

# 線虫の初期胚発生に関連する遺伝子ネットワークの推定

岡野 文香<sup>†</sup>中山 伸一<sup>‡</sup>伊藤 将弘<sup>§</sup>真栄城 哲也<sup>‡</sup><sup>†</sup> 筑波大学 情報学群<sup>‡</sup> 筑波大学 図書館情報メディア研究科<sup>§</sup> 立命館大学 生命科学部

## 1 はじめに

本研究の目的は、線虫 *Caenorhabditis elegans* の12細胞期までにおける極初期胚の遺伝子調節ネットワークの予測であり、発生にかかわる遺伝子群の調節関係に焦点を当てる。

遺伝子間の調節関係を調べる最も確実な方法は、ノックアウト実験に代表される生物実験である。しかし、コストおよび時間の問題があるため、ゲノムワイドに調べることは困難である。例えば、細胞分裂に関わると推定される遺伝子だけでも約2,000個あるため、生物実験によって網羅性を保証するのは現時点では難しい。本研究では、ゲノムワイドかつ短時間間隔のDNAマイクロアレイデータと、生物実験によって判明している他生物の高精度な初期胚の遺伝子調節ネットワークを用いて、*C.elegans*の極初期胚の発生に関わる遺伝子調節ネットワークを予測する。

予測に用いる極初期胚の遺伝子調節ネットワークは、*Strongylocentrotus purpuratus* (ムラサキウニ)のネットワークであり、ノックアウト等の生物実験によって明らかになった68個の遺伝子によって構成される [1, 2]。

ノックアウト実験は時間およびコストの面で問題があるため、ゲノムワイドに遺伝子発現を計測したデータを用いて遺伝子間の調節関係を予測する手法がいくつか提案されている。この手法では、マイクロアレイ等で得られる各遺伝子が生成するmRNA量の増減パターンの相関でネットワーク構造を予測する。予測には、ベイジアンネットワークモデル [3] やブーリアンネットワークモデルなどがよく用いられるが、必要とするサンプル数に問題がある。

## 2 方法

線虫の初期胚の遺伝子調節ネットワークの予測には、Davidsonらによるムラサキウニの初期胚の遺伝子ネットワーク [2] を基準ネットワークとして用いる。このウニの遺伝子ネットワークは、ノックアウト実験により遺伝子間の調節関係が検証されている為、精度的が非常に高い。これまでに検証された遺伝子は75個であり、規模が小さい問題はあるが、他のモデル生物では初期胚について同精度の遺伝子ネットワークは知られていない。このネットワークには、アクティベーターとリプレッサーの種別、調節関係にある遺伝子のペアが記載されている。

このネットワークに記載されている全遺伝子について、Wormbase<sup>1</sup>で*C.elegans*の遺伝子を対象としてBlastを用いたホモロジー検索<sup>2</sup>を行い、類似機能を持つ*C.elegans*の遺伝子のリストを生成する。

このように抽出した遺伝子群の発現を確認するため、DNAマイクロアレイ (Affymetrix社製) 実験を行った。計測は、ハッチングから40分間の10分間隔で計5時点である。DNAマイクロアレイ実験は各計測時点で3回行った。なお、このような初期胚における短時間間隔かつ高精度のゲノムワイドな発現データは見当たらない。各計測時点での発生段階を調査するために、DNAマイクロアレイデータ計測と同じ条件で線虫を顕微鏡上で60分間観察し、細胞分裂の速度を計測した。その結果、0分で2細胞、10分で2-4細胞の分裂過程、20分で4細胞、30分で8細胞、40分で8-12細胞の分裂過程であると判明した。なお、各時点での細胞数の分布を計測し、検出した発生段階が50%以上であり、精度に問題がない点を確認した。

<sup>1</sup>Prediction of Gene Regulatory Network of *C.elegans* related to Early Embryo

<sup>2</sup>Ayaka Okano, University of Tsukuba

<sup>2</sup>Shin-ichi Nakayama, University of Tsukuba

<sup>2</sup>Masahiro Ito, Ritsumeikan University

<sup>2</sup>Tetsuya Maeshiro, University of Tsukuba

<sup>1</sup><http://www.wormbase.org>

<sup>2</sup>[http://www.wormbase.org/db/searches/blast\\_blat](http://www.wormbase.org/db/searches/blast_blat)

