

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07663

研究課題名（和文）統合ネットワークによる遺伝子機能予測モデルの高精度かつ持続的な構築法の開発

研究課題名（英文）Development of gene-function prediction models with highly predictive and sustainable construction by integrated network analysis

研究代表者

福島 敦史（Fukushima, Atsushi）

国立研究開発法人理化学研究所・環境資源科学研究センター・研究員

研究者番号：80415281

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究課題では、遺伝・環境相互作用の解明とその植物生理を深く理解するため、様々な分子群に関するオミックスデータおよび知識の統合を試みた。主な成果として（1）統合すべきオミックスデータの評価と、より高い信頼性のある遺伝子機能予測法の開発を進めた。（2）遺伝子間の関連性推定には、ピアソン相関のみならず、相互情報量に基づく統計量を利用した複雑な遺伝子制御ネットワークの推定を検討した。（3）遺伝子-遺伝子間の機能的関連性を定量化・予測するためのネットワークモデル構築法の一部として differential regulation analysis により転写因子等の制御因子予測を行うことを可能とした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

断続的に産出されるオミックスデータに対応し、遺伝子機能予測モデルの構築を“持続的に”行うことができる統計モデルは、利用可能なオミックスデータが増えるに従って、予測精度の改善が見込まれる。このため、持続的にその構築を行うソフトウェア実装が重要となる。植物の持つ環境応答の頑健さと柔軟さを理解するため、生理機能の背後にある遺伝子ネットワークの特性解明に大きく寄与する。本研究課題の遺伝子機能予測モデルおよび解析手法は、将来的に総合的な「環境適応型植物設計システム」の重要なモジュールの一つとなりうる（新技術の創製）。

研究成果の概要（英文）：This study tried to integrate existing knowledge related to gene functions and correlation-based biomolecular networks using different types of omics data for deeper understanding a genotype-environment interaction in physiological events of plants. The results include (i) advanced development of gene-function prediction methods with high predictive accuracy by integrating omics data and (ii) evaluation of correlation networks constructed by Pearson correlation coefficient and information-theoretic inference methods. We developed the method to quantify and predict gene-gene functional links. By using the developed method, we performed differential regulation analysis (DRA) to predict candidate regulators based on differential co-expression data.

研究分野：植物システム生物学

キーワード：バイオインフォマティクス 園芸ゲノム科学

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

植物科学において、有用遺伝子機能予測のために、トランスクリプトームデータを用いた遺伝子共発現解析が用いられてきた (Saito et al. *Trends Plant Sci*, 2008)。現在、シロイヌナズナ、イネ、オオムギ、トマトでも遺伝子共発現情報を取り扱うデータベースが利用可能である (例: Ohyanagi et al. *PCP*, 2015)。また、複数種間での比較共発現解析も可能であるが、複数かつ異種のおミックスデータ統合による遺伝子機能予測には、改善の余地がある。

研究代表者は、これまでモデル植物シロイヌナズナやイネ、トマト、薬用植物のトランスクリプトームやメタボロームデータの統計解析および関連データベース構築を行ってきた (Fukushima et al. *Plant Physiol*, 2014; Fukushima et al. *PLOS ONE*, 2015)。トマトのマイクロアレイデータを利用した遺伝子共発現解析に基づく遺伝子機能予測研究を行った例では、研究代表者が開発したディファレンシャルネットワーク法 (注: オミックスデータに基づく 2 群の間でのネットワーク差異を同定する手法) を用いて、トマトの器官間で異なる共発現ネットワークを同定し、遺伝子機能予測に役立てた (Fukushima et al. *Plant Physiol*, 2012)。この手法は、異なる条件間で共制御される遺伝子群のサブセットを候補として絞り込むことが可能である。また、本手法を統計ソフト R のパッケージ DiffCorr (Fukushima et al. *GENE*, 2013) として報告した。これまでトマトの遺伝子機能予測のためのネットワーク構築を続けており、単為結果性に関わる変異体新規アリルとそのネットワークに関し、連携研究者と共に特許出願した。この過程でさらに定量的かつ高精度な遺伝子予測ネットワークモデル構築の必要性を感じ、本研究の着想に至った。

