

ペタコンシンポジウム 細胞WG

網羅的代謝計測技術による細胞代謝シミュレーションの精緻化と応用

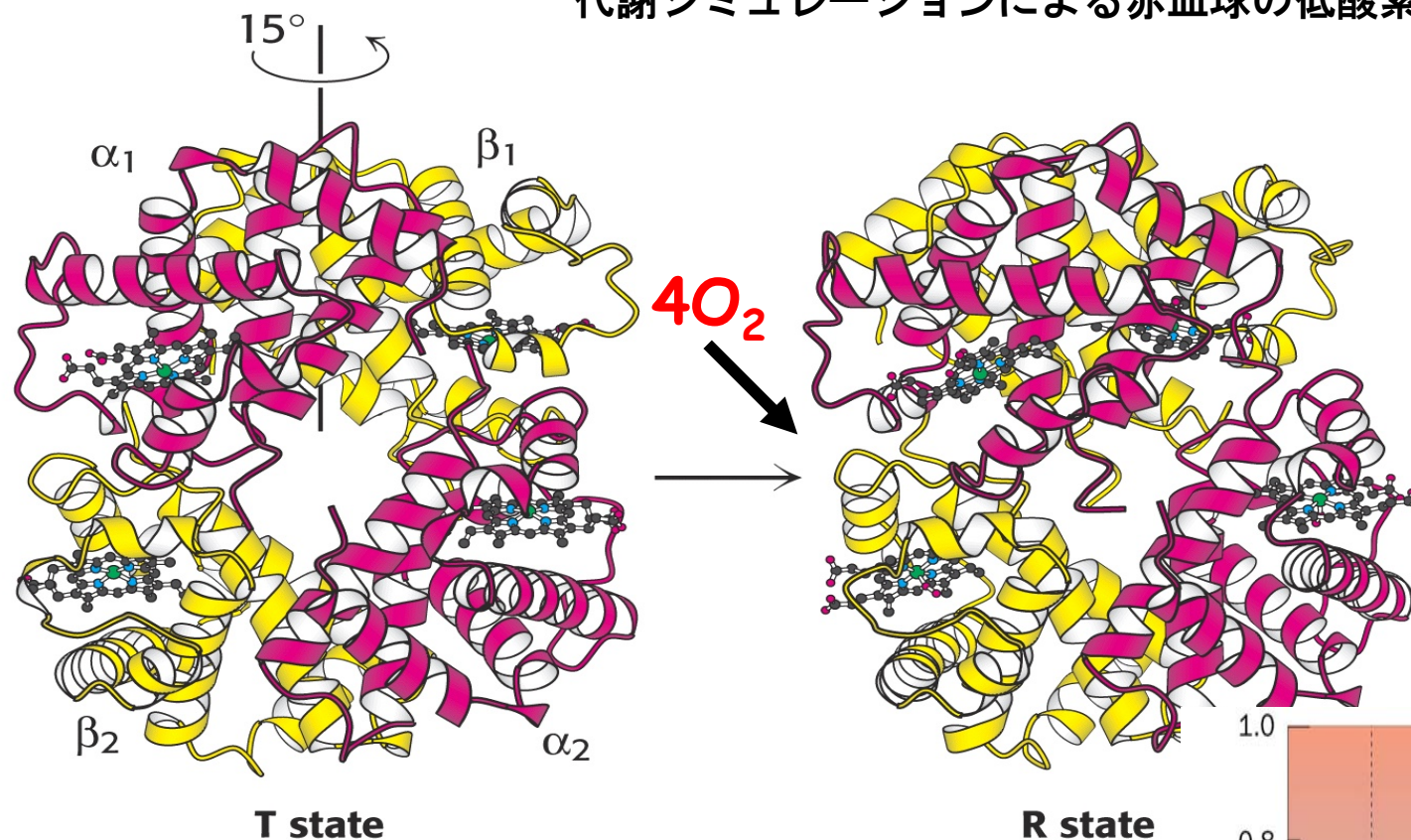
慶應義塾大学医学部
ヒト代謝システム生物学研究センター

医化学教室

末松 誠

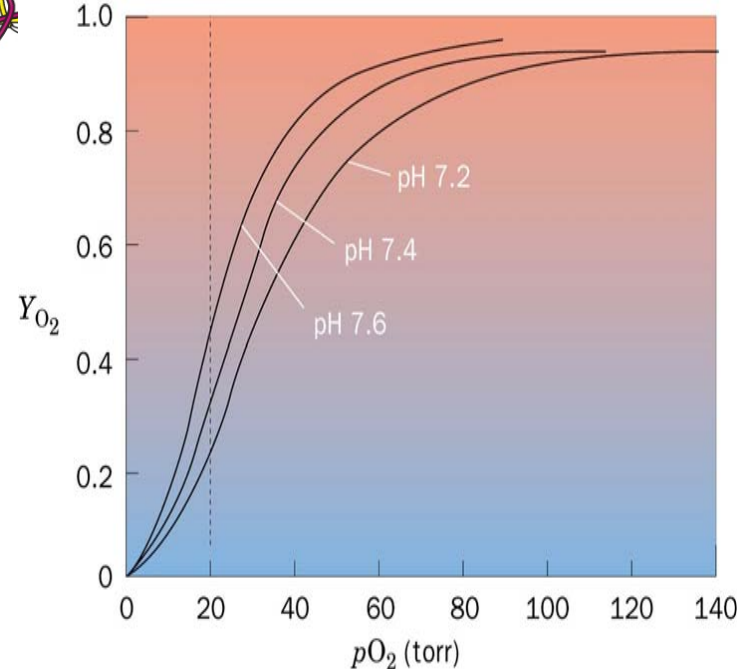
平成19年12月25日
ペタコンシンポジウム 細胞WG資料

代謝シミュレーションによる赤血球の低酸素スイッチの予測と実証



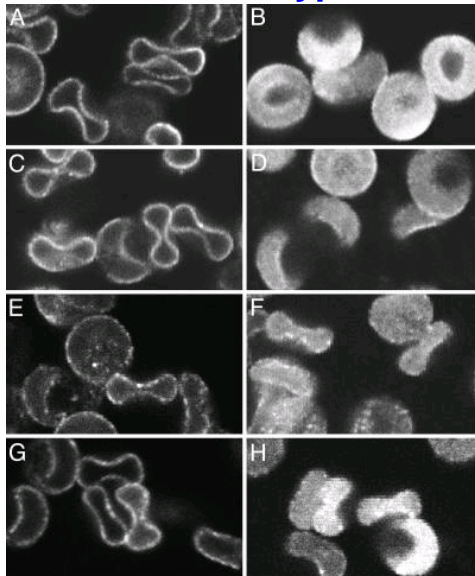
