

複雑系の解析を可能にする

オミクス——メタボロミクス

はじめに

これまでの原因と結果の関連性の解明を目的とした研究では、一対一の関係を対象としたものが主流で、複数のものが同時に、相互に作用する自然現象のような複雑系の解明は後回しにされているところがあ

り、そのメカニズムの解析はほとんど進んでいません。今後さらに自然農法を世の中に普及していくためには、ある程度の科学的な裏付けが必要となってくることから、こうした複雑系の解析についてどのように取り組んで行くか、今から考えておく必要があると思います。

近年、コンピュータ解析技術の進歩により、多数の要因と結果を同時に解析できるようになってきています。それが、オミクスといわれる

分野です。本稿ではオミクスの中でも特に代謝物（化合物）を対象としたメタボロミクスについてフォーカスし、メタボロミクスとはどんなものか、応用例も示しながらメタボロミクスをご存知ない方にもわかるように解説したいと思います。

メタボロミクスとは？

「メタボ」という言葉はテレビや雑誌などでよく目にされると思いますが、タイトルにある「メタボロミクス」という言葉は初めて聞かれる方が多いのではないかと思います。「メタボロミクス」とは、10年ほど前に新しい学問分野として提唱され、医療・製薬・食品・農業・環境など幅広い分野において注目されている代謝物解析の技術のことです。

○オミクスという言葉は、ここ

最近の分析技術の進歩に伴い計測可能ないろいろなものすべてを対象として網羅的に解析ができるようになってきたことから生まれてきました。対象とする全て、すなわち総体を表す言葉を「ome（オーム）」と言い、その総体の解析（＝

オーム解析）、すなわち網羅的な解析を意味する言葉として「omics（オミクス）」が作られました。例えば、遺伝子（gene）の総体のことを gene + ome で「genome（ゲノム）」と言い、ゲノム解析のことを genome + omics で「genomics（ゲノミクス）」と言います。同様にメタボローム（metabolome）とは、代謝物（metabolite）+ ome であり、メタボロミクス（metabolomics）は metabolome + omics で、すなわちメタボローム解析になります。

馬場 健史

大阪大学大学院工学研究科
生命先端工学専攻・准教授

（公財）自然農法国際研究開発センター理事。
専門分野は分析化学・メタボロミクス・超臨界流体工学。



「メタボロミクス」が一般に言われる「メタボ」すなわちメタボロリックシンドロームと違うものであることはご理解いただけたと思いますが、この「メタボロミクス」が実質的に何を目的として、何の役に立つのかご理解いただいたために、以下ではメタボロミクスの特徴について説明するとともに緑茶の品質評価などの実例を示して複雑系の解析における有用性について解説します。