### 2. 研究の目的

高速シーケンサ等の技術進歩により、大量のおミックスデータが蓄積しつつある。遺伝-環境相互作用の解明とその植物生理を深く理解するため、トランスクリプトームのみならず、様々な分子群に関する知識の統合が重要な課題である。本研究は、複数かつ異種のおミックスデータを統合し、遺伝子機能ネットワークの定量的予測とその評価法の開発を行う。基盤となるコア技術は、研究代表者が開発してきたディファレンシャルネットワーク手法と集合知を活かす機械学習法との統合である。最終的に、遺伝子-遺伝子間の機能的関連性を定量化・予測するためのネットワークモデル構築法とその統計的評価法を開発・実装する。このようなデータ統合から作物収量の増大やストレス付与といった有用形質獲得の背後にある遺伝子制御ネットワークの解明を目指す。

### 3. 研究の方法

本研究は、研究代表者がこれまで開発してきたディファレンシャルネットワーク手法 (図 1) と機械学習法との融合アプローチにより、植物・作物種、特にシロイヌナズナとトマトの遺伝子機能予測モデル構築法を開発する。本研究は以下の通り進めた。

- (1) 複数かつ異種のおミックスデータによる予測ネットワークモデルの構築と評価
- (2) 遺伝子機能予測の向上に資する実験的エビデンスの収集・蓄積によるモデルの改善
- (3) 遺伝子機能予測ネットワークモデル性能の客観的評価

信頼性が高いバイオマーカー候補や原因遺伝子候補を提供できるように、複数かつ異種のおミックスデータを組み合わせた機能予測ネットワークモデルの開発および実装を行った。

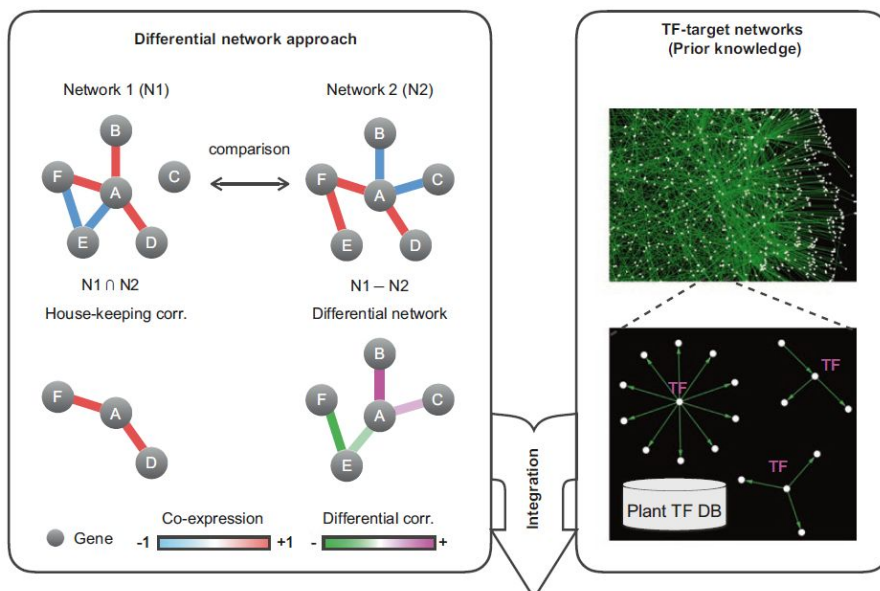


図 1 differential regulation analysis (DRA)のイメージ。Ichihashi, Fukushima et al., *Methods Mol Biol* (2018)より転載

## 4. 研究成果

本研究では、2 群間の遺伝子発現差異および共発現解析の拡張として、ディファレンシャル共発現解析法 (differential coexpression, DC) に着目した。候補遺伝子に関する優先順位付けとして、発現差異と DC とを組み合わせた differential regulation analysis (DRA) により転写因子等の制御因子予測を行った。これには、( 1 ) 発現差異および DC とをそれぞれ重み付けし組み合わせた統計量 Regulatory Impact Factor (RIF) ( 図 2 ) および ( 2 ) 発現差異遺伝子リストと転写因子 標的情報との比較による TFactS 手法の二つを用いた。

### A

#### 4.1 Datasets

In this vignette, we use example datasets presented by [Bottje et al. \(2017\)](#). This is a transcriptome data matrix. The data are composed of 520 significant DEGs (differentially expressed genes) and 898 transcription factors.

```
library(rRIF)
data(ToniData)
data(ToniData.DEGs)
data(ToniData.TFs)
```

