

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

研究代表者：金久 實（京都大学化学研究所）

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てい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、マイクロアレイやプロテオーム等の実験による遺伝子間または分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、らん藻、酵母、枯草菌、大腸菌でマイクロアレイによる発現プロファイル解析を行い、またらん藻と酵母については2ハイブリッドシステムと質量分析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、同時にらん藻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。

2. 研究内容及び目標

本研究計画の第Ⅱ期2年間では、第Ⅰ期での3つの研究項目を、「ネットワーク原理の解明」と「情報技術と実験技術の融合」の2つの研究項目に再編して研究を行う。生物種としてはらん藻を中心にし、酵母、枯草菌、大腸菌との比較解析も行いつつ、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（代謝ネットワーク）を研究対象とする。本研究の第1の目標は、ゲノムの情報からこれら分子間相互作用ネットワークを予測する情報技術を開発すること、特にマイクロアレイやプロテオームに関する新しい実験技術と融合した形でこれを開発することである。第2の目標はゲノムからネットワークへの情

報構築原理を明らかにすることで、特にらん藻において実際にデータを解析し、ネットワーク予測とすべての遺伝子機能の再アノテーションを行って、ゲノムとネットワークの関係を調べている。

1. ネットワーク原理の解明

転写制御ネットワークでは、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おり、ネットワークの階層性が見られる。シグナル伝達ネットワークでは、例えば多様なシグナル入力部分と多様な転写因子出力部分が共通のMAPキナーゼカスケードで結ばれており、共通性と多様性が特徴の1つである。物質変換ネットワークでは、化学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おり、遺伝情報と物質情報の二面性がある。このようなネットワーク原理とゲノムとの関連を解明することが本研究項目の目的である。

(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）

- らん藻、枯草菌、大腸菌のマイクロアレイ発現プロファイルデータと、ゲノムの全配列データ、既知の代謝パスウェイデータ、さらにタンパク質間相互作用のデータを統合して解析し、転写制御ならびに物質の輸送と代謝に関する分子間相互作用ネットワークの全体像を明らかにする。同時にらん藻の数多くの未知遺伝子の機能を明らかにする。これらの解析からネットワークの階層性と二面性に関する原理解明を目指す。

- らん藻の細胞をコンピュータ上に表現し、環境変化や遺伝子変異といったゆらぎに対して細胞がどのように応答するか、分子間相互作用ネットワークの変化として記述する。

(2) 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）

- シグナル伝達ネットワークに関するデータを文献から収集し、シグナルオントロジーとして提唱している知識表現形式の有効性、実用性を評価する。

- 探索目的に応じたルール集合やルール選択の仕組みを取り入れ、推論機構を充実させることにより、ネットワークの共通性、多様性、階層性の抽出を目指す。

- ネットワーク上を活性/抑制シグナルが伝達されていくルールを記述することで、計算機上で経路の活性化/抑制化を推論する技術を確立する。

(3) らん藻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）

- 多数の発現プロファイ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確立し、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確立する。

・らん藻のネットワークを構成する遺伝子群について、共通性、多様性、階層性の原理を解明する。

(4) 遺伝子ネットワーク予測に関する情報科学研究及び実験研究（九州大学大学院生物資源環境科学府）

・酵母の6,000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ァイ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ライブラリー化する。

・発現プロファイルから多階層有効グラフ法やグラフィカルモデル法といった情報科学的手法を開発し、計算機システムと実験を組み合わせた総合的なネットワーク再構成を行う。

(5) 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・スミスクライン(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ァイルデータの変化を解析することにより、当該物質の代謝や排出等に関わる物質変換ネットワークを特定し、その経路に關与する遺伝子群及び中間代謝物質の情報から、遺伝情報経路及び物質変換経路の両ネットワークの情報を取り扱う方法論を確立する。

・これより、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。

2. 情報技術と実験技術の融合

本研究では、第I期3年間でマイクロアレイ実験技術、ならびにそれと融合した情報処理技術を確立し、らん藻と酵母を中心に解析が進んでいる。一方、分子間相互作用ネットワークを解明するためには、タンパク質レベルでの情報が不可欠であり、本研究項目はさらに次のステップとしてタンパク質間相互作用の系統解析に関して、情報技術と融合した新しい実験技術を開発し、主にらん藻の相互作用ネットワーク解析を行う。

