

ゲノム比較と系統的相互作用解析に基づく遺伝子・分子ネットワークの解明

I 試験研究の全体計画

1. 研究の趣旨

急速な勢いで増加しつつある各生物種の全ゲノム配列情報は、生命システムの全体像を明らかにするための出発点である。しかしながら、ゲノムに書かれた全遺伝子の情報は、あくまで生命システムを構成する部品の一覧表であり、部品をどのように組み合わせるとシステムを再構築できるのかは、少なくとも現在の情報処理技術では解読することができない。一方、これまでに決定されたすべてのゲノムにおいて、全体の $\frac{1}{2}$ から半分以上の遺伝子の機能について手がかりを得ることができない現状では、システムティックに機能を解明する方法論の開発が緊急課題となっている。

このような背景の下に、本研究では、ゲノムシーケンシングが明らかにする全遺伝子のデータ（生命システムの部品のカタログの情報）と、マイクロアレイ等の実験による遺伝子間の相互作用データ（部品間のつながりの情報）を、新しい情報処理技術で融合することにより、ゲノムから生命システムを再構築する方法論を確立する。とくに、酵母、らん藻、枯草菌、線虫等の生物種でマイクロアレイによる発現プロフィール解析を行い、その背後にある遺伝子間相互作用データをもとに、また酵母については2ハイブリッドシステムによるタンパク質間相互作用データをも加え、遺伝子・分子ネットワークを明らかにする。これらの解析を通じて、生命システムの情報構築原理解明を目指し、同時にこれまでに決定されたゲノム中の多数の未知遺伝子について、系統的機能予測を行う。本研究で開発された情報処理技術および実験技術は、ゲノム情報の産業利用にもつながると考えられる。

第I期の目標は、個々の実験技術及び情報処理技術の要素を確立することであり、第II期の目標は、ゲノム配列情報から生命システムを再構築する方法論を確立することである。

2. 研究概要

本研究計画は解明を目指すネットワークの情報構築原理に基づき3つの研究項目で構成する。それぞれについて具体的な研究対象として、転写制御ネットワーク、シグナル伝達ネットワーク、物質変換ネットワークをとりあげるが、これらネットワークはいずれも不可分の関係にあり、また情報構築原理自体も相互に深く関連していると考えられるので、各研究担当者は密接な連携をとって研究計画全体を共同で実施する。とくに、実験データについてはすべての

研究項目で共有して利用し、そのためのデータベースも整備する。

1. ネットワーク階層性の原理解明：転写制御ネットワークに関する研究

ネットワークの制御機構では、しばしば一般的な制御因子によるグローバルな制御と、特異的な制御因子によるローカルな制御が複雑に絡み合っている。このようなネットワークの階層性に関する原理を解明することを目指し、とくに転写制御のネットワークに関して、マイクロアレイの発現プロフィール解析を行う。

(1) 転写因子予測とプロモーター予測に関する研究（大阪大学細胞生体工学センター）

- ・アミノ酸配列からDNA結合部位をもつと予測される遺伝子群を転写因子の候補として選別し、その発現プロフィールの解析から制御関係と制御単位を同定し、さらにDNA上で転写因子を認識するプロモーター領域を同定する情報処理技術を開発する。

- ・3年間の達成目標として、上記情報処理技術の開発と実用化を行い、シグマ因子を始め様々な転写因子の制御機構に着目して、各生物種の発現プロフィールデータ解析を行う。

- ・その後2年間の達成目標として、より特異的な転写制御因子を探索し、階層的な制御機構の原理を解明する。

(2) 枯草菌の遺伝子間相互作用に関する実験研究（福山大学工学部）

- ・枯草菌の遺伝子発現プロフィールライブラリーを作成する。とくに転写因子の破壊株と過剰発現株のプロフィールを野生株のプロフィールと比較することにより、転写因子の下流遺伝子をシステムティックに同定する。

