

戦略的国際科学技術協力推進事業（日本－英国 BBSRC 研究交流）

1. 研究課題名：「微生物システムバイオロジーに関する英国－日本共同研究プロジェクト」
2. 研究期間：平成 21 年 4 月～平成 24 年 3 月
3. 支援額： 総額 15,000,000 円
4. 主な参加研究者名：

日本側（研究代表者を含め 6 名までを記載）

	氏名	所属	役職
研究代表者	清水和幸	九州工大/慶応大学	教授
研究者	森浩偵	奈良先端大/慶応大学	教授
研究者	倉田博之	九州工大	教授
研究者	松野浩嗣	山口大学	教授
研究者	板谷光泰	慶応大学	教授
研究者	M. Robert	慶応大学	特任講師
参加研究者 のべ 16 名			

英国側（研究代表者を含め 6 名までを記載）

	氏名	所属	役職
研究代表者	J. McFadden	Surrey University	Professor
研究者	H. Westerhoff	Univ. of Manchester	Professor
研究者	C. Smith	Surrey University	Professor
研究者	A. Kierzek	Surrey University	Professor
研究者	D. Fell	Oxford University	Professor
研究者	M. Stumpf	Imperial College	Professor
参加研究者 のべ 8 名			

5. 研究・交流の目的

本研究、交流の目的は、日英の研究者が協力し合って、大腸菌や放線菌、マイコバクテリアなどのモデル微生物について、その代謝調節制御機構を統合的に解析すると同時に、その仕組みをシステム生物学の視点でモデル化し、細胞システムをコンピュータ上に再現することである。最近では、トランスクリプトミックス、プロテオミックス、メタボロミックスといった、様々なレベルでの網羅的な情報が蓄積されてきており、それぞれのレベルでの解析が盛んに行われているが、それぞれのレベルの情報は細胞の 1 側面、あるいはスナップショットの情報に過ぎず、細胞の機能に関する情報はあまり含まれていない。細胞の機能解析を行うには、様々なレベルの情報をシステム生物学の手法を利用して、統合的に解析する必要があり、それと同時に、細胞システムをモデル化してコンピュータシミュレーションを行い、その結果をもとに、合成生物学や代謝工学的手法によって、実際に細胞を設計、改変し、革新的な発酵生産や医薬品開発につなげることが重要である。本プロジェクトでは、このような視点から、英国と日本の研究者が定期的に意見交換を行い、バーチャル細胞の構築に向けて突破口を開くことを目的としている。

6. 研究・交流の成果

6-1 研究の成果

日本側では、大腸菌と、その遺伝子欠損株について、様々な培養環境が細胞の代謝制御に、遺伝子レベルから代謝フラックスまで、どの様な仕組みで行われているのかを統合的に解析した。遺伝子発現データをもとに、細胞のシステムを丸ごと理解することは、科学的、工学的に大きな意義があると思われる。また、これらの結果をもとに、遺伝子発現機構を

考慮した数学モデルを構築し、一部の遺伝子欠損株の代謝予測が可能になることを示した。とりわけ、中心代謝経路の解糖系、ペントースリン酸経路、TCA回路、糖新生経路のすべての酵素反応をモデル化すると同時に、カタボライト制御に関しては、転写活性因子および代謝経路遺伝子の発現についてもモデル化を行った。さらに、これらのモデルや大腸菌の遺伝子欠損株のマルチオミックスデータをもとに、システム生物学の視点から、細胞の代謝システム制御解析を行い、細胞がエネルギー（ATP）の生成（カタボリズム）や生合成（アナボリズム）を最大化して、生き残り戦略を図っていると同時に、フィードバック制御やフィードフォワード制御システムが複雑に機能して、細胞をロバストにしていることを解析した。このように、モデリングやシステム生物学の点からの解析によって、これまでに得られた様々な実験データ（Ishii et al., *Science*, **316**, 593-597）を説明できることがわかってきた。このことから、生命の設計原理といった本質的な課題を考察する上で、大変重要な知見が得られたと思われる。

一方、必須遺伝子を除く大腸菌全遺伝子の1遺伝子欠損株については、Keioコレクションとして、広く公開しているが、奈良先端科学技術大学院大学では、2遺伝子欠損株の開発手法を確立し、欠損株の作成を行っている。このようなリソースの開発は、代謝工学の基盤研究を支える上で、大変重要な意義がある。

また、合成生物学の点から、大腸菌の解糖系の遺伝子を人為的に再構築し、ゲノム上の遺伝子の配置が細胞増殖に及ぼす影響を検討した。細胞の代謝制御を解析してモデリングするだけでなく、細胞を実際に作る、あるいは再構成することも重要で、長い進化の過程で、なぜ現在のような生物システムになっているのかを理解することもできるし、革新的な代謝工学の手法を開発できると考えられる。

英国側では、*Mycobacteria*の培養実験を行って、<sup>13</sup>C代謝フラックス解析を行い、好気条件では、大腸菌などの代謝とあまり変わらないが、生体内でのような微好気条件では、大腸菌などとかなり代謝が異なっていることがわかってきた。また、遺伝子発現解析などと組み合わせて代謝制御解析を行い、どのような遺伝子の破壊が*Mycobacteria*を増殖できなくするかについても検討し、グリオキシル酸経路などを特定した。今後は、薬の開発なども行う。また、*Streptomyces*の統合的代謝解析を行い、転写活性因子群を特定し、それらがどのように代謝関連遺伝子群を調節制御しているかを明らかにした。今後は、抗生物質生産などに関する応用研究を行う。さらに、慶応大学先端生命科学研究所で獲得した、大腸菌のマルチオミックスデータをもとに、大規模代謝システムを考慮したゲノムスケールのモデリングを行った。大規模代謝ネットワークのモデリングは代謝量論式に基づいているので、遺伝子発現や回分培養などのダイナミックスのシミュレーション行えない。そこで、酵素反応や遺伝子発現機構を組み込んだ、ハイブリッドのモデリングの開発も行った。