(1) 2ハイブリッド法による系統的タンパク質間相互作用解析に関する研究（金沢大学がん研究所）

・第I期での経験をふまえて、新規高品質2ハイブリッドクローン作成法の開発、段階欠失導入による高次相互作用情報収集法の開発を行う。また、遺伝子発現データ等との統合により2ハイブリッドの一次データから、普遍的な知識を抽出する情報処理技術の開発を行う。

・これらの研究は酵母で行うが、今後展開が予想される網羅的タンパク質間相互作用解析の先導的研究であり、他生物種に適用できる方法論として確立する。

(2) 質量分析法によるタンパク質間相互作用解析に関する

研究（理化学研究所播磨研究所）

・質量分析法を基盤とした微量タンパク質同定法を開発し、らん藻と酵母におけるタンパク質間相互作用を網羅的に解析する。

・タンパク質間相互作用データ、遺伝子発現データ、ゲノム配列データを統合して解析する情報処理技術を確立する。

(3) らん藻のタンパク質間相互作用解析に関する実験研究（京都大学大学院生命科学研究所）

・大腸菌2ハイブリッドの実験系、ならびに融合遺伝子を使ったタンパク質相互作用解析系（プロテインアレイ法）を確立し、これを用いてらん藻で機能未知の遺伝子を中心に、タンパク質間相互作用を解析する。

・特に光化学系とストレス応答に關与するタンパク質間相互作用ネットワークの全体像を明らかにする。

(4) らん藻のタンパク質複合体のプロテオーム解析に関する研究（東北大学大学院生命科学研究所）

・二次元電気泳動を中心に用いたプロテオーム解析として、らん藻におけるタンパク質複合体を単離精製し、それらの構成因子間の相互作用を網羅的に同定する。

・光合成関連のチラコイド膜タンパク質など、らん藻特異的な複合体の分子機能ネットワーク、また大腸菌や枯草菌との比較から、バクテリアに共通の分子機能ネットワークを解明する。

(5) マイクロアレイの解析技術開発に関する研究（タカラバイオ(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。

・らん藻ゲノムから非コード領域のアレイを作成し、その実験技術と情報解析技術を開発する。

3. 年次計画

本プロジェクトでは、ゲノムの全配列データ、マイクロアレイによる遺伝子発現プロファイルデータ、2ハイブリッドや質量分析によるタンパク質間相互作用データ、さらに細胞機能に関する知識を統合し、ゲノムからネットワークの情報構築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マイクロアレイ関連の実験技術を確立し、らん藻、枯草菌、酵母等の生物種で実際の解析を行った。

第II期では、タンパク質間相互作用に関する技術を確立し、らん藻を中心に、枯草菌、大腸菌、酵母との比較も含めて解析を行い、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。

最終年度である平成14年度には研究成果のとりまとめ

として、国際シンポジウムの開催とデータベースの整備も行う。国際シンポジウムは、本研究が先駆的に行ってきたマイクロアレイの実験と情報解析を中心に企画する。データベースに関しては、すでにマイクロアレイ実験データをプロジェクト内で共有して利用できるようデータベースを整備

し、論文として出版されたものはKEGG/EXPRESSIONデータベースとして一般公開している。平成14年度には、らん藻全遺伝子の再アノテーションを行ったSYORFデータベースを完成させ、一般公開する。

研究項目	10年度	11年度	12年度	13年度	14年度
1. ネットワーク原理の解明					
(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・転写制御ネットワークの系統的解析			情報構築原理の解明	
(2) 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	
(3) らん藻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・転写制御ネットワークの情報解析			情報構築原理の解明	
(4) 遺伝子ネットワーク予測に関する情報科学研究及び実験研究	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	
(5) 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	
2. 情報技術と実験技術の融合					
(1) 2ハイブリッド法による系統的タンパク質間相互作用解析に関する研究	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	
(2) 質量分析法によるタンパク質間相互作用解析に関する研究			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) らん藻のタンパク質間相互作用解析に関する実験研究				情報処理技術の開発	
(4) らん藻のタンパク質複合体のプロテオーム解析に関する研究				プロテオーム技術の開発	
(5) マイクロアレイの解析技術開発に関する研究	マイクロアレイ読み取り技術の開発			情報処理技術の開発	
所要経費(合計)	204百万円	260百万円	285百万円	284百万円	221百万円