- ・3年間の達成目標として、バクテリアでのマイクロアレイ関連技術（RNA精製等）を確立し、枯草菌における転写制御ネットワークの全体像を明らかにする。

- ・その後2年間の達成目標として、転写制御ネットワークと物質変換ネットワークとの関連を明らかにする。

(3) 線虫の遺伝子間相互作用に関する実験研究（文部省国立遺伝学研究所）

- ・線虫の遺伝子発現プロフィールライブラリーを作成する。とくに転写因子の破壊株と過剰発現株のプロフィールを野生株のプロフィールと比較することにより、転写因子の下流遺伝子をシステムティックに同定する。

- ・3年間の達成目標として、初期胚の発生に関与する転写制御ネットワークの全体像を明らかにする。

- ・その後2年間の達成目標として、後期胚の発生に関与す

る転写制御ネットワークの全体像を明らかにする。

2. ネットワーク共通性と多様性の原理解明：シグナル伝達ネットワークに関する研究

多様なネットワーク入力部分と多様な出力部分が共通のMAPキナーゼカスケードで結ばれたシグナル伝達ネットワークのように、共通性と多様性はネットワークの特徴の1つである。これがゲノムのどのような情報構築原理で実現されているのかを解明することを目指し、とくに酵母のシグナル伝達ネットワークについて、タンパク質間相互作用（2ハイブリッド）と遺伝子間相互作用（マイクロアレイ）を統合した解析を行う。

(1) 最適なネットワークを演繹的に再構築する情報処理技術に関する研究（東京大学医科学研究所）

・直接二項関係（タンパク質間相互作用）、間接二項関係（遺伝子間相互作用）、階層関係等、様々な二項関係を演繹データベース化し、最適なネットワークを演繹する情報処理技術を開発する。その際、ネットワークが満たすべき制約を以下の(2)、(3)、(4)のチームから出てくる情報や解析結果をもとに抽出する。

・3年間の達成目標として、矛盾を含む二項関係データから最適なネットワークを再構築する技術を確立する。その際、酵母のシグナル伝達ネットワークに関連した遺伝子群を当面の対象にして情報処理技術を開発する。

・その後2年間の達成目標として、他の生物種との比較解析から、ネットワークの共通性、多様性、階層性の原理を解明する。

(2) 酵母のネットワーク関連遺伝子群に関する研究（東京大学医科学研究所）

・多数の発現プロフィールパターンの中から、相関して変化する遺伝子群のクラスターを発見するデータマイニング技術を開発し、ネットワークの中での遺伝子発現制御単位の同定を行う。また、システムティックにネットワークを同定することに必要な情報を得るための遺伝子破壊及び遺伝子強制発現の戦略的実験法を開発する。

・3年間の達成目標として、データマイニングと戦略的実験法によるネットワーク解析のための基礎技術を開発し、酵母のシグナル伝達ネットワークに関連した遺伝子群を探索する。

・その後2年間の達成目標として、他の生物種との比較解析から、発見された制御単位の存在する共通性、多様性、階層性の原理を解明する。

(3) 酵母の遺伝子間相互作用に関する実験研究（九州大学生物資源環境科学研究科）

・酵母の6000個の遺伝子を対象としてシステムティックなマイクロアレイ解析を行い、遺伝子の発現プロフィールライブラリーを作成する。特に環境変化による遺伝子誘導の時間変化と、遺伝子破壊及び過剰発現による変化を、間接相互作用としてライブラリー化する。さらに、上記の直

接相互作用（タンパク質間相互作用）及び計算機科学のデータ処理を組み合わせることにより、総合的なネットワーク再構成を試みる。

・3年間の達成目標として、基本的な遺伝子発現プロフィールのライブラリー化を行い、基本ネットワークを構成する遺伝子群を同定し、そのネットワークの再構成を試みる。

・その後2年間の達成目標として、より複雑なネットワーク部分に対して、計算機システムと実験を組み合わせ、再構成を試みる。

(4) 酵母のタンパク質間相互作用に関する実験研究（金沢大学がん研究所）

・酵母の全ORFを2ハイブリッドベクター上にクローン化した酵母株を作製し、相互作用するタンパク質のペアを網羅的に解析する。また特にシグナル伝達に関連するドメインを持つ遺伝子に関しては、より詳細なスクリーニングを行う。

