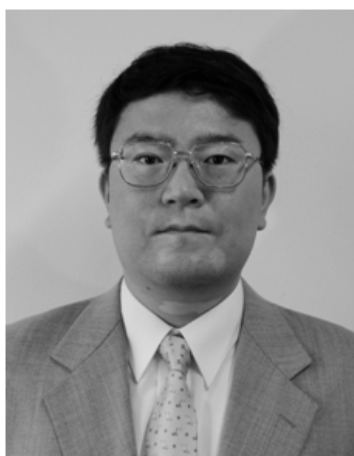


細胞スケール研究開発チーム成果報告

細胞スケール研究開発チーム 成果統括報告

横田 秀夫

次世代計算科学研究開発プログラム
細胞スケール研究開発チーム チームリーダー



発表者紹介

1993年 3月 日本大学大学院農学研究科畜産学専攻修士課程修了
1999年 3月 東京大学大学院工学研究科精密工学専攻 博士授与
1999年 4月 理化学研究所素形材工学研究室協力研究員
2003年 10月 理化学研究所VCAT 開発チームリーダー
2006年 10月 理化学研究所細胞スケール研究開発チームリーダー兼務 (現在に至る)
2011年 10月 理化学研究所基幹研究所生物情報基盤構築チームヘッド (現在に至る)
北海道大学大学院 工学研究科 客員教授
神戸大学 大学院工学研究科 システム情報学研究科 客員教授
東海大学 総合医学研究所 循環器内科学 客員教授
東京農工大学大学院 工学府 客員教授

研究分野

バイオイメーjing
細胞内画像処理
バイオメディカルシミュレーション

細胞スケール研究開発チーム成果統括報告

横田 秀夫

次世代計算科学研究開発プログラム
細胞スケール研究開発チーム チームリーダー

1. ソフト研究開発の背景・目的

細胞や臓器の部位特異的な生物学的情報を系統的に実装させて生命現象の予測や実験仮説構築に利用できるモデル開発に必要なソフトである細胞シミュレーションプラットフォームを完成させ、これを超高速計算機で稼働させることにより、細胞や臓器単位の機能的形態学的応答の再現や病態メカニズムの理解や制御法の開発に資するシミュレータを開発することを目的とする。細胞生物学の目的は細胞内の現象を理解し説明することにあるが、細胞内の現象は未だ理解されていない現象が多く残されており、定量的な解析が可能な現象はごくわずかである。一方、シミュレーションはある規則に則り、数値解析して現象を再現することに他ならず、現象の理解、数理モデルの構築無しに細胞のシミュレーションの実現はあり得ない。この圧倒的に情報が少ない『細胞』を対象としたシミュレーションに於いては、計算科学としてのアプリケーションソフトウェアの開発だけでは、意味のある細胞現象のシミュレータを構築する事は不可能である。そこで、シミュレータの開発と同時にシミュレーションのための実験を行う事により、新たな細胞シミュレータの開発を目的とした。さらに、近年進展が著しい各種イメージング技術により取得した細胞内における物質の局在の定量データを用いることにより、細胞シミュレーションの解析結果の検証を行い、実際の細胞内で生じている現象を再現出来るシミュレータの開発を目指す事とした。

これまでの細胞シミュレーションでは、細胞内生じている現象のモデル化と個別の現象のシミュレーションが行われてきた。これらの研究の成果により、細胞の膜機能(物質の透過)、物質の拡散、生化学反応について、その数理モデルの構築が実施されてきた。しかしながら、従来の研究では、細胞内や膜の場所を考慮することは不可能であった。一方、細胞の中ではさまざまな現象が複雑に影響し生命が成立している。細胞の中では、物質の濃度勾配やオルガネラ等によってその機能の役割分担がされていると共に、臓器内部における環境によって同じ細胞で

も挙動が異なっている。疾患時においては、細胞の応答やその周囲の環境の異常を再現することが必要であり、これらの現象の再現のためには、複数の事象と空間(場)を考慮したシミュレーションを連成して解析することが必要である。我々は、正常時の細胞の挙動や異常な挙動である疾患の再現、さらにはその治療法に関するシミュレータの開発を目指して研究を推進している。なお、具体的課題として、ターゲットを赤血球と肝臓細胞、血小板、隣細胞に限定し、細胞内外の代謝、膜透過、物質の拡散の現象を連成して解析することを目的とした。また、これらの対象は、細胞内のオルガネラを考慮した細胞内現象のシミュレーションと複数細胞計算が必要なことに加えて、将来的な計算機能力の向上をにらんだ臓器や全身レベルでのシミュレーションの開発を目指している。

