

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：82111

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19126

研究課題名（和文）遺伝子ネットワーク構築による非モデル生物におけるデータ解析アプローチの構築

研究課題名（英文）Constructions of data analysis scheme by gene-network approaches for non-model organism

研究代表者

横井 翔（Yokoi, Kakeru）

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・生物機能利用研究部門・主任研究員

研究者番号：40773073

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：カイコの終齢幼虫の3日目の組織別トランスクリプトームデータを用いて、各遺伝子の発現量の数値をテストデータとして利用して、網羅的発現量データをベースにそれぞれの遺伝子の結び付き（共発現ネットワーク）を書くソフトウェアを開発した。開発したソフトウェアを用いて共発現ネットワーク解析を行なった結果、9種類のシルク遺伝子とその関連遺伝子に相関した発現パターンを示す遺伝子約1400種類を同定した。そのうち転写因子をコードしている遺伝子92種類を絞り込み、終齢期間における経時的な発現解析によって、シルク遺伝子を制御すると考えられる14つの転写因子をコードする候補遺伝子を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

非モデル生物由来の大量の遺伝子発現量データを用いた共発現ネットワーク解析を行うことができるようになったことによって、非モデル生物によく含まれている、機能アノテーションがつかない、機能不明の遺伝子に機能を推定することが可能になった。これによって、非モデル生物を用いた分子生物学的な研究が進み、非モデル生物における遺伝子レベル、分子レベルでの生物学的な知見を得ることが可能になると思われる。これによって、非モデル生物における様々な生命現象の分子・遺伝子レベルでの知見が明らかになると同時に、遺伝子機能解析ツールなどを併用した、有用形質を持つ生物を作出することにつながると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Using transcriptome data of silkworm multiple tissues as input data, we developed the software which performs co-expression analysis and makes gene networks showing relationships between the genes in input data. The results of co-expression analysis by the software using the silkworm transcriptome data showed that approximately 1400 genes having the same expression profiles of either nine silk or silk-related genes were identified. Among the 1400 genes, 92 genes coding transcription factors were identified. Finally, 14 candidate transcription factor genes were identified from the 92 candidate genes through time-course gene expression analysis, which can regulate silk or silk-related gene expressions.

研究分野：昆虫科学

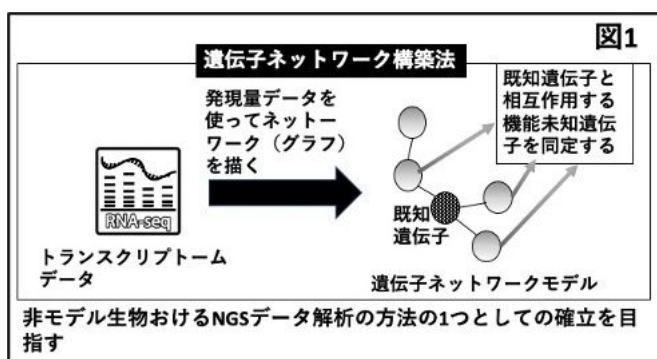
キーワード：RNA-Seq バイオインフォマティクス カイコ エリサン 非モデル生物

### 1. 研究開始当初の背景

近年の次世代シーケンサー(NGS)のコストの低下によって、非モデル生物でのゲノム、トランスクリプトーム解析が可能になってきている。しかし、非モデル生物の遺伝子リストの中には「not hit」などアノテーションが「機能未知」とされている遺伝子が多数含まれている場合がしばしば、トランスクリプトーム解析をしても生物学的解釈に困る場合がある。これらの「機能未知遺伝子」をどのように意味付けさせるかは、非モデル生物で NGS 解析を行う際の重要な課題である。

### 2. 研究の目的

上記、課題の解決方法として、発現量データを用いてグラフを描きネットワークを構築する、「遺伝子ネットワーク構築法」を提案したい(図1)。本方法は各遺伝子の発現量を用いて、ネットワーク(グラフ)を描くことによって既知遺伝子と相互作用する機能未知遺伝子を見つける方法である。この方法のベースにある前提は、「相互作用している遺伝子ならばその発現量は似ている。」という概念である。これは多くの遺伝子やゲノム研究から



自明である。本研究は、「遺伝子ネットワーク構築法」のスキームを構築し、非モデル生物における NGS データ解析の方法の1つとして確立することを目的とする。これらの方法論を、カイコにおける新規のシルク遺伝子を制御する遺伝子の探索を例として確立する。

### 3. 研究の方法

カイコの終齢幼虫における、組織ごとの網羅的発現量データ(絹糸腺、脂肪体、精巣、卵巣、マルピーギ管, Yokoi et al., 2021)を用いて、遺伝子発現量プロフィールに基づいて、遺伝子の共発現ネットワークを構築するソフトウェアを開発する。ネットワークを描く際のパラメータの変更や入力データを工夫するなどして、精度の高いネットワークを構築する。完成された作成されたネットワークから、シルク遺伝子と近い位置にある候補遺伝子をピックアップする。さらにその中でも特に転写因子をコードする遺伝子をピックアップする。ピックアップされた遺伝子の幼虫終齢期 0-7 日目のそれぞれのシルク遺伝子で特異的に発現している絹糸腺部位における発現量を定量 PCR で調べて、当該シルク遺伝子と発現プロフィールが似ている遺伝子をピックアップし新規のシルク遺伝子の発現量制御を行う候補遺伝子とする。

