

| 目的          | 相互作用確認                                                                            | 偽陽性テスト              | 判定             |   | GNPデータ<br>(全1,312相互作用) |            |                    |
|-------------|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------|----------------|---|------------------------|------------|--------------------|
| 共発現ペア       | ベイト<br>×1次陽性                                                                      | 偽陽性テスト用ベイト<br>×1次陽性 |                |   |                        |            |                    |
| β-gal<br>結果 |  |                     | 最終陽性<br>(特異性高) | A | 907 (69%)              | 陽性<br>80%  | 相互作用<br>確認済<br>94% |
|             |  |                     | 最終陽性<br>(特異性低) | B | 141 (11%)              |            |                    |
|             |  |                     | 偽陽性<br>(特異性無)  | C | 183 (14%)              | 偽陽性<br>20% |                    |
|             |  |                     | 偽陽性<br>(相互作用無) | D | 81 (6.2%)              |            |                    |

図3 β-galアッセイによる相互作用確認実験と特異性テスト

#### 4. ベイトとプレイの“transcription” アノテーション比率の解析(日立)

本研究においては、主に縦軸研究機関から指定されたタンパク質をベイトとしてスクリーニングを実施してきたが、それらの指定タンパク質は転写調節との関わりが既知であるものとそうでないものが混在する。今回、転写調節との関わりのあるタンパク質が全ベイトの中でどの程度存在するかを、Gene Ontology 情報を基に定量した。表2に示す通り、ベイト181遺伝子のうち、GOにおいて、“transcription”のアノテーションを有する遺伝子数は132個(73%)であった。一方、同様にプレイ遺伝子数887個のうち“transcription”のアノテーションを有する遺伝子数は、187個(21%)であった。ベイト側遺伝子に関しては、“transcription”アノテーション比率が高いが、プレイ側に関しては、これと比較すると低く21%に留まった。ただし、Entrez Gene に登録されている全ヒト遺伝子群の“transcription”アノテーション比率の7.7%と比較すると明瞭に高く、ヒト由来の各種ライブラリ中から転写に関わる遺伝子群が選択的にスクリーニングされていると考えられる。

表2 ベイトとプレイの“transcription” アノテーション比率

**transcriptionのアノテーションを有する遺伝子が  
ライブラリから選択的にスクリーニングされている**

| 遺伝子群 | GO “transcription”アノテーションを<br>有する遺伝子数 |
|------|---------------------------------------|
| ベイト  | 132 / 181 (73%)                       |
| プレイ  | 187 / 887 (21%)                       |
| 全体*  | 2,591 / 33,638 (7.7%)                 |

\*Entrez Gene に登録されている全ヒト遺伝子

## 5. ベイトとプレイ遺伝子群を豊富に含むパスウェイの解析（日立）

本研究により得られたベイトとプレイ遺伝子群が濃縮されているパスウェイを、MetaCore™により検索した。その結果、リガンド依存性核内受容体パスウェイの3件（表3のNo.1, 3, 5, 6）、細胞周期関連パスウェイ2件（表3のNo.9, 10）、脂質代謝関連パスウェイ1件（表3のNo.4）については、ベイトかつ／またはプレイがこれらのパスウェイに優位に濃縮されていると考えられる（表3において黄色でハイライト）。特に、核内受容体に関しては、縦軸研究機関との連携により最も集中的にスクリーニングを実施しているので、多くのデータが得られたと考えられる。表3のNo.4 脂質代謝関連パスウェイも、核内受容体パスウェイとの関連性が高いと考えられる。表3のNo.2, 7, 8（表3において灰色に表示）については、細胞骨格系・細胞構築に関わるパスウェイであるが、ベイト遺伝子群との有意な関連性は認められなかった（ $p\text{-value} > 9.34\text{E-}01$ ）。細胞骨格系・細胞構築関連タンパク質群は、一般的に発現量が高く、多数のタンパク質と比較的安定な相互作用をする傾向があり、Y2H スクリーニングによるプレイとしても高頻度に得られたことが考えられる。

