

環境資源科学研究センター 技術支援

「LC-QTOF-MS を用いたメタボローム解析」支援について (ver.1.0)

理化学研究所

環境資源科学研究センター

統合メタボロミクス研究グループ

主旨

理化学研究所環境資源科学研究センターは、研究技術支援の1つとして、「LC-QTOF-MS を用いたメタボローム解析」を共同研究として実施させていただきます。以下の注意点をよくお読みいただいたうえで担当者までお問い合わせください。

対象代謝物

二次代謝産物

- フェニルプロパノイド（桂皮酸類、リグナンなど）
- フラボノイド（フラボノール、アントシアニン、プロアントシアニジン、C-フラボンなど）
- サポニン
- フェノールアミド
- アルカロイド

使用機器

液体クロマトグラフィー-フォトダイオードアレイ-飛行時間型-質量分析（LC-PDA-QTOF-MS）装置

LC部 Acquity UPLC (Waters)

PDA部 Acquity PDA eλ (Waters)

MS部 Xevo G2 QToF (Waters)

必要なもの

消耗品

- 2 ml チューブ（SARSTEDT Safe-seal micro tube 2mL, PP for extraction）
- ジルコニアビーズ（アズワン 5-4060-13 ジルコニアボール（φ 5mm）YTZ-5）

支援技術

- ① 非ターゲット分析
多変量解析（PCA など）によるサンプルの比較解析
化学的情報（精密質量、組成式、構造名）の付与
- ③ ターゲット分析

フラボノイドをターゲットとしたサンプルの比較解析
化学的情報（精密質量、組成式、構造名）の付与

研究支援の流れ

- ① 研究支援の事前連絡（貴研究室 → 当グループ担当者）
- ② 事前打ち合わせ（目的、対象、サンプル数、納期の確認など）
- ③ 利用申請書提出（貴研究室 → 当グループ、事務局）
- ④ 共同研究開始
- ⑤ 植物サンプルの授受における確認書の作成（必須）
- ⑥ 植物サンプルの授受における確認書、予備実験サンプル、本番サンプル、サンプルシートの提供（貴研究室 → 当グループ担当者）
- ⑦ 測定結果（当グループ担当者 → 貴研究室）
- ⑧ 結果の解釈（貴研究室→当グループ）
- ⑨ データの解釈のフィードバック
- ⑩ 論文化の相談

サンプルの送付

- ① 手順の確認

参考動画

Annotation of Plant Gene Function via Combined Genomics, Metabolomics and Informatics

Takayuki Tohge and Alisdair R. Fernie

Max-Planck-Institut Molekulare Pflanzenphysiologie

J Vis Exp. 64, e3487 (2012) , doi: 10.3791/3487

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3476379/>

- ② サンプルリング

ジルコニアビーズ入り 2 ml チューブに必要量（20-100 mg fresh weight / 2-20 mg dry weight）

サンプルリング（反復は 3-6）

- ③ サンプルシートの作成（下記参照のこと）

例)

Tube No.	Name	replicate	weight (mg)
1	Col+0	1	70.1
2		2	56.6
3		3	61.3
4		4	80.4
5		5	45.1
6		6	66.9
7	Mutant1-1	1
8		2
9		3
10		4
11	Mutant1-2	5
12		6
13		1
14		2
15		3
16		4
17		5
18		6

④ 植物サンプルの授受における確認書の作成

⑤ 送付

発泡スチロール箱に十分な量のドライアイスを入れてクール便で送付（乾燥体のものは通常便）

時間指定：正午前後

サンプルシートは別途メールにて中林にお送りください。

〒230-0045 横浜市鶴見区末広町 1-7-22

理化学研究所環境資源科学研究センター 中央棟 7階 C719

統合メタボロミクス研究グループ 中林 亮 宛

納期

納期は、出来るだけ対応させていただきますが、機器の予約状況によって異なりますので、ご理解いただいたうえでご利用下さい。

お断りする分析依頼

- 極性溶媒と逆相カラムを用いた分析となりますので、その範疇ではない代謝物の分析
- 物理的に抽出が出来ないサンプルの分析
- サンプル数が多い分析（100 以上）
- 明確な研究目的が無いサンプル分析