### 4. 研究成果

従来の解析ツールより処理時間を大幅に短縮した新規のネットワーク構築プログラムを開発し(neworkz, URL: <https://github.com/davecao/networkz>)を開発し、公開した(Masuoka et al., 2022)。この新規プログラムを用いることで、大規模なトランスクリプトームデータを用いた網羅的な共発現ネットワーク解析が可能となった。先ほど述べたカイコの終齢5日目幼虫における、組織ごとの網羅的発現量データを入力データとして網羅的な共発現ネットワーク解析を行い9種類のシルク遺伝子とその関連遺伝子に 관련된 発現パターンを示す遺伝子約1400種類を同定した。さらにそのうち転写因子であると予測され

Target Gene	Modules	Total Transcripts	Transcription Factor
total	1022		
<i>sericin1</i>	7	565	39
<i>sericin2</i>	6	289	11
<i>sericin3</i>	1	36	2
<i>fibroin-H</i>	1	42	5 (including <i>Arrowhead</i> )
<i>fibroin-L</i>	1	80 (including <i>P25</i> )	4
<i>SGF1</i>	1	119	11
<i>SGF3</i>	1	120	6
<i>sage</i>	1	114	8
<i>Antennapedia</i>	1	126	5

表1 neworkz を用いたカイコの組織別の網羅的発現量データを入力データとした共発現ネットワーク解析の結果 (Masuoka et al., 2022)

る遺伝子を 92 種類同定した(表1)。これらの遺伝子と各シルクタンパク質遺伝子の関係性を探るため、終齢期間における経時的な発現解析を行った。その結果、シルクタンパク質遺伝子と、遺伝子発現プロフィールが関連する遺伝子を 14 種類同定した(図2)。これをシルクタンパク質

