

Name : 瀧川 一学
Title : 代謝ネットワーク理解のための流束及び調節制御に関する解析
Institute: 京都大学化学研究所バイオインフォマティクスセンター
Partner institute: Bioinformatics Program, Boston University (Boston, USA)
Duration: 2010年5月5日～2010年8月2日
<p>Report:</p> <p>ITPの支援によって、三ヶ月の間ボストン大学(BU)の Daniel Segrè 博士の研究室に滞在し研究する機会を頂くことができた。研究室は Bioinformatics Program に属しており、BU チャールズリバー東キャンパス(写真右)にある Life Science and Engineering Bldg.にある。メンバーはポスドクの Qasim Beg (実験微生物学の Ph.D.ホルダーで Bar-Joseph, Barabasi, Oltvai, Tim Gardner 等のラボでポスドクを経験)を除いて、基本的に流動的な 12-15 名ほどの学生で構成されている。Harvard 大の実験生物学者である Christopher Marx 博士との共同研究や、シュワネラ菌の培養実験や発現解析を行うグループとのプロジェクト、MIT の宇宙生物学グループとの共同研究、BU の Simon Kasif 博士や Maryland 大の Mihai Pop 博士とのメタゲノム解析プロジェクトなど、様々なプロジェクトを抱えており、非常に幅広いテーマと多様なメンバーで研究が行われていた。</p> <p>研究室の定例ミーティングは毎週水曜の Lab meeting と毎週金曜の Journal club が主体で随時ゲストセミナーやラボイベントが入る形であった。Lab meeting は持ち回りで毎週 1～2 人プレゼンを行い、それについて議論する形であった。またこの meeting は無料ランチ付きでピザやサンドイッチ等ランチを調達する係が学生の間で持ち回りとなっていた(人を集めるためのインセンティブとしてなのか BU の他のセミナーは勿論、近隣大学で開催されるセミナーにも無料ランチ付きが多かった)。金曜日の Journal club は事前に発表者から取り上げる論文がアナウンスされ、興味を持ったメンバーがそれを読んで参加し、現場では議論するという形であった。この他に Segrè 博士の提案で、Richard Roberts 博士(New England BioLabs inc.,1993年ノーベル生理学・医学賞受賞)、Simon Kasif 博士(BU)、Martin Steffen 博士(BU)が共同で進めているデータベースプロジェクトの毎週月曜日の meeting にも参加した。また、ちょうど滞在期間中に Segrè 博士の博士課程～ポスドク時代を通じての同僚であった Tzachi Pilpel 博士がサバティカルで滞在されており、非常に気さくに Nature や Cell に発表された研究の裏話や、最近 Cell に発表された Translational efficiency (コドンにより翻訳効率が異なる)の話などを伺うことができた。また、学生主催シンポジウム”Assembling the puzzle of our biology”では EMBL の Peer Bork 博士、Harvard Med School の Isaac Kohane 博士の大御所をはじめ、Harvard の若手 PI の発表も聞くことができ刺激になった。近隣で開かれるセミナーについても情報を逐次頂き、Harvard Med School や MIT/Harvard Broad Institute で行われているセミナー等にも参</p>



Report (Continued) :

加することができた。Harvard では Martin A. Nowak 博士やセミナーホストである Jeremy Gunawardena 博士などの一流紙に発表された数理生物学研究の存在を知ることができ、数理出身として理論研究の新たなアプローチを見た思いであった。また、Boston は Harvard や MIT 等に一流の生命科学研究機関及び連携関係にある各種バイオ企業が存在し、また、病院を持っていない Harvard Med School の提携病院である全米屈指の三大病院 マスジェネラル、ブリガム、チルドレンズにも多数の世界的研究者を有し、世界中から様々なルートで生命科学に関する最先端の知識や人材が集まってくる場所であることが実感できた。また BU での Mihai Pop 博士(Maryland 大)の細菌コミュニティと口内細菌メタゲノムに関するトーク、TIGR から今まで Steven Salzberg の元で働いているという Arthur L. Delcher 博士(Maryland 大)のゲノムアセンブリに関するトーク、Iddo Friedberg 博士(Miami 大)のタンパク質機能予測コンペティション(AFP2011)の話も大変興味深いものであった。また応募者自身も、滞在中に Bioinformatics Program 全体でのトーク、BU の Charles DeLisi 研でのトーク、馬見塚教授の仲介による Boston College でのトークと3件の発表をそれぞれ1時間程度する機会を頂き、様々なフィードバックを得ることができた。