・3年間の達成目標としては、既存のデータも統合して酵母におけるタンパク質間相互作用のライブラリーを作成する。

・その後2年間の達成目標として、相互作用ドメイン／モチーフの抽出、およびそれらへの変異導入による相互作用の生物学的意義付けを行う。

(5) タンパク質のリン酸化ネットワークに関する実験研究（藤田保健衛生大学総合医化学研究所）

・タンパク質の二次元電気泳動と超高度質量分析法を用い、シグナル伝達においてもっとも重要なタンパク質リン酸化の系統的な解析を行う。

・3年間の達成目標としては、細胞内リン酸化ネットワーク解析に必要な大量の試料を迅速に解析するシステムの開発とその実用化を行う。

・その後2年間の達成目標として、酵母のタンパク質の網羅的解析を行い、とくに細胞周期によるタンパク質リン酸化の変化を追うことで、リン酸化ネットワークの全体像を明らかにする。

3. 遺伝情報と物質情報との関連に係る原理の解明：物質変換ネットワークに関する研究

生命を情報のネットワークとして眺めると、そこには遺伝情報の流れだけでなく物質情報の流れも存在する。物質が生体内でどのように変化していくかは、物質が内面的にもっている化学反応性を反映しており、反応のネットワークと酵素（遺伝子産物）のネットワークは深く関連している。これを遺伝情報と物質情報の二面性と呼ぶことにし、その原理を解明することを目指して、マイクロアレイの発現プロフィール解析を行う。

(1) ネットワーク再構築に関する情報科学研究及び実験研究（京都大学化学研究所）

・酵素のネットワーク（代謝系）については、とくに中間代謝の部分は比較的よく理解されているが、その制御機構

については未知の部分が多いので、発現プロフィールのデータ解析により制御単位を同定する情報処理技術を確立する。また、物質のつながり（基質-生成物）の情報と発現プロフィール解析による遺伝子間のつながりの情報を重ね合わせて、未知の酵素反応経路を明らかにする情報処理技術を開発する。

・3年間の達成目標として、酵母、らん藻、枯草菌等で、遺伝子誘導の時間変化や特定遺伝子の破壊または過剰発現による他遺伝子の発現変化を解析することにより、既知の経路の上での制御機構を明らかにする。また、らん藻は他のバクテリアと比較してオペロン構造が大きく壊れているので、プロフィール解析を通じて制御単位あるいは機能単位を明らかにし、未知遺伝子の機能予測を行う。

・その後2年間の達成目標として、二次代謝の部分も含めて未知の反応経路を明らかにし、物質変換ネットワークの全体像を解明する。また、異なる生物種の比較解析から、生命の進化の過程で物質情報と遺伝情報がどのような関連してきたかの解析を行う。

(2) 発現プロフィール解析の代謝・排出への応用研究（グラクソ・ウエルカム(株)筑波研究所）

・薬物や様々な環境物質存在下での遺伝子発現プロフィール変化から、微生物による二次的な代謝経路（環境物質の分解経路等）を解析する。

・3年間の達成目標として、上記の解析のための情報処理技術を確立する。

・その後2年間の達成目標として、環境物質存在による遺伝子誘導と物質変換のルールを明らかにする。

4. 遺伝子・分子ネットワーク解明のための基盤技術開発

本研究計画では、全ゲノム及び全遺伝子の配列データと、マイクロアレイを用いた全遺伝子の発現データを統合的に解析する。そのための共通基盤として、マイクロアレイに関する技術を確立し、また配列データとの統合解析が可能になるよう、発現データのデータベース化を行う。

(1) マイクロアレイの解析技術開発に関する研究（宝酒造

(株)バイオ研究所)

