

WAKO

Infomatic

World

実験生物学者・
実験化学者のための
IT活用誌

2008

December No. 14

目 次

システム生物学の勧め

第3回 システム生物学で優位に立つためのバイオインフォマティクス戦略 2

東京大学 医科学研究所 ヒトゲノム解析センター
教授 宮野 悟、助教 長崎 正朗、技術職員 斉藤 あゆむ

Cell Illustrator を用いた神経細胞シミュレーション 5

九州工業大学 大学院 生命体工学研究科
博士前期課程2年 田中 寿宜、教授 夏目 季代久

パスイエイ描画解析ソフト

“Cell Illustrator【セルイラストレータ】” 8

システム生物学の勧め

第3回 システム生物学で優位に立つためのバイオインフォマティクス戦略

東京大学 医科学研究所 ヒトゲノム解析センター

教授 宮野 悟、助教 長崎 正朗、技術職員 斉藤 あゆむ

1. アルマゲドン みな何をすればよいかわからない

最近、DNA シークエンサーの 454 や Solexa、そしてさらにすごい装置の出現を目の前にして、そのスピードの速さと出てくるデータの多さに、小惑星でも地球に衝突するのではないかと、みな「アルマゲドン」状態になっています。このように、様々な計測技術の発明・改良により、遺伝子情報に関して、DNA 配列や mRNA 発現データをはじめとして、蛋白質間の相互作用データやメタボローム解析データなど多種多様な情報がゲノムワイドかつハイスループットに生産されるようになったことは周知のとおりです。さらに、細胞内骨格、細胞内輸送系、さらには多細胞系における遺伝子ネットワークについての知識とデータも着実に蓄積されています。これらのいわゆるオーミックデータ及び細胞構造と機能についての情報は、生命をシステムとして理解していくための重要な基盤情報を形成しています。

このようにタンパク質や RNA などの生命システムの部品リストが明らかになる中で、どんな生体分子が、いつ、どこで、どれだけ発現し、どのようなインタラクションをしているかを観測することが可能になってきています。これらの情報に基づいて生命をシステムとして理解するためには、バイオインフォマティクスとして何を備えていけばよいのでしょうか。

ここでは、著者らがそのために 10 年以上にわたって構築してきた技術についてご紹介します。その戦略を概観したものが図 1 です。本稿では、生命システム情報を電子化してシミュレーションモデルを構築する技術について述べ、次回に観測データから分子のネットワークを抽出して解析する技術について解説することにします。

2. 動的パスウェイ知識の表記法

生命システム、特に、代謝経路、遺伝子ネットワーク、シグナル伝達経路などに関するパスウェイ情報を集めたデータベースが数多く作成されています。これらは、キュレータとよばれる専門的知識をもった人たちが文献を読んで作成した高品質のデータベースと、文献要旨から自然言語処理やテキストマイニングなどの情報処理技術により人手では不可能な規模で作成したデータベースの 2 つに大きく分けられます。多くのパスウェイデータベースにおいて、その情報は、それぞれのデータベースで定義された XML とよばれるデータ形式で記述されています。ユーザがパスウェイを作成、編集、表示、解析できるソフトウェアも同時に提供されています。公開されていてだれでも使える代表的なパスウェイデータベースとしては KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)(<http://www.kegg.jp/>) や BioCyc (<http://www.>