Missions of Hemoglobin (Hb):

- Oxygen transport
- An oxygen sensor regulating glycolysis



Hbは低酸素でT-stateが安定化してBand3に結合すると同部位に結合していた解糖系酵素群が乖離して活性化する

Normoxia Hypoxia

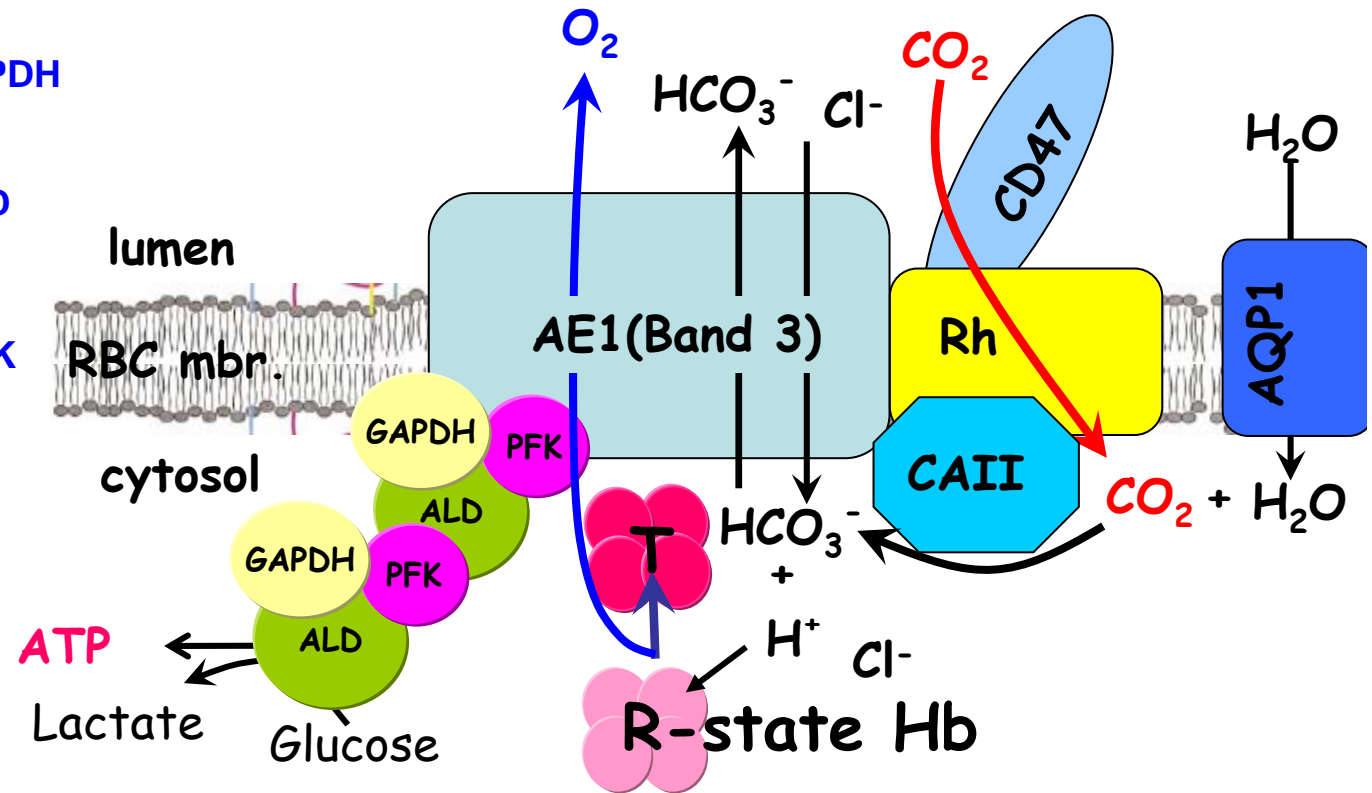


GAPDH

ALD

PFK

PK



Campanella ME, et al.
PNAS 2005

Suganuma K, et al.

