

ハイブリッド関数ペトリネットによる多細胞動物のパターン形成シミュレーション

●松野 浩嗣 ◆村上 柳太郎

山口大学理学部

＜研究の目的と進め方＞

細胞集団は、細胞分裂による増殖や細胞間の情報伝達によって、個々の細胞を特徴づけながら分化を続けることでパターンを形成していく。本研究の目標は、細胞間の相対位置のダイナミックな変動や拡張性のシグナル因子によって媒介される細胞間相互作用にも対応可能なモデル化とシミュレーション手法を開発することである。この基盤技術としてハイブリッドペトリネットを用いる。

細胞内反応を数値モデル化し、計算機上でシミュレーションを行う研究はこれまでに多く行われている。しかし、これらの手法は、微分方程式などの数学的知識やプログラミングなどの情報科学的技術を必要としており、一般の生物学者にとって取り組みにくいものである。対して、ハイブリッドペトリネットによる細胞内反応のモデル化技法は、特別な数学的知識や情報科学的技法を必要とせず、一般の生物学者や医学者が自身でシミュレーションシステムを構築することを可能にする。

ハイブリッドペトリネットによる手法の有効性を確認するため、遺伝子制御関係がよく知られているlacオペロンなど教科書的な生命パスウェイのモデル化とシミュレーションから開始する。次いで現在研究が活発に行われている生命パスウェイを対象としシミュレーションの実行による未知の事実の導出を試みることで、本手法の実用性を検証する。以上の研究によってまず細胞内生命パスウェイのモデル化手法を確定したのちに、細胞分裂や細胞間情報伝達のモデル化に取り組む。

＜研究開始時の研究計画＞

本特定領域研究開始前に、ハイブリッドペトリネットを用いたλファージの遺伝子制御ネットワークのモデル化とシミュレーションに成功していた。図1によりこのモデル化手法を直感的に理解できる。すなわち、遺伝子

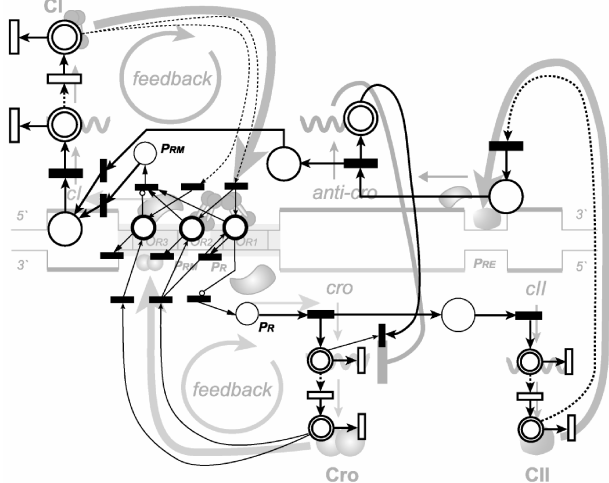


図1 λファージ遺伝子ネットワークのモデル

ネットワーク図のmRNAやタンパク質の上にハイブリッドペトリネットの構成部品がほぼ乗っており、図で表現された遺伝子とその産物間の関係を保ったままモデルを

作成できることがわかる。

多細胞動物形態形成メカニズムとして、分担者の村上が研究している側方抑制によるNotchシグナル伝達経路をとりあげた。上で述べたλファージの遺伝子制御ネットワークのモデル化手法を基に、このNotchシグナル伝達経路のモデル化に取り組んだが、シグナル伝達経路の理解が浅く、また細胞間情報伝達システムのモデル化が予想以上に困難であったため、次のように研究内容を整理して取り組むことにした。

- 1) 遺伝子制御ネットワーク、シグナル伝達経路、代謝経路の3種類の生命パスウェイについてモデル化とシミュレーションを実行し、その手法を確立する。
- 2) 細胞間の情報伝達による相互作用や細胞分裂などのダイナミックな変動をモデル化しシミュレーションできる手法の開発を行う。

