

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 8 月 21 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (特設分野研究)

研究期間：2015～2017

課題番号：15KT0147

研究課題名(和文) 出芽酵母の人工進化系構築 生命の適応的機能創出をデザインする

研究課題名(英文) Experimental evolution of *Saccharomyces cerevisiae*

研究代表者

中岡 慎治 (Nakaoka, Shinji)

東京大学・生産技術研究所・派遣研究員

研究者番号：30512040

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：生命の進化の過程において、偶発的に新たな因子が加わることで新たな機能が創出される性質に関する理論的理解や実験による検証は、これからの課題である。本研究では、酵母と大腸菌の共培養条件において出芽酵母の変異促進を意図した構成的な人工進化生態系を構築を進めた。次世代シーケンシングによる網羅的変異同定・遺伝子発現定量、包括的細胞内反応モデルを利用したマルチスケール数理モデル化、共培養系における微生物個体群の数理モデル構築を行うことによって、偶発的に新たな因子が加わることで新たな機能が創出される性質について理解を進めた。

研究成果の概要(英文)：Despite the importance of contingent effects on the evolutionary process of living systems, theoretical considerations and experimental validations have not been fully investigated yet. In this research, we aimed to investigate contingent effects by developing an artificial experimental evolution system of *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) cocultured with *Escherichia coli* (*E. coli*). De novo mutations that might occur during replications of *S. cerevisiae* and *E. coli* are identified by genomic sequences. Gene expression profiles are measured by transcriptomics. These omics datasets are then integrated into a multi-scale mathematical model representing intracellular-molecular and intercellular population dynamics. Our theoretical approach combined with validation by experimental evolution systems would provide a key to understand the role of emerging and contingent property on evolutionary processes.

研究分野：システム数理生物学

キーワード：人工培養系 数理モデル 進化のダイナミクス 複合オミクス解析

1. 研究開始当初の背景

生命は進化の過程において、偶発的に新たな因子が加わることで新たな機能が創出されること(プリコラージュ)によって柔軟さやしたたかさといった性質を獲得してきた。寄せ集めによって新たに生じる機能および新たな系が選ばれるための評価指標を明らかにすることは生命現象を理解し、新しいシステムに応用する際の理論的土台になると考えられる。自然環境や腸管内において、多種の微生物が互いに影響を及ぼしながら、新規の機能を獲得する現象が近年明らかになっており、薬学・腸内細菌学・食品工学など多くの分野で注目されている。従来、生態学では個体数や表現型を指標としたマクロスケールの動態モデリングが、分子細胞生物学では遺伝子変異やタンパク質の機能変化に基づいたミクロレベルの解析が行われてきたが、これらの間には大きなギャップが存在する。

2. 研究の目的

本研究では、酵母と大腸菌の共培養条件において出芽酵母の変異促進を意図した構成的な人工進化生態系を構築する。次世代シーケンシングによる網羅的変異同定・遺伝子発現定量、包括的細胞内反応モデルを利用したマルチスケール数理モデル化、適応度関数が変化する場合の数学的理論構築を行うことによって、ミクロとマクロの間を繋ぐ汎用的研究手法を確立することを目指す。

3. 研究の方法

本研究では、人工進化生態系を理解するための理論構築と解析、ならびに実験系の構築と公共データベースも含めた取得データの情報統計解析を行う。常微分方程式を用いて、変数間の相互作用を記述した数理モデルを構築し、数値計算によってシミュレーションを実施する手法を適用した。実験もしくは公共データベースから得られた次世代シーケンサーによる配列データについては、前処理やクオリティーチェック後にサンプル間のバイアスを補正する正規化を行い、得られた正規化データに対して統計検定を行って発現状態に差がある遺伝子群を抽出する解析を適用する。

4. 研究成果

[理論]

以下、複数の理論解析を実施した。

[T1] 微生物複数種系からなる数理モデルを構築・解析した。具体的には、既存の共培養進化系を想定して個体群動態モデルを構築し、基本的な数理解析を行った。

[T2] 複合オミクスデータを用いた解析パイプラインの開発に向けて、アルゴリズムの検証を行った。

[T3] 900以上の文献の知見を集積した出芽酵母のストレス応答のマップ構築を行った。

構築したマップを元にネットワーク解析を行い、外部刺激応答パスウェイに内在する頑健性のメカニズムを示唆した。

[T4] 世界中のChIPビッグデータを再解析し、転写因子と制御遺伝子を結ぶ転写制御ネットワークを構築した。具体的には、確率的な制御を考慮した重み付き Gene Set Enrichment 解析手法を考案し、トランスクリプトームデータから非常に高い精度で転写因子活性を予測する手法を確立した。