2. ソフト研究開発の概要・アプローチ

2.1 細胞シミュレーション統合プラットフォーム(RICS)の概要

細胞シミュレーション統合プラットフォーム(Riken Integrated Cell Simulator: RICS)は、細胞内の場や複数のシミュレーションの連成を考慮した共通基盤である。固定格子の空間内に細胞の形状モデルや反応モデルを構築し、様々な細胞反応のシミュレーションを可能にする。具体的には細胞を100万のボクセルに区画し、区画したボクセルに実測データより得られた細胞内の物質・移動量などの情報を取り込み、代謝のパスウェイを設定することで細胞内現象をシミュレーションする。

2.2 RICSのアプローチ

RICSは、細胞内の生化学反応と物質拡散の連成解析、物質の膜透過、膜電位計算、移流拡散を弱連成の形式で連成解析する。RICSで計算可能な形状を作成するには2つの方法があり、一つはCADを用いてポリゴンの細胞・オルガネラ形状を作成し、RICSプリシステムを使用してボクセル化する方法、もう一つは実際の顕微鏡画像から得られる3次元断層画像を再構築し、オ

ルガネラ等の領域のラベル化を行った後、ボクセル化する方法である(図 1)。CAD と顕微鏡画像を組み合わせて形状を作成することも可能で、特殊な状況を作り出し、シミュレーションすることが可能である。細胞の反応にはこれまでの細胞シミュレーションにおいて実績のある E-Cell3 システムを使用し既存の生化学反応モデルを使用できるだけでなく、SBML2.0 などの他の言語で書かれたものも既存のコンバータを介して利用することを可能とした。RICS は大規模並列計算機による実行を考慮して作成されており、PC クラスタから、「京」を含んだ多くの Linux ベースの高速計算機で実行可能である。これまでに 8192 並列までのスケールリティを確認しており、現在「京」での超高並列計算に向けたチューニングを進めている。

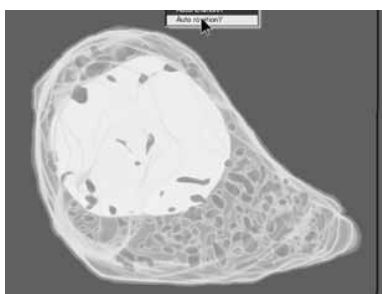


図 1: 共焦点レーザー顕微鏡から RICS プリシステムを使用して再構築したヒト肝臓細胞の形状

3. 現時点でのソフト研究開発成果

3.1 RICS の開発状況

作成したシステムを用いて実際の顕微鏡データから得た細胞形状を用い、内部でのカルシウムイオン (Ca^{2+}) の移動、反応、膜輸送担体をシミュレーションした。細胞形状はヒト肝臓由来細胞である HepG2 細胞株を用い共焦点レーザー顕微鏡を使用して取得した細胞形状および核とミトコンドリアの形状からなる。顕微鏡画像から 3 次元 Volume データを作成し、細胞内の反応として 24 種類の物質と、11 種類の生化学反応を設定した。 Ca^{2+} だけを通過させるチャネルを細胞膜の一部に局在化させて Ca^{2+} を流入させて解析した (図 2)。細胞内の Ca^{2+} の緩衝反応を設定し