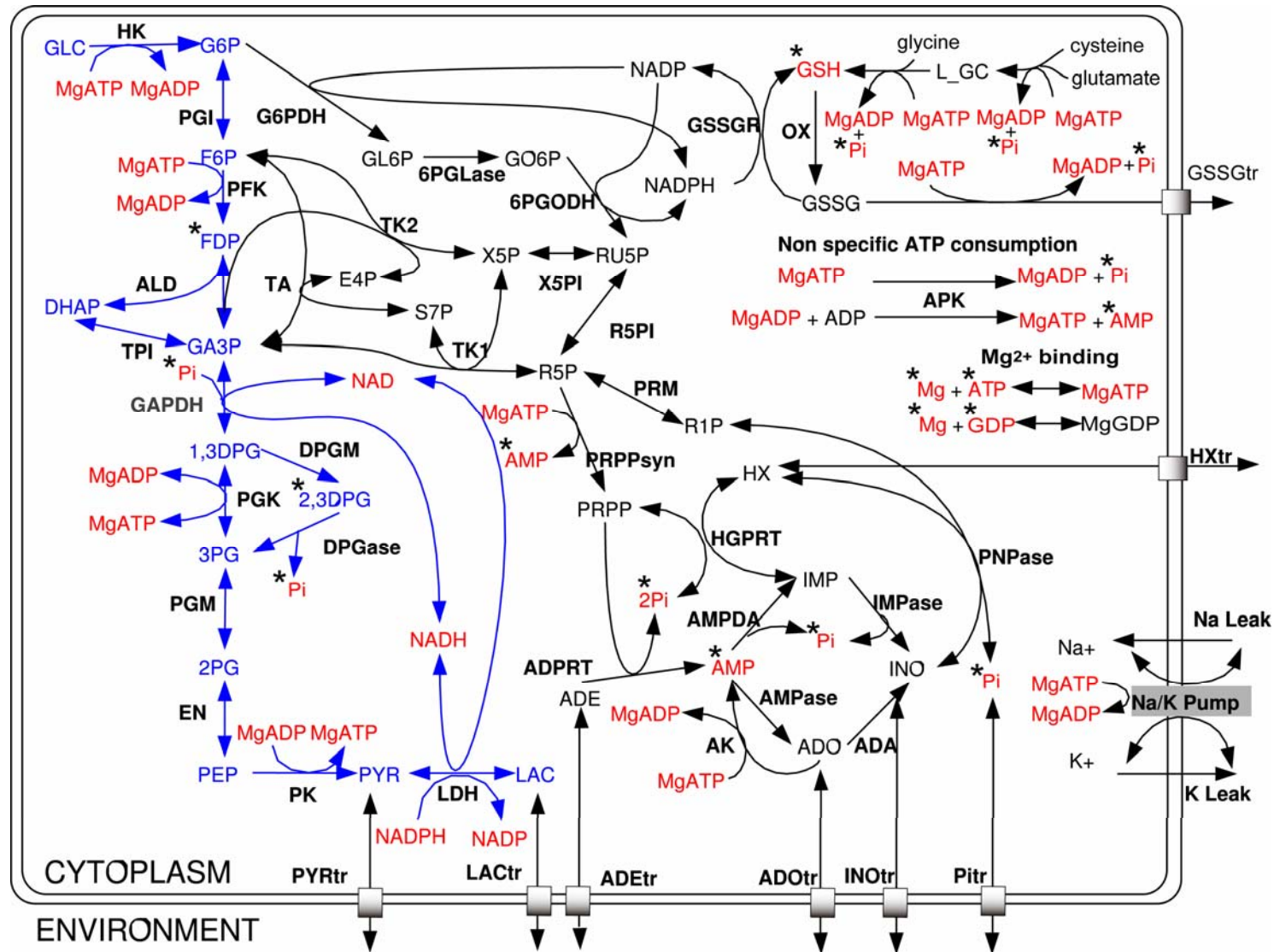
Antioxid Redox Signal 2006

一方低酸素でHbがT-stateで安定化すると2,3-BPGやATPがHbに結合・吸着されるので解糖系基質が低下する可能性がある

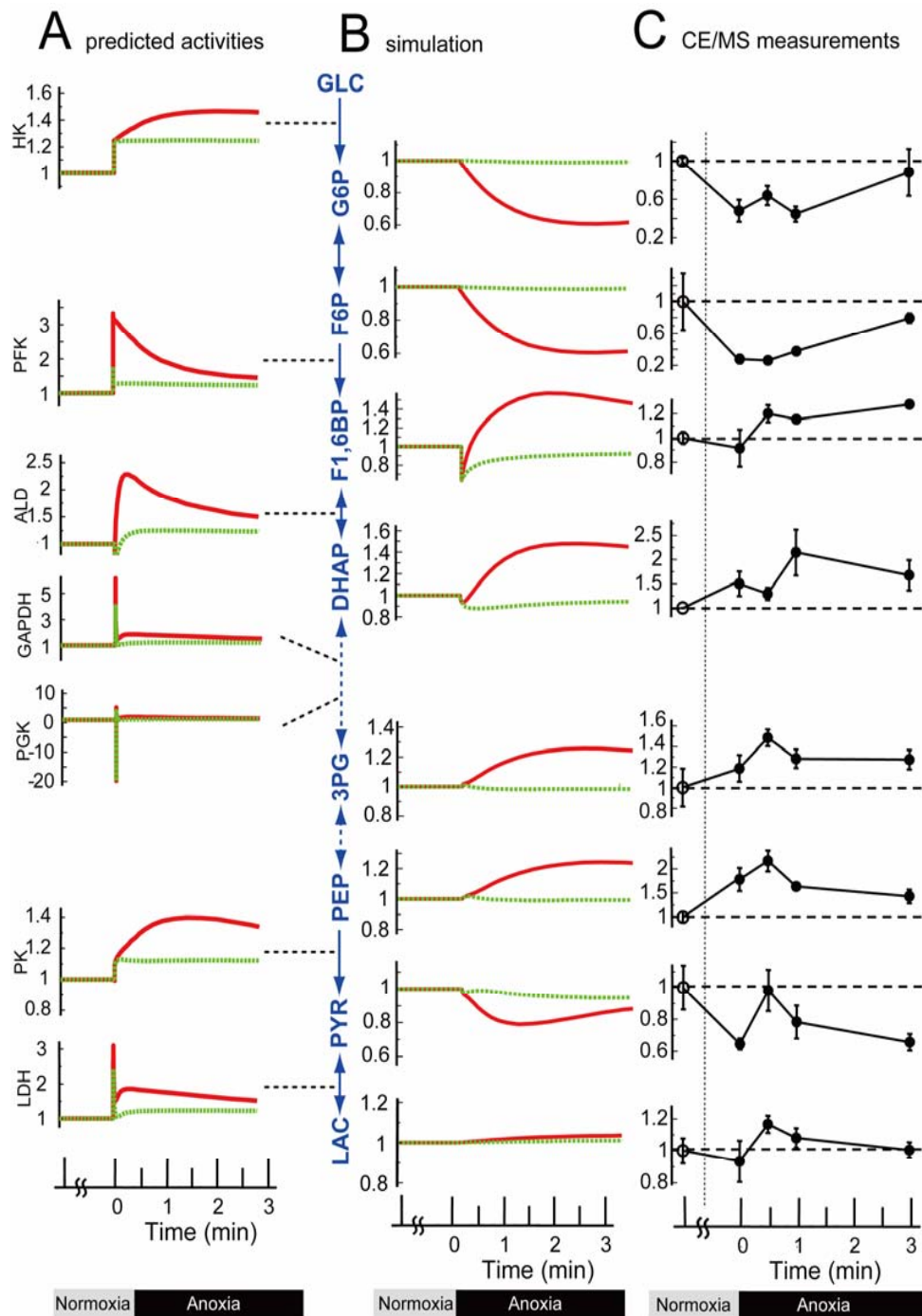


過去のヒト酵素の素反応データから作成した細胞内代謝シミュレーション(E-cell)を利用し過去に報告されたBand3-Hb相互作用データを実装した新しいモデルを構築し低酸素でATP合成系がどのように制御されているかを予測、メタボローム解析で実証する

Development of large-scale computer simulation based on E-cell: RBC version



More than 200 individual enzymatic reactions, 15 transporters, and kinetics of allosteric effectors