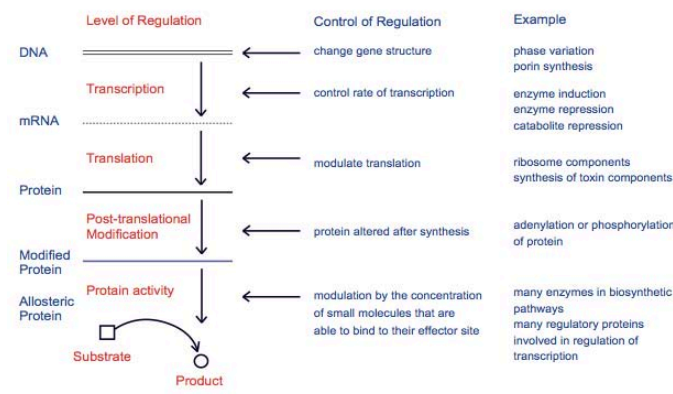
研究以外の面では BU の様々な人々と交流できたことが貴重な経験であった。Bioinformatics Program では、毎週月曜日にラウンジルームにコーヒー、ベーグル、ジュース等が振る舞われる他、毎週金曜日の夕方の Happy hour (アルコールが安く買える)には様々なラボから人がやってきて雑談会が開かれていた。Segrè 研のコアメンバーは学生であり、こうした機会を通して、より親しく交流することができた。Lab meeting でのプレゼンや Journal club での真剣な議論や雑談でのちょっとした科学の話題など随所で様々なバックグラウンドを持つ知識豊富な良いメンバーがそろっていることに驚かされた。特に、皆、英語がネイティブである上、授業で多量の reading に慣れており、読んでいる論文や本の数が非常に多いことに驚かされた。面白いトピックや方法やデータなどは最新の一流紙の内容を地道に多数フォローすることで得ている(勿論近隣でのセミナーやコミュニティの影響も大きい)ということで、当然の努力と学際的雰囲気作り(各種論文誌の最新号が置いてある)の重要性を再認識した。また、こうした交流から米国の学生生活の雰囲気を垣間みることができた。ネイティブに囲まれ、雑談をしたり、野球やテニスをしたり、トランプをしたり(ユーカーというゲームを教えてもらった)する中で米国での学生生活に本来要求される英語語彙力の高さを痛感しながらも、様々な話が聞けた経験は通常の海外出張ではできない貴重なものであり、今後の研究者生活に多いに活かしたい。

滞在中の前半はラボの研究内容を理解する上での、膨大な関連文献およびそれを読むための基礎知識の理解にまとまった時間を割くことができ、基本的な背景や方法の理論的側面を理解することができた。また、実際に Flux Balance Analysis(FBA)で良く使われる COBRA というツール(FBA の大御所 UCSD の Palsson 研究室で開発された)や Segrè 研自体で開発されたソフトウェアパッケージについて、酵母、大腸菌、シュワネラ菌などの最新の再構築代謝ネットワークモデルを用いた流束解析を学ぶことができた(研究室のサーバーにアカウントを作って頂き、必要な環境も用意して頂いた)。隣の建物にある Life Science の図書室も利用できるようにして頂き微生物学や代謝工学の文献を随時借りられ、新規事項のまとまった勉強期間としても大変充実したものとなり、得るものが大きかった。