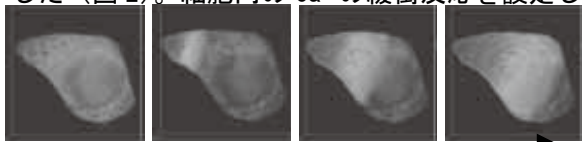


図 2: RICS を用いて計算した細胞内 Ca^{2+} の移動

た場合は、生化学反応が無い場合に比べ細胞内 Ca^{2+} のみかけの拡散速度の低下がみられ、実際

の細胞内に近い Ca^{2+} の動態が再現された。

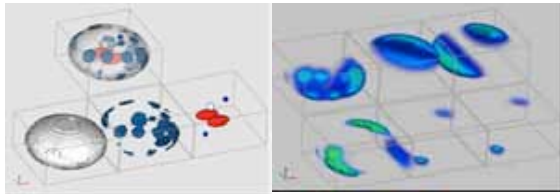
3.2 肝細胞シミュレーション

肝細胞の解糖系、糖新生、グリコーゲン生成と消費、フルクトース代謝、尿素回路、ミトコンドリアクエン酸回路、酸化リン酸化、脂肪酸合成と分解、アルコール代謝、グルタミン/グルタミン酸代謝、メチオニン代謝、プリン核酸代謝など、糖とアミノ酸を中心とした代謝経路を調査し、個々の酵素反応速度に基づいて大規模な代謝モデルを構築した。実証実験により、さまざまな環境下での代謝物の定量計測を行い、その数値情報を基に代謝モデルを構築した。現在、485 変数、582 の反応からなる詳細な肝細胞の代謝モデルを構築することに成功した。肝手術における虚血とその後の再灌流では、クランプと再灌流による代謝機能低下が重篤な不良を引き起こさない限度として、15 分というクランプ時間が慣習的に使用されている。そこで、細胞外の酸素濃度と栄養としての代謝物質濃度、細胞膜を介した膜輸送が起こる代謝物質濃度について一時的に 15 分間 50%、10%、1% に低下させる摂動を設定し、代謝変動を計算した。また肝臓の低酸素・低グルコース応答に必要な代謝システムから、糖代謝、ミトコンドリア機能を実装すると共に、血管の上流、下流の細胞モデルを構築して、酸素やエネルギー代謝の heterogeneity を勘案した類洞モデルをほぼ完成させた。門脈型 (P 型) と中心静脈型 (C 型) の細胞シミュレーションを連結することにより、虚血および再灌流に対する主要代謝物の濃度変動が顕著に buffering されて robustness が獲得できるようになることが明らかになった。さらに、細胞レベルの精緻さを保持した臓器代謝シミュレーションの妥当性を検証するために先端的バイオイメージングを利用した肝細胞・類洞・肝小葉レベルの代謝情報収集を研究室で独自に開発した 2 光子レーザー顕微鏡を用いて実施し、肝細胞素の画像情報を収集し、RICS によるモデル構築に利活用した。また肝臓微小循環系の上流と下流にあたる門脈終末枝と中心静脈における血流速度計測と酸素分圧計測を大腸がん肝臓転移モデルにおいて実施し、門脈域に形成された微小転移病巣の大きさと酸素消費の間の相関関係を明らかにした。

3.3 血小板シミュレーション

細胞シミュレータープラットフォームに、実証実験により取得した血小板細胞内のミトコンドリア、ゴルジ体、小胞体、濃染顆粒、血小板膜特異的受容体蛋白などの局在情報を取り入れた血小板細胞基盤モデルを作成した。刺激を受け

活性化した血小板にて起こる濃染顆粒の放出機構の再現を目指した。作成したモデルにより、直径 2 μm の血小板細胞表面の数十 nm^2 程度の受容体刺激の血小板細胞局所の細胞応答（細胞内シグナル産生）の細胞内拡散による血小板細胞全体の活性化過程（GPIIb/IIIa の活性化構造転化）と、活性化の途中にて濃染顆粒の放出が起こり、放出された ADP による P2Y₁₂ ADP 受容体刺激が加算された時の血小板細胞全体の活性化過程の差異を見いだした。このことにより、放出反応を介する活性化刺激伝達促進効果の論理的予測が可能となった。血管壁の損傷部位における、止血に向かう血小板細胞の positive feedback 機構を論理的、定量的に予測、説明する初めてのモデルとなった。



3D血小板モデル 血小板内物質の局在

3.4 小胞動態モデル

全反射蛍光顕微鏡による膵臓 β 細胞のインスリン顆粒動態の画像解析から、グルコース刺激によるインスリン分泌では、restless newcomer が主様式であることが判明した。その動態を元にインスリン顆粒が細胞膜に融合する過程をモデル化した。1) 細胞内部では顆粒がゴルジ体から分離し、細胞膜に接近するまでは細胞骨格に沿って移動する。2) 細胞膜付近ではブラウン運動に近い挙動を示し、細胞膜に融合した後、インスリンを分泌する。これらの顆粒動態の違いから、細胞内を外部層と内部層の2つに分割してモデルを構築した。構築したモデルは、全反射顕微鏡(TIRF)による分泌とほぼ同様の傾向を示した。現在、このモデルを RICS に搭載することで小胞の3次元解析を計画している。