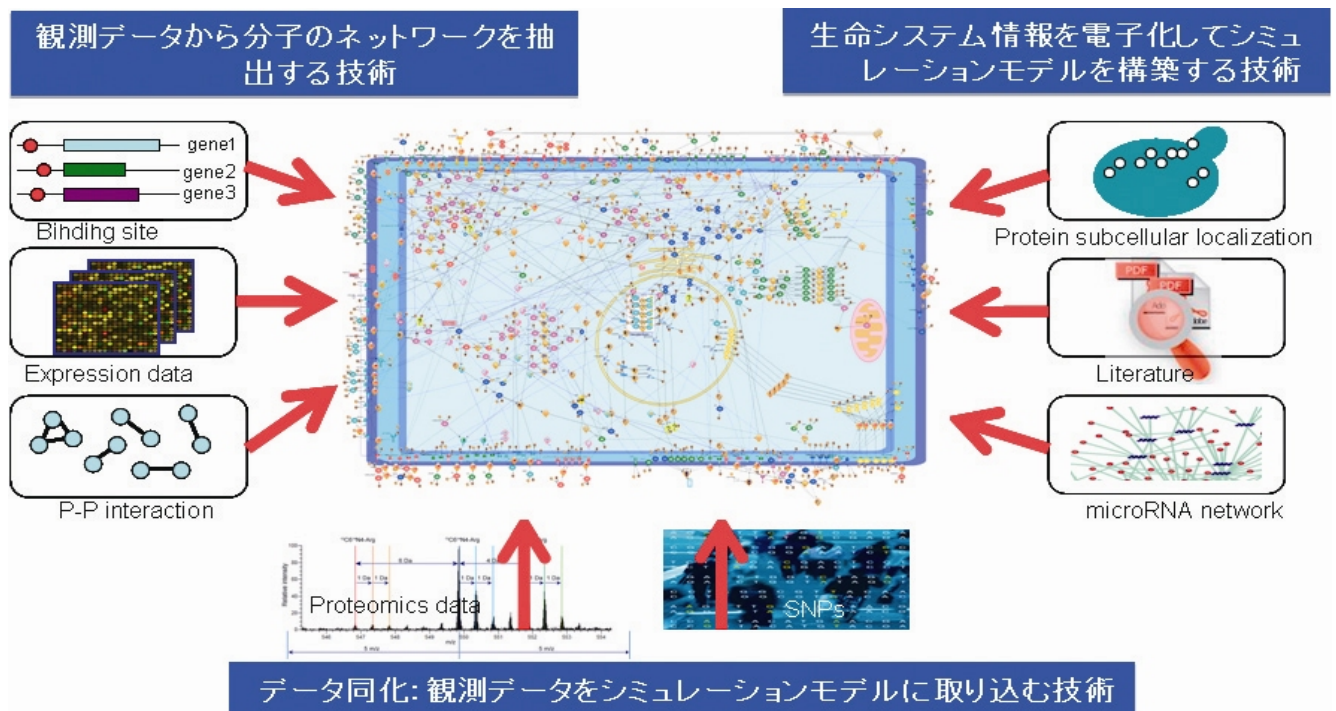


図 1. パスウェイなどの生命システムをモデル化し、実験データを融合させ、シミュレーションやデータからの推論により生命システムを理解する。中央もパスウェイの図は Cell Illustrator で作成した動的モデル。

biocyc.org) が有用です。他にも商用のパスウェイデータベースもあり、世界中で利用されていますが、それらも含めパスウェイデータベースには、パスウェイのダイナミクスの情報が付加されていないため、絵に画いたパスウェイになっています。

オントロジー (ontology) とは、もともとは人工知能の分野で研究され、「概念化の明示的な仕様」と定義されていますが、Gene Ontology (GO) は、生物学的概念を記述するための共通の語彙を策定し、その間の関係を定義しています (<http://www.geneontology.org/>)。GO は、遺伝子の機能情報などを統一した語彙を用いて記述することにより、異なった生物種のデータベース間でも、データの比較や結合などをやりやすくするための基盤となることを目指しています。GO では遺伝子産物機能の表現を、biological process, cellular component, molecular function の3つの意味概念に基づいて行っています。さらに、パスウェイの知識をダイナミクスを含めて数理モデルとして記述することを目指したシステム生物学のための XML として、CSML (Cell System Markup Language) (<http://www.csml.org/>) とオントロジー Cell System Ontology があります。Cell Illustrator はこの CSML と CSO に基づいて開発されています。SBML (Systems Biology Markup Language) (<http://www.sbml.org/>) といった XML がありますが、CSML はこの SBML を包含しているので、SBML で記述されたモデルは SBML2CSML などのツールにより CSML に変換することで Cell Illustrator で利用できます。

3. パスウェイモデルとシミュレーション

KEGG などのデータベースが文献情報から細胞内の反応の関係を抽出して整理した静的な知識であるのに対し、これに加えてパスウェイにおける動的な仕組みを微分方程式系や

プログラム言語などで表現し、コンピュータでシミュレーションできるようにしたものをパスウェイモデルとよんでいます。シミュレーションにより、静的な知識だけでは得ることができないシステムの動的な挙動を解析したり、生命システムの設計原理 (文献1) や新たな仮説を作り出したりすることが可能になるわけです。Cell Illustrator は、パスウェイの絵を描く感覚で、細胞内の反応をモデル化でき、CSML や SBML の形式で自動的に表現できるようになっています。研究室内での知識の継承がこれによりスムーズに実現されます。

モデルの動的な仕組みの表し方

動的な仕組みには決定的なものや確率的なものがあり、これらを合わせたハイブリッド型のものもあります。動作が決定的で連続的な場合は、おもに常微分方程式を用いて記述しています。通常、酵素反応などはミカエリス・メンテンの方程式のように常微分方程式でモデル化しています。転写の活性閾値のようなスイッチや個々の分子一個一個を対象とした離散的な動作を表すためには、Cell Illustrator で用いられているペトリネット (Petri net) などの動的仕組みを用います。

観測データをシミュレーションモデルに取り込む技術

以上のパスウェイモデルは、生物学的知識に基づいて作成され、通常、大きなモデルでは局所的に手でパラメータのチューニングをします。そのため、パラメータ推定やモデル選択により、時系列の観測データをシミュレーションモデルに適切に取り込むためのスーパーコンピュータを利用したデータ同化 (data assimilation) という技術が注目されはじめています (文献3)。このデータ同化という技術は、シミュ