#### 4.2 RIF

Using these example datasets, we can perform the RIF as follows.

```
res <- rRIF(eset = ToniData,
  formula = geno1-geno2,
  target.factor = "Genotype",
  DEGs = ToniData.DEGs,
  cor.method = "pearson",
  regulator.list = ToniData.TFs
)
summary(res)
```

```
##
##
## ===== rRIF Summary =====
## Top 5 RIF1:
```

### B

	A	DE	PIF	RIF1	RIF2
CBFA2T3_1	6.8	0.12	0.83	-5.56	-0.69
SS18_1	9.43	-0.1	-0.98	-4.93	-0.87
HIC1_1	8.51	0.01	0.09	-3.95	-0.54
TAF1A_1	7.47	0.07	0.51	-3.81	-0.51
MAFK_1	7.23	0.32	2.29	-3.65	-0.19
TCF4_1	7.06	0.73	5.16	-3.54	0.04
SMARCC1_1	11.18	0.09	1.03	-3.41	-1.11
ZNF410_1	8.2	0.06	0.5	-3.18	0.91
RNF2_1	7.21	0.11	0.82	-3.15	-0.58
TBX2_1	5.99	-0.21	-1.27	-3.13	-1.19

図 2 開発中の rRIF パッケージ。(A) テストデータ ( Bottje W et al. BMC Syst Biol, 2017 ) による RIF 解析実行例 (B) RIF 結果をインタラクティブな表で閲覧可能にしてある ( 実装した rRIF::iTable()関数による )

一例として、モデル植物シロイヌナズナを乾燥ストレス処理し、その遺伝子発現応答を経時的に調べたマイクロアレイデータ ( Kim et al. *Nat Plants*, 2017 ) を使用した。結果として、これまでよく知られている乾燥ストレスに関わる重要因子群のいくつかは比較的高い RIF 値を持っていることがわかった。トランスクリプトームデータ解析において、遺伝子発現量の増減のみならず、予測・再構築した転写ネットワーク全体からその役割や協調関係性に焦点を当てたゲノムワイドな評価が重要であることが示唆された ( 図 3 )

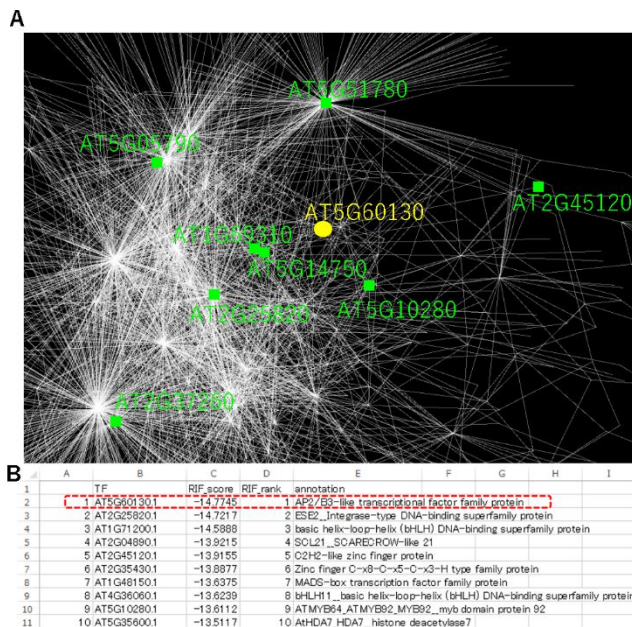


図 3 構築した共発現ネットワークと RIF 結果。(A) RIF rank 1 位であった遺伝子 ( 黄色 ) とネットワーク上で最近傍の遺伝子群 ( 緑色 ) を示した。(B) 産出された RIF 値 / rank に基づく top10 候補。データは Kim et al. Nat Plants, 2017 を使用。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 12件）

