Dicty_cDB：細胞性粘菌cDNAデータベースの意義と課題

漆原秀子[1]、清水裕司[2]、牧野和佳[2]、大柳一[2]、杉岡功一[2]、古川茂豊[2]、川合浩之[3]、田仲可昌[1]
（[1] 筑波大学生命環境科学研究科、[2]三菱スペース・ソフトウエア株式会社、[3]筑波大学大学院システム情報工学研究科）

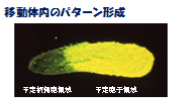
Dicty_cDBは、社会性アメーバとして知られる細胞性粘菌*Dictyostelium discoideum*のEST解析によって得られた配列一次情報にさまざまな二次情報を追加して公開している遺伝子情報データベースであり、WISHによる発現部位データベースATLASも内蔵している。EST解析は文科省科研費、JSPS未来開拓事業のサポートを得て*Dictyostelium* cDNAプロジェクトチームによって実施されたもので、DB作製自体も8年間にわたって研究成果公開促進費によりサポートされた。Dicty_cDBの最大の特徴は最新版情報の公開を目指していることであり、当初から配列の即時公開とアノテーション内容の継続的更新を実施している。プロジェクト終了後のデータベース管理に必要な人的・予算的ソースの捻出が大きな課題であったが、現在は筑波大学のレンタルサーバシステムを利用することによってセキュリティを損なわず公開にかかるコストを抑えるとともに、永続的公開を保証するために統合データベースに登録している。

細胞性粘菌は生活環に単細胞と多細胞の時期をもつ

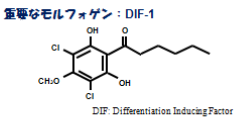
細胞性粘菌は単細胞として分裂増殖するが、飢餓を引き金としてアクラシンと総称される走化性物質を分泌するとともに、接着分子を合成して多細胞体制に移行し、胞子形成を行う。代表的な種である***Dictyostelium discoideum***では、セカンドメッセンジャーでもあるcAMPがアクラシンとしてはたらく。

*D. discoideum*における細胞分化の制御

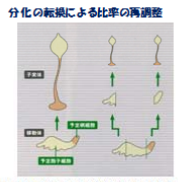
移動体内のパターン形成



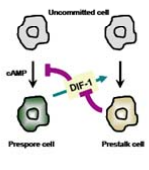
重要なモルフォゲン：DIF-1



分化の転換による比率の再調整



・予定胞子細胞が分泌し、予定柄細胞が分解する
・周囲の細胞を予定柄細胞にする

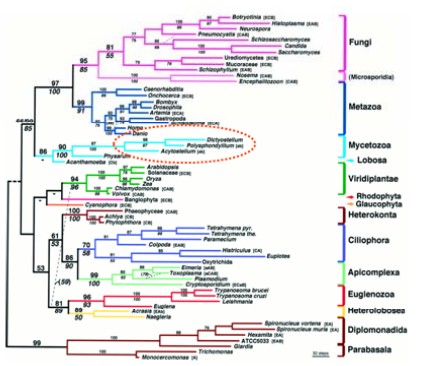


移動体を切断すると予定胞子細胞・予定柄細胞は脱分化し、どの断片からも正常な比率のミニ子実体を形成する

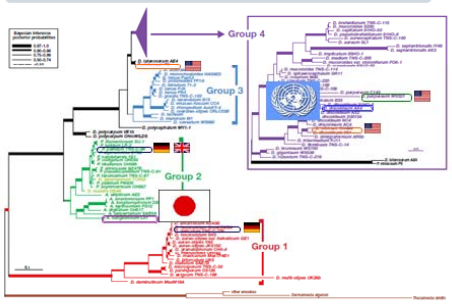
Dicty_cDBデータのまとめ

	オリゴdTライブラリー			完全長ライブラリー			差分化ライブラリー			全体*	
発生段階	名称	クローン	配列	名称	クローン	配列	名称	クローン	配列	クローン	配列
増殖期	VS	6,733	10,850	VF, VH	21,272	38,718	*	*	*	28,005	49,568
集合期	*	*	*	AF, AH	19,768	33,022	*	*	*	19,768	33,022
移動体期	SL,SS	14,423	19,759	SF, SH	14,099	22,806	*	*	*	28,522	42,565
形態形成期	*	*	*	CF, CH	17,564	28,783	*	*	*	17,564	28,783
配偶子	FC, FCL	1,122	1,450	*	*	*	FC-IC	903	1,896	2,025	3,346
全体		22,278	32,059		72,703	123,329		903	1,896	95,884	157,284