4. 平成14年度における実施内容と達成目標

1. ネットワーク原理の解明

(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

らん藻、枯草菌、大腸菌のマイクロアレイデータとゲノム配列データ、代謝パスウェイや化学反応の知識、さらにタンパク質間相互作用のデータを統合して解析し、物質の輸送と代謝に関与する分子間相互作用ネットワークの全体像を明らかにする。同時にらん藻において数多くの未知遺伝子の機能を明らかにし、SYORFデータベースとして集大成する。

(2) 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、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、らん藻や酵母のデータに適用してネットワーク再構築を試みる。

(3) らん藻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と、遺伝子ネットワークの可視化を支援するツールの開発を継続する。これを用いて、らん藻のネットワークを構成する遺伝子群について、共通性、多様性、階層性の解析を行う。

(4) 遺伝子ネットワーク予測に関する情報科学研究及び実

新研究

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実験を継続し、発現プロフィールを収集する。これより、多階層有効グラフ法やグラフィカルモデル等の手法を用いて、コンピュータ上にネットワークを再構築する。

(5) 発現プロフィール解析の代謝・排出への応用研究

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物質変換ネットワークを同定する方法論を確立する。

2. 情報技術と実験技術の融合

(1) 2ハイブリッド法による系統的タンパク質間相互作用解析に関する研究

酵母のタンパク質間相互作用を網羅的に解析するため、新規高品質 2 ハイブリッドクローンの作成を行い、また段階的欠失導入により相互作用部位に関するモチーフ等の高次情報を収集する方法の開発を行う。

(2) 質量分析法によるタンパク質間相互作用解析に関する研究

質量分析法を基盤とした微量タンパク質同定法を開発し、らん藻と酵母におけるタンパク質間相互作用を網羅的に解析する。

(3) らん藻のタンパク質間相互作用解析に関する実験研究

融合遺伝子を使ったタンパク質相互作用解析系（プロテインアレイ法）を確立し、らん藻のタンパク質間相互作用を解析する。

(4) らん藻のタンパク質複合体のプロテオーム解析に関する研究

らん藻におけるタンパク質（酵素）複合体を単離精製し、質量分析を用いてそれらの因子の相互作用を網羅的に同定する。

(5) 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技術の改良を継続し、らん藻ゲノムから非コード領域のアレイを作成し、その実験技術と情報解析技術を開発する。

II 平成 14 年度における実施体制

研 究 項 目	担 当 機 関	研究担当者
1. ネットワーク原理の解明		
(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) 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
(3) らん藻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
(4) 遺伝子ネットワーク予測に関する情報科学研究及び実験研究	九州大学大学院生物資源環境科学府	久 原 哲
(5) 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・スミスクライン(株)筑波研究所	荻 原 淳
2. 情報技術と実験技術の融合		
(1) 2ハイブリッド法による系統的タンパク質間相互作用解析に関する研究	金沢大学がん研究所	伊 藤 隆 司
(2) 質量分析法によるタンパク質間相互作用解析に関する研究	理化学研究所播磨研究所	谷 口 寿 章
(3) らん藻のタンパク質間相互作用解析に関する実験研究	京都大学大学院生命科学研究所	福 澤 秀 哉
(4) らん藻のタンパク質複合体のプロテオーム解析に関する研究	東北大学大学院生命科学研究所	東 谷 篤 志
(5) マイクロアレイの解析技術開発に関する研究	タカラバイオ(株)バイオ研究所	浅 田 起代蔵
3. 研究管理	タカラバイオ(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	タカラバイオ(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府 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]	
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
小 原 雄 治	国立遺伝学研究所 教授
榊 佳 之	東京大学 医科学研究所 教授
田 畑 哲 之	㈱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	タカラバイオ(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
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府 教授
高 木 利 久	東京大学 医科学研究所 教授
谷 口 寿 章	理化学研究所 播磨研究所 チームリーダー
萩 原 淳	グラクソ・スミスクライン(株) 筑波研究所 課長
東 谷 篤 志	東北大学 大学院生命科学研究科 教授
福 澤 秀 哉	京都大学 大学院生命科学研究科 助教授
宮 野 悟	東京大学 医科学研究所 教授