

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 : 森 智弥
Title : 確率ブーリアンネットワークに基づくシグナル伝達ネットワークのモデル化と解析
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12月9日～2013年3月7日
Report: <p>私は ITP による支援を受け、2012年12月9日から2013年3月7日までの約3ヶ月の間、ドイツ・ベルリンのフンボルト大学に属し、理論物理生物学に関する研究を行っている Edda Klipp 教授の研究室に滞在し、研究する機会を頂くことができた。</p> <p>Edda 教授の研究室はポスドク研究員9名、博士後期課程の学生16名、修士課程以下の学生7名、ゲストとして滞在している研究者6名で構成されている。研究室では、主に、酵母がモデル生物として利用され、シグナリング・パスウェイ、代謝ネットワーク、細胞周期における数理モデルが研究されている。また、近年では人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) に関する研究も行われている[1]。毎週火曜日14時00分からはグループミーティングが開催され、スタッフを含む全メンバーに対して Edda 教授から連絡事項が伝えられる。また、各メンバーから教授に向けて1週間の進捗報告が行われる。毎週木曜日13時15分からはグループセミナーが行われ、メンバーの内の一人が自身の研究内容について30分程度発表し、15分程度の質疑応答が行われる。私も滞在した3ヶ月間の研究成果を発表する機会を設けて頂き、質疑応答の時間では貴重な意見を様々頂くことができた。また、毎週月曜日13時00分には外部からインストラクターが招かれ、30分程度のエクササイズの時間が設けられている。このエクササイズにはストレッチだけでなく、ボールを使用した遊び感覚の運動も含まれており、私にとっては他のメンバーと研究以外でもコミュニケーションをとることができる有意義な時間となった。</p> <p>滞在期間中における研究内容については Edda 教授、“e:Bio Cellemental”プロジェクトのリーダーである Marcus Krantz 博士、博士後期課程の学生 Max Flöttmann 氏と議論することで具体的な方針が決定された。現在、研究室では“rxncon (reactions and contingencies)” [2]と呼ばれるプロジェクトが存在する。このプロジェクトの目的は、細胞内におけるシグナル伝達ネットワークのグラフによる可視化とブーリアンネットワーク[3]による数理モデルの自動生成である。これらの目的のうち、今回の滞在中では数理モデル化に焦点を当て、(1) 新たな数理モデル化手法を提案し、(2) 提案した新たな数理モデルを用いてシグナル伝達ネットワークを解析することの二点が研究目標となった。</p> <p>現在の“rxncon”ソフトウェアにおけるシグナル伝達ネットワークのモデル化においては、細胞内において“どのような反応が起こっているか (reaction)”と“どのような条件下で反応が起こるか (contingency)”に着目し、シグナル伝達ネットワークを2部グラフのブーリアンネットワークとしてモデル化することを特徴としている[2]。しかし、単純なブーリアンネットワークとしてモデル化す</p>

Table 1 従来のモデル化手法 (表 2 列目) と提案モデル化手法 (表 3 列目)

rxncon	Boolean Function (BN)	Boolean Function (PBN)	Prob.
A_ppi_B	$A_ppi_B *= A \wedge B$	$A_ppi_B *= A \wedge B$ $A_ppi_B *= FALSE$	p_1 $p-FALSE$
A_ppi_B; ! C	$A_ppi_B *= A \wedge B \wedge C$	$A_ppi_B *= A \wedge B \wedge C$ $A_ppi_B *= FALSE$	p_1 $p-FALSE$
A_ppi_B; K+ C	$A_ppi_B *= A \wedge B$	$A_ppi_B *= A \wedge B$ $A_ppi_B *= A \wedge B \wedge C$ $A_ppi_B *= FALSE$	p_1 p_2 $p-FALSE$
A_ppi_B; 0 C	$A_ppi_B *= A \wedge B$	$A_ppi_B *= A \wedge B$ $A_ppi_B *= FALSE$	p_1 $p-FALSE$
A_ppi_B; K- C	$A_ppi_B *= A \wedge B$	$A_ppi_B *= A \wedge B$ $A_ppi_B *= A \wedge B \wedge \sim C$ $A_ppi_B *= FALSE$	p_1 p_2 $p-FALSE$
A_ppi_B; x C	$A_ppi_B *= A \wedge B \wedge \sim C$	$A_ppi_B *= A \wedge B \wedge \sim C$ $A_ppi_B *= FALSE$	p_1 $p-FALSE$
A_ppi_B; ? C	$A_ppi_B *= A \wedge B$	$A_ppi_B *= A \wedge B$ $A_ppi_B *= FALSE$	p_1 $p-FALSE$

