バイオ研究者間の情報共有のためのプロテオーム XML 記述方式

An XML Format for Proteomics Database to Accelerate Collaboration among Bio researchers

水口 弘紀[†] 上條 憲一[‡] 次田 皓^{‡,*}

Hironori MIZUGUCHI[†] Ken'ichi KAMIJO[‡] and Akira TSUGITA^{‡,*}

プロテオーム解析におけるデータ共有のための XML 記述方式を提案する。さらに、本 XML 記述を使ったプロトタイプを開発した。プロテオーム解析は、細胞内で発現しているタンパク質の網羅的同定やタンパク質の機能解明を目的とする。プロテオーム解析では、解析対象となる試料情報、タンパク質の分離手法、解析結果である分離されたタンパク質名称、機能情報などを扱う。特に、解析データを共有、交換し、実験の再現や比較を行うには、実験結果だけでなくタンパク質の分離手法などの実験手順情報も重要となる。我々は、バイオ研究者間のデータ共有をより簡単に行うことを目指し、プロテオーム解析結果だけでなく、実験手順情報も記述できる XML を用いたデータ記述方法を提案する。さらに、実験手順に応じて情報を入力し容易に XML データを作成できるエディタと、この XML データを登録検索できるデータベースサーバシステムを開発した。

We propose an XML (eXtensible Markup Language) format for proteomics database to exchange proteome analysis data. The XML-based data is highly machine-readable and easy to represent information hierarchy and relationships. There have been several XML formats of proteome data which mainly represent the sequence information stored in the Protein Identification Resource (PIR) and the Protein Data Base (PDB). Our XML-based data format has a proteome-analysis-oriented structure and describes information of sample preparation, 2D gel electrophoresis images, spot identification information in the gels and the sequence information of the spots. The model is used to exchange both of preparation parameters and the results of 2D gel electrophoresis analysis. It would accelerate collaboration among proteomics researchers if a platform exchanging these data is developed on the internet. By using the XML-based data format for proteomics, we have developed an XML editor and a web-based prototype system which consists of XML database, agent, security and graphical user interface (GUI).

キーワード：バイオインフォマティクス、プロテオーム解析、情報共有、XML、データベース
Bioinformatics, Proteome, Information sharing, XML, Database

1. はじめに

近年、バイオテクノロジーやライフサイエンスの分野では、データベースを利用した情

報蓄積、インターネットを利用した情報共有を盛んに行っている。データベースのエントリー数も毎年増加しており、遺伝子の公開データベースの DDBJ, EMBL, GenBank などでは、年に 2 倍のペースで増加している^[1]。バイオ研究者は、新たに発見した情報を論文発表する前に、関連する遺伝子やタンパク質の情報を公開データベースへ登録することが義務付けられている場合が多く、データベースの重要性は増す一方である。バイオ研究は、このような公開データベースを検索し、新しい

[†] NEC インターネットシステム研究所, Internet Systems Research Laboratories, NEC Corporation, 奈良県生駒市高山町 8916-47
E-mail: hironori@ab.jp.nec.com

[‡] NEC 基礎研究所プロテオミクス研究センター, Proteomics Research Center, Fundamental Research Laboratories, NEC Corporation, 茨城県つくば市御幸が丘 34 番地
E-mail: k-kamijo@az.jp.nec.com

* E-mail: a-tsugita@ce.jp.nec.com

情報を取得し、取得した情報を利用して新たな発見が生まれる、というサイクルによって発展していると言っても過言ではない。

プロテオミクスは、細胞中で発現¹しているタンパク質（プロテイン）の網羅的な同定（タンパク質名称のマイニングなど）や、タンパク質立体構造の同定、タンパク質の機能解明などタンパク質に関わる研究分野である。細胞や組織などの試料から、タンパク質を分離し、分離されたタンパク質の名前を同定し、機能を調べることをプロテオーム解析と呼ぶ。タンパク質は、20種類のアミノ酸を組み合わせた一次元配列で表されており、その配列情報やタンパク質の名前を知ることが、機能解明の一步となる。また、タンパク質は臓器や病気に応じて細胞内に存在する種類が異なっていることがわかっており、病気解明や創薬への利用が注目されている。タンパク質の種類は非常に多く、たとえば、ヒトの場合、約4万種類の遺伝子から作られるタンパク質は選択的スプライシングや修飾、切断などの生化学的な作用によって、10万種類以上存在すると言われている。研究者は、これらの遺伝子やタンパク質データを公開データベースに登録し、共有することで、調査対象の細胞に存在するタンパク質の同定、その立体構造や機能の解明につなげていく。

