-value} = 4.2\text{E-}32$) と正の有意な関連が得られた。これは、比較1の「がん組織で高値」の物質群と比較2の「がん組織で高値」の物質群が共通していることを示している。今後はさらに、がんメタボローム研究のデータを収集し、解析を進めていく予定である。

一般演題 2

マルチセット多変量解析を用いたマルチオミックスデータの解析

ヒューマン・メタボローム・テクノロジーズ株式会社
山本 博之

プロテオミクスやメタボロミクスのデータを統合して解析するための多変量解析として、およそ10年前からマルチセット多変量解析[1]が適用され始めている。その中でも2017年に発表されたRのBioconductorパッケージであるmixOmics[2]は、その論文の引用数が886(2021年5月時点、google scholar調べ)であり、現在でもその引用数は右肩上がりが増加していることから、マルチオミックスデータ解析のためのスタンダードなツールになりつつある。

マルチセット多変量解析は、従来の多変量解析の単純な拡張であり、特にこれまで多変量解析を用いてオミックスデータを解析してきた研究者にとって理解しやすく、使いやすいたことがメリットである。本発表では、従来の多変量解析とマルチセット多変量解析の違いについて簡単に説明し、実際のデータへの適用としてCOVID-19のヒト血清サンプルのマルチオミックスデータ[3]を用いて、教師無しマルチセットPLS、教師ありマルチセットPLS、マルチセットPLS-ROGを用いて再解析を行った結果を紹介する。重症度と関連のあるタンパク質として、Q14520、P12259、Q15113、代謝物として5-methyluridine (ribothymidine)が得られたので、タンパク質に関してはUniProt、代謝物についてはHuman Metabolome DataBaseを参照して疾患との関連を調査しているが、特にタンパク質の情報を得るのに有用なデータベースや結果の解釈の方法について、プロテオミクスに詳しい参加者の方々からのご意見を伺いたい。

参考文献

- 1) Csala A *et al.*, “Multivariate Statistical Methods for High-Dimensional Multiset Omics Data Analysis”, *Computational Biology*, Husi H, editor., Brisbane (AU), Codon Publications (2019).
- 2) Rohart F *et al.*, “mixOmics: An R package for ‘omics feature selection and multiple data integration”, *PLOS Computational Biology* 13(11): e1005752 (2017).
- 3) Shen B. *et al.*, “Proteomic and Metabolomic Characterization of COVID-19 Patient Sera”, *Cell*, 182(1), 59-72.e15 (2020).



日本バイオインフォマティクス学会 入会のお誘い

日本バイオインフォマティクス学会（JSBi）は、我が国においてバイオインフォマティクスという学問分野を発展させ、その技術および関連事業の振興、並びにその教育基盤を確立するために、平成 11 年に設立されました。この学会は、バイオインフォマティクス分野最大の国際学会である ISCB（International Society for Computational Biology）の地域グループとして、またアジアの関連学会の連合体である AASBi（Association of Asian Societies for Bioinformatics）のメンバーとしても、活動しています。学会の主な活動としては、**年 1 回、年会を開催して会員の研究発表の場を提供しているほか、各種の研究会および地域部会活動、日本バイオインフォマティクス学会賞、Oxford Journals-JSBI Prize の授与、JSBi Bioinformatics Review 発行、ニュースレター発行**などを通して、多くの会員にとって意義のある学会であるように努めています。

例えば、以下のような方のご入会をお待ちしております。

- ☐ バイオインフォマティクス分野の**最先端研究に関する研究討議**を行いたい方
- ☐ バイオインフォマティクス分野での**研究交流やネットワーキング**を行いたい方
- ☐ バイオインフォマティクス分野の**知識や技術を新たに身につけたい方**
- ☐ バイオインフォマティクス分野の**共同研究者や人材を探されている方**
- ☐ バイオインフォマティクス分野に**関連する製品やサービスを開発・提供されている方**
- ☐ その他、バイオインフォマティクス分野に関する**ご関心をお持ちの方**

ぜひ多くの方にご入会いただき、今後のさらなる活動の発展にご協力いただければ幸いです。

入会方法のご案内

入会申し込みは学会ウェブページ（www.jsbi.org）から随時受け付けております。入会金は1,000円、年会費は5,000円（正会員）・2,000円（学生会員）、また賛助会員は1口50,000円となります。



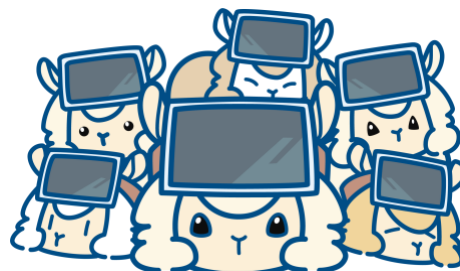
アンケートへのご協力をお願い

このたびは、日本バイオインフォマティクス学会（JSBi）の公募研究会にご参加いただきありがとうございました。つきましては、簡単なウェブアンケート（<https://www.jsbi.org/activity/koubo/questionnaires/>）にご記入のうえ、ご意見・ご感想をお聞かせくださいますようお願いいたします。

携帯からもご回答いただけます



ウェブアンケートページ



バイオインフォひつじ（案内人）