1. 著者名 Kusano Miyako, Fukushima Atsushi, Tabuchi-Kobayashi Mayumi, Funayama Kazuhiro, Kojima Soichi, Maruyama Kyonoshin, Yamamoto Yoshiharu Y., Nishizawa Tomoko, Kobayashi Makoto, Wakazaki Mayumi, Sato Mayuko, Toyooka Kiminori, Osanai-Kondo Kumiko, Utsumi Yoshinori, Seki Motoaki, Fukai Chihaya, Saito Kazuki, Yamaya Tomoyuki	4. 巻 182
2. 論文標題 Cytosolic GLUTAMINE SYNTHETASE1;1 Modulates Metabolism and Chloroplast Development in Roots	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Plant Physiology	6. 最初と最後の頁 1894 ~ 1909
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1104/pp.19.01118	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 -
1. 著者名 Fukushima Atsushi, Kuroha Takeshi, Nagai Keisuke, Hattori Yoko, Kobayashi Makoto, Nishizawa Tomoko, Kojima Mikiko, Utsumi Yoshinori, Oikawa Akira, Seki Motoaki, Sakakibara Hitoshi, Saito Kazuki, Ashikari Motoyuki, Kusano Miyako	4. 巻 10
2. 論文標題 Metabolite and Phytohormone Profiling Illustrates Metabolic Reprogramming as an Escape Strategy of Deepwater Rice during Partially Submerged Stress	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Metabolites	6. 最初と最後の頁 68 ~ 68
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/metabo10020068	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 -
1. 著者名 Vos Rutger A. et al.	4. 巻 9
2. 論文標題 BioHackathon 2015: Semantics of data for life sciences and reproducible research	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 F1000Research	6. 最初と最後の頁 136 ~ 136
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.12688/f1000research.18236.1	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 -
1. 著者名 Vu Nam Tuan, Kamiya Ken, Fukushima Atsushi, Hao Shuhei, Ning Wang, Ariizumi Tohru, Ezura Hiroshi, Kusano Miyako	4. 巻 36
2. 論文標題 Comparative co-expression network analysis extracts the <i>SIHSP70</i> gene affecting to shoot elongation of tomato	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant Biotechnology	6. 最初と最後の頁 143 ~ 153
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5511/plantbiotechnology.19.0603a	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 -

1. 著者名 神谷 健、草野 都、福島 敦史	4. 巻 37
2. 論文標題 メタボロームデータ解析および解釈に資する可視化手法	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本化学会情報化学部会誌	6. 最初と最後の頁 72~
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11546/cicsj.37.72	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 KUWAHATA Kazuaki, SAKUMA Yui, KAWASHIMA Yukio, FUKUSHIMA Atsushi, NAGASHIMA Umpei, KUSANO Miyako, TACHIKAWA Masanori	4. 巻 18
2. 論文標題 Application of Quantum Chemical Calculation for Prediction of Ultraviolet-vis Spectrum of Plant Self-protective Metabolites Produced by UV-B Irradiation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Computer Chemistry, Japan	6. 最初と最後の頁 108 ~ 114
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2477/jccj.2019-0002	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 -

1. 著者名 Atsushi Fukushima, Shoko Hikosaka, Makoto Kobayashi, Tomoko Nishizawa, Kazuki Saito, Eiji Goto, Miyako Kusano	4. 巻 9
2. 論文標題 A Systems Analysis With "Simplified Source-Sink Model" Reveals Metabolic Reprogramming in a Pair of Source-to-Sink Organs During Early Fruit Development in Tomato by LED Light Treatments	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 1439
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2018.01439	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 -

1. 著者名 Eva Knoch, Satoko Sugawara, Tetsuya Mori, Christian Poulsen, Atsushi Fukushima, Jesper Harholt, Yoshinori Fujimoto, Naoyuki Umemoto, Kazuki Saito	4. 巻 115
2. 論文標題 Third DWF1 paralog in Solanaceae, sterol 24-isomerase, branches withanolide biosynthesis from the general phytosterol pathway	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America	6. 最初と最後の頁 E8096-E8103
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1807482115	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 -

1. 著者名 Yasuhiro Higashi, Yoza Okazaki, Kouji Takano, Fumiyoshi Myouga, Kazuo Shinozaki, Eva Knoch, Atsushi Fukushima, Kazuki Saito	4. 巻 30
2. 論文標題 HEAT INDUCIBLE LIPASE1 Remodels Chloroplastic Monogalactosyldiacylglycerol by Liberating - Linolenic Acid in Arabidopsis Leaves under Heat Stress	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Plant Cell	6. 最初と最後の頁 1887-1905
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1105/tpc.18.00347	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 -