従来、バイオ分野で多く用いられてきたデータフォーマットは、特殊な例を除きテキストファイルであり、ほとんど構造を持っておらず、データベース毎に記述方法も異なっている。このようなデータは、一般のテキストエディタで編集することができ、研究者にとって見やすいという利点がある。しかし、コンピュータ処理に必要なデータ交換のためには、データベース毎に特別な読み込みなどの処理を用意しなければならない、不向きである。

我々は、プロテオーム解析の結果などを研究者間で共有し、プロテオミクスを促進させるためのXML記述方法を提案した。XMLは、

テキストファイルとしてデータを保存でき、しかも、構造化されているのでソフトウェアでの処理も容易である。このため、研究者が見て理解でき、コンピュータ同士のデータ交換にも適している。

提案するXML記述方法の特徴は、実験結果のタンパク質データだけでなく、実験過程（実験プロトコルとも呼ばれる）を記述できる点である。プロテオーム解析における実験は、実験の再現性が重要であり、実験に使われた試薬や、調合方法、温度などの実験プロトコルに関する情報を記述することにより、実験の信頼性を判断したり、追試を行ったりすることが可能となる。また、それらの情報がプロテオーム解析の結果に付加されることにより、解析結果の信頼性が向上したり、自らの解析結果との比較を行ったりすることができる。

さらに、提案するXML記述方法を容易に記述するエディタと、このXMLデータを登録、検索し共有するためのデータベースサーバシステムを開発した。エディタは、プロテオーム解析の実験手順毎に入力を行うことで簡単にデータを作成できる。データベースサーバシステムは、検索項目を細かく指定可能であり、実験結果だけでなく実験プロトコルに利用した試薬までも検索可能である。

2. プロテオーム解析のインフォーマティクスにおける課題

プロテオーム解析は、多くの公開データベースを利用して、タンパク質の同定や機能発見を行う。これら公開データベースのエントリは、一般にフラットファイルフォーマットと呼ばれる構造化されていないテキスト形式で公開されている。タンパク質データベースで世界的に有名なPIR^[2]とSWISS-PROT^[3]のエントリ例を図1に示す。左がPIR、右がSWISS-PROTのエントリであり、同じタンパク質データを表している。双方とも、各行がデータ項目をあらわしており、行頭に項目名、次に空白、次に項目内容を記述している。

¹ 発現とは、細胞内の遺伝子がタンパク質を作り出すことをいう。

PIR の内容は以下である。1 行目に識別子, 2 行目にタンパク質の機能概要を示す意味のわかるタイトル, 3 行目から 5 行目に生物種名と生物種データベースへの参照, 6 行目から 8 行目にデータベースエントリーの作成更新日時, 9 行目にデータベースへアクセスするための番号, 10 行目から論文などへの参照, 次にアミノ酸配列が示されている。SWISS-PROT の内容は以下である。1 行目に識別子, 2 行目にデータベースへアクセスするための番号, 3 行目から 5 行目に作成更新日時, 6 行目に機能概要, 7 行目に関連遺伝子名, 8 行目に生物種, 次に参照情報, アミノ酸配列情報が示されている。

この例から次の二つの課題が挙げられる。

- データフォーマットが異なる
- 実験過程情報の欠如

図 1 の二つのデータベースのデータフォーマットは, 各行がデータ項目を表すことや, 識別子, 論文への参照, アミノ酸配列を持つことなどの共通性はあるものの, 項目の数や順序も異なり, 項目の意味は同じであるが項目名が異なっているなど記述形式が異なる。このようにフォーマットが異なっていると, データ内容や項目の違いを理解せねばならず研究者間でのデータ交換を行って, コンピュータで管理することは難しいと思われる。研究者間で同じフォーマットのデータ, もしくは,