表3 ベイトとプレイ遺伝子群を豊富に含むパスウェイ

| ベイト&プレイ1035遺伝子をクエリとして<br>検索されたパスウェイ (P-value順) |                                                                                          | クエリ             |        |            |        |            |        |
|------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|--------|------------|--------|------------|--------|
|                                                |                                                                                          | ベイト+プレイ<br>1035 |        | ベイト<br>181 |        | プレイ<br>887 |        |
| No.                                            | パスウェイ                                                                                    | P-value         | Ratio  | P-value    | Ratio  | P-value    | Ratio  |
| 1                                              | Transcription_Ligand-Dependent Transcription of Retinoid-Target genes                    | 6.05E-09        | 19/91  | 3.58E-08   | 13/91  | 1.58E-05   | 13/91  |
| 2                                              | Cytoskeleton remodeling_Keratin filaments                                                | 3.17E-07        | 18/104 | >9.34E-01  | —      | 1.74E-08   | 18/104 |
| 3                                              | Development_Ligand-dependent activation of the ESR1/AP-1 pathway                         | 4.07E-07        | 11/39  | 1.04E-06   | 8/39   | 3.62E-04   | 7/39   |
| 4                                              | Regulation of lipid metabolism_Regulation of fatty acid synthase activity in hepatocytes | 4.45E-06        | 12/58  | 8.71E-05   | 6/36   | 8.02E-03   | 5/36   |
| 5                                              | Regulation of lipid metabolism_Regulation of lipid metabolism via PPAR, RXR and VDR      | 4.47E-05        | 12/72  | 2.09E-08   | 12/72  | 2.47E-01   | 4/72   |
| 6                                              | Transcription_PPAR Pathway                                                               | 5.95E-05        | 15/110 | 8.85E-05   | 10/110 | 4.62E-04   | 12/110 |
| 7                                              | Cytoskeleton remodeling_Neurofilaments                                                   | 6.78E-05        | 12/75  | >9.34E-01  | —      | 1.03E-05   | 12/75  |
| 8                                              | Cell cycle_Spindle assembly and chromosome separation                                    | 7.99E-05        | 13/88  | >9.34E-01  | —      | 1.09E-05   | 13/88  |
| 9                                              | Cell cycle_Regulation of G1/S transition (part 2)                                        | 1.41E-04        | 11/69  | 3.06E-03   | 6/69   | 2.76E-03   | 8/69   |
| 10                                             | Cell cycle_Cell cycle (generic schema)                                                   | 1.83E-04        | 11/71  | 6.52E-04   | 7/71   | 3.82E-02   | 6/71   |

Ratio: 各パスウェイに存在するクエリ遺伝子数/各パスウェイにおける全遺伝子数

■: ベイト・プレイ遺伝子群が有意に濃縮されているパスウェイ

■: プレイ遺伝子群だけ濃縮され、ベイト遺伝子群は濃縮されていないパスウェイ  
MetaCore™データベース検索による

## 6. 日立Y2Hネットワークデータと疾患の関連性解析（日立）

本研究により得られたベイトとプレイ遺伝子群をクエリとして、MetaCore™を用いて、疾患遺伝子群の検索を行った。p 値の低い順に第 20 位までの結果を表 4 にまとめた。表 4 において、p 値が  $5.36\text{E-}11$  以下の第 9 位までにランクされている疾患は、全て生殖器・癌関連疾患であった。本 Y2H 解析においては、Breast cancer / Prostate cancer ライブラリ由来のプレイが最も多く取得されている事実と対応しているものと考えられる。前述のパスウェイ検索結果と照合すると、前立腺癌、乳癌に関わるアンドロジェンやエストロジェン等の性ホルモンリガンドの核内受容体ネットワークに関する情報が、本研究により豊富に得られていると考えられる。今後は、これらのネットワークに含まれる疾患の新規パスウェイを同定し、新たな創薬ターゲットや診断マーカーの探索を実施することが重要と考えられる。