滞在中の後半は、自身の興味である遺伝子発現と流束解析との統合について、研究室メンバーと協力して関連研究の調査と考察に充てる事ができた。基本的に FBA では化学量論的な関係を線形制約として、何らかの目的関数を最大化する最適化問題として計算を行う。通常、代謝研究では主な対象が微生物

Plan (Continued)

(もしくは培養細胞)であり、進化的淘汰圧によって自らの成長を最大化するようなネットワークになっているであろうという仮説のもと、**growth rate** を目的関数に取ることが多い。従って、**FBA** は対象生物種について、既存の代謝再構築ネットワークを入力として、与えられた培地条件の元での **growth rate** を予測する方法として機能する。**FBA** の最大の長所は既存の遺伝子機能アノテーションを利用して各遺伝子の欠損株の **growth rate** を予測できることである。**Segrè** 博士は欠損株では **growth rate** 最大化の淘汰圧がかかるほど時間制約を受けていないことから、むしろ欠損を補って **wild type** の **growth** にできるだけ近くなるように最適化がかかるのではないかと考え、**wild type** の **growth** との差を最小化する新たな目的関数を用いる **MoMA** 法を提案された(PNAS, 2002)。また **synthetic lethality** や **buffering** 効果等の二重欠損株の **growth rate** の非線形性(epistasis)に関するモジュール構造 (Nat Genetics, 2005)や代謝ネットワークに酸素が与えた進化的影響の解析(Science, 2006)などを発表されており、考察の過程で様々な関連研究や歴史に触れることができた。遺伝子発現との関係解析の手がかりとしては、Princeton 大の **David Botstein** 博士と **Olga Troyanskaya** 博士のグループが **growth rate** と様々な因子の関係を調べるべくバイオリクター実験の分析結果[1]とそのデータを元にして遺伝子発現プロファイルから **growth rate** を予測する計算手法[2]について発表した 2 報の論文に興味を持った。**Segrè** 研で標準的に用いられる **FBA** では代謝反応の化学量論的制約のみを元に **growth rate** を予測し、酵母や大腸菌などでは実験と良く整合することが知られている。しかし、一方で調節制御の機構を考慮していない点の一つの既知の課題で、**Segrè** 研でもシュワネラ菌の何種類かの株について、バイオリクターを用いて種々の条件での **growth rate** と遺伝子発現を各時点で時系列として計測し、このデータを元に転写レベルの調節制御を組み込んだ **FBA** モデルを開発する研究が行われていた。このような **FBA** に発現情報を統合する既存研究と平行して、Princeton グループらの成果から私



が興味を持ち提案した遺伝子発現プロファイルのみからの **growth rate** 予測法の分析・改良とその帰結からの **FBA** 等の制約ベースの分析との比較議論に興味を持って頂き、博士の提案に基づいて、研究室メンバーと協力してグループのシュワネラ菌データや既存の欠損株の発現情報等をもとに発現と流束分布の解析を多角的に検討中である。発現レベルの調節制御が代謝反応系に与える影響について

は近年も議論されている[3-5]トピックであり、生物学的にも興味深い話題である。また、近年では代謝系の調節制御階層(上図)の各層について、**transcriptome**, **proteome**, **metabolome** に加え、**fluxome** と呼ばれる炭素同位体を用いた実際の流束分布測定データも併せて計測したマルチオミクスデータ[6]が公開されはじめ、**FBA** を用いた代謝系の欠損株解析等にも応用され始めて[7]いる。こうした代謝系の調節制御の階層間相互作用を解明するための様々な大規模データに基づき、**FBA** を用いた欠損株での理論流束解析と実際のデータとの比較、新たな目的関数の考案、生物種ごとの制御の違い(特に真核生物と原核生物の差異)の分析、**SGA**・**dSLAM**・**E-MAP** 等の最新の網羅的実験技術に基づく多重欠損株解析や各種マルチオミクスデータの統合による **growth rate** の予測モデル構築、など、様々な派生問題について、博士のグループとの協力関係を今後も維持して、新たな研究を行っていく予定である。