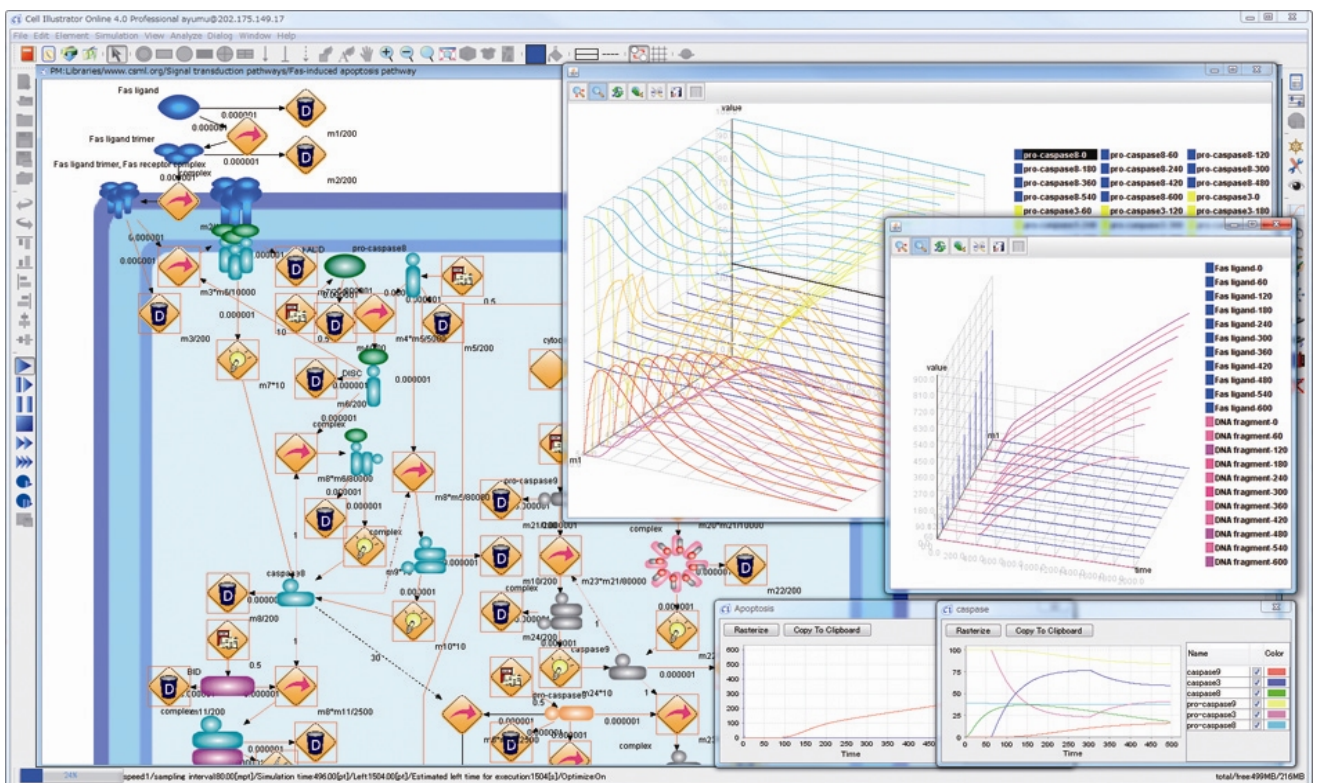


図2. 高機能 GUI を備えた Cell Illustrator の実行の様子。

レーションと観測データを、統計的手法(ベイズ統計)で按配よくブレンドする方法で、第4の科学として潮汐現象や台風進路の予測など地球科学の分野で実用化され、モデル・データ双方の不確実性を反映し、シミュレーションと現実とのギャップを埋める枠組みとして注目されています。

Cell Illustrator は、高度の GUI によるモデル化機能、シミュレーション機能(連続的、離散的、決定的、確率的、及びそれらのハイブリッド型)、パスウェイの自動レイアウト機能、パラメータ探索機能、オントロジー対応、パスウェイデータベース管理システム、SBML モデルの取り込み機能などを有したソフトウェアです。図2は、その一部として、Cell Illustrator 上のパスウェイモデルと、そのシミュレーションモジュールを用いて初期条件を様々に変えたときの動きを2次元及び3次元プロットしたものを表しています。

参考文献

- 1 . Alon, U.: An Introduction to Systems Biology – Design Principles of Biological Circuits, Chapman & Hall/CRC, 2007.
- 2 . 土井淳(他):システム生物学がわかる, 共立出版, 2007.
- 3 . Tasaki, S. et al.: Modeling and estimation of dynamic EGFR pathway by data assimilation approach using time series proteomic data. Genome Informatics. 17(2) : 226-228, 2006.