費用負担

指定のチューブとビーズはご購入くださいますようお願いいたします。

送付にかかる費用はご負担ください。

共著のお願い

解析結果を用いた発表をする場合（学会発表，論文）は、下記関係者を共著者としていただきますようお願い致します。

中林 亮¹，森 哲哉¹，斉藤 和季^{1,2}

1 理研 CSRS

2 千葉大大学院薬学研究院

実績

原著

1. Felipe Rojas Rodas, Shaokang Di, Yoshinori Murai, Tsukasa Iwashina, Satoko Sugawara, Tetsuya Mori, Ryo Nakabayashi, Keiko Yonekura-Sakakibara, Kazuki Saito, Ryoji Takahashi

- Cloning and characterization of soybean gene Fg1 encoding flavonol 3-O-glucoside/galactoside (1→6) glucosyltransferase.
Plant Mol. Biol., in press.
2. Zhigang Yang*, Ryo Nakabayashi*, Tetsuya Mori, Satoshi, Susumu, Kitanaka, Kazuki Saito
* equal contribution
Metabolome Analysis of *Oryza sativa* (Rice) Using Liquid Chromatography-Mass Spectrometry for Characterizing Organ Specificity of Flavonoids with Anti-inflammatory and Anti-oxidant Activity.
Chem. Pharm. Bull., 64, 952-956 (2016)
3. Toshiyuki Nakagawa, Masanori Itoh, Kazunori Ohta, Yuichi Hayashi, Miki Hayakawa, Yasushi Yamada, Hiroshi Akanabe, Tokio Chikaishi, Kiyomi Nakagawa, Yoshinori Itoh, Takato Muro, Daisuke Yanagida, Ryo Nakabayashi, Tetsuya Mori, Kazuki Saito, Kaori, Ohzawa, Chihiro Suzuki, Shimo Li, Masashi Ueda, Miao-xing Wang, Emika Nishida, Saiful Islam, Tana, Masuko Kobori, Takashi Inuzuka
Improvement of memory recall by quercetin in rodent contextual fear conditioning and human early-stage Alzheimer's disease patients.
Neuroreport, 27, 671-676 (2016)
4. Chonprakun Thagun, Shunsuke Imanishi, Toru Kudo, Ryo Nakabayashi, Kiyoshi Ohyama, Tetsuya Mori, Koichi Kawamoto, Yukino Nakamura, Minami Katayama, Satoko Nonaka, Chiaki Matsukura, Kentaro Yano, Hiroshi Ezura, Kazuki Saito, Takashi Hashimoto and Tsubasa Shoji
Jasmonate-Responsive ERF Transcription Factors Regulate Steroidal Glycoalkaloid Biosynthesis in Tomato.
Plant Cell Physiol., 57, 961-975 (2016)
5. Arati N. Poudel, Tong Zhang, Misha Kwasniewski, Ryo Nakabayashi, Kazuki Saito, Abraham J. Koo
Mutations in jasmonoyl-L-isoleucine-12-hydroxylases suppress multiple JA-dependent wound responses in *Arabidopsis thaliana*.
Biochim. Biophys. Acta., 1861, 1396-1408 (2016)
6. Nuoendagula, Naofumi Kamimura, Tetsuya Mori, Ryo Nakabayashi, Yukiko Tsuji, Shojiro Hishiyama, Kazuki Saito, Eiji Masai, Shinya Kajita
Expression and functional analyses of a putative phenylcoumaran benzylic ether reductase in *Arabidopsis thaliana*.
Plant Cell Rep., 35, 513-526 (2016)
7. Yuko Ogo, Tetsuya Mori, Ryo Nakabayashi, Kazuki Saito and Fumio Takaiwa
Transgenic rice seed expressing flavonoid biosynthetic genes accumulate glycosylated and/or acylated flavonoids in protein bodies.

