

ハイブリッドペトリネットを用いた細胞周期制御因子のシミュレーションモデルの開発

●小谷 秀示¹⁾ ◆吉岡 隆²⁾

1) 東京医科歯科大学難治疾患研究所 2) (株) NTTデータ

〈研究の目的と進め方〉

これまでにシミュレーションが試みられてきた転写調節やシグナル伝達と比較した場合、細胞周期の生物システムは細胞生物学的動態を含み可視的变化に飛ぶこと、細胞周期を制御するほとんどの因子がフィードバックシステムを持ち、全体としてサークル状の伝達系対を持つことが特徴である。細胞周期システムをシミュレートする試みはこれまでに何度となくなされてきたが、学説に不完全な部分も多くあったため生物学者が期待するようなシミュレーションの系を建てるのが出来なかった。そこで、私たちは、これまでの生物学的な結論を総括し、新たにハイブリッドペトリネット (HPN) というツールを用いることで、in vivoの細胞の細胞周期に近いシミュレーションの系を開発することを目的としている。

〈研究開始時の研究計画〉

- ①ハイブリッドペトリネットの記述性の検証：動作が軽快で生物の人にも簡単なことが特長でもあるこのモデルが、生物に適用される為に必要な反応を記述できるかどうかを確かめる。具体的には、mass-action, 酵素-基質反応系を中心に微分方程式で書いた場合と比較し必要な精度を得られることを確認する。
- ②階層化の導入可能性を検討：階層化という手法は概念的に優れており、細胞膜近辺、細胞質内核付近、核内などの細胞内局在を反映する目的に適っている。また、反応を記述するレベルのコントロールにも用いることが出来る。詳細な分子反応を観察したい場合には微視的なレイヤーで、全体的な流れを掴みたい場合には巨視的なレイヤーを選択することにより、生物学者がより本質に近づくことを可能とする。マクロ的な記述を助けるこの階層化の取り組みに、既存のツールの枠内で探して足りないものがあれば必要なコンポーネントを開発することも考える。
- ③細胞周期モデルの構築と実験的検証：細胞周期モデル構築の最初の取り掛かりとして、M期細胞周期のモデル化からはじめる。Novak, Tysonらによる論文は一般的なコンセンサスが得られているのでそれを基礎とし、基盤となるモデルの構築を行う。さらに関連する文献から反応に関与する生体分子、反応のネットワーク、速度定数 (キネティックパラメータ) などを抽出し基盤モデルへ導入していくことでモデルの改良を逐次実施していく。反応経路、関連タンパク質の追加、シグナルトランスダクションネットワークの追加修正などを加えながらM期細胞周期を完成させる。これらを文献的・実験的検証を加える。同時に実際の細胞を用いた生物実験の結果を参照することで細かい更新を続け、M期細胞周期モデルの完成度を高めていくこととする。

〈研究期間の成果〉

- 1) 細胞内で重要な酵素反応を過去の文献からの抽出し、生物実験を加えることにより定量的なデータ化を行い、ペトリネットを用いたモデルに導入し、細胞内の

基本的な酵素反応のパラメータを設定した。ほとんどの反応式がペトリネットで記述出来ることがわかった。

- 2) 現時点においては既存のツールに設定されている内容で十分であるが、生体内の個々の分子の細かな記述には階層化することが必要になってくるものと思われる。
- 3) ヒト体細胞周期における、Cdc2-cyclin Bといった時期特異的 Cyclin-dependent kinase (Cdk)の活性制御機構の in silicoでのモデル化を行った。これに実験による検証と改良を加え in vivoに近い M期モデルが完成した。このモデルをベースに他の細胞周期を進行に関する Cdks (Cdk2, Cdk4/6など)のモデルも完成した。各々の Cdkを統合的に機能させ、実験的検証を加えることで、実際のヒト体細胞周期に近いモデルが完成しつつある。

〈国内外での成果の位置づけ〉

酵母やツメガエルなどの細胞周期を進行に関するコア Cdks (Cdk2, Cdk4/6など)の部分方程式を用いたモデルは、Novak, Tysonらなどによって報告されている。しかし、ヒト体細胞周期におけるペトリネットを用いたコア Cdks全体の統合的モデルは未だ報告がない。さらに、このモデルを用いて、発生、疾患、細胞老化などの重要な生命現象のシミュレーションは行われていない。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

モデルの検証実験、文献からの引用に時間が費やされてしまうので、効率よい実験方法で迅速に対応していきたいと思う。

〈今後の課題〉

- 1) In vivoに即すると言うことが大事で、文献的・実験的検証を加え、同時に実際の細胞を用いた in vivoにおける生物実験の結果を参照することで細かい更新を続け、細胞周期モデルの完成度を高めていく。
- 2) 今回のモデルは細胞周期を制御するための酵素反応式であるが、このモデルに実際の細胞内におけるタンパクの挙動や局在、細胞周期進行に伴う細胞内小器官の形態変化などもモデルに取り入れていく。
- 3) ゲノム上の細胞周期に関連すると考えられる未知の遺伝子産物を網羅的にモデルに導入し、シミュレーションと実験的検証を加えることで生物学的にも新しい知見や概念を構築する。
- 4) 細胞周期に関わる生命現象 (発生・分化・細胞老化など)や疾患 (癌・変性疾患など)の分子機構などをモデルを用いたシミュレーションと検証実験を組み合わせることで、実験の効率化を図り、生物実験では発見出来なかった新たな知見や、疾病患者の治療判定や予後の推定などを行い、生物学・医学の進展に貢献していく。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

1. Takasaki S., Kotani S., Konagaya A., An effective siRNA target sequence extraction method for mammalian cells., *CellCycle*, 3, 790-795, 2004
2. 0303201300
Nakamura T., Suzuki H., Okamoto T., Kotani S., Atsuji Y., Tanaka T., Ito Y., Recombinant Vpr (rVpr) causes augmentation of HIV-1 p24 Ag level in U1 cells through its ability to induce the secretion of TNF., *Virus Res.*, 90, 263-268, 2002
3. 0303201226
小長谷 明彦、小谷 秀示、吉岡 隆、遺伝子知識スパイラル—ポストゲノム時代のバイオインフォマティクス—、人工知能学会誌、18、2-7、2003
4. 0303201321
Yoshioka T., Kotani S., Konagaya A., Computational Model of the Mammalian Cell Cycle using Hybrid Petri Net, 10th International Conference on Intelligent System for Molecular Biology (ISMB 2002).
5. 小谷 秀示、小長谷 明彦、In silico シミュレーションモデルを用いた細胞周期制御因子の機能解析、*Bio Industry*、21、40-51、2004
6. 小谷 秀示、吉岡 隆、小長谷 明彦、高等真核生物体細胞周期モデルによるサイクリン依存性キナーゼの機能解析、*ソフトウェアバイオロジー*、2、36-42、2003
7. 白石 哲也、田淵 和雄、小谷 秀示、小長谷 明彦、脳腫瘍のシステムバイオロジー、*蛋白質核酸酵素*、48、795-801、2003
8. 小谷 秀示、高等動物体細胞周期のペトリネットによるモデル化とシミュレーション、*SICE Symposium on Systems and Information*、241-246、2002
9. 小谷 秀示、分裂期における染色体分配の分子機構、*実験医学* 2002年 3月号「細胞周期の制御機構」(中山敬一編)、羊土社、vol. 20、pp532-539、2002
10. 吉岡 隆、小谷 秀示、小長谷明彦、高等動物体細胞周期のペトリネットによるモデル化について、*Computer Today* 2002年 3月号、*アイデア コラボレーションズ*、No. 108、pp28-35、2002