フォーマットが簡単に変換できるデータを共有する必要がある。

一般にデータベースのエントリー内容は, 実験対象となる生物種や組織名, 機能, 発表論文への参照など実験結果や解析結果の情報のみであり, 実験過程の情報は多種多様な手段を用いているため含まれていない。実験過程は, 実験結果や解析結果データの信頼性の判断や実験結果の比較のためには必要である。特に, プロテオーム解析では, 実験に利用する試薬は研究者ごとに異なる場合があり, 実験対象が同じであっても試薬の違いによって実験結果が異なる。したがって, どのような手順, 試薬を利用したか明確に記述することは, 実験結果の信頼性を向上させる上で必要である。

3. 課題解決へのアプローチ

これらの二つの課題に対し, 実験過程を記述できるプロテオーム XML 記述形式を提案する。XML で記述することで, データ共有に利用しやすいフォーマットとなり, フラットファイルの課題を解決できる。XML の特徴である, 人間も計算機も読み書き可能である点, データ交換の容易さ, XSLT を利用したデータ構造の簡単な変換ができることなどを有効に活用することができる。さらに, 提案

ENTRY	xxxxx
TITLE	G protein-coupled xxxx
ORGANISM	
	#formal_name Caenorhabditis elegans
	#cross-references taxon:6239
DATE	29-Oct-1999
	#sequence_revision 29-Oct-1999
	#text_change 29-Oct-1999
ACCESSIONS	xxxx
REFERENCE	Z21511
	#authors (省略)
	(省略)
SEQUENCE	
	(省略)

ID	xxxx
AC	xxxx
DT	01-NOV-1995 (Rel. 32, Created)
DT	15-DEC-1996 (Rel. 33, Last sequence update)
DT	(省略)
DE	Serpentine receptors xxxx
GN	SRG-9 OR T12A2.10.
OS	Caenorhabditis elegans.
	(省略)
RN	[1]
RP	SEQUENCE FROM N. A.
RC	STRAIN=(省略);
RA	(省略)
SQ	
	(省略)

図 1: タンパク質データベース PIR (左) と SWISS-PROT (右) のエントリー例
(図中“(省略)”の部分は紙面の都合のため省略)

する記述方式には実験結果だけでなく、実験過程も記述できるため、実験の比較や妥当性の検証などを行うことができる。

最近、バイオ分野ではデータベース間でのフォーマットの違いを吸収するため、公開データベースのエントリを XML で記述することが行われている。また、データ解析ソフトウェアでの XML 利用も行われている。

遺伝子データベース GenBank^[4], EMBL^[5], DDBJ^[6], タンパク質データベース PIR^[2]は、データベースエントリを XML で提供するサービスを開始している。これらは、既存のデータエントリを XML で記述しユーザに提供している。しかし、これらには、実験過程があまりに多種多様なため、実験を再現する実験過程情報は含まれていない。

データ解析ソフトウェアで利用するために独自に決めた XML 記述方法として、BSML^[7], BIOML^[8]がある。これらは、ソフトウェアで独自に決めたフォーマットであり、主に遺伝子塩基配列やタンパク質アミノ酸配列データを格納するために用いられる。データは配列データのみである。

実験過程の情報を XML 化しようという試みは、プロテオミクス分野ではなく、遺伝子の発現解析分野で行われている。たとえば、データ解析ソフトウェアと実験機器で交換するための XML 記述方法として MAGE-ML^[9]

がある。これは、遺伝子解析用の実験機器であるマイクロアレイに用いられるフォーマットであり、実験結果を解析するためのソフトウェアとのデータ交換が目的である。MAGE-ML には、実験過程情報も含まれているが、遺伝子の機能などを解析するゲノム研究に適用するフォーマットであり、マイクロアレイ機器に特化したフォーマットである。

4. プロテオーム解析の実験プロトコル

プロテオーム解析は、創薬や診断のマーカーのための標的タンパクを探したり、興味ある組織で発現しているタンパク質を網羅的に調べたりする目的で使われる。例えば、正常細胞で発現しているタンパク質と疾患細胞で発現しているタンパク質の集合を比較して、標的タンパク質を探したり、同じ組織でも、時間的経過によるタンパク質発現の変化を調べたりすることができる。

図2にプロテオーム解析の実験過程の一例を示す。一般に、プロテオーム解析は、タンパク質を分離するための二次元電気泳動法や液体クロマトグラフィ法、タンパク質を同定するためのペプチド・マス・フィンガープリント法、ペプチド・シーケンス・タグ法、N 末端シーケンシング法、C 末端シーケンシン