Cell Illustrator を用いた神経細胞シミュレーション

九州工業大学 大学院 生命体工学研究科

博士前期課程 2 年 田中 寿宜、教授 夏目 季代久

1. はじめに

遺伝子・タンパク質などの“生物”を用いた分子生物学実験だけでは空間的に局所的な情報しか得られず、また時間情報も得られない事が多い。そこで生物の時空間的变化の観点を考慮し生命をシステムとして捉えるシステム生物学が盛んに研究されるようになってきた。その研究成果として生体内タンパク質のデータベース、生体内で起こっている生化学反応(インタラクトーム)のライブラリ、そのシミュレーション結果など、近年様々なバイオリソースが蓄積されている。システム生物学の分野で、ハイブリッドペトリネット理論(HFPN)を用いたモデリングツール Cell Illustrator (CI) [1]を用いれば、遺伝子制御、代謝系、シグナル伝達系等を組み合わせたインタラクトームのモデル化が可能であり、実際多くのライブラリがある。

脳神経科学分野では、上記システム生物学の流れとは別に、神経細胞の電気活動を計算する研究が以前からされていた。最近ではニューロ・インフォマティクスと呼ばれ、NEURON[2]、GENESIS[3]といったシミュレータを用いて神経活動、神経ネットワーク活動の挙動を計算している[4]。

しかし実際には、脳神経細胞は電気活動だけでなく、その内においても様々なインタラクトームが存在する。例えば、カルモジュリンキナーゼ II が関わるネットワークは、記憶学習に関与するシナプス長期増強に関わっている[5]。しかしその系以外の神経細胞内インタラクトームがどのように神経電気現象に影響を及ぼしているのかは、今までの所、明らかにされていない。

私達の研究室では神経細胞中のインタラクトームが、どのように神経膜電位変化に影響をするか調べたいと考えている。そこでCIを用いた神経膜電位変化のシミュレーションを試みた。もしそれが出来れば、CIの多くのインタラクトームのライブラリと神経膜電位とを連携させる事が可能になるからである。本報告では、その1例として神経細胞の概日リズム周期での発火をシミュレートした。

2. 方法

2.1. Hodgkin-Huxley モデル[6]

Hodgkin-Huxley(HH)モデルはヤリイカ巨大軸索における神経膜電位のモデルである。細胞膜電位(V)は Na^+ 、 K^+ 、Leakチャネルを流れる電流の総和から計算出来る。 Na^+ 電流(I_{Na^+})は、活性化ゲート変数 m と不活性化ゲート変数 h 、 K^+ 電流(I_{K^+})は活性化ゲート変数 n で表され、また、各ゲート変数は電位に依存して変化する。

2.2. Hybrid Functional Petri Net with extension

ペトリネットは、グラフ理論の一種で並列ネットワークを記述するための概念である。ペトリネットをシステム生物学に応用できるように拡張した概念が Hybrid Functional

Petri Net with Extension (HFPN) [7] である。

HFPNのモデル記述には、エンティティ、プロセス、コネクタの3つの要素を用いる。モデルはエンティティとプロセスをコネクタで接続して表現できる。

2.3. Cell Illustrator における HH モデルの構築

図1はHHモデルの計算をCIでモデル化した図である。以下実線で囲んだ部分について説明する。

2.3.1. HH モデルの HFPN

HHモデルのHFPN(図1中央部青枠)では、膜電位を求めるため、ゲート変数、電流をそれぞれ計算している。図1の(1)では電位、(2)、(3)ではゲート変数、(4)では電流を計算している。

2.3.2. 外部刺激の HFPN

外部刺激のHFPN(図1上部緑色枠)は、時間 T と刺激強度 I_{stim} からなる。時間 T がfirstになると、p13のプロセスが発火し、神経細胞に対する刺激がONになり、時間Timeが過ぎるとp14のプロセスが発火し刺激が終了する。 I_{stim} は神経細胞を刺激するために用いられる。

2.3.3. ステップ制御の HFPN

CIでシミュレーションするにあたっては、時間進みに注意する必要がある。図2に、数値計算法とCIでの時間進みの相違について示した。数値計算法は1時間幅(Δt)の間で、 $V_{t-\Delta t}$ から順に計算をして行き、次の時刻の V_t を求める。

しかしCIの演算では、時間幅 Δt (サンプリングインターバル)毎に各プロセスが同時に値を変化させる。従って、ステップ制御のHFPN(図1下部黄色枠)を導入して値を変化させるエンティティとそうでないエンティティを作る必要があった。

3. 結果

HHモデルをCIを用いて計算した結果と、微分方程式を数値計算法で計算した結果を合わせて図に載せた。CIと数値計算法とで同様の波形が得られた(図3)。CIで計算した結果を以下CI神経と呼ぶ。