[T5] 共培養系におけるマルチスケールモデルの構築と適応ダイナミクスの理論化を行った。具体的には、微生物種の細胞内における分子ダイナミクスと細胞の増殖率(適応度に相当)をリンクし、分子レベルの挙動をベースにした個体群数理モデルを構築した。続けて、適応進化の理論体系に基づき、ある変異種が導入された場合に変異種が定着できるかを考察し、系が変異種に置き換わるための理論的条件を計算した。

[T6] 膨大なChIP-seqデータに基づいた転写制御ネットワークの構築が進展した。このネットワークとトランスクリプトームデータに基づいて、転写制御因子を推定するアルゴリズムを開発し論文発表した(Kawakami et al. Nucleic Acids Research 2016)。

[T7] 微生物叢の16S-seq解析のワークフローを確立し、人工生態系研究におけるオミクス解析の基盤を整備した。

[T8] 上述の進化実験と並行して、単培養系における大腸菌と酵母の遺伝子発現状態変化の時系列データの解析に着手し始めた。具体的には、M3 database とよばれる大腸菌・酵母の時系列を含むトランスクリプトームデータを取得し、次元縮減法の適用による特徴量抽出など、様々な単培養条件下における細胞増殖時の遺伝子発現変化を予測するための数理解析手法の構築を進めた。

[T9] 共培養環境に由来する遺伝子発現ネットワークの変化を調べるための数理手法構築の検討を進めた。

[実験]

[E1] 複数の様々な微生物を混合した微生物生態系を構築し、その測定系を確立した。具体的には、単純な2種類の大腸菌共培養系における実験進化において、その遺伝配列の進化的変化を説明できる簡単なモデルを立てた。さらに、生体内の生化学反応と、個体群動態を両方含めたダイナミックモデルを作成した。

[E2] 2種類の大腸菌による相利共生系の実験進化について、前年度までに得られていた実験結果と解析をまとめ、集団内相互作用の適応進化における新たな概念を実験結果とともに発見した。

[E3] ロイシンを産生して排出する大腸菌の存在下でロイシン要求性出芽酵母を共培養させ、ロイシンを段階的に減らしていく進化実験を行った。酵母と大腸菌が共に増殖を

確認できるロイシン濃度の培地から、徐々にロイシンを薄くしていても酵母・大腸菌共に増殖できるような系が得られたため、大腸菌祖先・進化株、単独培養株計3種、酵母の祖先・進化株、単独培養株3種から、複数種類の共培養系を構築して大腸菌・酵母の個体数を計測した。また、大腸菌において進化の可能性を示唆する観察結果も見受けられたため、共培養によって変化したと考えられる遺伝子発現状態や、進化によって変化した可能性のあるゲノム変異を調べることにした。具体的には、酵母を中心に増殖期のトランスクリプトームとゲノムデータ解析に必要な実験を進めた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

(雑誌論文)(計 9 件)

- [1] K Hosoda, S Tsuda, K Kadowaki, Y Nakamura, T Nakano, K Ishii, Population-reaction model and microbial experimental ecosystems for understanding hierarchical dynamics of ecosystems, *Biosystems*, Volume 140(2015) Pages 28-34.
DOI:10.1016/j.biosystems.2015.12.005
- [2] E Kawakami, V K Singh, K Matsubara, T Ishii, Y Matsuoka, T Hase, P Kulkarni, K Siddiqui, J Kodilkar, N Danve, I Subramanian, M Katoh, Y Shimizu-Yoshida, S Ghosh, A Jere & H Kitano, Network analyses based on comprehensive molecular interaction maps reveal robust control structures in yeast stress response pathways, *npj Systems Biology and Applications*, 2(2016) 15018.
DOI: 10.1038/npjbsa.2015.18
- [3] E Kawakami, S Nakaoka, T Ohta, H Kitano, Weighted enrichment

method for prediction of transcription regulators from transcriptome and global chromatin immunoprecipitation data, *Nucleic Acids Research*, 44(11) (2015) 5010-21.
DOI: 10.1093/nar/gkw355.

- [4] S Nakaoka, S Iwami, and K Sato, Dynamics of HIV infection in lymphoid tissue network, *Journal of Mathematical Biology*, 72(2015) 909–938.
DOI: 10.1007/s00285-015-0940-x
- [5] S Iwanami, Y Kakizoe, S Morita, T Miura, S Nakaoka, S Iwami, A highly pathogenic simian/human immunodeficiency virus effectively produces infectious virions compared with a less pathogenic virus in cell culture, *Theoretical Biology and Medical Modeling*, (2017) 14(1):9.
DOI: 10.1186/s12976-017-0055-8
- [6] T Yamaguchi, T Suzuki, T Sato, A Takahashi, H Watanabe, A Kadowaki, M Natsui, H Inagaki, S Arakawa, S Nakaoka, Y Koizumi, S Seki, S Adachi, A Fukao, T Fujiwara, T Natsume, A Kimura, M Komatsu, S Shimizu, H Ito, Y Suzuki, J M. Penninger, T Yamamoto, Y Imai and K Kuba, The CCR4-NOT deadenylase complex controls Atg7-dependent cell death and heart function, *Science Signaling*, 11(516) (2018) eaan3638.

