

## Biobjeによる遺伝子発現シミュレーションの線虫個体への応用

●木村 芳滋 ◆萩原 正敏

東京医科歯科大学 難治疾患研究所

### 〈研究の目的と進め方〉

我々は細胞内位置情報や時間軸を考慮し、実測データと参照可能な生物シミュレーターモデルBiobjeを作成してきた。Biobjeにより、時計遺伝子をモデルとして細胞内遺伝子発現過程シミュレーション実験が可能となった。そこで次にBiobjeの系を使って個体レベルでの遺伝子発現シミュレーションを実現するのが、本研究の目的である。実際に用いるモデルとして、1) 細胞系譜が確立され、2) 遺伝学的解析が進展し、3) ゲノムプロジェクトが早期に終了し、4) 透明でGFPモニター系が容易に導入できるなどの利点をもち広く用いられている線虫(*C.elegans*)を用いる。遺伝子発現やその制御シグナルの動的過程を特定の神経細胞内でモニターしたうえで、動的遺伝子発現調節とダイナミックな細胞運命選択モデルをリンクしたシミュレーションモデルを樹立することを目指す。次に、より高次な生命現象として線虫の行動と化学物質に対する走化性に関するシミュレーションを構築する。これまでに開発済みの細胞レベルでの遺伝子発現シミュレータ開発で培ったノウハウを応用し、個体レベルの行動予測シミュレータを開発し、線虫の行動予測を行う。このように細胞レベル、組織レベル、個体レベルと3層構造を有する理論モデルの構築をし、より正確で有用なモデル構築の為に、それぞれのレベルのモデルに必要な情報(入力値等)と、モデルの妥当性を、並行して行う実験との連携をとりながら、比較、決定して行く。

### 〈研究開始時の研究計画〉

1) 新しいシミュレーターBiobjeの改良、熟成、適用系の拡大

Biobjeにより、これまでに1細胞における時計遺伝子の周期的発現変動をシミュレートすることができたので、平成14年度は線虫の神経活動や胚発生のよう、外界からの刺激によりリン酸化カスケードを介して遺伝子発現が制御されるような多細胞の複雑なモデル系における遺伝子発現シミュレーションが可能となるように、Biobjeを拡張する。線虫は約1000個の細胞より構成されるが、初年度は互いに連関する10程度の細胞で、転写因子CREBによって活性化される遺伝子群の発現シミュレーションを実現する。

2) 線虫細胞内転写過程の可視化

独自に開発した転写因子CREBのリン酸化モニターART及びCRE::GFPによる*in vivo*レポーターアッセイを使って、神経活動や胚発生に伴う遺伝子発現過程の経時変化を定量的に測定する。

3) 上記の経時的定量的データをシミュレーターに組み入れることにより、転写制御の動的過程を表現解析できるモデルを樹立する。

### 〈研究期間の成果〉

本研究室にておいて開発された、遺伝子発現シミュレーターBiobjeの基本アルゴリズムを応用し、線虫の行動

パターン解析用の理論モデルを作成した。実際の線虫の移動パターンに関しては、統計処理された実験データを論文等より収集し、このモデルに入力することによって、前進、後退、一定時間ごとに見られるターン現象など線虫の行動パターンを再現することに成功した。また、線虫を誘引する化学物質に対する走化性のシミュレーションにも成功した。インターフェース面では、UNIX上でのglibを利用したC++での開発からJAVA言語を利用した開発に切り替え、行動パターンの実験データを収集するソフトとの連携を考慮して開発を進めた。現在はWindow OS上で利用出来るインターフェースを開発済みである。

基本的なモデリング手法の開発、応用については、遺伝子発現シミュレーターにてモデル構築理論に、統計的、数学的なアルゴリズムを追加し、より詳細な条件下(たんぱく質、mRNAの拡散、移動パターン、局在を扱うことができる)でのシミュレーションが可能となった。我々は、この新たなモデリング手法を組み込んだBIOBJEを用い、ショウジョウバエにみられるサーカディアンリズム系の遺伝子発現ネットワークについて、詳細な解析を行い、その遺伝子制御パターンを再現できた。

### 〈国内外での成果の位置づけ〉

これらの成果については国際会議(GIW2002)において発表を行い、生物シミュレーションの一手法としての提案をした。また、『ゲノム広場』に出展し、一般の方々に興味と研究に対してのご理解を頂くよう発表を行い、好評を得た。

### 〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

行動予測シミュレータの開発は理論的なモデルの開発のみにとどまり、当初予定した線虫の行動についての実測との比較検討が不十分であった。

### 〈今後の課題〉

前記の行動予測シミュレータが困難であった原因として線虫の行動を安定化するための培養プレートの状態や、温度等、細かい条件設定とそれを測定するシステム環境を整えることが出来なかった点がある。より精密な条件設定が必要である。今後の課題と考えられる

### 〈研究期間の全成果公表リスト〉

1. Ohki, N. and Hagiwara, M. Bio-Object, a stochastic simulator for post-transcriptional regulation. *Bioinformatics* 21:2478-2487, 2005.
2. Kimura Y, Corcoran EE, Eto K, Gengyo-Ando K, Muramatsu MA, Kobayashi R, Freedman JH, Mitani S, Hagiwara M, Means AR, Tokumitsu H. A CaMK cascade activates CRE-mediated transcription in neurons of *Caenorhabditis elegans*. *EMBO Report*: 3, 962-966, 2002.

3.

Ohki, N. and Hagiwara, M. Theoretical Analyses of Circadian Oscillation Regulated by mRNA Half-Life. *Genome Informatics* 13: 472-473, 2002