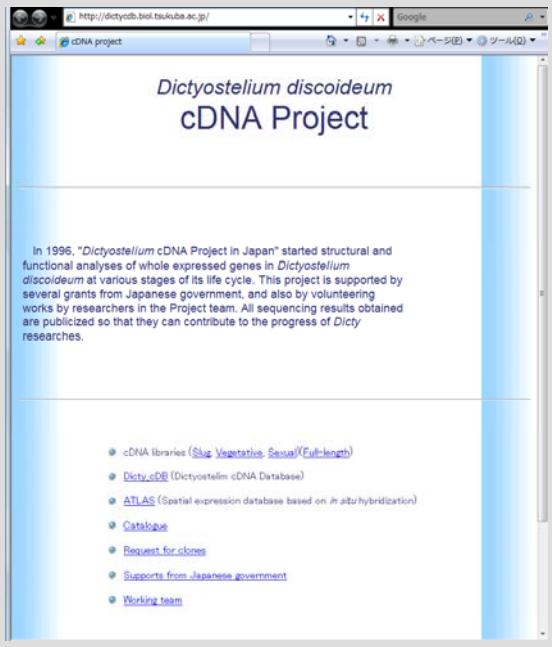
*PHRAPプログラムによるアセンブルを加工し、6,790の独立遺伝子を得た

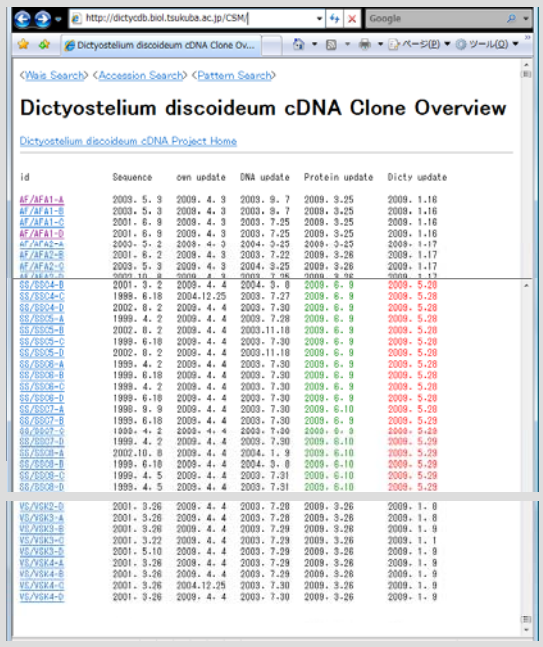


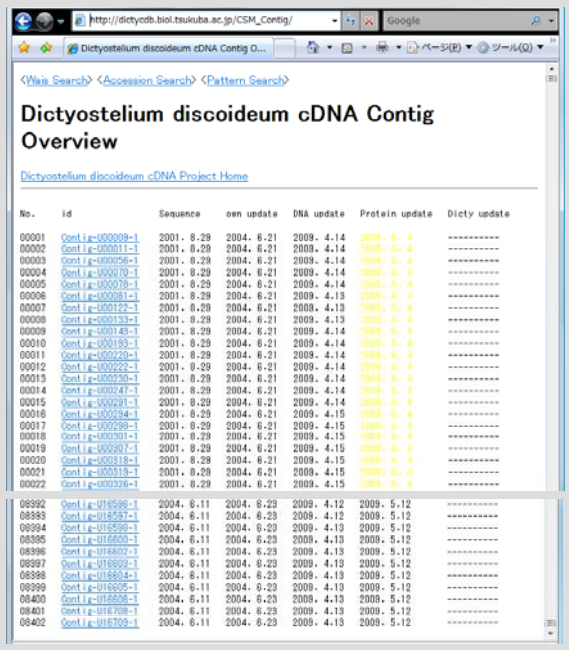
細胞性粘菌ゲノム解析の状況



P. Schaap et al., 2006, Science 314:661-663

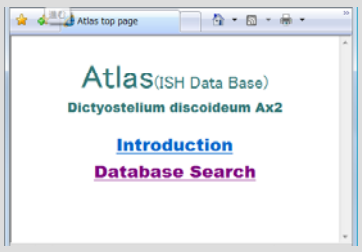


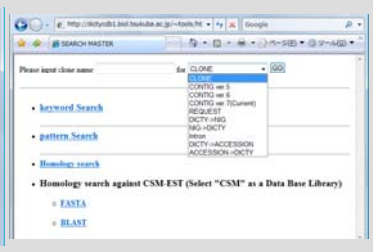


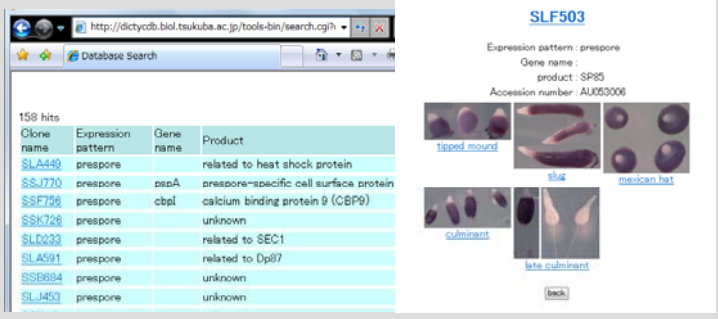


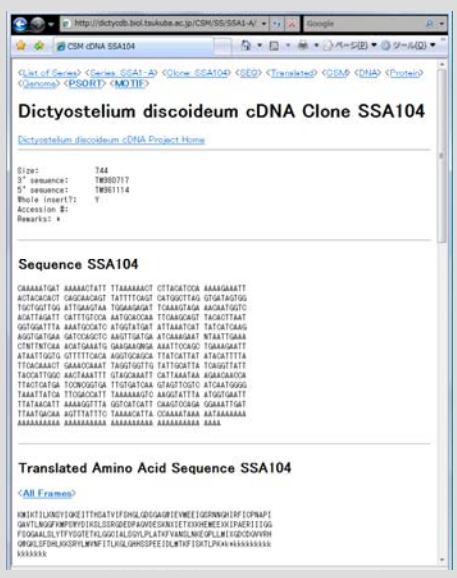
Dictyostelium discoideum cDNA Project からのEST配列をできるだけリアルタイムに近い形で公開することをめざした。配列の追加・修正は容易にデータベースに反映される構成になっている。プロジェクトは2005年3月に終了した。

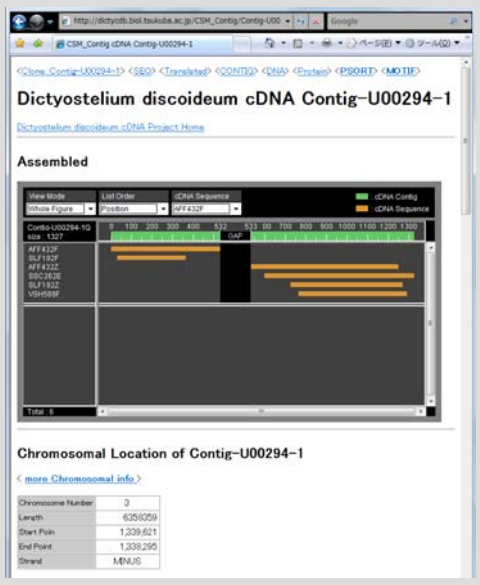
5種類の発生段階に由来する11種類のcDNAライブラリーからランダムに選んだ約9万クローンについて両端からの配列決定を行った。約15万の配列が登録されているこれらは8,402の非重複配列にアセンブルされた。









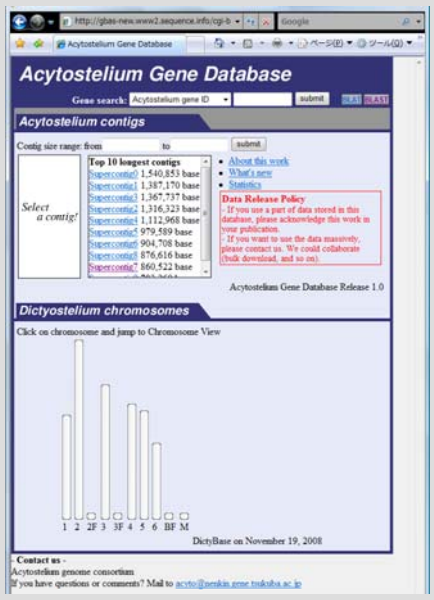


ATLASとしてWhole mount *in situ* hybridizationの画像データベースを公開している。*D. discoideum*の発生過程における予定胞子、予定柄細胞に特異的な遺伝子の発現パターンを収集している。