＜研究期間の成果＞

上記の1)についての成果を以下に列挙する。

- ・ 遺伝子ネットワークとしてショウジョウバエの時計遺伝子機構（研究成果リストの4）を、シグナル伝達経路としてFasタンパク質に誘導されるアポトーシス経路（研究成果リストの4）を、代謝経路としてlacオペロンと解糖経路（研究成果リストの5）を取り上げ、そのモデル化とシミュレーションを実行した。従来のハイブリッドペトリネットでは、タンパク質の多量体化や分解など生命パスウェイ中に多く現れる反応のモデル化が自然に行えないという問題があるため、これを拡張したハイブリッド関数ペトリネット(HFPN)を以上のモデル化の中で新たに導入した。
- ・ ハイブリッド関数ペトリネットによるモデル化の手法を詳細に解説した論文をlacオペロンと解糖経路を題材にして執筆した（研究成果リストの7）。この中で、離散的にモデル化する部分と連続的にモデル化する部分を段階的かつ具体的に解説し、複雑なNegative regulationとpositive regulationも容易にシミュレーションできることを示した。さらに、ミュータントを3種類設定し、仮説導出の例も示した。
- ・ マウス時計遺伝子機構のモデル化とシミュレーションを行った。これまでにマウスで知られているサーカディアン遺伝子制御作用をもとにHFPNモデルを作成しシミュレーションしたところ、実験的に知られている事実と矛盾する結果が得られた。そこで、ショウジョウバエでは確かめられている遺伝子制御作用をマウスに導入したところ、この矛盾が解消された。このことは、マウスにもこの作用が存在することを示唆している（研究成果リストの9）。図2はこのシミュレーションの実行をCell Illustratorで行っている画面である。

2)についての成果は次の通りである。

- ・ ショウジョウバエ後腸での境界セル形成におけるNotchの働きを実験的にDelta発現量を操作して調

べ、これを基にHFPNモデルを作成し、Cell Illustratorを用いてシミュレーションし、結果をCell Animatorで表示した(図3)。Deltaの操作によって、境界セル形成が無秩序になる現象を実験によって何通りか観察し、同様な現象をシミュレーションによっても実現した。さらにパラメータを変更してシミュレーションを行い、Delta-Notchシグナルシステムによる別のよく知られた現象である側方抑制も実現できた。このシミュレーションによって、2つの異なる形態形成の現象が同一のシグナル伝達経路によって作り出されることが説明できた(研究成果リストの3)。

- ・ 詳細な細胞周期メカニズムが解明されている分裂酵母について細胞周期HFPNモデルを作成し、シミュレーションを行った。その結果、分裂酵母のCKIであるrum遺伝子を弱く発現すると細胞周期が伸張するという仮説を得ることができた(研究成果リストの8)。
- ・ Xenopus初期胚では、12卵割目までは各細胞が同期して分裂を繰り返していき、これ以降は非同期的に分裂して行くことが知られている。また、同期して分裂している間は細胞間相互作用もなされないことが知られている。Xenopusの細胞周期のHFPNモデルを構築し、Xenopus初期胚の10回目から13回目の卵割のシミュレーションをCell Illustratorを用いて行った。さらに、このシミュレーション結果の視覚化もCell Animatorを用いて行った。これによって、HFPNによって細胞分裂のシミュレーションが十分に可能であることが確かめられた(研究成果リストの6)。

