

細胞の全体像解明を目的として、大腸菌のゲノム配列決定、リソース構築、その網羅的な解析を進めてきた。

何故今大腸菌なのか？ 遺伝子機能が既知かどうかは別にして、有限個の遺伝子のほぼ全体を見渡すことが出来るようになった。今ようやく遺伝子と細胞活動の全体像とを結びつける研究が可能な時代になってきたといえる。この目的に向けて大腸菌は、1) 単細胞（一細胞で生命が完結）、2) 知識の蓄積、3) 方法論の充実、4) 研究材料の充実、という点で、地球上もっとも解明が進んだ生物の一つであり、理想的な生物の1種である。しかし、全予測遺伝子の半数の2000もの遺伝子が機能未知で残されているのも一方の現状である。予測全遺伝子のクローンや欠失株などのリソース群は酵母および枯草菌と比較して整備が遅れていた。線状DNAの組換えによる形質転換が難しい生物であることが大きな理由の一つであった。λファージのRED組換え酵素を利用し、酵母や枯草菌と同程度の相同領域により効率よく組換えを可能にする方法が開発され、状況は一変した(1)。

我々は予測全遺伝子のクローン化(ASKA library)(2)と欠失株作製(KEIO collection)(3)を行った。クローンは全ての予測遺伝子をPCRで増幅したものを発現ベクターに組み込み、IPTG誘導、N末Hisタグ融合の特徴を持つ。C末はGFP融合型と非融合型の2種類を用意した。これにより遺伝子産物の精製も可能になり、すでにタンパク質構造解析、新規酵素の探索など、多くの研究に活用され、成果も出ている(4-7)。欠失株は開始コドン及びC末6アミノ酸を残し、その間の領域をKm耐性遺伝子と置き換えたものである。クローンと同様に、多くの研究に活用されている(8-14)。

これらのリソースを活用した研究を1) 遺伝子発現制御ネットワーク解明、2) タンパク質相互作用解析を始めとした相互作用ネットワーク解明、3) 解糖系、TCA回路を中心として代謝関連遺伝子及び酵素タンパク質の動態解析、そして4) BIOLOG社のphenotype microarrayを利用した網羅的な機能解析等を積極的に進めている。

大腸菌ゲノム K-12 株のゲノム配列の見直しを行い、日米欧の研究者による遺伝子アノテーション会議を2003年の秋より進め、最も正確なモデル生物のゲノム配列として公開した(15, 16)。

世界の流れと、我々の研究進捗状況を紹介し、大腸菌を用いたシステム生物学の今後の方向を議論したい。

1. Datsenko, K. A. and Wanner, B. L. (2000) Proc Natl Acad Sci U S A 97, 6640-6645.
2. Kitagawa, M., et al. (2005) DNA Res 12, 281-290.
3. Baba, T, et al. (2006) Mol. Sys. Biol. doi:10.1038/msb4100050.
4. Melnick, J., et al. (2004) J Bacteriol 186, 3660-3662.

5. Proudfoot, M., et al. (2004) *J Biol Chem* 279, 54687-54694.
6. Arifuzzaman, M., et al. (2006) *Genome Res.*
7. Ingi, T., et al. (2005) *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 824, 312-318.
8. Yang, C., et al. (2003) *Biotechnol Bioeng* 84, 129-144.
9. Hua, Q., et al. (2003) *J Bacteriol* 185, 7053-7067.
10. Hua, Q., et al. (2004) *Appl Environ Microbiol* 70, 2354-2366.
11. Jiao, Z., et al. (2003) *FEMS Microbiol Lett* 220, 295-301.
12. Zhao, J., et al. (2004) *Metab Eng* 6, 164-174.
13. Zhao, J., et al. (2004) *Appl Microbiol Biotechnol* 64, 91-98.
14. Perrenoud, A. and Sauer, U. (2005) *J Bacteriol* 187, 3171-3179.
15. Riley, M., et al. (2006) *Nucleic Acids Res* 34, 1-9.
16. Hayashi, K., et al. (2006) *Mol Sys Biol* doi:10.1038/msb4100049.