Green: Results from the model in the absence of Hb-Band3 interaction



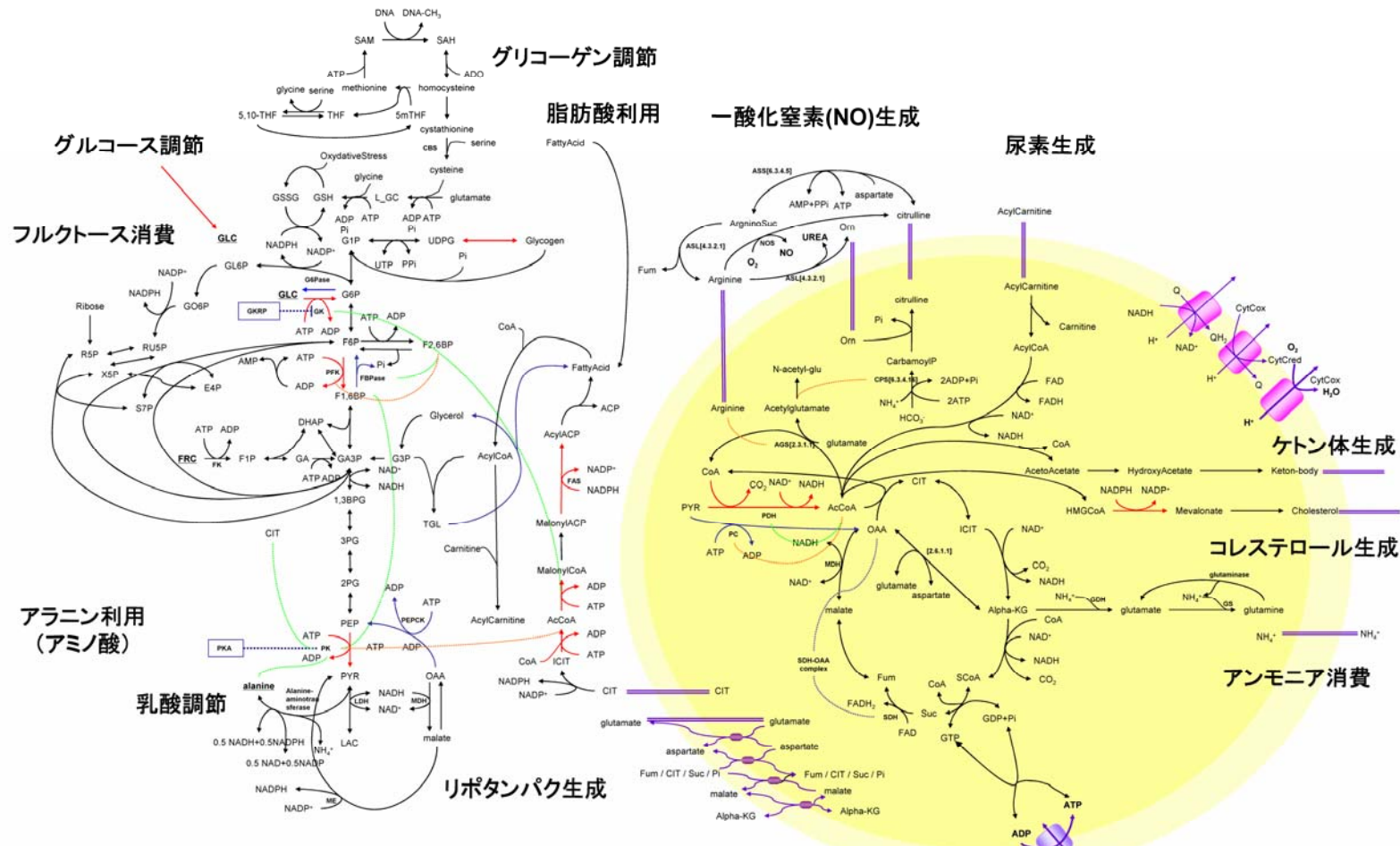
Metabolome (CE-MS analysis: Panel C):



Fine tuning of the model by varying the activation sites

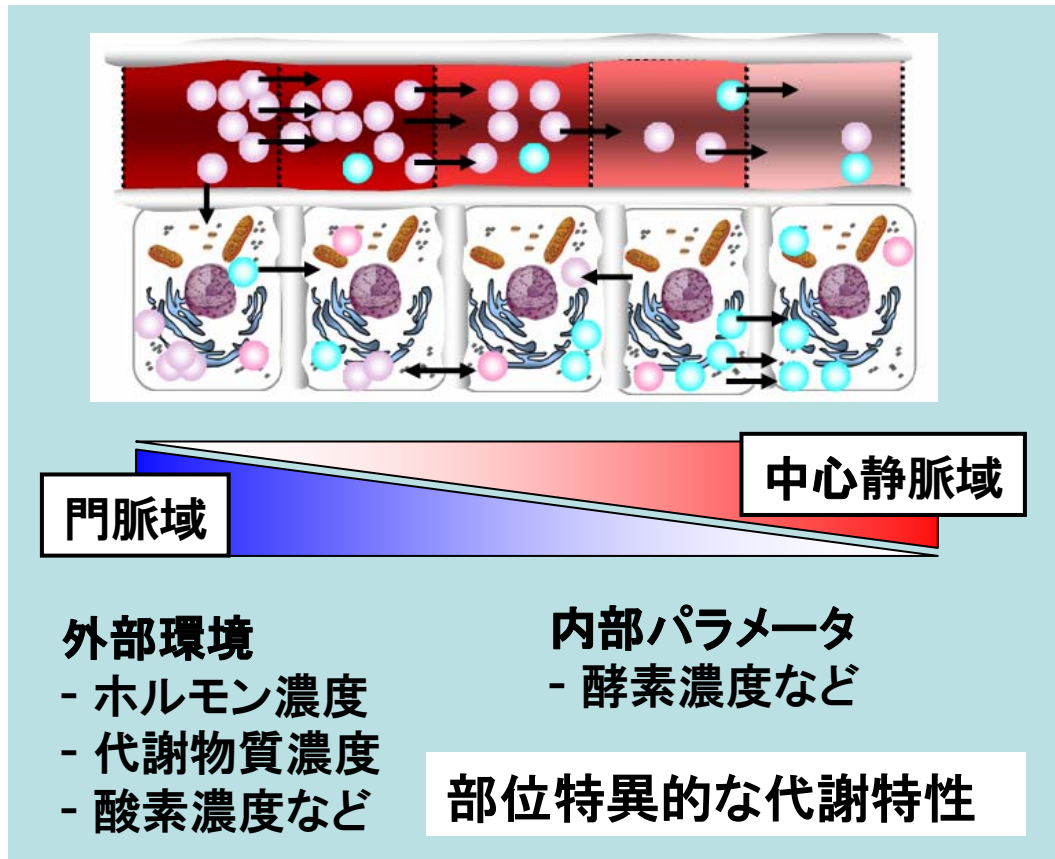