図 2: タンパク質同定における実験過程

グ法，フラグメントペプチドのマス／マス分析で，そのペプチドの両末端のシーケンス法などを行う．以下では，二次元電気泳動法と，ペプチド・マス・フィンガープリント法を用いた実験過程を説明する．

研究者は，最初に，研究ターゲットとなる試料を決定する．試料とは，発現しているタンパク質を調べたい細胞や組織である．研究対象となるヒトやイネといった生物種，肝臓や腎臓，あるいは葉や根といった部位，病気や発芽といった状態から試料を決定する．

次に，試料からサンプル調整を行う．サンプル調整とは，試料となる細胞や組織からタンパク質を溶液中に抽出する工程である．細胞は細胞膜に覆われているため種々のデタージェントを用いたり超音波などを用いて破壊し，さらに，細胞にはタンパク質以外の物質も含まれているため様々な試薬や遠心分離機などを利用して分離抽出する．詳細は，参考文献^{[10][11][12]}に紹介されている．試料に応じて，適切な細胞破壊の方法やタンパク質抽出の試薬などがある．

サンプル調整で得られたサンプルには多く

の種類のタンパク質が溶け込んでいるため，次に，これらを二次元電気泳動法によりタンパク質を性質別に分離する．サンプルを電荷と分子量というタンパク質の性質別に分離するのが二次元電気泳動法であり，これにより3000種類以上のタンパク質を一度に分離できる．この実験は4つのステップに分かれる．1) サンプルを流し入れ棒状ゲルに接触させ，ゲルの両端に電極を付け，適切な電圧をかける．これにより，タンパク質は電荷に応じて対応する位置に移動する．2) 垂直に立てた平面状のゲルに，この棒状のゲルをのせ，上下に電圧をかける．これにより分子量の違いによってタンパク質の移動速度が異なるため，小さいタンパク質が下に，大きいタンパク質が上になるように展開される．3) タンパク質を可視化するために，たとえば銀染色とよばれる方法でタンパク質を染め，このゲルをイメージスキャナで読み取る．4) 分離されたタンパク質の位置を認識ソフトウェアで解析する．この詳細は，参考文献^{[10][11][12]}に紹介されている．この結果の例を図3に示す．横軸に電荷 (Isoelectric Point) ごと，縦軸に分子

図3: C.elegans (線虫) の二次元電気泳動結果

量 (Molecular Weight) ごとのタンパク質が分離されている。黒茶色に染まった部分が分離されたタンパク質の集まりであり、これをスポットと呼ぶ。この画像を手順4)の認識ソフトウェアで処理することで、各スポットの位置が自動または手動で認識される。

解析対象となるスポットを決めると、次は、質量分析実験によりそのスポットのタンパク質の同定を行う。二次元電気泳動法により平面状ゲルに分離したタンパク質のスポットに対し、ペプチド・マス・フィンガープリント法と呼ばれる方法を使って詳細な質量を分析する。まず、各スポットをゲルから一つずつ切り出す。次に、消化酵素（トリプシンなど）を用いてタンパク質をアミノ酸配列の特定位置で切り離す。分割されたタンパク質断片を質量分析器で計測して、分割されたそれぞれの質量位置にピークがある質量スペクトルを得る。

タンパク質の同定は、既存のタンパク質データベースを用いたデータマイニングにより行う。データベース中のタンパク質に消化酵素を適用した場合の質量スペクトルを、コンピュータで計算する。この計算結果と観測された質量スペクトルが同じパターンであれば、そのタンパク質であると決定する。同じ性質を持ったタンパク質は複数存在する場合があります。そのため、複数の候補の中から研究者が似た生物種や部位などを判断し、タンパク質を同定する。

これら実験を繰り返し、研究ターゲットとなる状態から、タンパク質の機能を推定し論文などで発表する。

5. プロテオーム XML

プロテオミクス研究者の情報共有を容易に実現し、研究を促進させるために、XMLを利用したデータ共有フォーマットを提案する。このXMLフォーマットの特徴は、Simpson^[13]ら、および、次田^[14]の提案した、データベースに必要と考えられる解析結果情報に加えて、実験過程も記述することが可能である。