- J. Exp. Bot.*, 2016, 67, 95-106.
8. Mostafa Abdelrahman, Yuji Sawada, Ryo Nakabayashi, Shusei Sato, Hideki Hirakawa, Magdi El-Sayed, Masami Yokota Hirai, Kazuki Saito, Naoki Yamauchi, Masayoshi Shigyo
Integrating transcriptome and target metabolome variability in doubled haploids of *Allium cepa* for abiotic stress protection.
Mol. Breeding, in press.
 9. Akira Oikawa, Takao Ohtsuka, Ryo Nakabayashi, Yusuke Jikumaru, Kanji Isuzugawa, Hideki Maruyama, Kazuki Saito, Katsuhiko Shiratake
Metabolic Profiling of Developing Pear Fruits Reveals Dynamic Variation in Primary and Secondary Metabolites, Including Plant Hormones.
PLoS One, 10, e0131408 (2015)
 10. Shaokang Di, Fan Yan, Felipe Rojas Rodas, Tito O Rodriguez, Yoshinori Murai, Tsukasa Iwashina, Satoko Sugawara, Tetsuya Mori, Ryo Nakabayashi, Keiko Yonekura-Sakakibara, Kazuki Saito, Ryoji Takahashi
Linkage mapping, molecular cloning and functional analysis of soybean gene Fg3 encoding flavonol 3-O-glucoside/galactoside (1 → 2) glucosyltransferase.
BMC Plant Biol., 15, 126 (2015)
 11. Mami Suzuki, Ryo Nakabayashi, Yoshiyuki Ogata, Nozomu Sakurai, Toshiaki Tokimatsu, Susumu Goto, Makoto Suzuki, Michal Jasinski, Enrico Martinoia, Shungo Otagaki, Shogo Matsumoto, Kazuki Saito, Katsuhiko Shiratake
Multi omics in grape berry skin revealed specific induction of stilbene synthetic pathway by UV-C irradiation.
Plant Physiol., 168, 47-59 (2015)
 12. Ryo Nakabayashi, Tetsuya Mori, Kazuki Saito
Alternation of flavonoid accumulation under drought stress in *Arabidopsis thaliana*.
Plant Signal. Behav., e29518 (2014)
 13. Keiko Yonekura-Sakakibara*, Ryo Nakabayashi*, Satoko Sugawara, Takayuki Tohge, Takuya Ito, Misuzu Koyanagi, Mariko Kitajima, Hiromitsu Takayama and Kazuki Saito
* equal contribution
A flavonoid 3-O-glucoside:2"-O-glucosyltransferase responsible for terminal modification of pollen-specific flavonols in *Arabidopsis thaliana*.
Plant J., 79, 769-782 (2014)
 14. Masayuki Tamura, Yukiko Tsuji, Tatsuya Kusunose, Atsushi Okazawa, Naofumi Kamimura, Tetsuya Mori, Ryo Nakabayashi, Shojiro Hishiyama, Yuki Fukuhara, Hirofumi Hara, Kanna Sato-Izawa, Toshiya Muranaka, Kazuki Saito, Yoshihiro Katayama, Masao Fukuda, Eiji Masai, Shinya Kajita