4. ソフト研究開発の達成目標



基本アプリケーションである RICS の機能開発は終了し、現在「京」での動作確認と計算性能向上を図っており、平成 24 年度には、当初目的の計算を実現できる見込みである。さらに、開発したアプリケーションを用いて、生命科学の実問題を計算することに注力している。具体的な課題は、上記に述べた肝臓、血小板、膵臓の細胞内外の物質の反応と挙動である。これらの

モデル化を完成すると共に「京」での大規模計算に適した計算モデルに改変する予定である。この作成したモデルにより、臓器内における細胞の役割、機能分担を再現することが出来ると共に、疾患時における細胞内の状況、薬物投与時の反応を再現することが可能となり、治療や薬物開発に貢献出来ると考える。さらに、血小板や膵臓 β 細胞、腎臓細胞、脳神経細胞など局所的な反応が全体に強い影響を及ぼす計算を行いたいと考えている。

開発したソフトウェアとモデルは、プログラム終了までに無償公開を計画している。現状の大規模計算システムでは、情報科学の研究者が生命現象を解析しているが、研究の裾野を広げるためには、生命科学の研究者が「京」を使いこなして細胞のシミュレーションを実施する環境を整えることが必要である。そこで、細胞スケール研究開発チームとして、RICS の利用範囲を拡大することを目的に周辺アプリケーションの開発を進めている。具体的には、シミュレーションの形状モデルの構築、物質分布の配置、オルガネラの場所と反応式の対応などのシミュレーションセッティングを設定するプリポストシステムを開発している。このシステムは、関連する外部のアプリケーションである、VCAT（形状処理）、E-CELL IDE（反応式）、V-Sphere::CBC（流体解析）、V-Isio（可視化）を連結してシミュレーションのモデル構築を GUI のみで実現するものである。これらのアプリケーション開発と共に、細胞シミュレーションモデルの整備と公開に加えて、RICS ユーザー会を設立して、細胞シミュレーションに関連する研究者コミュニティ作りを実施する予定である。プロジェクト終了後には、開発し公開する基本細胞シミュレータを元に、個別の臓器に分化したシミュレーションに関する研究が花開くことを期待する。

5. 謝辞

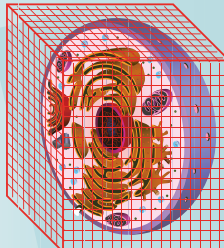
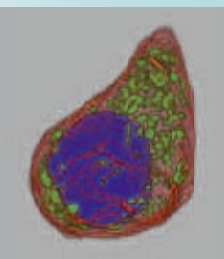
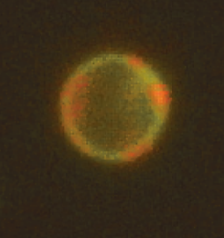
本発表の結果は、理化学研究所が実施している京速コンピュータ「京」の試験利用と理化学研究所情報基盤センターの RIKEN Integrated Cluster of Clusters (RICC) システムの計算による。






細胞スケールチーム研究開発チーム

理化学研究所
次世代計算科学研究開発プログラム
細胞スケールチームリーダー
横田 秀夫

協同研究
理化学研究所: 高橋恒一, 安達泰治
慶応大学: 末松誠, 安井正人, 柳川弘志
神戸大学: 清野進, 東海大学: 後藤信哉



細胞スケールチーム研究目標

・ 短期目標

- 複雑な反応からなる細胞内の現象の再現を目的として、複数事象の統合シミュレーションを実現する
- 細胞内の時空間の現象を再現することにより臓器・組織内における細胞機能を再現
- 特定種類の細胞シミュレータではなく、ユニバーサルな細胞シミュレータを開発

・ 長期目標



- 実問題として、肝細胞, 肝小葉のシミュレーション
- 異なる細胞種のシミュレーション (内耳、膵臓β細胞)
- 細胞を最小単位とした臓器レベルのシミュレーション