・マイクロアレイ作製技術を改良し、その大量安定供給システムを確立する。また、読み取りデータの情報処理に関する解析技術を開発する。

・3年間の達成目標として、酵母等をモデルにマイクロアレイ作製と読み取りの大量安定供給システムを完成する。

・その後2年間の達成目標として、読み取りデータの情報処理技術を完成する。

(2) 発現パターン情報のデータベース化（日本SGI(株)）

・マイクロアレイによる発現プロフィールのデータベース化を行い、本研究グループ内でのデータ共有を可能とすると同時に、国際的なゲノム科学研究推進のために広く一般に公開する。

・3年間の達成目標として、発現プロフィールデータベースの運用を軌道にのせ、プロフィールのパターンマッチングによる検索機能を提供する。

・その後2年間の達成目標として、本研究で開発されたプロフィール解析技術をソフトウェア化して提供する。

3. 年次計画

本プロジェクトでは、ゲノムにある全遺伝子のカタログから生命システムの配線図に相当する遺伝子・分子ネットワークを再構築する情報処理技術を開発し、マイクロアレイによる発現プロフィールを中心とした系統的实验を行って、ネットワーク情報構築の原理を明らかにすると同時に、多数の未知遺伝子の機能について系統的予測を行うことを目標とする。

第I期では、ネットワーク再構築の情報処理技術とRNA精製等マイクロアレイ関連の実験技術を確立し、酵母、らん藻、枯草菌、線虫等の生物種で実際の解析を行う。

第II期では、他の生物種も含めた比較解析を通じて、ゲノムから生命システムへの情報構築原理を明らかにする。また、未知遺伝子の系統的機能予測やゲノム情報の産業利用など、本研究で開発した技術の実用化と普及を行う。

研究項目	10年度	11年度	12年度	13年度	14年度
1. ネットワーク階層性の原理解明： 転写制御ネットワークに関する研究					
(1) 転写因子予測とプロモーター予測に関する研究	転写制御ネットワークの情報解析		情報構築原理の解明		
(2) 枯草菌の遺伝子間相互作用に関する実験研究	マイクロアレイ準備	転写ネットワークの系統的解析	物質変換ネットワークの関連解析		
(3) 線虫の遺伝子間相互作用に関する実験研究	マイクロアレイ準備	初期胚発生ネットワークの解析	後期胚発生ネットワークの解析		
2. ネットワーク共通性と多様性の原理解明： シグナル伝達ネットワークに関する研究					
(1) 最適なネットワークを演繹的に再構築する情報処理技術に関する研究	シグナル伝達ネットワークの情報解析		情報構築原理の解明		
(2) 酵母のネットワーク関連遺伝子群に関する研究	シグナル伝達ネットワークの情報解析		情報構築原理の解明		
(3) 酵母の遺伝子間相互作用に関する実験研究	マイクロアレイ準備	シグナル伝達ネットワークの系統的解析	情報構築原理の解明		
(4) 酵母のタンパク質間相互作用に関する実験研究	シグナル伝達ネットワークの系統的解析		情報構築原理の解明		
(5) タンパク質のリン酸化ネットワークに関する実験研究			シグナル伝達ネットワークの系統的解析	情報構築原理の解明	
3. 遺伝情報と物質情報との関連に係る原理解明： 物質変換ネットワークに関する研究					
(1) ネットワーク再構築に関する情報科学研究及び実験研究	物質変換ネットワークの系統的解析		情報構築原理の解明		
(2) 発現プロフィール解析の代謝・排出への応用研究	応用研究テーマの調査	物質変換ネットワークの解析	情報構築原理の解明		
4. 遺伝子・分子ネットワーク解明のための基盤技術開発：					
(1) マイクロアレイの解析技術開発に関する研究	マイクロアレイの読み取り技術の開発		画像情報処理技術の開発		
(2) 発現パターン情報のデータベース化	データベースの設計	発現プロフィールデータベースの構築	解析ソフトウェアの開発		
5. 研究管理					
所要経費(合計)	204百万円	260百万円	285百万円		