5.1. XML 記述方式

提案するXML記述はプロテオーム実験プロトコルに対応した構造を持っている。おおまかな構造を図4に示す。それぞれの項目は、4節で示した実験プロトコルに対応している。

一連の実験をまとめるルート項目“Proteome”の直下に項目“Gel”を記述する。項目“Gel”は一回の実験過程や実験結果を示す項目である。研究者は同じ試料に対して複数回の実験を行ったり、正常や疾患の違いを比較したりすることに対応するため、項目“Gel”は複数記述することができる。

項目“Gel”の下には、項目“Submitter”、“Source info.”、“Sample Preparation”、“Gel Conditions”、“Gel Image”、“Spot List”がある。

項目“Submitter”は実験者や記述者の名前などである。項目“Source Info.”は、研究ターゲットとなる試料情報であり生物種や部位の名前などである。項目“Sample Preparation”は、サンプル調整方法であり、細胞の破壊方法やタンパク質抽出に使用した試薬などの情報を記述する。項目“Gel Conditions”は、二

図4: プロテオーム XML の構造

図 5: “Sample Preparation” (左) と “Gel Conditions” (右) の記述例

次元電気泳動時の電圧などの条件やゲルを調整するために利用した試薬などである。項目 “Gel Image” は、画像情報であり画像サイズ、利用したイメージスキャナ名称などを記述する。項目 “Spot List” は、各スポットの情報である。この項目の下には、二次元電気泳動結果のスポット位置や、質量分析器の解析結果、タンパク質名称などを記述できる。

項目 “Sample Preparation” と項目 “Gel Conditions” の例を図 5 に示す。このように、我々の XML 記述方式は、他のプロテオーム記述方法と異なり、実験過程を細かく記述できる。

これらの構造は XML で記述することにより、データ交換に適した汎用性の高いフォーマットとなっている。XML はテキストファイルとしてデータを保存でき、しかも、ソフトウェアでの処理方式も決まっているため、人が見て理解でき、コンピュータ同士のデータ交換にも適している。また、データ共有に必要なデータ交換の容易さや、XSLT を利用したデータ構造の変換といった点も活用できる。

5.2. プロトタイプシステム

このような記述を有効に利用するためのプロトタイプを開発した。このプロトタイプは、

我々のプロテオーム XML 記述にしたがってデータを記述できるエディタと、XML データを登録検索できるデータベースサーバになる。

プロテオーム XML エディタ

プロテオーム XML エディタは、プロテオーム実験プロトコルに対応した入力インタフェースを持ち、各種データインポート機能を持つことにより、プロテオーム XML 記述に対応したデータを容易に作成することができる。XML エディタの適用例を図 6 に示す。提案した XML 記述方式は、実験過程を明確に記述できるが、これにしたがって記述するためには、試薬名称、適用順序など多くの入力が必要とする。本 XML エディタは、このような入力作業を軽減することを目的としている。

本 XML エディタは実験プロトコルに従って記述することで、容易にデータを作成することができる。左側のツリービューの各項目は上から順番に実験プロトコルの各ステップを示している。ツリービューのステップを選択することで、そのステップで必要な入力項目を表示する。入力項目はタブで示され、各タブはより詳細な実験手順を示している。さらに、再利用可能なデータをエクスポートしたり、インポートしたりすることができる。たとえば、同じ生物種の同じ部位の細胞であ

図 6: エディタ画面例

図 7: データベースサーバ例

れば、そのサンプル調整方法は同じ場合が多い。このエディタでは、一度記述したサンプル調整方法を XML 形式で保存し、再度読み出すことができる。また、質量分析器などの解析機器のデータを読み込むことで、入力の手間を軽減することができる。

さらに、二次元電気泳動結果の画像上にスポットを表示でき、各スポットのデータはデータベースへのリンクとなっている。研究者が同定したタンパク質の公開データベース名とエントリー識別子を入力し、ボタンをクリックすることでデータベースエントリーをすぐに閲覧することができる。

XML データベースサーバ

データベースサーバは、複数のプロテオーム XML データからタンパク質の名称や、生物の名称だけでなく、利用した試薬の名前なども利用して検索することができ、必要であれば対象となる XML データを表示したり、ダウンロードしたりすることも可能である。データベースサーバのアクセス例を図 7 に示す。

