

若手研究者インターナショナル・トレーニング・プログラム(ITP)

バイオインフォマティクスとシステムズバイオロジーの国際連携教育研究プログラム 報告書

Name : 高橋 圭一郎
Title : 生体ネットワーク間の相互作用構造の解析
Institute: 京都大学化学研究所バイオインフォマティクスセンター
Partner institute: Theoretical Biophysics, Institute of Biology, Humboldt University
Duration: 2012年1月11日 ~ 2012年4月4日
Report: <p>今回 ITP の支援により、ドイツ・ベルリンにあるフンボルト大学の生物学研究所に所属するエダ・クリップ教授の研究室（理論生物物理学）に約3カ月間滞在する機会を得ることが出来た。</p> <p>クリップ教授の研究室のメンバーは、ドイツの他にフランス、イタリア、スウェーデン、スペインなどヨーロッパ各国から10名のポスドク、16名の博士課程学生、他に約10名の学部生・修士課程学生が集まって構成されており、国際色豊かな環境の中で研究活動が出来たのは非常に有意義であった。研究室は、基本的に各ポスドクが数年間の研究資金支援を受けたプロジェクトを担当しており、ポスドクと学生が共同して自律的にプロジェクトを遂行するといった形式の運用がなされていた。各プロジェクトは、主に酵母をモデル生物として扱うシステム生物学の研究であり、バイオインフォマティクス部門と生物物理学部門に大きく分けられ、バイオインフォマティクス部門では、SBML と呼ばれるシステムズバイオロジーの標準言語 (XML) [1]を用いた生体ネットワークモデリングツールの開発、生物物理学部門では、主に微分方程式を用いたネットワークの反応速度解析によるモデリングを行っていた。ポスドク間の議論もセミナー等を通じて活発に行われており、同じ研究室内でバイオインフォマティクスと生物物理学の専門家が協力しながら研究を遂行していく環境は、これまでに私が滞在した研究室では経験がなく、異なる分野の専門家がシナジーを生み出す上で、今後の研究活動の参考になるものであった。研究室の主要なミーティングは、火曜の進捗ミーティングと木曜の研究発表であり、その他にも生物学研究所の博士学生の発表、招待講演など、多くのセミナーに参加することが出来た。中でも、生体ネットワークの化合物同士の作用をノイズのある伝送路とみなし、相互情報量や通信路容量といった情報理論の概念を、解析に応用しようとする研究発表もあり、情報科学出身の私としては印象深いものであった。</p> <p>今回の滞在では、まずクリップ教授と滞在期間中の研究方針についてディスカッションするところから始まった。そこでは、酵母の代謝モデルの研究と、ネットワークモデリングのためのツール開発について2つの提案がなされた。酵母の代謝モデルの研究に関しては、酵母は好気性条件下でも嫌気性条件下でも培養できる生物であるが、それぞれの条件下で代謝が異なることが知られている。多くの酵母が嫌気条件下においてのみグルコース代謝を行い、アルコールが生成する一方、パン酵母などの酵母は、好気条件下でも発酵を行い培養条件によってはアルコールが生成されることがある。そこで、酵母の各酵素の反応速度の分布を解析するために、代謝流速モデルを構築するというものであった。一方、ネットワークモデリングのツール開発に関しては、SBML を用いた生体ネットワーク解析ツールの開発について提案がなされた。今回の滞在では、シグナル伝達ネットワークや遺伝子制御ネットワークと代謝パスウェイの相互作用をモデル化することを当初の目的としていたため、後者の提案に関して研究を行うことにした。</p>

Report (Continued) :

私は、今回初めて SBML を利用するため、まず博士課程学生のファルコ・クローゼ氏に SBML の仕様や扱い方について説明して頂いた。ファルコ氏は、SBML モデルの可視化、検索やクラスタリング、複数のモデルの統合などを行う多彩なツールの開発を行っており、それらのツールを semanticSBML というウェブサービスに統合して公開していた[2]。semanticSBML に実装されているツールの他にも、CellDesigner など SBML の分野で広く使われているツールの説明もして頂き、ディスカッションを通じて理解を深めることが出来た。

次に、ポストドクのトーマス・ハンドルフ氏に SBML を利用した生体ネットワークシミュレーションについて説明して頂いた。ハンドルフ氏は、代謝ネットワークだけでなく、シグナル伝達ネットワークや遺伝子制御ネットワークを、ブーリアンネットワークによりモデリングする研究を行っていた。ブーリアンネットワークでは、化合物はブール値を持つノードとして表され、ノード同士の作用は有向エッジで表現される。また、ノードのブール値は、その化合物が特定の濃度以上で存在するか否か、もしくは、活性化されているか否かを表す[3]。このようなブーリアンネットワークに対して、ハンドルフ氏の開発した libscope と呼ばれるブーリアンネットワーク[4]の特徴は、次の2点であった。