ると, “rxncon” の特徴である contingency を正確に表現できない. また, 細胞内で起こる反応には常にノイズが存在すると考えられるが, 単純なブーリアンネットワークを用いたモデル化ではそれらのノイズを取り扱うことができない. そこで, 今回の滞在では, 確率ブーリアンネットワーク[4]を用いたシグナル伝達ネットワークのモデル化を提案した. 単純なブーリアンネットワークでは各頂点にブール関数は 1 つだけしか割り当てられないのに対して, 確率ブーリアンネットワークでは各頂点が複数のブール関数を持つことが許されており, あらかじめ与えた確率によってそれらの関数のうち 1 つがランダムに選択される. 確率ブーリアンネットワークが有するこの性質により上述の課題を解決することができる. 提案したモデル化手法と従来のモデル化手法を Table 1 に示す. Table 1 において, “A_ppi_B”とはタンパク質 A とタンパク質 B がタンパク質間相互作用によって結合する反応を示している. また, “!” , “K+” , “0” , “K-” , “x” , “?” という記号は化合物 C が反応 “A_ppi_B” に与える影響を示しており, それぞれ, “必要不可欠である”, “反応を促進させる”, “影響は無い”, “反応を抑制させる”, “影響は不明”であることを表している.

提案したモデル化手法を実際の生体内におけるシグナル伝達ネットワークに適用させるために, まずは提案手法を出芽酵母の高浸透圧環境への耐性獲得に関係する Hog パスウェイ (Fig.1) に適応させ, シグナルが伝達される様子を時系列データとして生成し, ノイズの確率 (Table 1: p-FALSE) がネッ

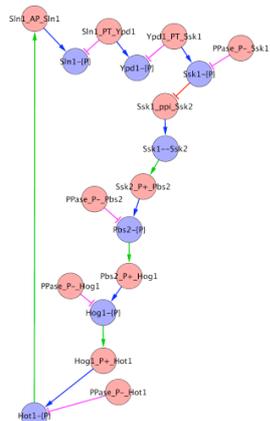


Fig.1 Hog パスウェイ

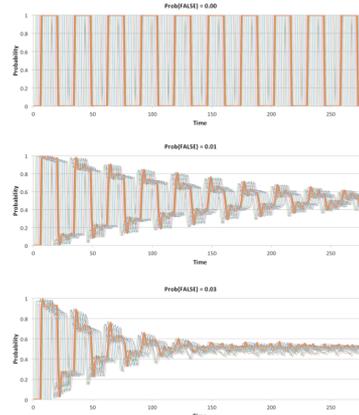


Fig.2 各ノードが活性状態にある確率

トワークに与える影響を調べた。今回の実験では 1000 の時系列データ（各時系列データのステップ数は 1000）を生成し、それらの平均を求め、各ノードが活性化状態にある確率を調べた。結果を Fig.2 に示す。Fig.2 は Fig.1 における各ノードが活性化状態にある確率を示しており、縦軸が確率、横軸が時間ステップを示している。結果、 $p\text{-FALSE} = 0.00$ の場合（Fig.2 上段の図）、各ノードが“ON”の状態と“OFF”の状態を繰り返し、完全に振動していることが確認できたが、 $p\text{-FALSE} = 0.01$ の場合は振動を保持しながらも、次第に各ノードが活性化状態にある確率が次第に小さくなっていくことが分かった。さらに、 $p\text{-FALSE} = 0.03$ の場合は、ノイズの影響が大きいので、Hog1 パスウェイのシステムが早い段階で崩壊することが分かった。