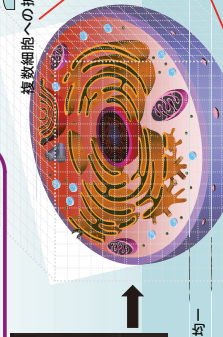

細胞スケールチーム解析対象

- ・ 肝代謝のロバスタ性を維持している肝細胞の機能分担の再現
 - ・ 肝臓内の位置に規定されるP、C型代謝モデルを構築
 - ・ 虚血 (低酸素) 状態での実験実測とシミュレーションの結果の比較によるバリデーション
- ・ 応用: 肝硬変 (ギャップジャンクション停止) での細胞内機能の再現
- ・ 癌細胞の代謝機能解明: 慶応義塾
 - 肝臓に転移した癌細胞は周辺細胞との間で物質のやり取りを行うことにより、複数細胞からなるクラスターを構築していることが、顕微鏡質量分析とシミュレーションにより示唆された。クラスター内での代謝機能の分担を実測とRICCSのシミュレーションにより明らかにする。
 - 応用: 癌細胞の成長・維持に必要な細胞塊に対する、阻害手段の検討
- ・ 血小板細胞活性化反応、抗血小板薬の薬効予測: 東海大
 - 血小板内の詳細な構造、代謝ネットワークを実現した血小板活性化シミュレータの実現
 - 応用: 血小板活性化の再現、抗血小板薬の機能解明
- ・ 膵臓β細胞のシミュレーション: 神戸大
 - 膵臓β細胞におけるインスリン放出機構の解明
 - 応用: インスリン分泌機構解明による、糖尿病治療法の開発

Imaging技術の進展を見越した実測とシミュレーションの連携研究システムの構築

細胞内の不均一な場を考慮した計算の必要性

内臓構造(オルガナ)の外部構造が細い場合、細胞内不均一な代謝モデルで計算可能

代謝経路

赤血球

イメージングデータ

実際の細胞内には構造物があり、不均一

従来のオルガナにより、代謝は異なるが、1つの細胞内に複数のオルガナを入れた反応式で計算。オルガナ空間の物質の移動は定数により記述 (P-cell, Cell Designer)

実際には細胞内に構造物が有り、反応の場が規定される。さらに、物質のやりとりは膜を介して行われている。

本研究
細胞内の構造と反応の場を考慮したシミュレーション
細胞内の不均一な現象を再現 → 反応の場 (オルガナ) 不均一な膜透過、物質の輸送

細胞シミュレーション 統合プラットフォーム: RICS



nm 100x100x100 voxel

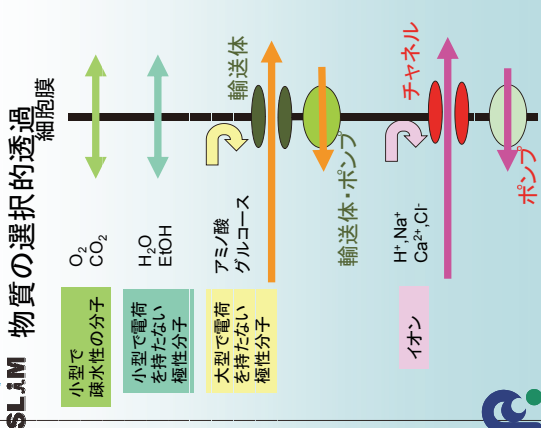


- 代謝(化学反応)
 - 肝細胞、血小板: E-cell
- 拡散(受動輸送)
 - 肝細胞、赤血球、血小板: 濃度勾配
- 膜輸送(能動輸送)
- 膜機能(選択輸送・反応の場合)
 - チャネル、ポンプ、受容体
- 血流(移流拡散)
- 膜電位(Hodgkin-Huxley)
- 上記事象の連成解析
- 複数細胞(組織)のシミュレーション
 - 培養細胞ではなく、体内内の細胞機能を予測

mm

6 All Rights Reserved. Copyright 2009 Riken, Japan.

細胞膜の機能



物質の選択的透過

細胞膜

- 小型で疎水性の分子: O_2 , CO_2
- 小型で電荷を持たない極性分子: H_2O , $EtOH$
- 大型で電荷を持たない極性分子: アミノ酸, グルコース