- ・従来のブーリアンネットワークモデルよりも詳細なネットワークの記述方式に対応している点
- ・ノード毎に自動的にブール関数を定義する点

これらの特徴により、Reactome や PID (Protein Interaction Database) 等のデータベースに格納されているネットワークデータから、自動的にブーリアンネットワークのモデルを生成し、初期条件に従って生体ネットワークの振舞いの解析が可能である。

この手法を、シグナル伝達パスウェイと代謝パスウェイの相互作用の解析に拡張するために、ファルコ氏とハンドルフ氏とディスカッションを行った。そこでの主な内容は、シグナル伝達と代謝の異なるネットワークを1つの SBML モデルに統合し、入力ファイルとして扱う必要があるが、現状ではマニュアルで SBML を記述する必要がある点、libscope のプログラムを拡張修正する必要がある点の2点であった。滞在期間中ですべてを行うのは難しいため今回の滞在では、次の3点に重点を置くことにした。

- (1)異なるネットワークの相互作用ではなく、2つのシグナル伝達ネットワークの相互作用解析を行う
- (2)代謝ネットワークの解析
- (3)異なるネットワークの相互作用を解析するための主要なポイントの把握

以下それぞれについて簡単に報告する。

(1)の2つのシグナル伝達ネットワークの相互作用解析では、ハンドルフ氏の論文[4]にある、図1の Wnt パスウェイと MAPK パスウェイのクロストークのシミュレーションを行うことにした。

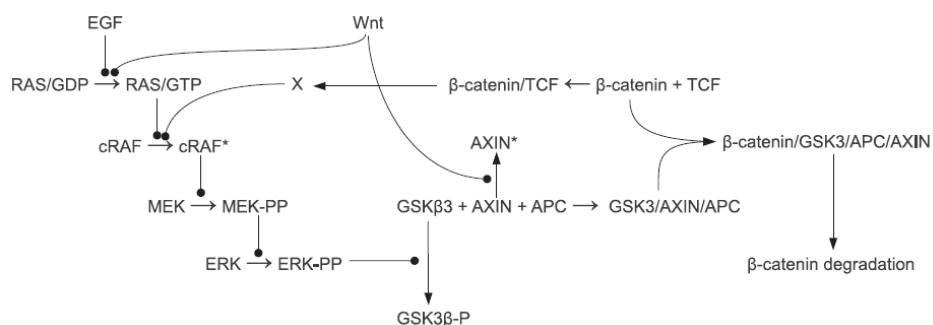


図1 Wnt と MAPK パスウェイのクロストーク

このクロストークモデルに対して、ERK、MEK、RAF、 β カテニン、AXIN、APCなどの化合物を初期化合物として与えて、30ステップ目にWntを加え、50ステップ目にWntを外条件設定でlibscopeを走らせた結果、図2のような β カテニンとERKの反応を得ることが出来た。これによりハンドルフ氏が実験した結果と同様の結果が得られた。

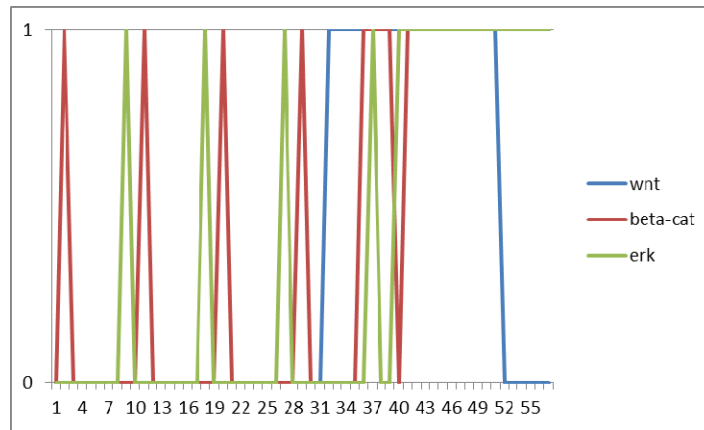


図2 β カテニンと ERK の WNT 刺激反応

(2)代謝ネットワークで libscope の振舞いを解析するため、KEGG の代謝ネットワーク情報を SBML として取得し、同様の実験を行った。KEGG の代謝データを SBML に変換するには、kegg2sbml と呼ばれるオープンソフトウェアを利用して SBML に変換する必要があるが、現在は KEGG の FTP サイトの変更に伴い kegg2sbml では変換が出来なくなっていた。そこでハンドルフ氏のアドバイスを従い、kegg2sbml のサイトで公開されている古い SBML アーカイブを利用し、その中から糖代謝のパスウェイデータを選び、 α -D-グルコース、ATP、E3.1.3.9 を初期化合物として与えた場合、 β -D-フルクトース、 β -D-グルコースが糖新生されることが確認できた。