まず、CI神経に、強い刺激と弱い刺激を与えた(図3(a))。

前者の刺激では活動電位は発生しなかったが後者の刺激では活動電位が誘導され、CI神経でも閾値を再現できた。

次に、刺激を短いインターバル(5ms)と長いインターバル(15ms)で2回与えた(図3(b))。インターバルが短いと2度目に刺激しても活動電位を発生しなかったが、十分時間をおいて2度目の刺激をした後者の場合、活動電位が発生した。従って、CI神経でも不応期が確認できた。

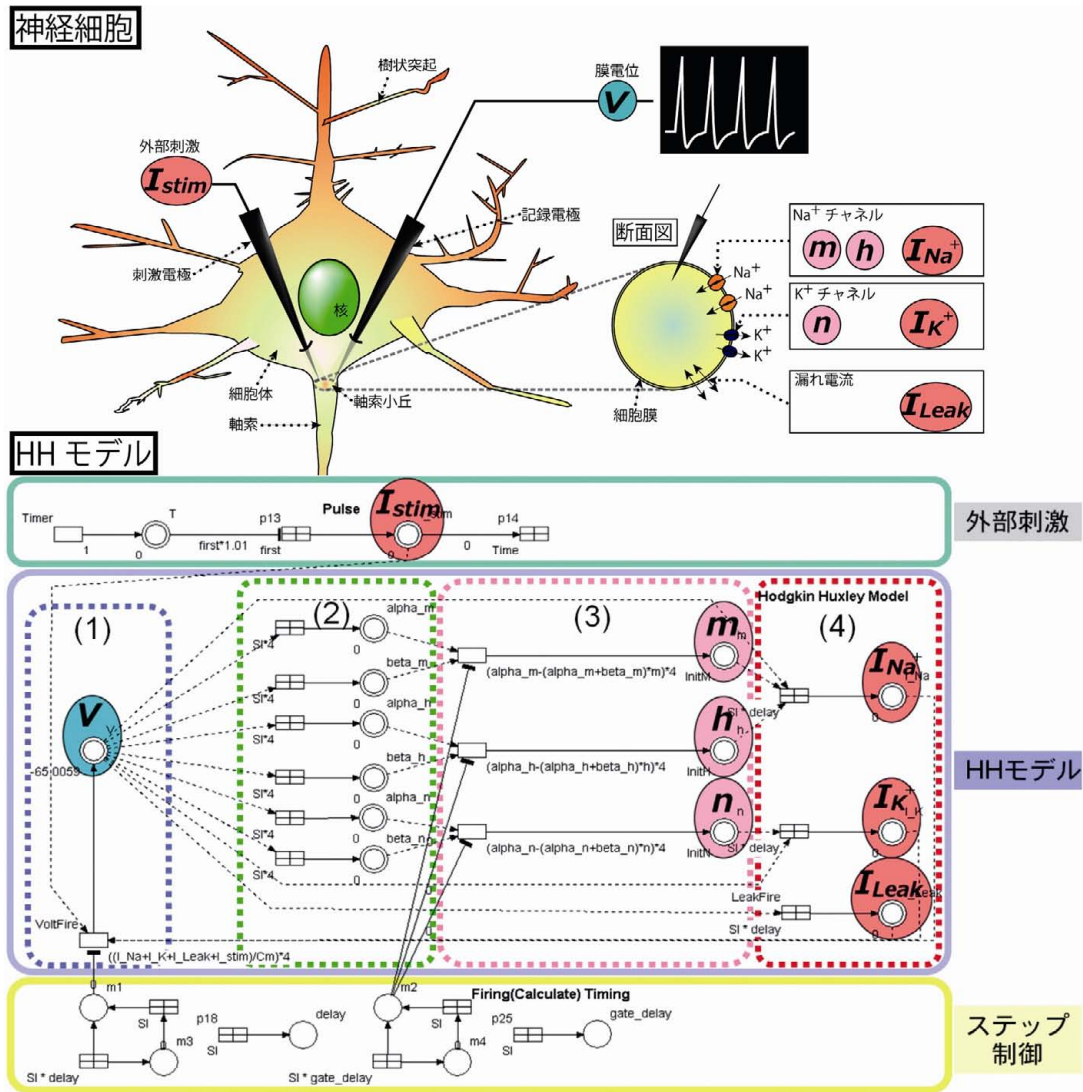
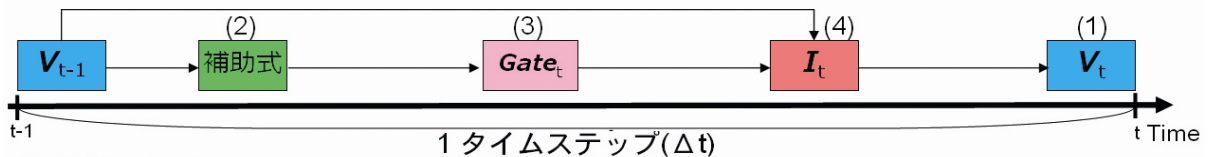