メタボロミクスの特徴

メタボロミクスは、図1に示すよ

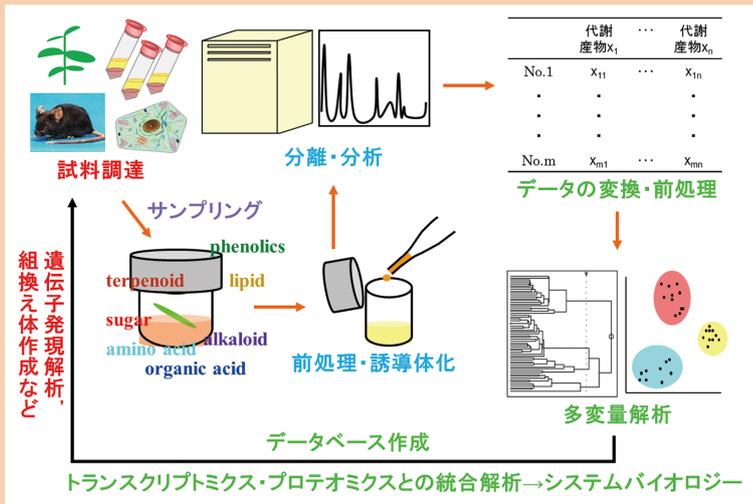


図1 メタボロミクススキーム

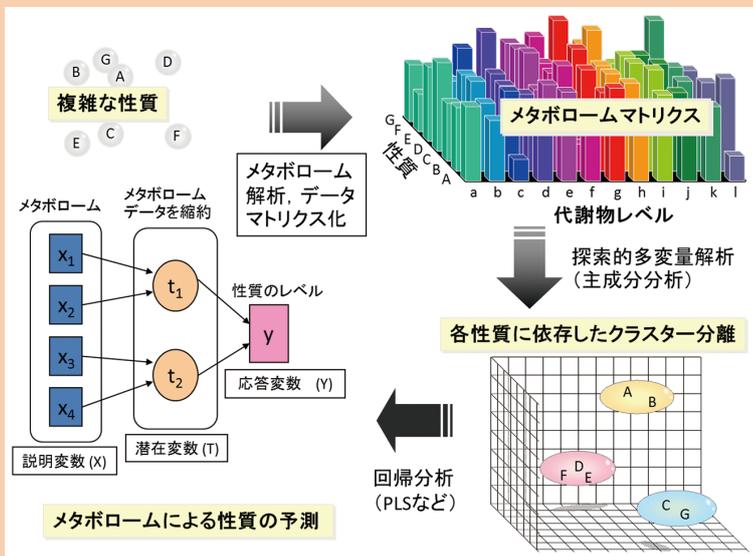


図2 メタボローム解析技術に基づくマルチマーカープロファイリングのコンセプト

うな試料調製、機器分析、データ解析の行程が進められ、得られた結果をもとに再度試料を調製して何度か同じサイクルを繰り返して解析を行います。

最近ではそれぞれの行程における手法が構築されており、主要な代謝経路の構成化合物を対象とした代謝物の変動解析（成分の増減）やその結果をもとにした特徴的な代謝物探索が各種の生物において積極的に進

められています。我々のグループでは、多数の代謝物の量比のバランスによって性質の違いを詳細に表現できることがメタボロミクスの最大の利点であると考え、代謝物（化合物）のノンターゲット分析（観測される成分すべてを対象とする分析法）に基づくマルチマーカープロファイリング（図2）の有用性に着目し、見た目には現れない微細な生体内変動の解析、食品のおいしさな

どの複雑な成分の組み合わせによって表現される性質の解析などにおいて、メタボロミクス（メタボローム解析）の技術に基づいたマルチマーカープロファイリングが有用であると考えました。各種生物の表現型解析はもちろん、官能試験が主である食品、生薬などの品質評価にも適用が可能であり、メタボロミクス技術の新たな運用方法として注目されています。我々のグループでは、メタ

メタボロミクスの実例 （緑茶の品質評価への応用）

食品の「おいしさ」は、一つの成分で表現できるものではなく、多くの成分が複雑に絡み合って形成されています。そのため、おいしさに関する二次機能（感覚・嗜好）解析についてはこれまでの一般的な成分分析では対応が難しく、科学的な成分分析があまり進んでいないのが現状です。我々のグループでは、多成分の複合解析が必要な食品の二次機能解析におけるマルチマーカープロファイリングの有用性にいち早く注目し、メタボローム解析手法の適用技術の開発について積極的に取り組んでいます。今回は緑茶の品質評価におけるメタボロミクスの適用例について紹介しましょう。

まず、糖、アミノ酸、有機酸などの親水性低分子成分の一斉解析が可能な分析装置（GC/MS）を用いて分析を行いました。緑茶サンプルを混合溶媒（メタノール/水/クロロホルム 2.5/1/1）で抽出し、水を添加することで分離する水層画分（水-メタノール層）を濃縮乾固した後に誘導体としてGC

／MS分析しました。実際に得られるデータは300に近い多数の成分のピークが混在するクロマトグラムになり、見た目ではサンプルごとの違いを判別することは困難です。そこで、それぞれのピークの溶出時間と強度がそれぞれのサンプルごとに示された二次元のデータを作成し、主成分分析やPLS (Projection to Latent Structures) などの多変量解析を行いました。

まず、主成分分析における高級茶と低級茶の比較解析を行ったところ、スコアプロット(図3左側)において、第一主成分においてクラスター分離が認められ、ローディングプロット(図3右側)では、分離に寄与する成分が確認できました。高級茶に多く含まれる成分(図3右側上:黄色)として、テアニン、キナ酸、アラビノース、リボースなどが、低級茶に多く含まれる成分(図3右側下:橙色)として、フルクトース、マンノース、スクロースなどが明らかにりました。

次に、緑茶品評会において官能評価を受けた53種の緑茶製品のサンプルを用いて同様にGC/MSによる分析を行い、さらに、回帰分析の手

法であるPLSを用いて品評会得点によるランキング結果をもとにした品質予測モデルの構築を試みました。緑茶品評会では熟練の官能試験者によって、滋味、香气、水色、外觀のそれぞれが得点として算出されます(図4)。PLSによる解析の結果、図5に示すように、縦軸の実際のランキングに対して、横軸の予測値が対角線上に並ぶ予測モデルが構築できました²⁾。さらに、このモデルの構築に寄与の高い成分を調べたところ、図6に示す成分が明らかにりました²⁾。これらの成分が緑茶のランキング、すなわち品質にかかわる重要成分であると言うことができます。先の図2の応答変数(Y)として官能評価の得点(ランキング)を用いることにより、多成分の中から官能評価と相関の高い成分の特定ならびにそれらの成分バランスに関する情報についても取得可能になりました。多成分が複雑に作用し合う食品の二次機能解析におけるメタボロミクス技術の有用性が示されることになりました。

