

(別紙1)

論文内容の要旨

申請者氏名 竹内 力矢

遺伝的相互作用(GI)とは、広義にはエピスタシスとも言われ、個体の表現型に影響を与える複数の遺伝子座間のあらゆるタイプの相互作用を示し、細胞内機能ネットワークを統合的に解明するために避けて通ることのできない非常に重要な情報である(Costanzo et al., 2010)。網羅的 GI 解析には全遺伝子の組合せによる二重遺伝子変異株作製が必要である。出芽酵母と大腸菌は、1990年代の後半、ゲノムプロジェクトの終了後、共に網羅的リソースの構築と共有により、システム生物学の研究分野を牽引してきた重要なモデル生物である。酵母においては、接合型の違いを利用した接合による単一変異の二重化が網羅的に行われてきている。一方、大腸菌の性とは、プラスミドの存在によるもので、生殖ではなく、外来性因子であるプラスミドの Type IV 分泌システムをその起源とするもので、供与菌側の染色体領域を受容菌側に移動させるには、プラスミドの接合移動部分を染色体に組込んだ Hfr という形態を取る必要がある。

そこで、まず私は、この大腸菌の性の制御を行うツールの開発を行い、次いで2つ目の変異株、バーコード欠失株の構築を共同で行った。材料を揃えたところで、接合を利用した高効率欠質変異重化の方法の改良を重ね、最終的に Singer 社の Spotting robot system を利用し、寒天プレート当たり 1536 株という密度で接合による 2 重欠失株作製方法の最適化を行った。

GI 解析では遺伝子欠失による個体増殖への影響量(増殖速度の変化量)の正確な測定が重要である。そこで、従来法の問題点を基に、(1)透過光撮影することで細胞 mass の定量、(2)隣接コロニーからの生育への影響の最小化、(3)増殖の時系列情報の測定から、3 種類の増殖特性値(増殖開始遅延時間、最大増殖速度、増殖到達量)を定量可能にし、Colony-live という計測システムの開発と公開を行った。測定の精度と再現性の大幅な向上に貢献した。

開発した実験システムを用いて GI データ解析の有用性を評価するために、現在利用可能な大腸菌大規模 omics データ(アミノ酸の相同性、タンパク質-タンパク質相互作用、環境因子と遺伝子との相互作用)との相関を解析した。その結果、機能情報との高い相関が見られ網羅的 GI 解析の有用性を示した。これらのデータは GenoBase (<http://ecoli.naist.jp/GB/>) において公開を行い、広く科学への貢献を進める。

現在、大腸菌の網羅的な GI 解析結果の蓄積を進めてきており、これまでに全遺伝子ペアの約 20%における GI 解析を終えている。

(別紙2)

論文審査結果の要旨

申請者氏名 竹内 力矢

当研究室では、1989年より始めた大腸菌ゲノムプロジェクトを完成に導き、その後、ポストゲノム研究、OMICS研究を始めとするシステム生物学を牽引するため、網羅的研究リソース開発を進め、最初にマイクロアレイ解析による Transcriptome、網羅的タンパク質相互作用解析、Metabolome 解析へと展開を図ってきている。その中でも、その実現には多くの困難を伴う2重遺伝子欠失による遺伝的ネットワーク解析の方法論の開発に長年取り組んできた。

その中でも、申請者の竹内 力矢氏は、博士前期課程に在学中より当研究開発テーマに一貫して取り組み、

- 1) 二重欠失株構築のための接合システムの開発
- 2) それまでに構築している一遺伝子欠失株ライブラリーに続き、2つ目となる Barcode 欠失株構築への貢献
- 3) 自動化処理を目的として、スタンピングロボットによる接合実験の自動化
- 4) 寒天培地上におけるコロニーの高精度生育法の確立
- 5) 画像解析によるデータ解析手法の開発

など、遺伝的ネットワーク解析の基盤技術をほぼ一人で開発し、チームの一員として、大規模 barcode 欠失株ライブラリーの構築にも大きく貢献してきている。開発を行ってきた手法、生育測定システム、新規リソース群等は、遺伝的ネットワーク解析に限らず、広くシステム生物学、合成生物学、そしてこれまでの個別の研究も含めて、すでに非常に多くの研究の基盤となってきた。

また、これまで構築した網羅的リソース群の quality control にも大きく寄与しており、常に更新され続けるアノテーション情報との整合性のチェック、それらの情報の WEB database への登録と情報発信を通じて、広く世界中の同分野への貢献は計り知れない。すでに、申請者らの努力による barcode 欠失株は、chemical genomics および population dynamics の分野において世界での共同研究へと大きく発展してきている。

以上のように、本論文はこれまで非常に困難であったシステムティックな遺伝的ネットワーク解析を可能にするだけでなく、高精度な生育測定法の開発を含め、システム生物学、合成生物学のみならず、個別の研究への貢献は非常に大きい。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。