

生命動態の理解と制御のための基盤技術の創出  
平成 24 年度採択研究代表者

H25 年度  
実績報告

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

- 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

- 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

- 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

- 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
  - ・刺激波形制御のためのマイクロ流体制御系の構築
  - ・蛍光物質を用いた実証実験と評価

## § 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)

ラット肝がん FAO 細胞を用いて、インスリンシグナリングである AKT 経路とその下流のグリコーゲン合成、解糖系、糖新生、糖放出抑制の代謝経路の生化学反応モデルを構築した (野口ら、Mol. Sys. Biol., 2013)。メタボロームの計測は、慶応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

健常者、境界型、2 型糖尿病患者に対するグルコースクランプ、インスリンクランプ試験における血糖値、血中インスリン波形のデータを神戸大学医学部糖尿病内科、小川渉先生から提供いただき、ヒトにおけるインスリンによる血糖値制御の時間情報の解析を開始した。

### 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)

プロテオーム、メタボロームなど複数階層のオミクスデータ(トランスオミクスデータ)からインスリンシグナリングによる代謝調節経路を同定する手法を開発して、インスリンによるタンパク質リン酸化を介した新規の解糖系制御機構を予測した。(柚木ら、投稿中)。また、個体レベルでの時間情報コードの解析を開始した。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メタボロームデータの取得を開始した。

#### ・データドリブンモデルの開発(黒田 G、石井 G)

黒田らはブラックボックスモデリングとして 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や(斎藤ら、PLoS ONE, 2013)、時系列を直接考慮しない高次の統計的モデル化手法(Partial least square method)を適応して、ネットワーク推定を行った(秋元ら、PLoS ONE, 2013)。時間情報コードを解析するには、情報量を正確に定義する必要がある。そこで、シャノンの情報理論を用いて PC12 細胞の分化過程における細胞の情報伝達を解析したところ、信号がばらついても情報が堅牢に伝えられることを見出した。(宇田ら、Science 2013)。

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の開発を進めた。CREST のメインテーマではないが、黒田 G と石井 G との共同研究で CaMKII のメモリスイッチの *in vitro* 再構築の論文が Biophysical Journal に採択された。

### 3. プローブ開発

#### ・AKT 光制御プローブの適用(小澤 G、黒田 G)

AKT の光制御プローブの機能性評価を行った。光強度、時間、パルス回数などに依存した Akt 活性を、シグナル下流分子のリン酸化や遺伝子発現量の評価により定量的に解析した。さらに、定量解析により得られたデータから、数理モデルの最適化を行った(桂ら、投稿中)。

#### 4. マイクロ流体デバイス

##### ・マイクロ流体デバイスの開発(藤井 G、黒田 G)

周期的なシグナル分子刺激パターンを与えることができるマイクロ流体デバイスのプロトタイプを完成させた。まず、細胞播種のための吸引流路、2液混合促進構造、逆流防止機構を集積化したマイクロ流体細胞培養デバイスを設計、製作し、シリンジポンプ、光学蛍光顕微鏡、デジタルカメラ、および制御系と組み合わせた評価システムを構築した。

### § 3. 成果発表等

#### (3-1) 原著論文発表

##### 論文詳細情報(国際)

1. Uda,S.,Saito,T.,Kudo,T.,Kokaji,T.,Tuchiya,T., Kubota, H., Komori, Y., Ozaki,Y., and Kuroda, S. “Robustness and Compensation of Information of Signaling Pathways.” Science 341, 558-561, 2013 (DOI:10.1126/science.1234511)
2. Akimoto,Y.,Yugi,K.,Uda,S.,Kudo,T.,Komori,Y.,Kubota,H.and Kuroda,S. “The Extraction of Simple Relationships in Growth Factor-Specific Multiple-Input And Multiple-Output Systems in Cell-Fate Decisions by Backward Elimination PLS Regression.”, PLoS ONE 8(9):e72780,2013 (DOI: 10.1371/journal.pone.0072780)
3. Urakubo, H., Sato, M., Ishii, S.,and Kuroda, S. “In vitro reconstitution of a CaMKII memory switch by an NMDA receptor-derived peptide”, Biophysical Journal, 106(6), 1414–1420, 2014 (DOI: 10.1016/j.bpj.2014.01.026)
4. Noguchi, R., Kubota, H., Yugi, K., Toyoshima, Y., Komori, Y., Soga, T., and Kuroda, S. “The Selective Control of Glycolysis, Gluconeogenesis and Glycogenesis by Temporal Insulin Patterns” Mol. Sys. Biol., 9; Article number 664, 2013 (DOI:10.1038/msb.2013.19)