同様の官能評価とメタボロームのプロファイルとの相関解析については、スイカ³⁾やチーズ⁴⁾、醤油⁵⁾、

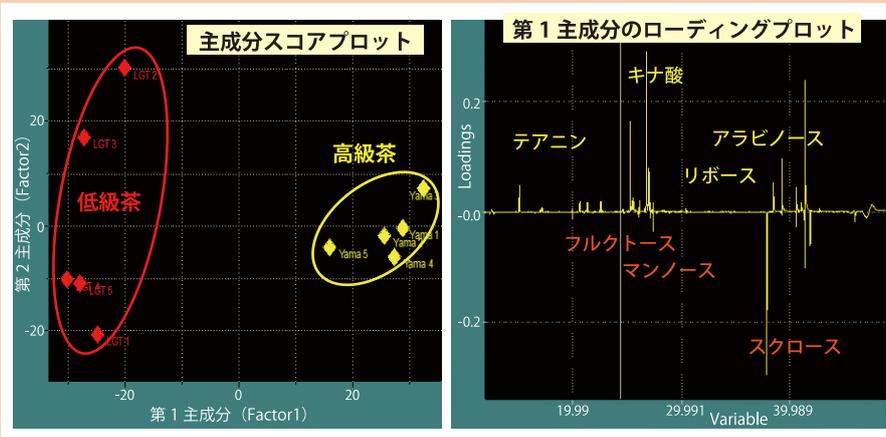


図3 緑茶 GC/MS 分析データの主成分分析

日本酒⁶⁾その他多くの食品について利用可能であることを確認しています。また、食品と同様に評価が難しい生薬についても同様に用いることができ、トウキ⁷⁾、センキュウ、シヤクヤクなどの品質評価における有用性についても示されています。このように、上記緑茶のランキングにあ



図4 緑茶品評会における官能評価

たる解析目的に関連する応答変数を準備することによって、多成分の中から重要な成分やその量比バランスを見つけ出すことができます。例えば、農産物の生育に対する指標、土壌評価指標などこれまで蓄積されてきた様々なものと成分との相関解析を行うことによって、これまで見え



てこなかった関係が明らかにできる可能性があるので。これがまさに本稿において皆様には是非ご理解いただきたいメタボロミクスの有用性なのです。

おわりに

メタボロミクスが、多成分が関与する複雑系の解析に使えるようなこと
はご理解いただけただけではないかと思
います。中にはGC/MSのよ
うな高価な装置がない
と実施できないと心配
されている方もおられ
るかもしれませんが。し
かし実際には、メタボ
ロミクスはGC/MS
以外の様々な分析装置
を用いて行うことがで
きるのです。水素炎イ
オン化検出器(FID)
のGCや紫外吸収検出
器の高速液体クロマト
グラフィ等でも十分
成分プロファイルを取
ることは可能です。例
えば、米の食味評価に
は近赤外分光計が用い
られていますが、これ

も立派なメタボロミクスなのです。
メタボロミクスは代謝物、化合物
を対象としたものですが、DNAを
対象としたゲノミクスやタンパク質
を対象としたプロテオミクスなどに
おいても同様で、多成分が関与する
複雑系の解析に有用です。技術は
日々進歩しており少し前まで全くで
きなかつたことが突如できるよう
なる時代です。これまであきらめて
いた科学的な解析がどんどん可能に

