

# 論文内容の要旨

申請者氏名 田中 雄一郎

細胞が置かれた環境条件や突然変異などによる遺伝子機能の変化など、細胞は多くの外的・内的要因の変動の中で生存している。このような変動に対して、細胞内では動的に細胞内機能ネットワーク構造を動的に変化させながら、欠損した機能などの代替経路や補償回路の組立などで生命を維持していると考えられている。この問題に対して、網羅的二重欠失株構築による遺伝的相互作用解析は有効な解析法の一つである。申請者の田中雄一郎君は、博士前期課程進学後すぐにこの問題に取り掛かり、大腸菌全遺伝子による大規模遺伝的相互作用解析の大規模実験手法及び大量データ解析手法の確立に取組み、その有効性を示した。

Palsson らは、大腸菌代謝モデルを構築し、現在では精度の良いコンピューターシミュレーションを可能にした。しかし現在においても、そのモデルを使用した一遺伝子欠失株生育シミュレーション結果と生物実験による実測で食違いを示す遺伝子数は糖源による違いはあるが、通常 200 遺伝子を超える。大腸菌においても 150 を超える未同定の酵素遺伝子の存在によるものと考えられており、Palsson のグループと共に、二重遺伝子欠失株解析による未同定酵素遺伝子群の同定と代謝ネットワーク構造の解明を進めた。

これまで栄養培地である LB 培地での二重遺伝子欠失株構築条件を確立した。一方、代謝ネットワーク解析においては、培地環境に代謝基質が存在しない最少培地での解析が必要になる。これまで確立した実験方法が M9 最少培地では解析可能なレベルまでは機能せず、最少培地における二重遺伝子欠失株作製手法の改善を行った。その方法を用い、シミュレーションと実測による食違いを生じる酵素遺伝子欠失株、約 150 を選択し、大腸菌全遺伝子欠失との二重欠失株による未同定原因遺伝子の探索及び相補経路の解析を進めた。得られた約 28 万組み合わせの二重欠失株中、統計的に有意な約 1200 の合成致死を示す組合せに絞り込み、その解析を進めた。アミノ酸配列類似性によるアイソザイムの探索の結果、4 遺伝子に対するアイソザイム候補遺伝子を同定した。その他の候補遺伝子組合せに関しては、選択されてきた代謝ネットワークの再構築を通して、今後の細胞内機能ネットワーク構造解析が必要である。

やむを得ない事由[ 図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ( ) ]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】

# 論文審査結果の要旨

申請者氏名 田中 雄一郎

当研究室では、一貫して大腸菌網羅的リソースを活用したシステムティックな解析技術の開発およびその解析を進めてきた。2006年に大腸菌の全予測遺伝子欠失株ライブラリーを完成した後は、接合を用いた網羅的な遺伝的相互作用解析手法の開発と解析を進め、網羅的遺伝的相互作用解析を進めてきている。申請者の田中雄一郎君は、大腸菌未同定酵素遺伝子群の同定と、全遺伝子群との細胞内機能ネットワーク構造解明に向けた手法の確立と解析を進めた。

2007年に、大腸菌一遺伝子欠失株による網羅的細胞内の転写・翻訳・酵素反応の各レベルでの定量解析から、遺伝子欠失に対して大腸菌細胞の頑強性を示して以来、二重欠失による遺伝的相互作用解析手法の開発と解析に注力してきている。開発当初はLB培地を利用した解析を中心として開発を行い、手法の確立を行った。一方、代謝ネットワーク構造の解析には、培地中から回収可能な基質がある為、最少培地を利用する必要がある。そこでM9最少培地による二重欠失株作製による遺伝的相互作用解析を進めたが、LB培地での方法がうまく機能せず、M9培地での二重欠失株作製方法の改良を進めた。再検討を行った方法を用い、代謝モデルによる一遺伝子欠失株の生育シミュレーションと生物実験による実測値との食違いを示す遺伝子欠失の原因遺伝子の同定を行い、少なくともアイソザイムと考えられる遺伝子群の同定に導いた。網羅解析から生み出されるデータ量は膨大であり、今回はその中の非常に限られた遺伝子候補に関する解析ではあるが、手法の確立と解析の実例を示した。実験により产生された大量データは、今後の細胞内機能ネットワーク構造解明へのデータシーズとして今後の解析が期待される。

以上のように、本論文は最少培地における二重欠失株作製方法を確立し、その解析を通して、有効性を示した。この手法により、大腸菌細胞内機能ネットワーク構造解明に向けた基盤的研究としての意義も大きく、学術上、応用上貢献するところが非常に大きい。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。

やむを得ない事由[ 図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ( ) ]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】