図 1. 実際の神経と CI で描いた HH モデルの対応

数値計算法



Cell Illustrator

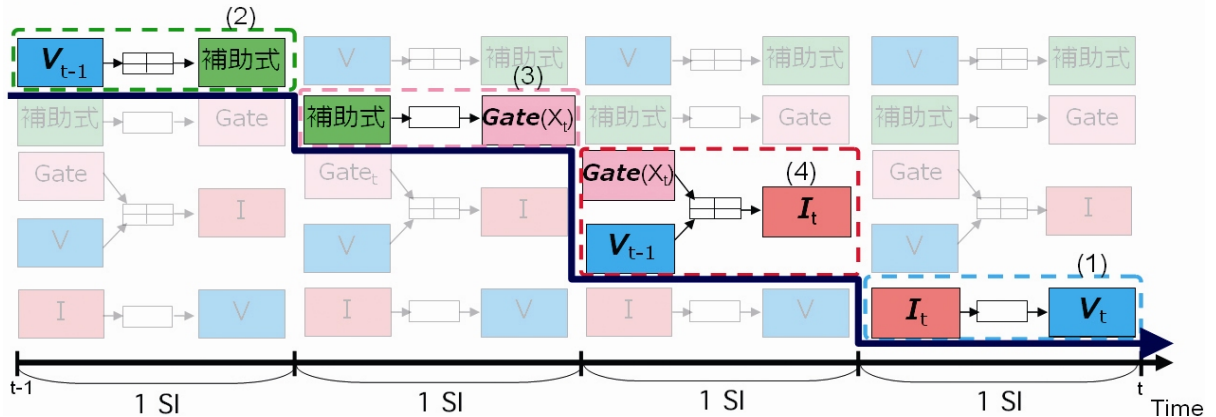


図 2. 数値計算法と Cell Illustrator の違い
 数値計算法と異なり、CI の場合、SI 毎に並列計算をしているので、ステップ制御 HFPN により図中濃くなっている所のみ値が変化する。

次に、過分極パルス刺激を与えた時の挙動を観測した(図3(c))。過分極パルスを与えるとパルスが終了した時点で

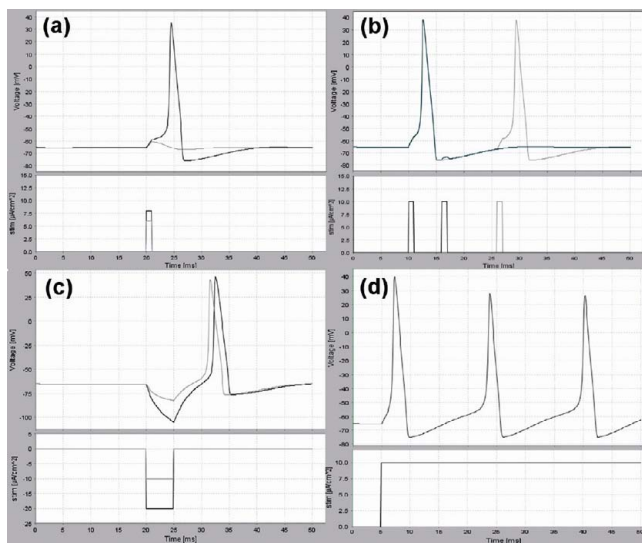


図3. 様々な刺激を与えた時の電位変化
図は上下2枚ずつが組で、上段が神経の膜電位(V)、下段が刺激(I_{stim})である。

ヤリイカの神経では活動電位が発生する。これをリバウンド発火と呼ぶ。実際、CI神経でも再現出来た。

最後に一定の刺激を神経に長時間与えると、ヤリイカの神経同様 CI 神経においても神経細胞の周期的な発火が見られた(図3(d))。

4. 概日リズムとの神経シミュレーションの結合

概日リズムは細胞内の遺伝子及びタンパク質のネットワークで生じると考えられており、脳内視交叉上核が関与している。また視交叉上核神経も約24時間の周期で発火する事が明らかにされている[8]。しかし、その神経発火機構は明らかではない。

そこで、インターネットで公開されているCIのインタラクティブライブラリである、HFPN パスウェイデータベース[9]中の概日リズムモデル[10]を用い、概日リズムとHHモ

デルとを組み合わせ概日リズムで発火する神経シミュレーションを行った。現在のところ、概日リズムの神経発火に、どのタンパク質が関わるかは明らかにされていないので、今回は概日リズムネットワーク中のタンパク質がK⁺チャンネルの最大コンダクタンスを制御すると仮定して計算した。