さらに、振動の 1, 4, 7, 10 周期目における平均確率の最大値をノードの大きさで、また、その時の刻をノードの色で表した図を Fig.3 に示す。

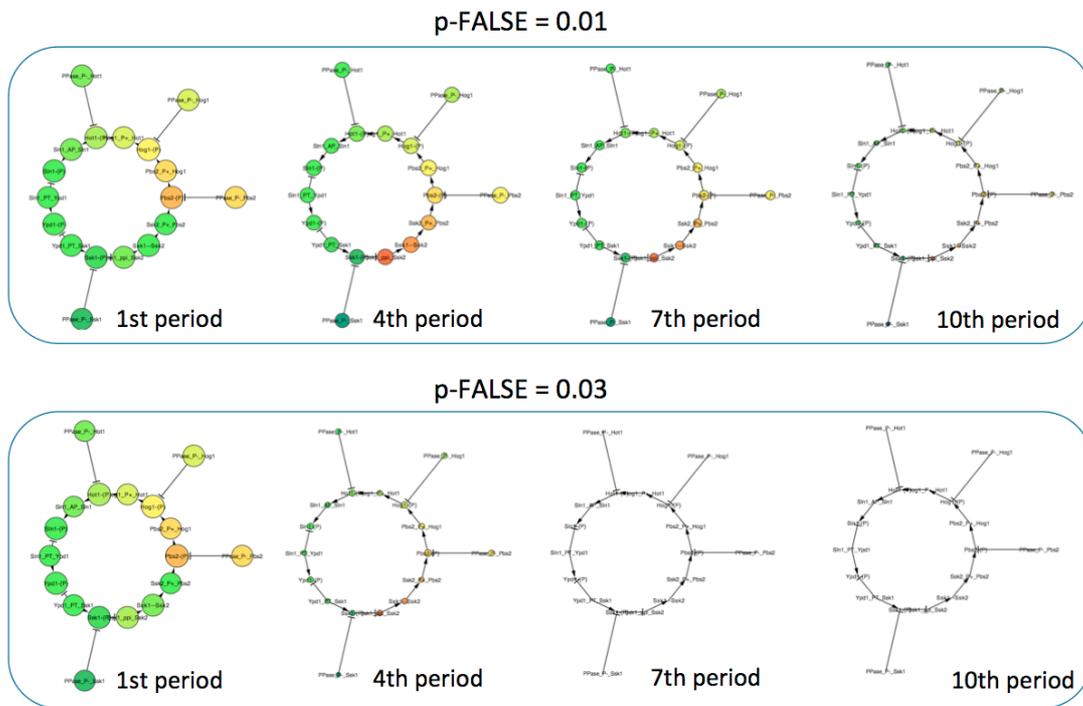


Fig.3 ピーク確率の大きさとピーク時の時刻

Fig.3 から、Fig.2 と同様に $p\text{-FALSE} = 0.01$ の場合は振動を保持しながら各ノードが活性化状態にある確率が少しずつ減少していくことが見てとれ、また、 $p\text{-FALSE} = 0.03$ の場合は早期に活性化状態にある確率が低くなることを確認できた。以上の結果より、今回の実験に用いた Hog パスウェイにおいてはノイズの確率が 0.03 では大きく、0 から 0.01 の間が適切であることが示唆された。

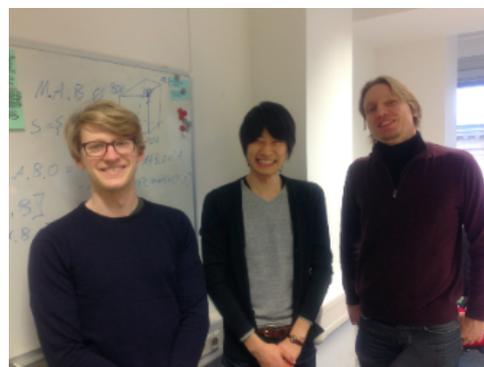
今後も継続して Edda 教授、Marcus 博士、Max 氏と連絡をとりつつ、(1) “contingency” に関するパラメータ (Table 1 の P_1 と P_2 の比) についても適切な値を調査し、(2) MAPK ネットワークに提案した確率ブーリアンネットワークによるモデル化手法を適用し解析を行うことで、シグナル伝達ネットワークの解析に対して有用なソフトウェアの開発を続けて行く予定である。

(参考文献)

- [1] Flöttmann, M., Scharp, T. and Klipp, E. A stochastic model of epigenetic dynamics in somatic cell reprogramming, *Front. Comput. Physiol. Med.* 3, 216, 2012.
- [2] C-F. Tiger, F. Krause, G. Cedersund, R. Palmer, E. Klipp, S. Hohmann, H. Kitano and M. Krantz. A framework for mapping, visualization and automatic model creation of signal-transduction networks, *Molecular Systems Biology*, 8, 578, 2012.
- [3] S. A. Kauffman, *The Origins of Order, Self-organization and Selection in Evolution*, Oxford Univ. Press, New York, 1993
- [4] I. Shmulevich, E. R. Dougherty, S. Kim and W. Zhang, Probabilistic Boolean networks: a rule-based uncertainty model for gene regulatory networks, 18, 261/274, 2002.

(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、なおかつ、滞在の準備から心構えまで様々な面でアドバイスを下さった馬見塚拓教授、研究内容や滞りの計画までサポートして下さい下さった阿久津達也教授、ならびに滞在中、常に暖かく見守って下さり、ご指導して下さいました Edda Klipp 教授、研究内容について多くのアドバイスを下さった Marcus Krantz 博士、Max Flöttmann 氏、そして、いつも親切に接して下さい下さった研究室のメンバーに心から感謝申し上げます。



(左上) 研究室のある建物。最上階が Edda Klipp 教授の研究室。

(右上) 博士論文公聴会で訪れた Max-Planck 研究所。

(左下) 研究室のメンバーとの食事会。

(右下) 滞在中、様々なサポートをして下さった Max 氏 (左) と Marcus 博士 (右)。