### 3 結果および考察

以上の方法により、0分、10分、...、40分それぞれの時点の遺伝子調節ネットワークを構築した(図1)。

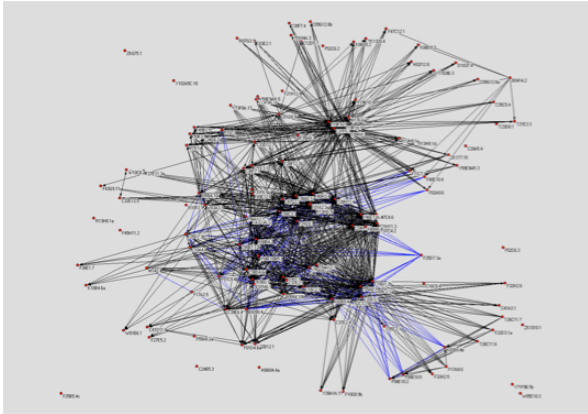


図 1: 0分時点での予測された遺伝子調節ネットワーク。kamada-kawai エネルギー関数によりノードを配置した。

構築した5個のネットワークは、遺伝子間の接続関係が異なり、共通部分は存在するものの、全体構造は異なっていた。これらのネットワークから、(1) 多くの遺伝子を調節するハブ遺伝子と、(2) 調節するのみで他の遺伝子に調節されない、調節開始遺伝子、の2種類の遺伝子を抽出し、解析した。ハブ遺伝子のリンク数の多い上位20個の機能から、30%が Gene Ontology の Biological Process で転写因子であった。それ以外に、胚発生や成長が付与されていた。このことから、本手法によって予測された遺伝子は、発生に関するものであり、極初期胚の発生に関与する可能性が高いことを意味する。

調節開始遺伝子は、ここで構築したネットワーク内での調節開始であり、当然線虫の遺伝子調節ネットワーク全体の中では、他の遺伝子から調節される。全5時点において調節を開始する遺伝子は5個あり、全てが Gene Ontology では転写因子と付与されていたが、それ以外の機能に関する情報は付与されていなかった。ハブ遺伝子には、Gene Ontology で付与されている情報が複数の場合が多く、1つしか付与されていない調節開始遺伝子よりも多い。これは、ハブ遺伝子の方が、関与する調節関係が多いために様々な実験で影響を受ける可能性が高く、従って生物実験で機能が判明されやすい点が考えられる。

ウニの基準ネットワークに含まれている68個それぞれの遺伝子には、複数の線虫の遺伝子が対応付け

られる(合計180個)。これは、ホモロジー検索を用いているためである。1個のウニの遺伝子に対応する線虫の遺伝子群を対象に発現パターンの相関関係に基づくグループ化を行った。その結果、93グループに分類された。中には、負の相関(相関係数 $-0.93$ )を持つグループも存在した(図2)。この場合、これら2つの遺伝子は同じ調節機構によって発現が制御されていることが推測され、1つはアクティベーター、もう1つはリプレッサー

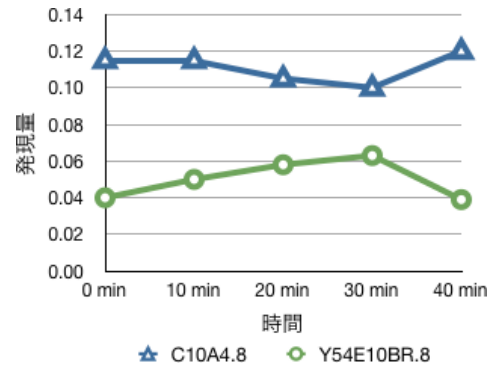


図 2: 負の相関を持つ2つの遺伝子の発現パターン。

線虫の初期胚であっても、計測時点に応じて10,394-10,986個の遺伝子が使われることから、本研究で予測した遺伝子調節ネットワークは小規模であり、実際のネットワークのごく一部でしかない。予測結果の検証には、今後の生物実験が必要である。

### 参考文献

- [1] R.A. Cameron, M. Samanta, A. Yuan, D. He, E. Davidson, "SpBase: the sea urchin genome database and web site", *Nucleic Acids Research*, D750-754, 2009.
- [2] E.H. Davidson et.al, "A Genomic Regulatory Network for Development", *Science*, 1669-1678, 2002.
- [3] A.J. Hartemink, "Reverse engineering gene regulatory networks", *Nature Biotechnology*, 554-555, 2005.