イオン: H^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Cl^-

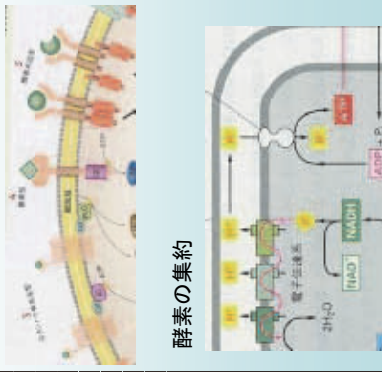
輸送体・ポンプ: 輸送体, ポンプ

チャネル

反応の場を提供

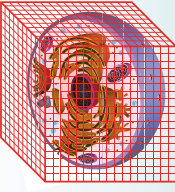
受容体: シグナル伝達

酵素の集約



8

細胞シミュレーション統合プラットフォーム RICS (RIKEN Integrated Cell Simulator)



代謝 | 拡散 | 透過 | 輸送 | etc.

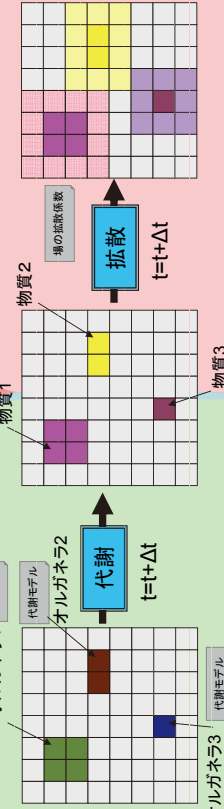
- これまで
 - 細胞内物質の分布が均質として細胞内部の反応を記述し、細胞全体のマクロな時間変化を解析
- 問題点/要求
 - 細胞内でのオルガネラの配置、局在等が反映されない
 - 複数の事象の連成解析は未対応
 - ✓ オルガネラごとに代謝系が異なる。
 - ✓ 膜機能は膜タンパク質の局在によって、場所毎に機能が異なる。
 - ✓ 細胞内の物質は濃度拡散などにより移動する。

★ゼロ次元シミュレーションから三次元シミュレーションへ

- ◆ 各種イメージング技術の成果とシミュレーション結果を1対1比較検証
- ◆ 細胞が機能を発している組織内部の挙動を再現したE-Cellを用いる。

All Rights Reserved. Copyright (c) RIKEN 2008

細胞シミュレーション統合プラットフォーム



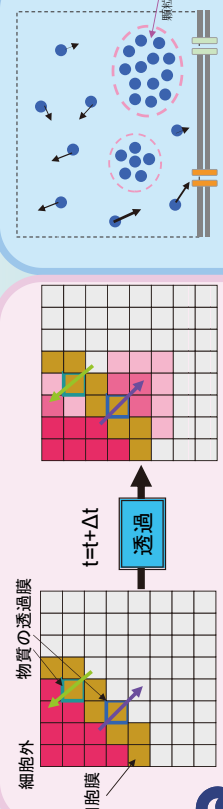
代謝シミュレーション

オルガネラ1, 2, 3

代謝モデル, オルガネラ2

代謝

$t=t+\Delta t$

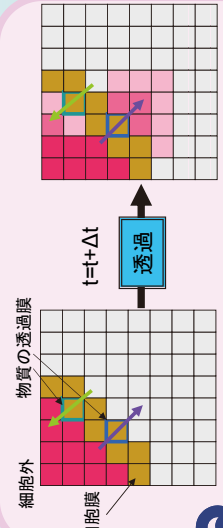


拡散シミュレーション

物質1, 2, 3

拡散

$t=t+\Delta t$

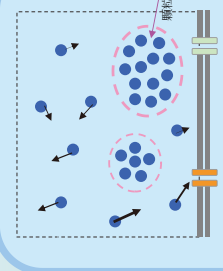


透過シミュレーション

細胞外, 細胞膜, 物質の透過膜

透過

$t=t+\Delta t$



物質輸送シミュレーション

輸送

細胞のシミュレーションモデル構築

設計データからのシミュレーションモデル: 単純形状、想像モデル
 実測データからのシミュレーションモデル: 顕微鏡画像、直接検証モデル

Virtual cell model

RICS

Preprocessor

Prototype

3D rebuilding Cell data from microscopic images

©RIKEN: Live Cell Modeling Project

ISLiM RIKEN

9

HepG2細胞顕微鏡画像

赤: 核
 青: ミトコンドリア
 緑: 細胞膜

ISLiM RIKEN

10

3次元再構築したHepG2細胞

赤: 細胞質
 青: 核
 緑: ミトコンドリア

ISLiM RIKEN

11

実測肝細胞 (HepG2) でのCa⁺動態シミュレーション


step = 0 (0.000000[sec])