1. 著者名 Yasunori Ichihashi, Atsushi Fukushima, Arisa Shibata, Ken Shirasu	4. 巻 1830
2. 論文標題 High Impact Gene Discovery: Simple Strand-Specific mRNA Library Construction and Differential Regulatory Analysis Based on Gene Co-Expression Network	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 163-189
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-8657-6_11	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kitazaki Kazuyoshi, Fukushima Atsushi, Nakabayashi Ryo, Okazaki Yoza, Kobayashi Makoto, Mori Tetsuya, Nishizawa Tomoko, Reyes-Chin-Wo Sebastian, Michelmore Richard W., Saito Kazuki, Shoji Kazuhiro, Kusano Miyako	4. 巻 8
2. 論文標題 Metabolic Reprogramming in Leaf Lettuce Grown Under Different Light Quality and Intensity Conditions Using Narrow-Band LEDs	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7914
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-25686-0	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 -

1. 著者名 1. Takeshi Kuroha, Keisuke Nagai, Yusuke Kurokawa, Yoshiaki Nagamura, Miyako Kusano, Hideshi Yasui, Motoyuki Ashikari, Atsushi Fukushima	4. 巻 8
2. 論文標題 eQTLs Regulating Transcript Variations Associated with Rapid Internode Elongation in Deepwater Rice	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 1753
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2017.01753	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 -

1. 著者名 Jong-Myong Kim, Taiko Kim To, Akihiro Matsui, Keitaro Tanoi, Natsuko I. Kobayashi, et al.	4. 巻 3
2. 論文標題 Acetate-mediated novel survival strategy against drought in plants	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nature Plants	6. 最初と最後の頁 17097
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/nplants.2017.97	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 3. Atsushi Fukushima, Mami Iwasa, Ryo Nakabayashi, Makoto Kobayashi, Tomoko Nishizawa, Yoza Okazaki, Kazuki Saito, Miyako Kusano	4. 巻 8
2. 論文標題 Effects of Combined Low Glutathione with Mild Oxidative and Low Phosphorus Stress on the Metabolism of Arabidopsis thaliana	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Frontiers in Plant Science	6. 最初と最後の頁 1464
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fpls.2017.01464	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5件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 福島 敦史
2. 発表標題 ディファレンシャルネットワークに基づく遺伝子機能予測
3. 学会等名 第37回日本植物細胞分子生物学会 (京都) 大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 質量分析を用いた植物メタボロミクスデータの情報解析と共有
2. 発表標題 福島 敦史
3. 学会等名 質量分析インフォマティクス研究会・第4回ワークショップ (2019年) (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Atsushi Fukushima and Kozo Nishida
2. 発表標題 MSEAp: Development of a metabolite set enrichment analysis toolkit for plant metabolomics community
3. 学会等名 第36回日本植物細胞分子生物学会（金沢）大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 福島 敦史, 津川裕司, 高橋みき子, 小林紀郎
2. 発表標題 植物メタボロームデータの再解析・アノテーション高度化に向けた情報基盤整備
3. 学会等名 第12回メタボロームシンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Atsushi Fukushima, Mikiko Takahashi, Nozomu Sakurai, Toshiaki Tokimatsu, Hideki Nagasaki, Hideki Hirakawa, Takeshi Ara, Masanori Arita, Norio Kobayashi
2. 発表標題 RIKEN Plant Metabolome MetaDatabase: An integrated plant metabolome data repository based on the semantic web
3. 学会等名 SWAT4HCLS 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>植物の高温耐性に寄与するリパーゼ遺伝子を発見  <a href="http://www.riken.jp/pr/press/2018/20180706_2/">http://www.riken.jp/pr/press/2018/20180706_2/</a>          アシュワガンダ薬用成分の生合成遺伝子を発見  <a href="http://www.riken.jp/pr/press/2018/20180807_1/">http://www.riken.jp/pr/press/2018/20180807_1/</a>          根の葉緑体を作るのに窒素同化鍵酵素が重要であることを発見  <a href="https://www.riken.jp/press/2020/20200217_2/index.html">https://www.riken.jp/press/2020/20200217_2/index.html</a></p>
---



## 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	有泉 亨  (Ariizumi Tohru)  (70575381)	筑波大学・生命環境系・准教授       (12102)	