

京都大学	博士（薬科学）	氏名	国本 亮
論文題目	ゲノムネットワーク解析に基づく生体制御システムの解明		
（論文内容の要旨） microRNA (miRNA)はnon-coding RNAの一種であり、messenger RNA (mRNA)と結合することによって遺伝子の発現を調節する。miRNAの機能解明は生命科学研究において重要な問題となっているが、今日におけるmiRNAの機能解析はmiRNAと標的遺伝子の一対一の解析にとどまっており、複数のmiRNAによる遺伝子制御についての生体機能解析には至っていない。また、遺伝子はmiRNA以外の因子からも制御を受けており、生命システム全体の機能を解明するには、miRNAとこれらの制御因子の作用を加味した統合的な解析を行う必要がある。 一方で、生命システムの解明の手がかりとして、近年のマイクロアレイ技術の発展に伴い、大量の遺伝子発現データがGEO（gene expression omnibus）に代表される公共データベースに蓄積されてきている。そのようなデータベースにおいては、キーワードやIDを用いた検索により、マイクロアレイデータの取得が行われている。しかしながら、キーワードやIDでデータを検索する方法では、遺伝子発現パターンに基づいた網羅的検索は不可能であり、新たな検索システムが必要不可欠となっている。 これらの背景を鑑み、本研究では生命現象を織りなす生体分子間の複雑な相互作用や制御メカニズムの解明を目的に、ゲノムネットワーク解析技術を用いた、遺伝子制御システムの推定手法および、新規マイクロアレイデータ検索システムの開発を行った。 第1章 ゲノムネットワーク解析に基づく遺伝子制御システムの解明 miRNAの標的予測を目的に、尤度スコアを用いた共通の制御因子に制御される遺伝子ペアを同定する新規手法の開発を行った。本手法は、ネットワーク解析によってmiRNAの標的予測を行うという独創的なアプローチをとっており、miRNAー遺伝子間の関係を予測するだけでなく、共通のmiRNAに制御される遺伝子ー遺伝子間の関係をも同時に描き出すという大きな特色を有している。本予測結果は、miRNAの強制発現系を用いた検証実験および、過去の研究結果との比較によりその妥当性が示された。さらに、miRNAと同様に遺伝子の発現を制御する転写因子への拡張を行い、miRNAと転写因子による複合制御遺伝子ネットワークの構築とその機能推定を行った。その結果、制御因子ー遺伝子間の高精度な予測、および制御因子に制御される包括的な遺伝子ネットワークの構築に成功した。得られた遺伝子ネットワークについてIPA（Ingenuity Pathway Analysis）を用いた機能解析を行い、本手法で得られる遺伝子ネットワークの生物学的な有意性が確認された。			

第2章 遺伝子発現プロファイルに基づいたマイクロアレイデータ検索システムの開発

遺伝子発現プロファイルに基づいたマイクロアレイデータ検索システム「**GEM-TREND**」の開発を行った。**GEM-TREND** は、遺伝子発現プロファイルを用いたマイクロアレイデータの検索および得られたデータのネットワークを可視化する機能を実装している。このシステムの遺伝子発現プロファイルによる検索では、**nonparametric rank-based pattern matching approach** を用いて、GEO 発現データに対応したサンプルごとの遺伝子発現プロファイルを比較し、類似の遺伝子発現パターンを示すマイクロアレイデータの検索を可能としている。ここで得られた結果はランダムテストによって信頼度の評価を行った。また、特定のマイクロアレイデータと類似する遺伝子発現パターンを有するマイクロアレイデータを **GEM-TREND** で検索した結果、生物学的意義において非常に関連性の高いマイクロアレイデータを、高い精度で検出することに成功した。

以上、ゲノムネットワーク解析技術を用いることにより、従来行われてきた遺伝子と制御因子の一対一の作用予測から脱却した生体制御システム全体の予測手法の開発および、新規のマイクロアレイデータ解析手法の開発に成功した。本研究の成果は、未知の遺伝子制御機構を明らかにし、トランスクリプトームにおける包括的な生体制御システムの解明につながるものと期待できる。

(論文審査の結果の要旨)

遺伝子はそれぞれが単独で働くのではなく、相互に作用することで生命現象を機能させていると考えられている。本研究では、バイオインフォマティクス手法の一つであるゲノムネットワーク解析技術を用いる事によって、個々の遺伝子を単一で解析するのではなく、ネットワークという統合した生命システムとして解析することにより、生体システムの包括的な機能の解明を目的としている。

申請者はまず、miRNAによって制御される遺伝子ネットワークの予測手法の開発を行った。従来のmiRNAの標的予測手法は、遺伝子とmiRNAの一対一で予測するものであったのに対し、miRNA群と標的遺伝子群による多対多の制御機構を提供するという点で強い特色を有している。これにより、従来の手法では予測困難であった単一miRNAが同時に制御する複数の候補遺伝子群、および複数のmiRNAが結合することで遺伝子の発現を抑制するようなmiRNA群の推定を行った。また、転写因子による制御遺伝子ネットワークを重ね合わせることによって、異なる制御因子による制御遺伝子ネットワークを構築した。これらの予測・解析結果は、検証実験および過去の文献によりその妥当性が示されている。このように、共通制御因子間の共起関係だけでなく、異なる制御因子間の関係も解析するという試みは独創性に富んでおり、単独の制御因子だけでは不可能だった機能推定を可能にした。本研究で開発した手法は、今後広く適用され、機能未知な生体システムの解明に繋がると期待できる。なお、本研究は、学術論文誌BMC-Genomicsに現在投稿中であり、いずれその努力が実るものと期待される。

次に申請者は、遺伝子発現プロファイルに基づくマイクロアレイデータ検索ツール、GEM-TRENDの開発を行った。これまでのマイクロアレイ検索ツールはテキストに基づく検索手法のみであり、遺伝子発現データを加味した検索を実装した公共の検索システムは皆無であった。これに対し、申請者は、マイクロアレイの遺伝子発現パターンに基づく検索エンジンを開発し、公共データベースから遺伝子発現データに基づくマイクロアレイデータ検索を可能にしたWebツールの開発に至っている。ここで発現パターンの検索エンジンとしては、ノンパラメトリックなランク相関統計に基づいた遺伝子発現パターンのマッチング技術を開発し、クエリーに類似した遺伝子発現プロファイルの高精度な検出を実現した。さらに、検索結果の遺伝子発現データを、遺伝子間の共発現ネットワークとして視覚化し、ネットワーク中の遺伝子にGOアノテーションの参照リンクを付与することにより、各サブネットワークの持つ固有の機能をネットワークから直接解析することを可能にしている。なお、本研究はすでに学術論文誌BMC-Genomicsに発表され、オンラインアクセス数が高い論文として雑誌社の認定を受けている。また、GEM-TRENDシステムは薬学

研究科よりWebツールとして世界に公開されている。

このように、申請者は2章にわたり、生命現象を織りなす生体分子-遺伝子間および遺伝子-遺伝子間の複雑な相互作用の解明を目的としたゲノムネットワーク解析研究を行った。本研究の成果は、新規のトランスクリプトームにおける包括的な生体システムの解析手法として、ポストゲノミクス研究における新しい知見を提供すると期待できる。

よって本論文は博士（薬科学）の学位論文として価値あるものと認める。

さらに、平成23年2月23日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 平成23年 4月 1日以降