拡散十代謝 (見かけの拡散速度28μm/s)

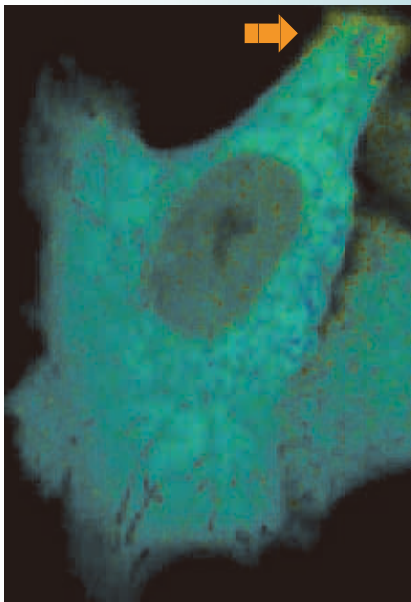
拡散のみ (拡散速度32μm/s)

ISLiM RIKEN

12





Imaging of intracellular Ca^{2+} in HeLa cells

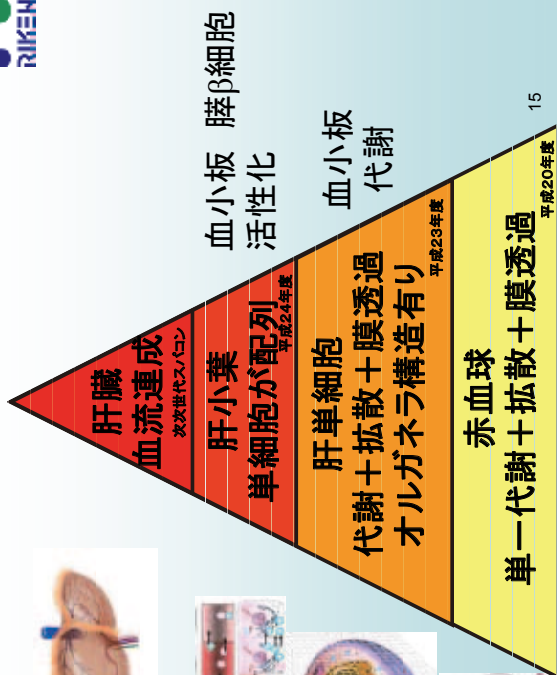


A real-time movie of confocal pseudocolored ratio images showing Ca^{2+} waves inside cells, which were evoked by histamine.

T. Nagai et al. PNAS, 2004¹³

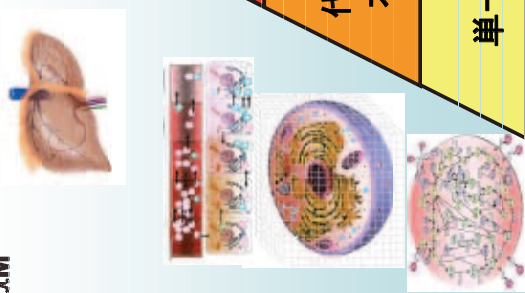
シミュレーション対象



肝臓
血流連成
肝小葉
単細胞が配列
肝単細胞
代謝+拡散+膜透過
オルガネラ構造有り
赤血球
単一代謝+拡散+膜透過

血小板活性化
血小板代謝

平成20年度
平成23年度
平成24年度



15




細胞シミュレーション統合プラットフォーム: 理研

3次元化・並列処理

0次元
代謝Sim.
慶応拠点

ポクセル代謝sim.

0次元
拡散、電位
膜透過、
理研拠点

ポクセル拡散sim.

0次元
小胞移動Sim.
神戸大拠点

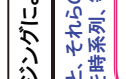

ポクセル移動sim.

