

黒田 真也

東京大学大学院理学系研究科  
教授

時間情報コードによる細胞制御システムの解明

## § 1. 研究実施体制

### (1) 「黒田」グループ(研究機関別)

- ① 研究代表者:黒田 真也 (東京大学大学院 理学系、教授)
- ② 研究項目:時間情報コードのシステム解析
  - ・既知の代謝経路の時間情報コードの実験とモデリング
  - ・新規代謝経路の時間情報コードの経路同定と解析手法の開発

### (2) 「石井」グループ(研究機関別)

- ① 主たる共同研究者:石井 信 (京都大学大学院 情報学研究科、教授)
- ② 研究項目:データドリブンモデルを用いた時間情報コードの解析
  - ・時間情報コードに関するシステム同定と制御アルゴリズムの開発

### (3) 「小澤」グループ(東京大学)

- ① 主たる共同研究者:小澤 岳昌 (東京大学大学院 理学研究科、教授)
- ② 研究項目:光制御とイメージングを用いた時間情報コードの解析
  - ・AKT 光制御プローブの適用

### (4) 「藤井」グループ(東京大学)

- ① 主たる共同研究者:藤井 輝夫 (東京大学 生産技術研究所、教授)
- ② 研究項目:時間情報コード解析のためのマイクロ流体デバイスの開発
  - ・培養細胞を用いた細胞応答計測
  - ・グループ内共同利用に向けたマイクロ流体制御系の改良

## § 2. 研究実施の概要

### 1. 既知の代謝経路の時間情報コード

#### ・実験:計測系の確立と生化学反応モデル作成(黒田 G)

骨格筋細胞に対する電気刺激による筋収縮が、代謝物質の時間変化にどのような影響をおよぼすのか計測、解析をおこなった。計測は、慶應大学曾我朋義先生との共同研究である。

#### ・ヒトの血中インスリンと血糖値の時間情報コード(黒田 G、石井 G)

健常者に対する経口グルコース負荷試験における血糖値、血中インスリン、血中インクレチン波形のデータを取得し、ヒトにおける血糖値及び血中インクレチンによる血中へのインスリン分泌過程のモデル化を行った(黒田 G)。このモデルを用いて、最も血糖値が上がりにくい上がりやすい糖摂取の時間パターン等を予測し(石井 G)、実験的な検証に成功した(黒田 G)。

### 2. 新規代謝経路の時間情報コード

#### ・新規代謝経路の同定法の開発(黒田 G)

インスリンシグナル下流の遺伝子発現が時間情報コードによって制御されているかはこれまで明らかではなかった。そこで我々は RNA-seq により網羅的な遺伝子発現時系列データを測定し、情報科学的・統計的解析の結果、インスリン刺激により発現が促進される遺伝子はパルス刺激・ランダム刺激に対して速く応答し、抑制される遺伝子はインスリン用量への感受性が高いという時間情報コードのメカニズムを明らかにした(佐野ら、論文投稿中)。なお、RNA-seq 測定は東京大学・鈴木穰博士との共同研究である。

健常マウスと 2 型糖尿病モデルマウスである *ob/ob* マウスを用いてグルコース負荷における、トランスクリプトーム、メタボローム、プロテオームの時系列データを取得し、各オミクス階層の特徴の抽出を行っている。トランスクリプトームは鈴木穰博士(東京大学)、メタボロームは曾我朋義博士(慶應大学)、プロテオーム解析は中山敬一博士と松本雅記博士(九州大学)との共同研究である。またリポドームのデータを池田和孝博士(理研)と共同研究で今後取得する。

#### ・データドリブンモデルの開発(黒田 G、石井 G)

石井らは、ブラックボックスモデリングに基づくシステム同定法と、時間情報コードに関わるシステム制御法の開発を進めた。経口糖負荷後のヒト代謝システムモデルとその同定アルゴリズムを完成させ、黒田らが取得した被験者 20 人の血中代謝物質濃度時系列計測データからシステムパラメータの個人差の解析を進めた。細胞内シグナル伝達の制御アルゴリズムを開発し、インスリンシグナル伝達経路の微分方程式モデル上で分子濃度時間変化の制御が可能であることを示した。また、ブドウ糖摂取後の最大血糖値を最小化・最大化するように、ブドウ糖摂取時間パターンを設計する試みを開始した。

黒田らは九州大学の宇田らとの共同研究により、情報理論の枠組みから情報伝達がロバストに行われる仕組みの解明に取り組んでおり、インスリン作用の情報伝達における解析への応用を目

指す。また、欠損値のある多階層オミクスデータから、スパース性を導入したグラフィカルモデリングにより分子種間の相互作用を推定する手法の開発を行った。

黒田らは工学院大学の小西らとの共同研究により、不等時間間隔でサンプリングされたデータ(不等間隔データ)を用いたデータドリブンモデル化手法を開発した。不等間隔データを信号欠損のある観測データとみなし、欠損データを行列ランク最小化問題と呼ばれる数理計画問題を解くことで推定する手法である。Hill 式のパラメータ推定も同時可能とする手法も開発し、Hill 式と線形時間フィルタを組み合わせた非線形時間フィルタの解析手法を開発した。これらの手法により、時系列データを等間隔で計測する必要がなくなるため、データの取得が劇的に容易になる。

### 3. プローブ開発

#### ・AKT 光制御プローブの適用(小澤 G、黒田 G)

開発した光活性化型 AKT(PA-AKT)を用いて、光照射パルス回数と Akt の活性化との相関関係を記述する数理モデルを構築し、Atrogin1 の遺伝子発現が Akt の活性化パターンにより制御されていることを実験的に立証した(桂ら, *Sci. Rep.* 5, 14589, 2015)。また AKT に引き続き, Ras の活性を光制御するタンパク質モジュールの最適化ならびに光照射パルスと Ras 活性化の定量的データを取得した。Ras 活性化の頻度および強度を変えた時の ERK のリン酸化量を定量解析した。現在遺伝子発現を定量化するために、マルチカラーシフェラーゼをプロモータ下流に組み入れた発光ベクターを作成しており、遺伝子発現量から Ras 活性化を評価する系を確立している。

### 4. マイクロ流体デバイス

#### ・マイクロ流体デバイスの開発と適用(藤井 G、黒田 G)

前年度までに構築した、細胞周囲のシグナル分子濃度を時間的に変化させることが可能なマイクロ流体デバイスを改良し、細胞培養チャンバー内を流れる培養液に含まれるシグナル分子の濃度を時間的に変化させながら、同時に空間的な濃度分布パターンを形成することができるシステムを構築することに成功した。蛍光色素を用いた濃度分布計測実験と、Calcein AM による HepG2 細胞染色実験によって、構築したシステムでは細胞培養チャンバー内を流れるシグナル分子の濃度を時空間的に制御できることを実証した。また、マイクロ流体デバイスに集積化されたグルコースセンサによる細胞動態のオンライン計測実験にも着手した。この際、培養液中の阻害物質によるクロストークの問題が発生し、新たに、阻害物質除去膜を電極表面に成膜したマイクログルコースセンサを開発し、実用化のめどをつけた(藤井 G)。

また、マイクロ流体デバイスによる刺激系の計測対象として、分化 C2C12 細胞に対するリン酸化 Akt 及び S6K、細胞質及びミトコンドリア ATP のライブセルイメージング計測系の立ち上げを行っている。定量的な画像解析法を開発し、1 筋チューブレベルでの時系列データの定量化を行った(黒田 G)。