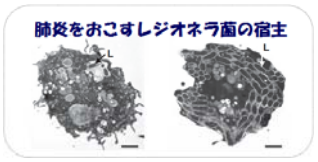
Dicty_cDBではcDNAクローンごとの配列とcDNA contig について配列とアノテーション、その他の情報を提供している。BLAST検索結果は現在でも古いものから順次自動的に更新されている。

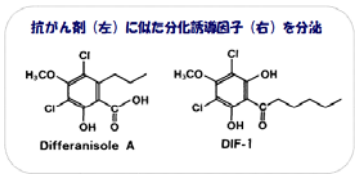
EST配列（緑のバー）はゲノム配列にマップされ、遺伝子モデルのキュレーションに貢献している（DictyBaseチームとの共同作業）。波線はクローンとしては存在するが配列が決定されていない部分。このアラインメントから完全長クローンを簡単に選抜できる。

cDNAクローンは分子生物学的実験に利用価値が高い。プロジェクト終了後のクローンの配布はNBRP-nenkin(ナショナルバイオリソースプロジェクト細胞性粘菌)の中核機関として筑波大学が行っている。完全長が確認されているcDNAをコレクション全体からピックアップして再整列し、提供している。。



比較ゲノム解析にも利用されている。図は*D. discoideum*をもとにして遺伝子モデルを構築した*Acytostelium subglobosum* の遺伝子データベース。この細胞性粘菌は多細胞化しても細胞分化せず、すべて胞子となる。





ゲノム解読は2005年に終了。医科学研究にも利用されている重要なモデル生物

プロジェクト終了後のデータベース維持をどうするかは深刻な問題である。現時点では筑波大学内の学術情報メディアセンター内にレンタルサーバを調達し、オリジナルサイトから毎日ミラーしている。これによりセキュリティ管理の問題は解消した。しかしこのシステムの継続にもある程度の人的資源や予算が必要であり、根本的な解決には至っていない。