48時間の神経細胞の発火のシミュレーションを図4に示す。視交叉上核神経細胞で観察されているように、周期24時間の神経発火のリズムが確認できた。

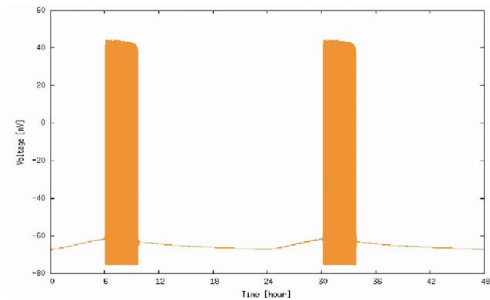


図4. 概日リズムで発火する神経

5. 最後に

CIを用いて、神経細胞のHHモデルを構築した。HFPNにおけるステップ制御や反応速度を調節する事で、インタラクティブ同様、神経細胞の電気的興奮現象をシミュレーションできた。さらに、CIを用いて概日リズムライブラリと神経細胞モデルとを結合し、概日リズムにおける神経発火現象をシミュレーションした。以上の結果は、Cell Illustrator を用いても神経電気現象のシミュレーションも可能で、細胞内のインタラクティブの両方を考慮した脳の大規模シミュレーションにCell Illustratorが活用出来る事を示している。

謝辞

山口大学理学部の松野浩嗣教授、大島商船高等専門学校商船学科の北風裕助教には有益なコメントを頂きました。ここに感謝いたします。

参考文献

- [1] M. Nagasaki et al., A versatile Petri net based architecture for modeling and simulation of complex biological processes. *Genome Informatics*, 15(1): 180-197, 2004.
- [2] NEURON Web Site : <http://neuron.duke.edu/>
- [3] J. M. Bower and D. Beeman, *The Book of GENESIS 2nd edition*, Springer, USA, 1998.
- [4] <http://senselab.med.yale.edu/modeldb/>
- [5] U. S. Bhalla and R. Iyengar, Emergent Properties of Networks of Biological Signaling Pathways, *Science*, 283:381-387, 1999.
- [6] A. Hodgkin and A. Huxley, A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J. of Physiol.*, 117: 500-544, 1952.
- [7] 土井淳他, システム生物学がわかる! セルイラストレータを使ってみよう, 共立出版, 2007.
- [8] K. Watanabe et al., Circadian rhythms of vasopressin release in primary cultures of rat suprachiasmatic nucleus. *Brain Res.* 624: 115-120, 1993.
- [9] Genomic Object Net Pathway Database : <http://genome.ib.sci.yamaguchi-u.ac.jp/~gon/>
- [10] H. Matsuno et al., A New regulatory interaction suggested by simulations for circadian genetic control mechanism in mammals, *Journal of Bioinformatics and Computational Biology*, 4(1): 139-153, 2006.

パスウェイ描画解析ソフト “Cell Illustrator 【セルイラストレータ】”

セルイラストレータは、生命をシステムとして理解するというゲノム解読後の生命科学の新たなチャレンジの実現を目指し、東京大学とジーエヌアイが共同開発したパスウェイ描画解析ソフトウェアです。

【機能概要】

簡単かつ直感的に生物パスウェイの描画ができる。

生命システムを構成するパスウェイ（代謝経路、遺伝子制御ネットワーク、シグナル伝達経路、細胞間の制御反応など）を描くために必要なアイコンを 350 個以上備えており、これらをドラッグアンドドロップし、コネクタで繋いでいくことで簡単にパスウェイを作成できます。さらに自分でオリジナルのアイコンを作成することもできます。また、これらアイコンには生物学の用語（オントロジー）情報が入っており、情報の整理・共有・再利用に便利です。

作成したパスウェイはただちにシミュレーションができる。

作成したパスウェイは、再生ボタンを押せばすぐに簡単なシミュレーションが可能です。仮説の生成・検証をする、遺伝子をロックアウトした影響を予測する、予備実験をするといったことを簡単な操作で実現できます。さらに、数式を入力することで複雑なシミュレーションもできます。

遺伝子ネットワークの探索と解析ができる。

マイクロアレイ解析で得られた遺伝子ネットワークを表示、特定の経路を検索、サブネットワークの作成などができます。この機能は、実際にジーエヌアイの遺伝子ネットワーク解析に用いられています。

【特長】

最新の CSML フォーマットの入出力形式 CSML3.0 に対応

あらゆる OS 環境（Windows、Mac OS X、Unix、Linux）に対応

350 個以上のオントロジーと関連付けられた、ベクター形式（SVG）の洗練されたアイコン

他のパスウェイモデル（SBML、CellML 形式）をインポート可能

BIOBASE 社の TRANSFAC（遺伝子制御データベース）、TRANSPATH（パスウェイデータベース）に含まれる、ヒト・マウス・ラットの 10 万以上の生体内反応をインポート可能（オプション）