(3)生体ネットワークを情報科学的手法でモデル化するには、そのネットワークのトポロジの記述法は、アルゴリズムの実装上重要なポイントとなる。代謝ネットワークに比べて、シグナル伝達ネットワーク(または、遺伝子制御ネットワーク)では、活性と不活性の影響を考慮する必要があるため状況は複雑である。ネットワークの記述法には、図3のように大きく分けて3つあり、(a)はタンパク質の活性化と不活性化を表す単純なグラフモデルである。ここで、通常の矢印と T字型矢印は、それぞれ活性化と不活性を表している。(b)は微分方程式を使ったモデルでよく利用されるものであり、反応が活性化因子や不活性化因子によって影響されることを考慮したものである。(c)は最も詳細な記述法である。反応は活性化因子や不活性化因子によって直接影響を受ける事はなく、反応速度に影響を与えるものは酵素のみである。従って、反応に対し間接的に不活性を表現した表現法である。

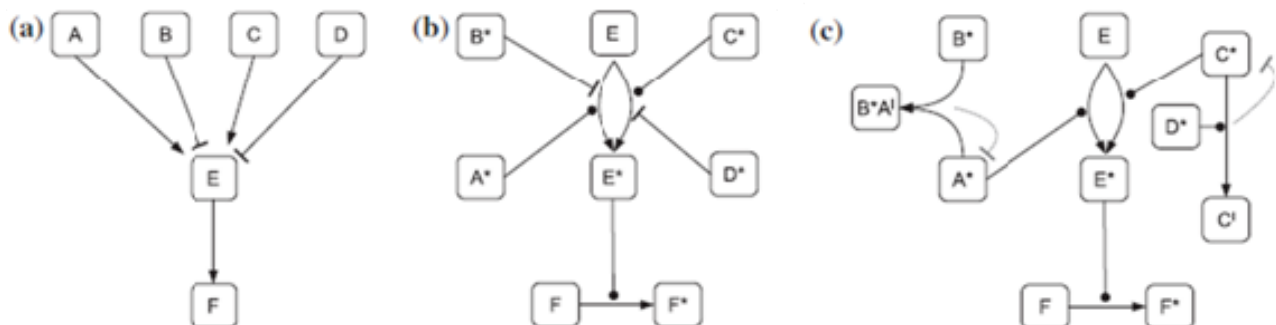


図3 ネットワークの記述法

Plan (Continued)

代謝ネットワークの場合は、次のアルゴリズムを実行することにより、ブーリアンネットワークとして解析することが可能である。

- (1) シード化合物（最初に利用可能な化合物）の集合を定義
- (2) 反応にかかわる全ての基質が利用可能なら、それらの反応をアクティブにする。
- (3) 反応生成物を利用可能な化合物の集合にセットする
- (4) (2)と(3)を繰り返す。

一方、シグナル伝達ネットワークでは、触媒、活性化因子、不活性化因子を考慮する必要があるが、(c)の表現法を採用することで、反応に関わる全ての基質と触媒が利用可能なら反応が進むようにすればよい。つまり代謝ネットワークとシグナル伝達ネットワークは、同じアルゴリズムで実行可能となる。したがって、それぞれ異なるネットワークの情報を1つのSBMLモデルに統合し、触媒の扱いについてプログラムを改良することで、シグナル伝達ネットワークと代謝ネットワークの相互作用が解析可能となる。

今回の滞在では、以上のように2つのシグナル伝達ネットワークの相互作用、代謝ネットワークの振舞いの解析、シグナル伝達ネットワークと代謝ネットワークのモデル化における違いについて学ぶことが出来た。今後は、得られた知見に基づいて、シグナル伝達ネットワークと代謝ネットワークの相互作用の解析を行うべく、プログラムの拡張を行っていきたい。

参考文献：

- [1] http://sbml.org/Main_Page
- [2] Krause F. et al. (2010) Annotation and merging of SBML models with semanticSBML. *Bioinformatics*, 26:421-422
- [3] Saez-Rodriguez, J. et al. (2009) Discrete logic modeling as a means to link proteinsignalling networks with functional analysis of mammalian signal transduction. *Mol. Syst. Biol.*, 5, 331.
- [4] Handorf T and Klipp E (2012) Modeling mechanistic biological networks: An advanced Boolean approach. *Bioinformatics*, 28:557-563

謝辞：

本国際交流プログラムの事業実施専攻長であり、貴重な機会を与えて頂き様々な面で御指導いただいた馬見塚拓教授、ならびに滞在中親切に御指導頂いた Edda Klipp 教授に感謝申し上げます。また、滞在中、快適に過ごせるようサポートを頂いた秘書の Sabine Wagnitz さんに感謝致します。最後に、SBML やブーリアンネットワークについて指導頂いた Thomas Handorf 氏ならびに Falko Krause 氏、研究と休日を問わず滞在を有意義で思い出深いものにして頂いた研究室のメンバーの皆様に感謝致します。