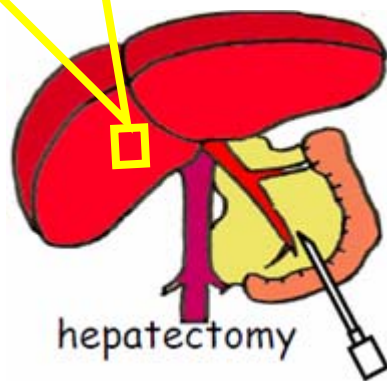
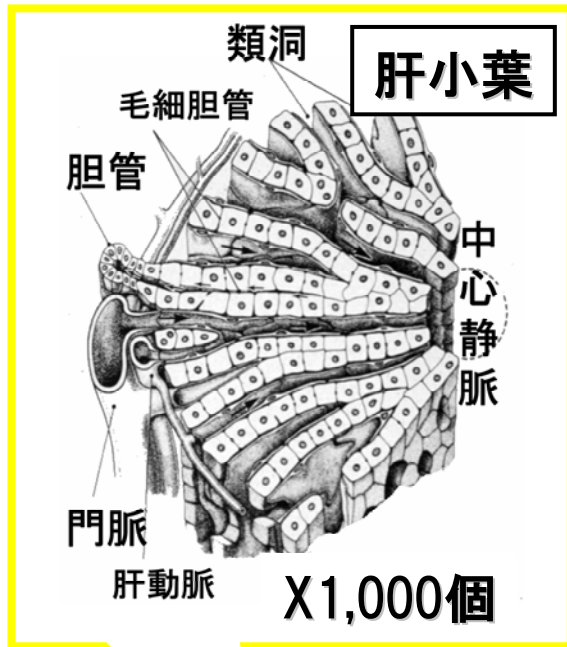
Red: Results from the model in the presence of Hb-Band3 interaction and the activation of the midway glycolytic enzymes (PFK+GAPDH) (fitting to metabolome results !)

