

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 (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)

分化させた C2C12 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シグナル分子とメタボロームの計測を行った。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

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を解析した。その結果、インスリンクリアランスが耐糖能以上に深く関与することが見出された。

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、インスリンによるホスホフルクトキナーゼのリン酸化を介した新規の解糖系制御機構を見出した。(柚木ら、Cell Reports、2014)。また、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、トランスクリプトーム、メタボローム、プロテオームの取得を開始した。プロテオーム解析は九州大学、中山敬一博士と松本雅記博士との共同研究である。

・データドリブンモデルの開発(黒田 G、石井 G)

黒田らは、工学院大学の小西らとの共同研究を開始して、不等間隔データからの 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の開発を開始した。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と期待される。

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、これに加え時間情報コードに関わるシステム制御法の開発を開始した。ランダム性を明に含む確率時間情報コードモデルの定式化を完成させ、スナップショットデータに基づく生化学状態軌道の推定手法を開発した。また、細胞内シグナル伝達系制御の手法を開発し、インスリンシグナル伝達経路およびカルシウムシグナリングの微分方程式モデルに適用した。また、ブラックボックスモデルにおいて標本サイズが小さい状況下で、システム同定しつつ制御入力を最適設計する方法の定式化を行った。

4. 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, 論文投稿中). 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, マルチカラール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.

5. マイクロ流体デバイス

前年度開発したプロトタイプデバイスを用いて, 実際の培養細胞に対して周期的な刺激パターンを与えることができる細胞培養用マイクロ流体システムを構築し, 細胞の時間的応答の計測実験を開始した. 実際に, 構築したシステムを用いて, 細胞外の ATP 濃度を時間的に変化させたときの細胞内カルシウムイオン濃度変化を蛍光プローブにより測定したところ, ATP 濃度の変化に応じた蛍光強度の変化が観測され, シグナル分子濃度波形に対する細胞の応答を測定できることが実証された. 加えて, 上記のマイクロ流体デバイス上での細胞動態オンライン計測の実現を目指す電気化学式マイクログルコースセンサの機能向上に関する検討も実施し, プロトタイプへの集積化へのめどがついた. また, 開発したプロトタイプマイクロ流体デバイスおよび細胞培養用マイクロ流体システムのグループ内共同利用も開始した.

代表的な論文

Yugi *et al*, *Cell Reports*, 8 (4), 1171–1183, 2014

Reconstruction of Insulin Signal Flow from Phosphoproteome and Metabolome Data