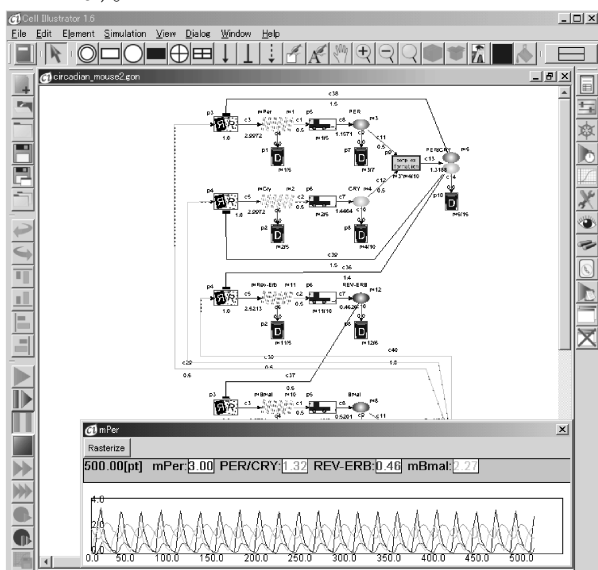


図2 マウス時計遺伝子機構のCell Illustratorによるシミュレーション

- ・ 分泌性シグナル因子であるWinglessによるショウジョウバエ消化管の前後軸方向の区画化過程をHFPNによってモデル化しGONを用いてシミュレーションを行った。これによって、拡散性のシグナル因子がパターン形成を主導している場合のシミュレーションが可能となった(未発表)。

以上のモデル化とシミュレーションはCell IllustratorをCell Animatorを使って実行している。Cell Illustratorはハイブリッド関数ペトリネットによる生命パスウェイシミュレーションを行うツールであり、Cell Animatorは得ら

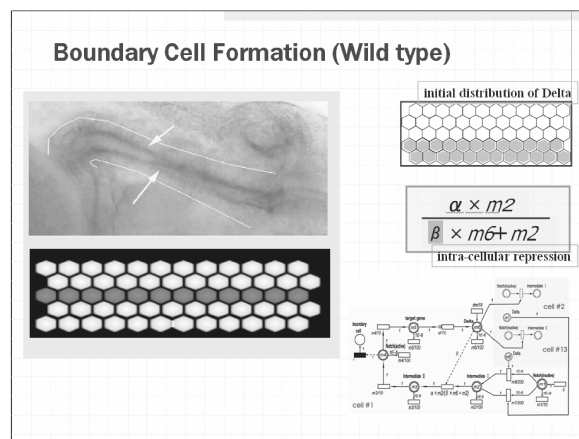


図3 ショウジョウバエ後腸の境界形成の観察とシミュレーション

れたシミュレーション結果を視覚的に表現するためのツールである。これらのツールの開発は東京大学医科学研究所の宮野研究室で行われたが、その設計コンセプトには本特定領域研究で行った上記の様々な生命パスウェイのモデル化とシミュレーションを通して得られた知見と経験が反映されている(研究成果リストの2に概要を記述)。

これらに加えて、これまでに蓄積された生物学的事実を効率よく取り出すための知的文献検索ツールを開発し、パン酵母ミトコンドリアの遺伝子ネットワークに関する情報をMEDLINEより収集した。

以上の5年間の研究により、ペトリネットによる遺伝子ネットワークのモデル化とシミュレーションという新しい手法を確立し、国内外にアピールすることができた。この成果を公開するため、図4のようなホームページを立ち上げた(研究成果リストの10)。我々の研究は、多くの研究者によって引用されているが、その論文や発表資料もこのホームページにリストしている。

〈国内外での成果の位置づけ〉

本特定領域研究で実施したプロジェクトは世界的に高い評価を得ており、多くのバイオインフォマティクス関連の国際的シンポジウムや会議において招待講演を行っている(ドイツ、インド、韓国、日本)。また、工学系のペトリネット研究者も魅力的な応用分野として我々の研究に注目しており、2004年6月にイタリアで開催されたペトリネットの国際会議で東大医科研の宮野教授とともにチュートリアルを企画し講演した。国内においても、日本薬学会、日本分子生物学会、日本時間生物学会、電子情報通信学会、計測自動制御学会など、広範囲にわたる多くの学会から招待講演の依頼を受けている。