- Successful expression of a novel bacterial gene for pinorensinol reductase and its effect on lignan biosynthesis in transgenic *Arabidopsis thaliana*.
Appl. Microbiol. Biotechnol., 98, 8165-8177 (2014)
15. Zhigang Yang, Ryo Nakabayashi, Yozo Okazaki, Tetsuya Mori, Satoshi Takamatsu, Susumu Kitanaka, Jun Kikuchi, Kazuki Saito
Toward better annotation in plant metabolomics: Isolation and structure elucidation of 36 specialized metabolites from *Oryza sativa* (rice) by using MS/MS and NMR analyses.
Metabolomics, 10, 543-555 (2014)
16. Ryo Nakabayashi, Keiko Yonekura-Sakakibara, Kaoru Urano, Makoto Suzuki, Yutaka Yamada, Tomoko Nishizawa, Fumio Matsuda, Mikiko Kojima, Hitoshi Sakakibara, Kazuo Shinozaki, Takayuki Tohge, Mami Yamazaki, Kazuki Saito
Enhancement of oxidative and drought tolerance in *Arabidopsis* by overaccumulation of antioxidant flavonoids.
Plant J., 77, 367-379 (2014)
17. Jasmina Kurepa, Ryo Nakabayashi, Tatjana Paunesku, Makoto Suzuki, Kazuki Saito, Gayle E. Woloschak and Jan A. Smalle
Direct isolation of flavonoids from plants using ultra-small anatase TiO₂ nanoparticles.
Plant J., 77, :443-453 (2014)
18. Felipe Rojas Rodas, Tito O. Rodriguez, Yoshinori Murai, Tsukasa Iwashina, Satoko Sugawara, Makoto Suzuki, Ryo Nakabayashi, Keiko Yonekura-Sakakibara, Kazuki Saito, Junichi Kitajima, Kyoko Toda, Ryoji Takahashi
Linkage mapping, molecular cloning and functional analysis of soybean gene Fg2 encoding flavonol 3-O-glucoside (1 → 6) rhamnosyltransferase.
Plant Mol. Biol., 84, 287-300 (2014)
19. Mami Suzuki, Michal Jasinski, Enrico Martinoia, Ryo Nakabayashi, Makoto Suzuki, Kazuki Saito, Katsuhiko Shiratake
Molecular cloning and characterization of ABCG/PDRtype ABC transporter in grape berry skin.
Adv. Hort. Sci., 28, (2014)
20. Junji Kimbara, Miho Yoshida, Hirotaka Ito, Mamiko Kitagawa, Wataru Takada, Kayoko Hayashi, Yusuke Shibutani, Miyako Kusano, Yozo Okazaki, Ryo Nakabayashi, Tetsuya Mori, Kazuki Saito, Tohru Ariizumi and Hiroshi Ezura
Inhibition of CUTIN DEFICIENT 2 Causes Defects in Cuticle Function and Structure and Metabolite Changes in Tomato Fruit.
Plant Cell Physiol., 54,1535-1548 (2013)
21. Hiroaki Saika, Akira Oikawa, Ryo Nakabayashi, Fumio Matsuda, Kazuki Saito, Seiichi Toki
Changes in Primary and Secondary Metabolite Levels in Response to Gene Targeting-Mediated

Site-Directed Mutagenesis of the Anthranilate Synthase Gene in Rice.

Metabolites, 2, 1123-1138 (2012)

22. Keiko Yonekura-Sakakibara, Atsushi Fukushima, Ryo Nakabayashi, Kousuke Hanada, Fumio Matsuda, Satoko Sugawara, Eri Inoue, Takashi Kuromori, Takuya Ito, Kazuo Shinozaki, Bunyapa Wangwattana, Mami Yamazaki, and Kazuki Saito

Two Glycosyltransferases Involved in Anthocyanin Modification Delineated by Transcriptome Independent Component Analysis in *Arabidopsis thaliana*.

Plant J., 69, 154-167 (2012)

23. Akira Oikawa, Takeo Otsuka, Yusuke Jikumaru, Shinjiro Yamaguchi, Fumio Matsuda, Ryo Nakabayashi, Tadashi Takashina, Kanji Isuzugawa, Kazuki Saito, Katsuhiko Shiratake

Effects of freeze-drying of samples on metabolite levels in metabolome analyses.

J. Sep. Sci., 34, 3561-3567 (2011)

総説

1. Ryo Nakabayashi and Kazuki Saito

Integrated metabolomics for abiotic stress responses in plants.

Curr. Opin. Plant Biol., 24, 10-16 (2015)

連絡先

中林 亮 (ryo.nakabayashi_at_riken.jp) 統合メタボロミクス研究グループ 研究員

斉藤 和季 (kazuki.saito_at_riken.jp) 統合メタボロミクス研究グループ グループディレクター

_at_を@に置き換えて下さい。