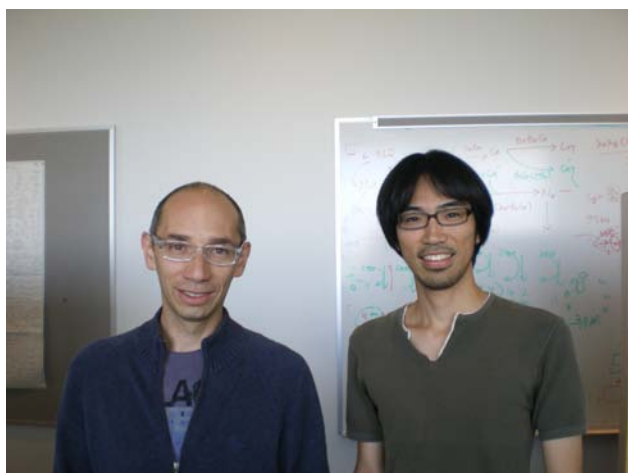
若手研究者インターナショナル・トレーニング・プログラム(ITP)

バイオインフォマティクスとシステムズバイオロジーの国際連携教育研究プログラム 報告書

参考文献：

- [1] Brauer MJ et al. Mol Biol Cell. 2008 Jan;19(1):352-67.
Coordination of growth rate, cell cycle, stress response, and metabolic activity in yeast.
- [2] Airoidi EM et al. PLoS Comput Biol. 2009 Jan;5(1):e100025.
Predicting cellular growth from gene expression signatures
- [3] Levy S, Barkai N. FEBS Lett. 2009 Dec 17;583(24):3974-8.
Coordination of gene expression with growth rate: a feedback or a feed-forward strategy?
- [4] Regenberg B et al. Genome Biol. 2006;7(11):R107.
Growth-rate regulated genes have profound impact on interpretation of transcriptome profiling in *Saccharomyces cerevisiae*.
- [5] Klumpp S, Zhang Z, Hwa T. Cell. 2009 Dec 24;139(7):1366-75.
Growth rate-dependent global effects on gene expression in bacteria.
- [6] Ishii K et al. Science. 2007;316(5824):593-597.
Multiple High-Throughput Analyses Monitor the responses of *E.coli* to perturbations.
- [7] Nakahigashi K et al. Mol Syst Biol. 2009;5:306.
Systematic phenome analysis of *Escherichia coli* multiple-knockout mutants reveals hidden reactions in central carbon metabolism.

謝辞：本国際交流プログラムのディレクターであり貴重な機会を与えて頂いた金久實教授ならびに滞在計画の様々な面でご指導いただきました馬見塚拓教授、またボストン滞在を快くサポートして下さった Daniel Segrè 博士、研究室メンバー、Bioinformatics Program のスタッフの方々に感謝致します。また、滞在中に貴重な機会を頂きました Simon Kasif 博士, Charles DeLisi 博士, Martin Steffen 博士, ならびに関係研究室のメンバーの皆様に感謝致します。



Daniel Segrè 博士



毎月曜日の昼前に Bioinformatics Program のラウンジではベーグル、ジュース、Starbucks コーヒーが振る舞われる。また毎金曜日の happy hour には様々なラボから人が集まりビール片手に雑談会となる。



ラボディナー。手前より、Niels Klitgord, 瀧川, Segrè 博士, Lina Faller, Qasim Beg, Varun Mazumdar。



手前より、Eva Lorena Mora-Blanco (Harvard Medical School の Ph.D.candidate で Niels の妻), Tzachi Pilpel 博士(Weizmann), Hsuan-Chao Chiu, Bill Riehl, Brian Granger, Chris Jacobs。