Kinoshita A, et al. *J Biol Chem* April 2007



GK	Transaminase	Asparaginase	Met+Ser ⇒ Cys+ADO (5steps)	Leu ⇒ NH ₄ +AA+AcCoA (6steps)	Tyr transport	IsoLeu transport	proton-Glu cotransp
PFK	PYRsulFT	Thiolase	PropinylCoA ⇒ SucCoA(3steps)	Lysine ⇒ AACoA (8steps)	Glu transport	Leu transport	proton-PYR cotransp
PFK2	SucCoAsyn	SerHMT	GA3P ⇌ FDP(2steps)	Typ ⇒ AACoA (9steps)	Asp transport	Glycerol transport	proton-phosphate co
G6Pase	SucDH	Glysyn	Plmitate ⇒ 8AcCoA (28steps)	Glycogen syn (3step)	O ₂ transport	Pal transport	ATP transport(mit)
PGI	Fumarase	Lipoprotein syn	Tyrosine ⇒ fumarate+AA(5steps)	GLC transport	Thr transport	Ala transport	ADP transport(mit)
GAPDH	MDH	AspAT	AAcCoA ⇒ AAC+CoA (2steps)	PYR transport	Lys transport	Mal-Asn shuttle(mit)	AMP transport(mit)
FDPase	Arginase	Albumin syn	His+folate ⇒ Glu+NfHfolate(4step)	LAC transport	PhAla transport	proton pump(mit)	Phos transport(mit)
IsoCITDH	GluDH	PAHLase	NADH+0.5O ₂ ⇒ NAD+3AP	Arg transport	Gln transport	H-K pump(mit)	PYR transport(mit)
α KGDH	OrnTCase	CarbamoylPsynI	FADH+0.5O ₂ ⇒ FAD+2ATP	NH ₄ transport	Pro transport	Suc-mal shuttle(mit)	Mal transport(mit)
PEPCK	ArgSucsyn	Glutaminase	G6P+12NADP ⇒ 6CO ₂ +12NADP	Orn secretion	His transport	Asp-Hglu shuttle(mit)	Suc transport(mit)
PYRC	ArgSucase	PEP ⇌ GA3P(4steps)	Cys+Gly+Glu ⇒ GSH (2steps)	Ser transport	Met transport	α KG-Mal shuttle(mit)	Asp transport(mit)
LDH	AlaAT	Orn ⇒ Glu (2step)	Val ⇒ NH ₄ +PCoA+2CO ₂ (7steps)	Cys transport	Asn transport	Mal-CIT shuttle	Glu transport(mit)
CITsyn	SerDH	Pro ⇒ Glu (3step)	IsoLeu ⇒ NH ₄ +PCoA+CO ₂ (6ste	Gly transport	Val transport	CIT transport	α KG transport(mit)