試薬まで検索できることにより、同じ生物や同じ部位について研究している研究者がどのような試薬を用いてプロテオーム解析を行っているかなどを検索することもできる。これにより、実験結果の比較が可能であるかを判断することや、実験の妥当性を検証するために追試を行うといったことが、別な研究者でも可能となる。ダウンロードできることで、前述のエディタのインポート機能と共に利用すれば、別の研究者の試薬データを利用して自分の実験を行うこともできる。

6. まとめ

プロテオーム解析の結果だけでなく実験過程も記述できる XML 記述方式を提案し、プロトタイプシステムを作成した。XML 記述方式はサンプル調整などプロテオーム実験プロトコルを反映したものである。XML を利用することでデータ共有を容易に行うことが

できる。プロトタイプシステムは、XML 記述データを簡単に作成できるエディタ、XML 記述データを登録検索するデータベースサーバを作成した。

今後この XML 記述方式における DTD^[15] や XML Schema を、プロテオーム研究者の国際組織である AOHUPO(Asia Oceania Human Proteome Organization) と共に決定し、XML エディタを配布する予定である。

謝辞

論文執筆にあたり、ご助言をいただいた NEC インターネットシステム研究所の久寿居大氏に感謝いたします。

参考文献

- [1] 日本 DNA データバンク: DDBJ の統計「DDBJ/EMBL/GenBank database 塩基配列の推移」, <http://www.ddbj.nig.ac.jp/ddbjnew/statistics-j.html> (2002 年 10 月 25 日参照)。
- [2] National Biomedical Research Foundation, Georgetown University Medical Center: "PIR(Protein Information Resource)", <http://pir.georgetown.edu/> (2002 年 10 月 25 日参照)。
- [3] Swiss Institute of Bioinformatics: "SWISS-PROT Protein knowledge-base", <http://tw.expasy.org/sprot/> (2002 年 10 月 25 日参照)。
- [4] National Center for Biotechnology Information: "XML at NCBI", <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/IEB/ToolBox/XML/> (2002 年 10 月 25 日参照)。
- [5] European Bioinformatics Institute: "The XEMBL Project", <http://www.ebi.ac.uk/xembl/> (2002 年 10 月 25 日参照)。

- [6] 日本 DNA データバンク: “XML Central of DDBJ”, <http://xml.nig.ac.jp/index.html> (2002 年 10 月 25 日参照).
- [7] LabBook inc.: “BSML (Bioinformatic Sequence Markup Language)”, <http://www.bsml.org/> (2002 年 10 月 25 日参照).
- [8] Proteometrics, LLC and Proteometrics Canada Ltd: “BIOML (BIOpolymer Markup Language)”, <http://www.bioml.com/BIOML/index.html> (2002 年 10 月 25 日参照).
- [9] Microarray Gene Expression Data Society: “MAGE-ML (Microarray Gene Expression - Markup Language)”, <http://www.mged.org/Workgroups/MAGE/mage.html> (2002 年 10 月 25 日参照).
- [10] 磯辺敏明, 高橋信明 編: 「プロテオーム解析法 タンパク質発現・機能解析の先端技術とゲノム医薬・創薬研究」, 羊土社, 282p, 2000.
- [11] 岡田雅人, 宮崎香 編: 「改訂 タンパク質実験ノート 上 抽出と分離精製」, 羊土社, 191p, 2002.
- [12] 岡田雅人, 宮崎香 編: 「改訂 タンパク質実験ノート 下 分離同定から一次構造の決定まで」, 羊土社, 163p, 2002.
- [13] Simpson, R.J.; Tsugita, A.; Celis, J.E.; Garrels, J.I.; Mews, H.W. : “Workshop on two-dimensional gel protein databases”, Electrophoresis 13, pp.1055-1061, 1992.
- [14] 次田皓: 「ポストゲノムにおけるプロテオーム研究」, 情報知識学会誌, Vol.10, No.4, pp.32-42, 2001.
- [15] Kamijo, K.; Yamazaki, T.; Tsugita, A: “A Proposition of XML Format for Proteomics Database”, Proc. Of 18th International CODATA Conference, p.50, 2002.

(2002 年 11 月 14 日受付)

(2002 年 11 月 30 日採録)