相手国との協力による研究への相乗効果の観点からは、日英の研究者が協力して、大腸菌細胞の中心代謝経路について、酵素反応モデルを構築し、コンピュータシミュレーションによって、遺伝子欠損株の代謝予測を行い、実験結果と比較検討を行った。さらに、大腸菌細胞のゲノムスケールのモデリングを行い、これを回分培養などに適用できるように、酵素反応モデルと組み合わせたハイブリッドのモデルを開発した。培養環境と転写活性因子、転写活性因子と代謝関連遺伝子群との関係を整理し、カタボライト制御のモデリングに組み込んで、シミュレーションを行ったが、大腸菌（日本側）やマイコバクテリア、放線菌（英国側）の代謝制御機構を比較検討することで、微生物細胞に共通の仕組み（エネルギー生成や生合成）や、細胞特有の仕組みを明らかにすることができ、生命システムの理解を深めることができた。また、日英が協力して、バーチャル細胞の基本コンセプトを作成したが、今後はこれをもとに、多国間のコンソーシアムに発展させていく。

また、今後の展開見込、社会への波及効果の観点から見てみると、精度良い、定量的な予測ができるバーチャル細胞の構築に向けては、細胞システム全体がどのようなメカニズムで機能しているかを明らかにする必要があると、システム生物学の新しい手法の開発といった展開が期待できる。バーチャル細胞の構築によって、様々な遺伝子欠損株の代謝予測や発酵予測が可能になり、実際に多くの培養実験を行わなくても、スクリーニングするこ

とができ、そのうちの有望な変異株の設計や培養実験を行えばよいことになる。バーチャル細胞の構築によって、バイオエネルギーや、微生物電池の開発、有用物資生産などの効率化が期待できる。ただし、このためには今後、呼吸鎖のモデリングやエネルギー生成や生合成の詳細なメカニズム、栄養源の膜輸送などについてのモデル化も必要になってくる。

## 6-2 人的交流の成果

日英の研究者が定期的にワークショップを開催して、意見交換を行うことは、お互いの研究活動を刺激して、非常に効果があったと思われる。とりわけ、日本と英国では研究の基盤が異なっており、これらを補完することは、新しい人材育成の点でも重要だと思われる。この交流を今後も続けていくことが重要である。博士課程学生を相互訪問させることによって、若い人材の育成に大いに役立ったと思われる。今後も同じグループで、定期的にワークショップを開催し、共同研究も続けていく予定である。英国サリー大学、マンチェスター大学と日本側の慶応大学、奈良先端大学、九州工大の間では、大腸菌、マイコバクテリア、放線菌(*Streptomyces* sp.)の統合的代謝システム解析とモデリングに関して今後も共同研究を続けていく。システム生物学に基づいたバーチャル細胞の構築に向けては、日英が中心となって、他国も含めた世界的なコンソーシアムを形成し、様々な細胞の代謝解析とモデリングを行っていく：

( <https://sites.google.com/site/ukjapansystemsbiologyworkgroup/worskshop-2011-in-tsuruoka-japan> )。

また、ワークショップ風景のスナップショットは次のホームページに掲載している：

<https://picasaweb.google.com/102319025574207689801/UKJapanWorkshop2011?authuser=0&authkey=Gv1sRgCL2QmrWe-o-Ueg&feat=directlink>

## 7. 主な論文発表・特許等（5件以内）

相手国側との共著論文については、その旨を備考欄にご記載ください。

論文 or 特許	・論文の場合： 著者名、タイトル、掲載誌名、巻、号、ページ、発行年 ・特許の場合： 知的財産権の種類、発明等の名称、出願国、出願日、 出願番号、出願人、発明者等	特記 事項
論文	Abdul Kadir, T. A., A.A. Mannan, A.M.Kierzek, J.McFadden, K. Shimizu, Modeling and simulation of the main metabolism in <i>Escherichia coli</i> and its several single-gene knockout mutants with experimental verification. <i>Microbial. Cell Factories</i> , <b>9</b> :88 (2010).	日英 共著
論文	Kumar, R., K.Shimizu, Transcriptional regulation of main metabolic pathways of <i>cyoA</i> , <i>cydB</i> , <i>fnr</i> , and <i>fur</i> gene knockout <i>Escherichia coli</i> in C-limited and N-limited aerobic continuous culture. <i>Microbial. Cell Factories</i> , <b>10</b> .3.(2011)	
論文	Marzan,LW., K. Shimizu, Metabolic regulation of <i>Escherichia coli</i> and its <i>phoB</i> and <i>phoR</i> genes knockout mutants under phosphate and nitrogen limitations as well as at acidic condition <i>Microbial Cell Factories</i> , <b>10</b> :39 (2011)	
論文	Matsuoka, Y., K.Shimizu, Metabolic regulation in <i>Escherichia coli</i> in response to culture environments via global regulators, <i>Biotech J.</i> , <b>6</b> , 1330-1341 (2011)	
論文	Yao,R., Y. Hirose, D. Sarkar, K. Nakahigashi, Q. Ye, K. Shimizu, Catabolic regulation analysis of <i>Escherichia coli</i> and its <i>crp</i> , <i>mlc</i> , <i>mgsA</i> , <i>pgi</i> and <i>ptsG</i> mutants, <i>Microbial Cell Factories</i> , <b>10</b> :67 (2011)	