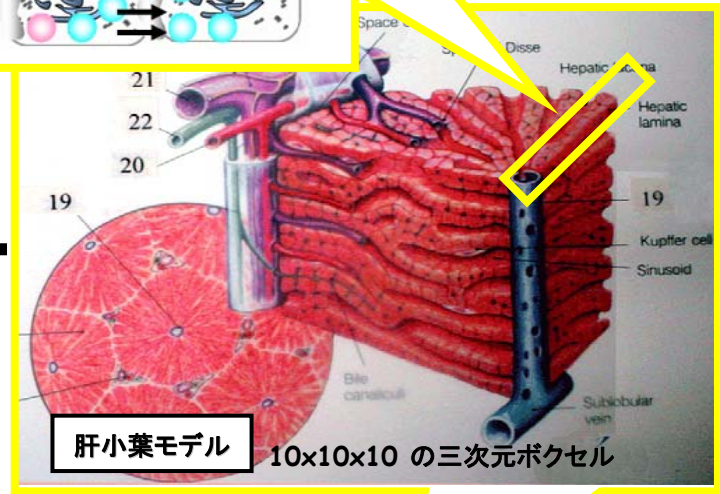
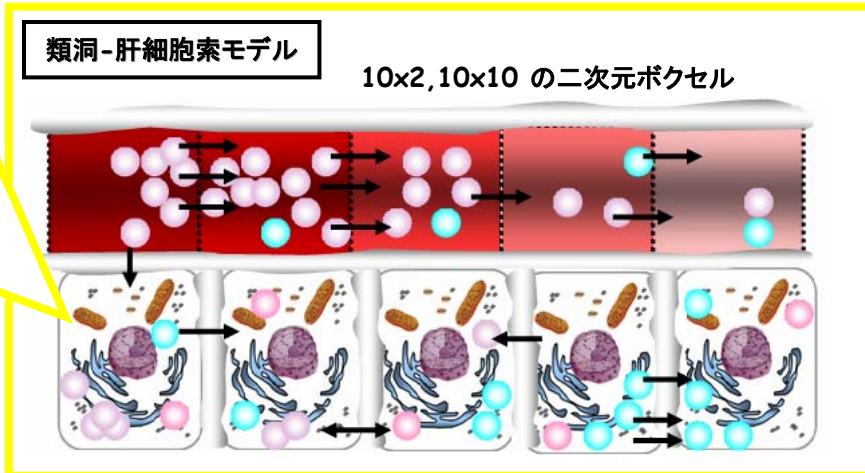
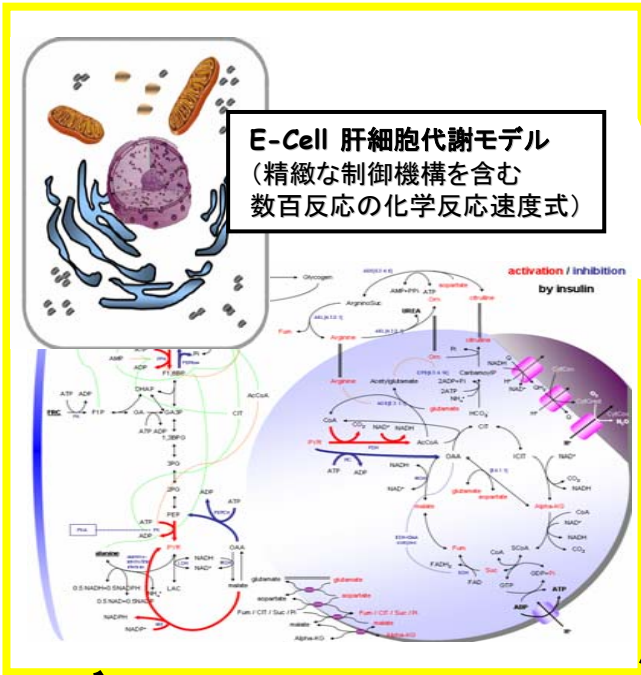
約200反応、400物質を含む大規模な肝細胞代謝モデルをE-Cell Systemに構築中



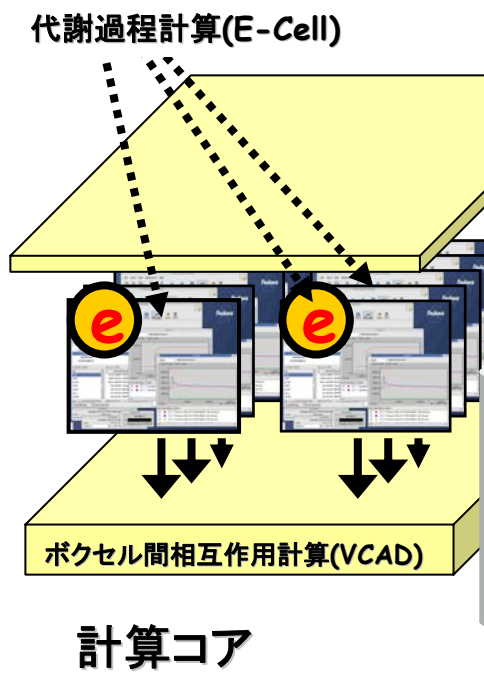
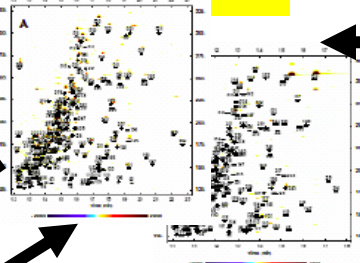
代謝特性の異なる細胞を**分離**して実測する実験系が必要
 エルトリエーション技術による門脈域、中心静脈域分離