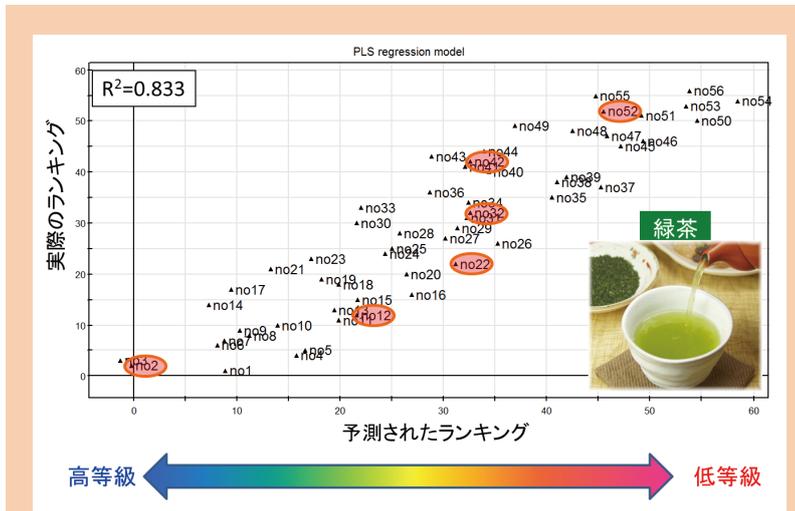


図5 緑茶緑茶官能評価予測モデル

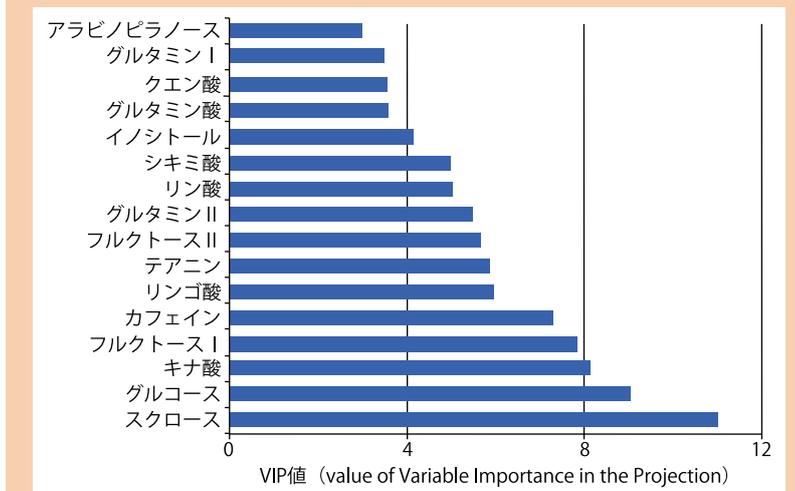


図6 緑茶官能評価予測モデルにおいて寄与の大きい代表的な化合物

なってきたいます。自然農法の複雑
系の解析が簡単ではないことはもち
ろん重々承知してはいますが、自然農
法がさらなる普及、発展をしていく
ために、新しい技術を積極的に取り
入れることによって科学的なエビデ
ンスを蓄積することが必要です。多
くの研究者がオミクス等の最新技術
を用いて自然農法のメカニズムの科
学的な解析に取り組みようになれ
ば、そのデータをもとにして自然農

法のさらなる効果的な運用が可能に
なるでしょう。今後の自然農法の科
学的な解析の進展に期待します。

参考文献

- 1) 福崎英一郎, 馬場健史:メタボロミクス(代謝物総体解析)の原理と食品工学への応用, FFI ジャーナル, 212 巻, 5 号, 380-388 (2007).
- 2) Pongsuwan, W. et al., Prediction of Japanese green tea ranking by gas chromatography/mass spectrometry-based hydrophilic metabolite fingerprinting. J. Agric. Food Chem., 55(2), 231-236 (2007).
- 3) Tarachiwin, L. et al., Quality evaluation and prediction of Citrullus lanatus by 1H NMR-based metabolomics and multivariate analysis. J. Agric. Food Chem., 56(14), 5827-5835 (2008).
- 4) Ochi, H. et al., Metabolomics-based component profiling of hard and semi-hard natural cheeses with gas chromatography/time-of-flight-mass spectrometry, and its application to sensory predictive modeling. J. Biosci. Bioeng., 113(6), 751-758 (2012).
- 5) Yamamoto, S. et al., Metabolite profiling of soy sauce using gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry and analysis of correlation with quantitative descriptive analysis. J. Biosci. Bioeng., 114(2), 170-175 (2012).
- 6) Mimura, N. et al., Gas chromatography/mass spectrometry based component profiling and quality prediction for Japanese sake. J. Biosci. Bioeng., 118(4), 406-414 (2014).
- 7) Tianniam, S. et al., Metabolic profiling of Angelica acutiloba roots utilizing gas chromatography-time-of-flight-mass spectrometry for quality assessment based on cultivation area and cultivar via multivariate pattern recognition. J. Biosci. Bioeng., 105(6), 655-659 (2008).
- 8) Ikeda, T. et al., Prediction of Japanese green tea ranking by fourier transform near-infrared reflectance spectroscopy. J. Agric. Food Chem., 55(24), 9908-9912 (2007).