[本特定領域研究の内容と関連して行った招待講演]

- ・ 松野浩嗣、Genomic Object Netプロジェクト：生物システムのモデル化・シミュレーション基盤技術の構築、第11回日本サイトメトリー学会・第19回癌DNA研究会(宇部市)プログラム抄録集、pp.30、2001年6月23日。
- ・ 松野浩嗣、Genomic Object Netプロジェクト：生物システムのモデル化・シミュレーション基盤技術の構築、並列生物情報処理イニシアティブ、第2回セミナー、東京、2001年9月21日。
- ・ Hiroshi Matsuno, Genomic Object Net: On-going report on biopathway modeling and simulation, Proc. 1st International Symposium on BioSystems, pp.5-22, KAIST, Daejeon, Korea, Feb. 26th, 2002.

- ・ Hiroshi Matsuno, XML Realization of Integrated Environment for Modeling, Simulating and Visualizing Biopathways, Workshop on Bioinformatics held in conjunction with 19th International Conference on Data Engineering, Bangalore, India, March 4, 2003.
- ・ 松野浩嗣, Genomic Object Net: ハイブリッドペトリネットとXML技術による生命シミュレーションシステムの構築、京都大学細胞・生体シミュレーションプロジェクト(文部科学省リーディングプロジェクト) 勉強会, 京都, 2003年11月28日.
- ・ 松野浩嗣, 生命パスウェイシミュレーションのためのモデル化・可視化技術、第26回日本分子生物学会年会バイオテクノロジーセミナー、神戸、2003年12月12日.
- ・ 松野浩嗣, 生命パスウェイのモデル化・可視化技術と創薬研究への応用、日本薬学会第124年会、ミニシンポジウム「若手が拓く新しい薬剤学: 生命をシステムとしてみる薬剤開発」、大阪、2004年3月31日.
- ・ 松野浩嗣, シミュレーション支援による新しい生物実験スタイルの構築に向けて、第11回日本時間生物学会ワークショップ「分子時間生物学の新展開」、滋賀、2004年11月12日.
- ・ Hiroshi Matsuno, Top-down modeling of biological pathways with hybrid functional Petri net, The First KIT Bioinformatics Symposium, Kyushu Institute of Technology, Iizuka, Dec. 11, 2004.
- ・ Hiroshi Matsuno, Pathway Modeling and Simulation on Petri Net Based Formalization, The 1st International BioPAX Symposium, Tokyo, Nov. 15, 2005.

達成できなかったこと、予想外の困難、その理由

- ・ 細胞分裂の際に母細胞中の物質の濃度を娘細胞に引き継ぐ必要があるが、その受け渡しの自動化の機能がCell Illustratorになく、手動でこの作業を行わなくてはならなかった。今後、この機能を追加する必要がある。
- ・ 線虫の発生過程における細胞のダイナミックな位置変動と細胞間相互のモデル化を行う予定であったが、受精後から第一分裂までの細胞内物質の局在情報のモデル化に手間取ったため、そこまで到達できなかった。

今後の課題

- ・ 現在のシミュレーションシステムは、生命パスウェイモデルの作成とシミュレーション実行を行うCell Illustratorとシミュレーション結果を視覚的に表示するCell Animatorの2つのツールから構成されているため、結果の観察に基づくパスウェイの改変をすぐに行えない。そのため、これら2つのツールを統合し、より利用しやすいシステムにする必要がある。
- ・ 細胞分裂による増殖やスタティックの細胞間相互作用を扱う手法はほぼ完成したので、今後は細胞間の相対位置のダイナミックな変動を伴うより複雑な細胞集団のパターン形成のシミュレーションを可能にするモデル化手法を開発する必要がある。
- ・ がん遺伝子の制御機構の解明など医学的な側面を重視した研究を実施し、ハイブリッド関数ペトリネットによるモデル化手法を応用した実用的な研究を展開したい。