4. 平成12年度における実施内容と達成目標

1. ネットワーク階層性の原理解明：転写制御ネットワークに関する研究

(1) 転写因子予測とプロモーター予測に関する研究

文献から集積してきた枯草菌のプロモーターデータベースを拡張し、本研究によるマイクロアレイデータに基づき、枯草菌のプロモーター構造についてより詳細な知見を得るための解析を行う。また、酵母やショウジョウバエとの比較検討も行う。

(2) 枯草菌の遺伝子間相互作用に関する実験研究

枯草菌の全遺伝子を対象としたマイクロアレイを作成し、様々な条件下での系統的な実験を行う。とくにターゲット遺伝子としてシグマ因子、カタボライト抑制遺伝子、孢子形成関連遺伝子を取りあげ、発現情報の解析を行う。

(3) 線虫の遺伝子間相互作用に関する実験研究

すでに作成した線虫のマイクロアレイ化を用いて、初期胚の細胞運命決定に関わる遺伝子の下流を明らかにするために、強制発現系を用いて変動遺伝子群を探索する。また、遺伝子発現変動のデータを収集し、データベース化する。

2. ネットワーク共通性と多様性の原理解明：シグナル伝達ネットワークに関する研究

(1) 最適なネットワークを演繹的に再構築する情報処理技術に関する研究

文献や既存データベースから抽出したタンパク質間相互作用のデータを、演繹データベースやプロダクションシステムといった推論系で扱える形にデータベース化する。ネットワーク構築制約をルールその他の形で表現し、酵母のデータに適用してネットワーク再構築を試みる。

(2) 酵母のネットワーク関連遺伝子群に関する研究

遺伝子発現プロフィールからその背後にある遺伝子ネットワークを明らかにするデータマイニング技術の開発を継続し、遺伝子ネットワークの可視化を支援するツールも開発する。これまでに整備した遺伝子ネットワークの情報解析環境を利用し、実際に酵母のマイクロアレイデータの解析を行う。

(3) 酵母の遺伝子間相互作用に関する実験研究

真核モデル生物でのシグナル伝達ネットワークの全貌を明らかにすることを目的とし、酵母の全遺伝子 6,000 個のマイクロアレイを用いたシステムティックな実験を開始

する。また、外的条件の異なる2種類の酵母間での全遺伝子の発現プロフィールから、外的刺激に特異的に変化する遺伝子群を同定する。

(4) 酵母のタンパク質間相互作用に関する研究

酵母のタンパク質間相互作用を網羅的に解析するために、前年度までに作成を終了した2ハイブリッドクローンでの接合スクリーニングを行い、陽性クローンでのダグシーケンシングを行う。これらのデータを、酵母のシグナル伝達における既知の相互作用データと統合して解析する。

(5) タンパク質のリン酸化ネットワークに関する実験研究

一定条件化における酵母および枯草菌の細胞より抽出したタンパク質を二次元電気泳動で分離し、得られるすべてのタンパク質についてそのリン酸化部位を超高感度質量分析法により同定する。これを迅速に解析するシステムを開発する。

3. 遺伝情報と物質情報との関連に係る原理の解明：物質変換ネットワークに関する研究

(1) ネットワーク再構築に関する情報科学研究及び実験研究

環境変化に伴う遺伝子誘導の時間変化を観測したマイクロアレイデータから遺伝子発現制御単位を同定する方法の精密化を行う。らん藻のマイクロアレイデータを、ゲノムの全配列情報やパスウェイ情報と統合して解析し、未知遺伝子の系統的機能予測を行う。

(2) 発現プロフィール解析の代謝・排出への応用研究

微生物による二次的な代謝経路に関連し、薬物や環境化学物質の存在によって変化する遺伝子発現プロフィールデータから、当該物質の代謝や排出等に関わる遺伝子ネットワークを同定するための方法論を確立する。

4. 遺伝子・分子ネットワーク解明のための基盤技術開発

(1) マイクロアレイの解析技術開発に関する研究

マイクロアレイ作製に関連する様々な条件の最適化を行い、効率的なハイブリダイゼーションの方法も確立して、発現解析用マイクロアレイの大量安定供給を行う。また、画像データの情報処理についても最適な方法を確立する。