Doi: 10.1126/scisignal.aan3638

[7] N Nakada, M Nagata, Y Dong, Y Takeuchi, and S Nakaoka, Dynamics of tumor immune escape via adaptive change, *Nonlinear Theory and Its Applications, in press*, Volume 9 (2018) Issue 2 Pages 295-304.

Doi: 10.1587/nolta.9.295

[8] Y Nakano, N Misawa, G Juarez-Fernandez, M Moriwaki, S Nakaoka, T Funo, E Yamada, A Soper, R Yoshikawa, D Ebrahimi, Y Tachiki, S Iwami, R S Harris, Y Koyanagi, and K Sato, HIV-1 competition experiments in humanized mice show that APOBEC3H imposes selective pressure and promotes virus adaptation, *PLoS Pathogen*, 5;13(5) (2017) e1006348.

Doi: 10.1371/journal.ppat.1006348

[9] E Yamada, S Nakaoka, L Klein, E Reith, S Langer, K Hopfensperger, S Iwami, G Schreiber, F Kirchhoff, Y Koyanagi, D Sauter and K Sato, Human-specific adaptations in Vpu conferring anti-tetherin activity are critical for efficient early HIV-1 replication in vivo, *Cell Host and Microbe*, Volume 23(2018) 110-120.e7.

Doi: 10.1016/j.chom.2017.12.009

{学会発表}(計 18 件うち 9 件掲載)

[1] 中岡慎治, Micro-ecomics を支える数理, 第 30 回微生物生態学会, 2015

10/20 (Tue.), 土浦市役所 亀城プラザ, 招待講演、口頭発表.

[2] Eiryō Kawakami, Hisahiro Yoshida, Takuwa Yasuda, Shinji Nakaoka, Hiroaki Kitano, Impaired balance between antagonistic transcriptional modules during the progression of inflammatory skin disease, *Functional Genomics and Systems Biology: From Model Organisms to Human Health*, 2015年10月29日, Welcome Trust Sanger Institute, 国際学会・ポスター発表.

[3] 川上英良, 中岡慎治, 北野宏明, 遺伝子発現から転写制御因子を予測する確率的 Gene Set Enrichment 解析, BMB2015 (第 38 回日本分子生物学会年会、第 88 回日本生化学会大会 合同大会), 2015 年 12 月 4 日, 神戸ポートアイランド, 招待講演・口頭発表.

[4] 細田一史, 複数の微生物を混ぜると現実の多対多を教えてくれる, 第 89 回日本細菌学会総会, 2016 年 3 月 23 日, 大阪国際交流センター, 招待講演、口頭発表.

[5] 細田一史, Synthetic ecosystems, 「細胞を創る」研究会 8.0, 2015 年 11 月 13 日, 大阪大学吹田キャンパス 銀杏会館, 招待講演、セッションオーガナイザー.

[6] 川上英良, 公共 ChIP データを活用した遺伝子制御ネットワーク構築と転写因子予測, トーゴの日シンポジウム 2016, 2016 年 10 月 6 日, 東京大学, 招待講演.

[7] 川上英良, ウイルス・細菌感染における宿主転写制御, 第 90 回 日本細菌学会総会, 2017 年 3 月 21 日, 仙台国際センター, 招

待講演.

[8] Shinji Nakaoka, Kei Sato, Data mining of metabolic interactions in a gut microbial community induced by viral infection, SMB 2017 Annual Meeting, 2017年7月17日~20日 2017年7月17日, University of Utah (Salt Lake City, Utah, USA), 口頭発表.

[9] Shinji Nakaoka, Kei Sato, Compositional change of the gut microbiota in HIV infected humanized mice, Next Gen Immunology, 2018年2月11日~14日, Weizmann institute of science (Rehovot, Israel), ポスター発表.

〔図書〕(計 1 件)

川上英良 実験医学増刊 Vol.35 No.5 生命科学で使える はじめての数理モデルとシミュレーション 公共ハイスループット ChIP データを用いた 遺伝子制御ネットワークの構築と その活用法

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中岡 慎治 (NAKAOKA, Shinji)

東京大学・生産技術研究所・

派遣研究員

研究者番号：30512040

(2) 研究分担者

川上 英良 (KAWAKAMI, Eiryō)

国立研究開発法人理化学研究所・科学技術ハ

ブ推進本部 医科学イノベーションハブ推進

プログラム・ユニットリーダー

研究者番号：30725338

(3) 研究分担者

細田 一史 (HOSODA, Kazufumi)

大阪大学・未来戦略機構・特任准教授

研究者番号：30515565