研究期間の全成果公表リスト

- 0110312155
Tanaka, M., Nakazono, S., Matsuno, H., Tsujimoto, K., Kitamura, Y., Miyano, S., Intelligent system for MEDLINE record selection enhanced with a learning system for characteristics of abstract texts and a keyword recommendation system, *Genome Informatics*, 11, pp.73-82, 2000.
- 0110312149
Matsuno, H., Doi, A., Hirata, Y., Miyano, S.. XML documentation of biopathways and their simulations in Genomic Object Net, *Genome Informatics*, 12, 54-62, 2001.
- 0302072112
Matsuno, H., Murakami, R., Yamane, R., Yamasaki, N., Fujita, S., Yoshimori, H., Miyano, S.; Boundary formation by Notch signaling in *Drosophila* multicellular systems: Experimental observations and a gene network modeling by Genomic Object Net, *Proc. Pacific Symposium on Biocomputing 2003*, 152-163, 2003.
- 0401230931
Matsuno, H., Tanaka, Y., Aoshima, H., Doi, A., Matsui, M., Miyano, S., Biopathways Representation and Simulation on Hybrid Functional Petri Net, *In Silico Biology*, 3(3), 389 - 404, 2003.
- 0404071403
Doi, A., Nagasaki, M., Fujita, S., Matsuno, H., Miyano, S., Genomic Object Net II: how to model biopathways with hybrid functional Petri net with extension, *Applied Bioinformatics*, 2(3), 185-188, 2003.
- 0404071416
Matsui, M., Fujita, S., Suzuki, S., Matsuno, H., Miyano, S., Simulated Cell Division Processes of the *Xenopus* Cell Cycle Pathway by Genomic Object Net, *Annual Collection of articles of the Journal of Integrative Bioinformatics*, 95-104, 2004.
- 0504270957
Doi, A., Fujita, S., Matsuno, H., Nagasaki, M., Miyano, S., Constructing biological pathway models with hybrid functional Petri nets, *In Silico Biology*, 4 (3), 271-291, 2004.

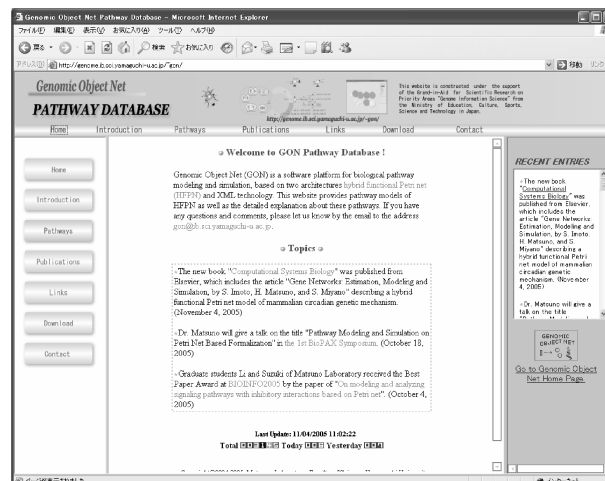


図4 本特定領域研究で得た成果を公開するためのウェブサイト

8. 0504271001

Fujita, S., Matsui, M., Matsuno, H., Miyano, S., Modeling and simulation of fission yeast cell cycle on hybrid functional Petri net, IEICE Transactions on Fundamentals of Electronics, Communications and Computer Sciences, E87-A(11), 2919-2928, 2004.

9. 0504271005

Matsuno, H., Inouye, S.T., Okitsu, Y., Fujii, Y., Miyano, S., A new regulatory interactions suggested by simulations for circadian genetic control mechanism in mammals, Proc. The 3rd Asia-Pacific Bioinformatics Conference, 171-180, 2005.

10. Genomic Object Net Pathway Database

<http://genome.ib.sci.yamaguchi-u.ac.jp/~gon/>