(2) 発現パターン情報のデータベース化

マイクロアレイによる発現プロフィールのデータベースシステム、入力インターフェース、検索インターフェースの開発を継続し、実用的なシステムとして提供する。

II 平成12年度における実施体制

研究項目	担当機関	研究担当者
1. ネットワーク階層性の原理解明： 転写制御ネットワークに関する研究		
(1) 転写因子予測とプロモーター予測に関する研究	東京大学医科学研究所	中井謙太
(2) 枯草菌の遺伝子間相互作用に関する実験研究	福山大学工学部	藤田泰太郎
(3) 線虫の遺伝子間相互作用に関する実験研究	文部省国立遺伝学研究所	小原雄治
2. ネットワーク共通性と多様性の原理解明： シグナル伝達ネットワークに関する研究		
(1) 最適なネットワークを演繹的に再構築する 情報処理技術に関する研究	東京大学医科学研究所	高木利久
(2) 酵母のネットワーク関連遺伝子群に関する 研究	東京大学医科学研究所	宮野悟
(3) 酵母の遺伝子間相互作用に関する実験研究	九州大学生物資源環境科学研究科	久原哲
(4) 酵母のタンパク質間相互作用に関する実験 研究	金沢大学がん研究所	伊藤隆司
(5) タンパク質のリン酸化ネットワークに関する 実験研究	藤田保健衛生大学総合医科学研究所	谷口寿章
3. 遺伝情報と物質情報との関連に係る原理の解 明：物質変換ネットワークに関する研究		
(1) ネットワーク再構築に関する情報科学研究 及び実験研究	京都大学化学研究所	金久實
(2) 発現プロファイル解析の代謝・排出への応 用研究	グラクソ・ウエルカム(株)筑波研究所	萩原淳
4. 遺伝子・分子ネットワーク解明のための基盤 技術開発		
(1) マイクロアレイの解析技術開発に関する研 究	宝酒造(株)バイオ研究所	浅田起代蔵
(2) 発現パターン情報のデータベース化	日本SGI(株)	福島信弘
5. 研究管理	宝酒造(株)バイオ研究所	浅田起代蔵

Ⅲ 研究推進委員会

委 員	所	属
[プロジェクト内委員]		
○金 久 實	京都大学	化学研究所教授
浅 田 起代蔵	宝酒造(株)	バイオ研究所副所長
久 原 哲	九州大学	大学院生物資源環境科学研究科教授
高 木 利 久	東京大学	医科学研究所教授
[プロジェクト外委員]		
有 川 節 夫	九州大学	大学院システム情報科学研究科教授
小笠原 直 毅	奈良先端科学技術大学院大学	バイオサイエンス研究科教授
榊 佳 之	東京大学	医科学研究所教授
田 畑 哲 之	勸かずさ DNA 研究所	室長

(注：○は研究推進委員長)

Ⅳ 研究連絡会議

委 員	所	属
浅 田 起代蔵	宝酒造(株)	バイオ研究所副所長
伊 藤 隆 司	金沢大学	がん研究所教授
植 田 稔	宝酒造(株)	バイオ研究所研究員
金 久 實	京都大学	化学研究所教授
久 原 哲	九州大学	大学院生物資源環境科学研究科教授
小 原 雄 治	文部省	国立遺伝学研究所教授
高 木 利 久	東京大学	医科学研究所教授
谷 口 寿 章	藤田保健衛生大学	総合医科学研究所助教授
中 井 謙 太	大阪大学	細胞生体工学センター助教授
福 島 信 弘	日本SGI(株)	主任研究員
藤 田 泰 太 郎	福山大学	工学部教授
藤 田 芳 司	グラクソ・ウエルカム(株)	筑波研究所課長
峰 野 純 一	宝酒造(株)	バイオ研究所主任研究員
宮 野 悟	東京大学	医科学研究所教授