作成したパスウェイは直ちにシミュレーションが可能

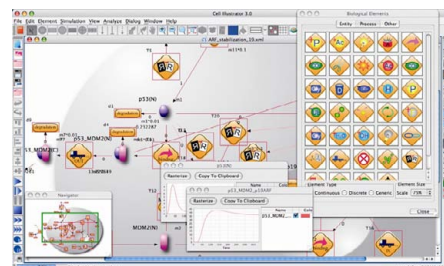


図 1. ネットワーク描画例

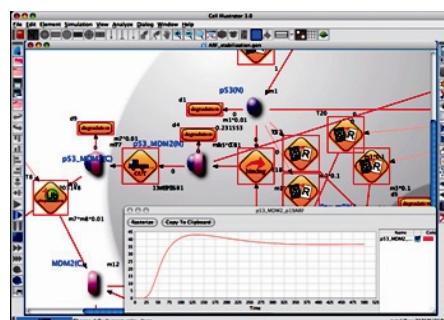


図 2. シミュレーション画面例

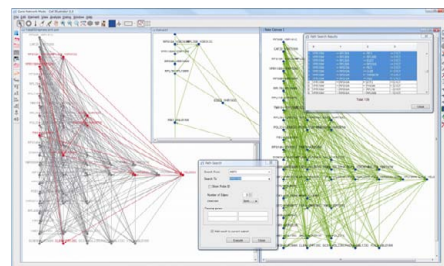


図 3. 遺伝子ネットワーク表示例

コードNo.	メーカーコード	品名	容量	希望納入価格(円)*	備考
306-33381	GS-CIPC01J	Cell Illustrator Professional Corporate Edition セルイラストレータ プロフェッショナル コーポレート版	1セット	600,000	プロフェッショナル・ユーザー向け
303-33391	GS-CISC01J	Cell Illustrator Standard Corporate Edition セルイラストレータ スタンダード コーポレート版	1セット	200,000	一般ユーザー向け
306-33401	GS-CIPA01J	Cell Illustrator Professional Academic Edition セルイラストレータ プロフェッショナル アカデミック版	1セット	150,000	教育機関のプロフェッショナル・ユーザー向け
303-33411	GS-CISA01J	Cell Illustrator Standard Academic Edition セルイラストレータ スタンダード アカデミック版	1セット	50,000	教育機関の一般ユーザー向け
300-33421	GS-CISS01J	Cell Illustrator Standard Student Edition セルイラストレータ スタンダード 学生版	1セット	12,000	学生向け
307-33431	GS-CICA01J	Cell Illustrator Classroom Single Pack セルイラストレータ クラスルーム 1ライセンス	1セット	50,000	教育機関向けノック製品
304-33441	GS-CICA10J	Cell Illustrator Classroom 10 License Pack セルイラストレータ クラスルーム 10ライセンス	1セット	250,000	教育機関向けノック製品
301-33451	GS-CICA50J	Cell Illustrator Standard Student Edition セルイラストレータ クラスルーム 50ライセンス	1セット	1,250,000	教育機関向けノック製品

*：年間のライセンス料となります。

※詳細は、ジーエヌアイのホームページ (www.cellillustrator.com/jp/home) をご覧ください。

本文に記載しております試薬は試験・研究の目的にのみ使用されるもので、「医療品」、「食品」、「家庭用品」などとして使用できません。価格はすべて希望納入価格であり、消費税等が含まれておりません。

和光純薬工業株式会社

本社 ☎540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 ☎(06) 6203-1788 (試薬学術部)
支店 ☎103-0023 東京都中央区日本橋本町四丁目5番13号 ☎(03) 3270-8243 (試薬学術部)

- 九州営業所 ☎(092) 622-1005 (代)
- 横浜営業所 ☎(045) 476-2061 (代)
- 東海営業所 ☎(052) 772-0788 (代)
- 筑波営業所 ☎(029) 859-2278 (代)
- 東北営業所 ☎(022) 222-3072 (代)
- 北海道営業所 ☎(011) 271-0285 (代)
- 中国営業所 ☎(082) 285-6381 (代)

フリーダイヤル 0120-052-099 フリーファックス 0120-052-806

■ご意見・お問い合わせ、本誌のDM新規登録・変更等については、

E-mail : org@wako-chem.co.jp まで

Wako Chemicals USA, Inc.

<http://www.wakousa.com>

●Head Office (Richmond, VA)

Tel: +1-804-714-1920

●Los Angeles Sales Office

Tel: +1-949-679-1700

●Boston Sales Office

Tel: +1-617-354-6772

Wako Chemicals GmbH

European Office

<http://www.wako-chemicals.de>

Tel: +49-2131-311-0

URL : <http://www.wako-chem.co.jp>