遺伝子発現量調節遺伝子の候補遺伝子とした。

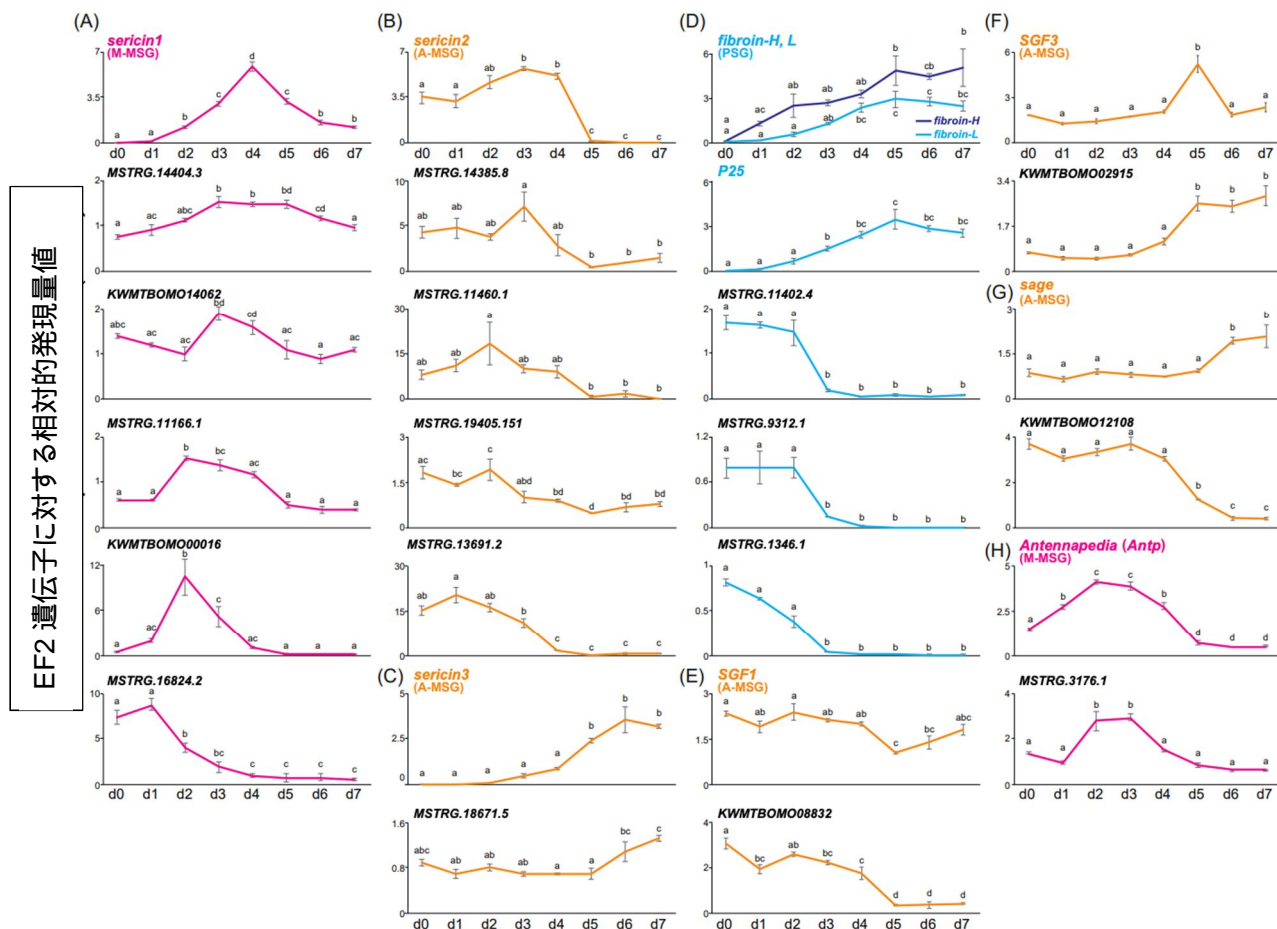


図 2 9 種類のシルクとその関連遺伝子(A)-(H)の終齢期間における経時的な発現量解析の結果(d0-d7 がそれぞれ終齢 0-7 日目を指す。)。それぞれの遺伝子の発現量プロフィールに類似している転写因子をコードする遺伝子 ID を示す。M-MSG, A-MSG, PSG はそれぞれ、中部絹糸腺中部, 中部絹糸腺後部、後部絹糸腺を指し、発現定量を行った組織を表す。Masuoka et al., 2022 を改変。

< 引用文献 >

Kakeru Yokoi, Takuya Tsubota, Akiya Jouraku, Hideki Sezutsu, Hidemasa Bono, Reference Transcriptome Data in Silkworm *Bombyx mori*, *Insects* (2021) 12(6) 519, DOI: 10.3390/insects12060519.

Yudai Masuoka, Wei Cao, Akiya Jouraku, Hiroki Sakai, Hideki Sezutsu, Kakeru Yokoi, Co-Expression Network and Time-Course Expression Analyses to Identify Silk Protein Regulatory Factors in *Bombyx mori*, (2022) *Insects* 13(2) 131-131 DOI: 10.3390/insects13020131

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Masuoka Yudai, Cao Wei, Jouraku Akiya, Sakai Hiroki, Sezutsu Hideki, Yokoi Kakeru	4. 巻 13
2. 論文標題 Co-Expression Network and Time-Course Expression Analyses to Identify Silk Protein Regulatory Factors in <i>Bombyx mori</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Insects	6. 最初と最後の頁 131 ~ 131
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/insects13020131	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 該当する

1. 著者名 YOKOI Kakeru, KATO Daiki, MIURA Ken	4. 巻 119
2. 論文標題 Pelle and Tube contribute to the Toll pathway-dependent antimicrobial peptide production in the red flour beetle, <i>Tribolium castaneum</i> (Coleoptera: Tenebrionidae)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 European Journal of Entomology	6. 最初と最後の頁 111 ~ 121
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.14411/eje.2022.012	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 該当する

1. 著者名 YOKOI Kakeru, ITO Wataru, KATO Daiki, MIURA Ken	4. 巻 119
2. 論文標題 RNA interference-based characterization of Caspar, DREDD and FADD genes in immune signaling pathways of the red flour beetle, <i>Tribolium castaneum</i> (Coleoptera: Tenebrionidae)	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 European Journal of Entomology	6. 最初と最後の頁 23 ~ 35
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.14411/eje.2022.003	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 該当する

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 3件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 横井 翔
2. 発表標題 次世代シーケンスデータ解析を用いた研究
3. 学会等名 東海昆虫研究会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 増岡 裕大
2. 発表標題 新規共発現ネットワーク解析ツールを用いたカイコのシルク遺伝子制御因子の探索
3. 学会等名 第67回日本応用動物昆虫学会大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 横井 翔
2. 発表標題 はじめに（NGSデータ解析をやってみよう）
3. 学会等名 第67回日本応用動物昆虫学会大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 横井 翔	4. 発行年 2021年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 237
3. 書名 Chapter4 解析したデータを共有・利用する（2）figshare, 生命科学系データベースアーカイブを使ったデータ共有（メタゲノムデータ解析 16Sも! ショットガンも! ロングリードも! 菌叢解析が得意になる凄技レシピ 坊農秀雅/編）	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究 分 担 者	増岡 裕大  (Masuoka Yuudai)  (80816950)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・生物機能利用研究部門・研究員   (82111)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	曹 巍 (Cao Wei)  (60802246)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・農業情報研究センター・上級研究員  (82111)	
研究分担者	小林 功 (Kobayashi Isao)  (70442829)	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構・生物機能利用研究部門・上級研究員  (82111)	2021年分担者削除

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 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