動的で複雑な代謝ネットワークを俯瞰する、**網羅的**測定が必要
 CE-MSを用いたメタボローム技術による代謝物測定





OMICS data



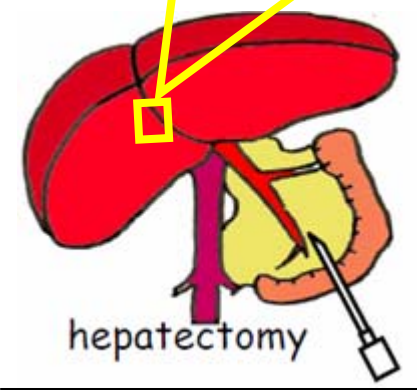
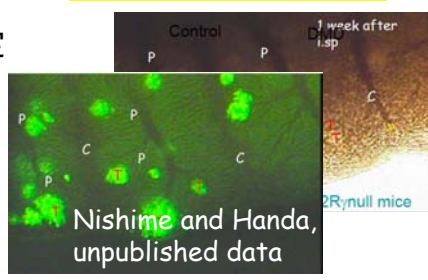
精緻化

モデリング

環境条件設定

Validation

4D-bioimaging



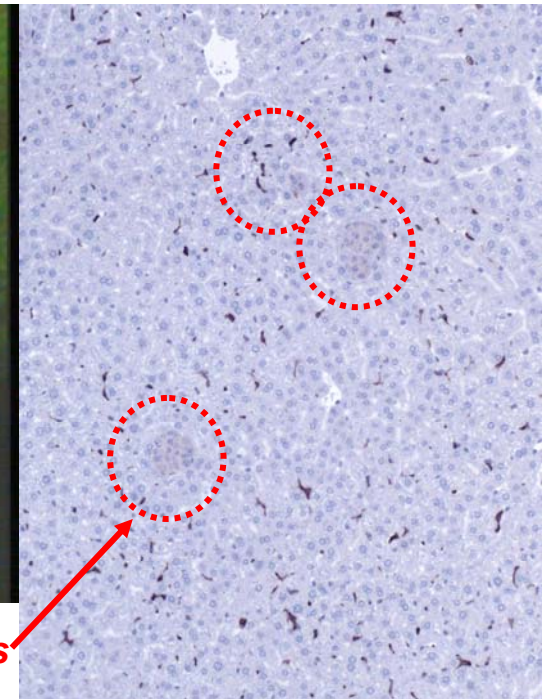
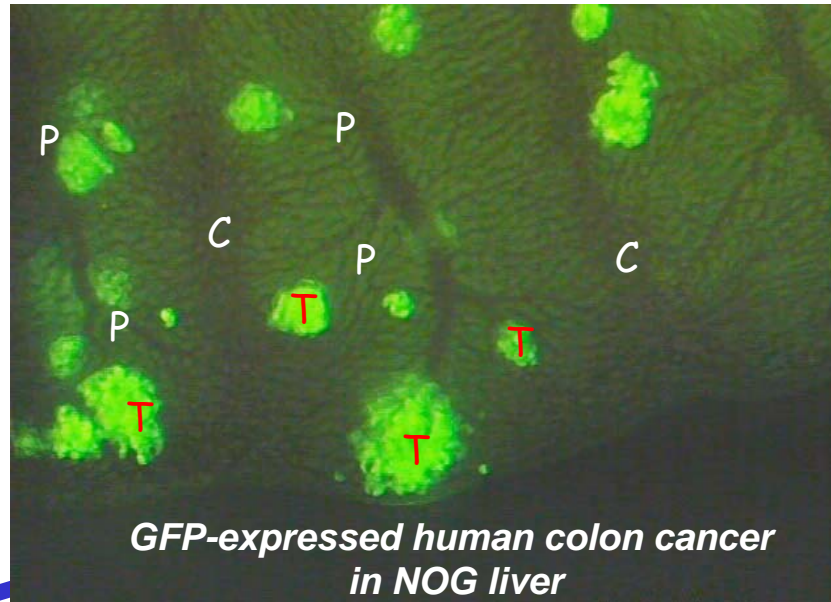
複数肝小葉モデル/肝臓臓器モデル

腫瘍がanoxic coreを形成するとin vitroでは見られない劇的な糖代謝のリモデリングが惹起
Humanized animalにおけるがん代謝コンパートメントの弁別法の確立
 —(財)実験動物中央研究所・慶應義塾大学医学部・理工学部・環境情報学部による共同研究—

NOG mice
 (NOD/Shi-scid x IL-2R γ null)



CIEA
 (Itoh, Suemizu, Nishime
 Kawai, Nakamura,
 Ohnishi)



HO-1 induction in and around micrometastasis

In vivo pulse-chase analysis and **Metabolome-fluxome**

