

様 式 F - 7 - 1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（令和２年度）

所属研究機関名称		奈良先端科学技術大学院大学	機関番号	1 4 6 0 3
研究 代表者	部局	データ駆動型サイエンス創造センター		
	職	助教		
	氏名	武藤 愛		

1．研究種目名

若手研究(B)

2．課題番号

17K17885

3．研究課題名

大腸菌合成致死遺伝子の網羅的検出による代謝経路の論理的再構築

4．補助事業期間

平成２９年度～令和３年度

5．研究実績の概要

生物の持つ代謝系をネットワークで表した代謝ネットワークモデルは、有用化合物の生産や有害物質の分解などを目的とした生物デザインへの応用が期待されている。大腸菌ではiJ01366(Orth et al., 2011)をはじめとした優れた代謝モデルが構築されているが、大腸菌の網羅的遺伝子欠失株を用いた実験的検証により、モデルによる予測結果が実験結果と一致しない例が報告されており、モデルに記載されていない未知の代謝経路の存在が示唆されている。本研究は大腸菌の接合伝達機構を利用し、遺伝子欠失株ライブラリKeio collectionに別の遺伝子欠失領域を導入することで、二重遺伝子欠失株の網羅的構築及び生育度測定を行う。得られた生育度データから、合成致死性(単独での遺伝子欠失では致死とならないが、他の遺伝子の欠失が共存すると致死性を示す性質)を示す遺伝子ペアを網羅的に検出し、既知の代謝ネットワーク情報との統合によるネットワーク再構築によって、未知の代謝経路を探索することを目的とする。これまでに32万株の二重遺伝子遺伝子欠失株の構築を行い、その生育測定結果から遺伝子間の合成致死性を検出し、未知代謝経路の候補となる遺伝子を絞り込んだ。令和2年度は、iJ01366の開発者である米カリフォルニア大学のJonathan Monk博士の協力の下、代謝ネットワークモデルに基づく合成致死関係の予測結果と、本研究で得られた二重遺伝子欠失株生育実験データに基づく合成致死関係との比較を行った。両者の合成致死遺伝子ペアの情報から一致と不一致を抽出した結果、炭水化物代謝系および補酵素の合成系に、既知の代謝ネットワークから予測されたものとは異なる経路間の合成致死関係が見つかった。得られた経路間の合成致死関係に基づきネットワーク情報の再構築を行うとともに、未知代謝経路上の候補遺伝子について検証実験を実施している。

6．キーワード

新規代謝経路 システム生物学 代謝パスウェイ 遺伝的相互作用 合成致死 接合伝達 遺伝子欠失株ライブラリ

7．現在までの進捗状況

区分	(3) やや遅れている。
理由	新型コロナウイルス感染拡大防止のための緊急事態宣言によって実験施設での活動が制限されたこと、また実験に必要なプラスチック機器の入手が困難になったことにより、未知代謝経路上の候補遺伝子の検証実験の実施に遅れが生じた。

2 版

8. 今後の研究の推進方策

令和3年度より大規模ラボラトリーオートメーション装置を利用した実験が可能になったことから、新規代謝経路候補遺伝子の実験的検証のスループットを上げるにより研究が推進できると期待される。これまでに得られている遺伝子間の合成致死情報、代謝経路の論理的再構築の結果、及び新規代謝経路候補遺伝子の実験的検証結果について論文にまとめ、学術誌に投稿する予定である。

9. 次年度使用が生じた理由と使用計画

令和2年度は国内学会での発表のための参加費に予算を使用した。追加の検証実験に遅れが生じたため、論文の投稿準備に予定していたよりも時間がかかり、次年度使用額が生じた。次年度使用額は、英文校正及び論文投稿費用に使用する予定である。

10. 研究発表（令和2年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 S Fujiyoshi, A Muto-Fujita, F Maruyama	4. 巻 10
2. 論文標題 Evaluation of PCR conditions for characterizing bacterial communities with full-length 16S rRNA genes using a portable nanopore sequencer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 12580
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-69450-9.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 武藤 愛
2. 発表標題 大腸菌の網羅的二重欠失株生育実験データに基づく代謝ネットワークモデルの補完
3. 学会等名 2020年日本バイオインフォマティクス学会年会・第9回生命医薬情報学連合大会(iibmp2020)（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

1 1 . 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

計0件（うち出願0件 / うち取得0件）

1 2 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

1 3 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
米国	カリフォルニア大学サンディエゴ校	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-
-	-	-	-	-

1 4 . 備考

-