赤血球
肝細胞
肝小葉Sim.
慶応拠点

血小板
凝集Sim.
東海大拠点

膵β細胞
インスリン
分泌Sim.
神戸大拠点

実験: パラメータ・検証(定量・イメージング)

網羅的代謝解析・バイオイメージングにより強化された肝臓代謝シミュレーションへの展開

「細胞内代謝+拡散+膜透過+血流」とそれらの臓器内部位特性を勘案した肝臓代謝モデルを構築し、低酸素・低グルコース応答を時系列、等を予測

STEP 1: 肝細胞代謝モデル
<2008-2009>

細胞シミュレーションプラットフォーム (RICS) による拡散・膜透過の実証

Xの介在する反応によって生成する物質の初期局在

t=0

t=t+Δt

代謝 + 拡散 + 膜透過

STEP 2: 類洞単位代謝モデル
<2009-2010>

拡散・膜透過を勘案した小葉モデル構築

「酸素センサー」としての転写因子の分子標的解析

イメージングによる代謝物画像情報による実証

代謝物画像情報による各モダリティへの連携

代謝物画像情報による各モダリティへの連携

STEP 3: 臓器代謝モデルへの拡張
<2010-2012>

臨床情報に立脚した個別化肝硬変転移性肝臓モデル

病態下での肝臓予備能予測

メタボローム解析
応用実績: PNAS 2005, Circ Res 2005, J Biol Chem 2006, J Biol Chem 2007, Science 2007

実験実験の確立による各モダリティへの連携

イメージングによる代謝物画像情報による実証

「酸素センサー」としての転写因子の分子標的解析

イメージングによる代謝物画像情報による各モダリティへの連携

STEP 3: 臓器代謝モデルへの拡張
<2010-2012>

臨床情報に立脚した個別化肝硬変転移性肝臓モデル

病態下での肝臓予備能予測

細胞シミュレーションプラットフォーム (RICS) による拡散・膜透過の実証

Xの介在する反応によって生成する物質の初期局在

t=0

t=t+Δt

代謝 + 拡散 + 膜透過

STEP 2: 類洞単位代謝モデル
<2009-2010>

拡散・膜透過を勘案した小葉モデル構築

「酸素センサー」としての転写因子の分子標的解析

イメージングによる代謝物画像情報による実証

代謝物画像情報による各モダリティへの連携

STEP 3: 臓器代謝モデルへの拡張
<2010-2012>

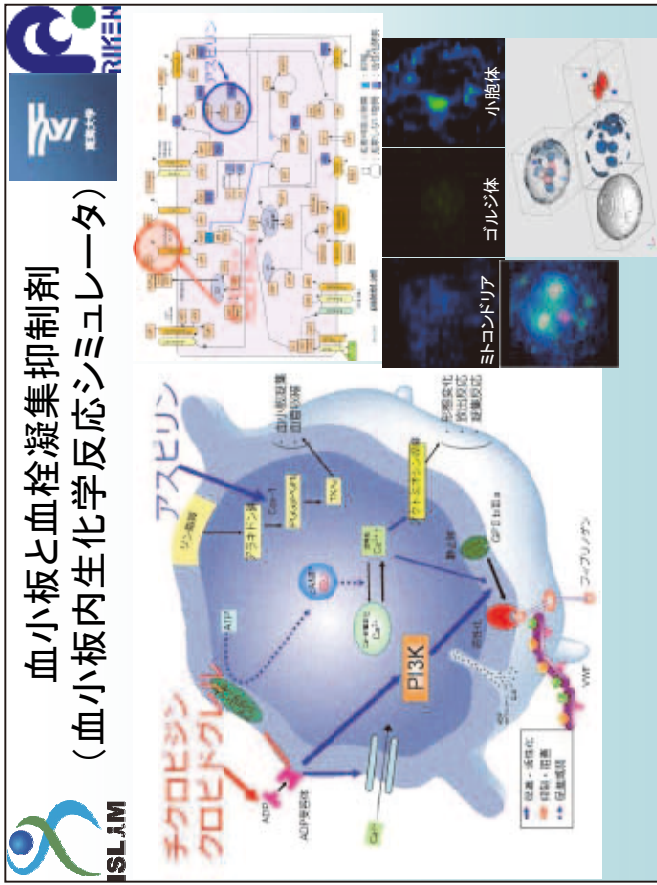
臨床情報に立脚した個別化肝硬変転移性肝臓モデル

病態下での肝臓予備能予測

10数個の類洞・毛細血管網の極性のある肝細胞列

門脈域
中心静脈域

20



10Petaで挑む研究課題 (10⁹s)

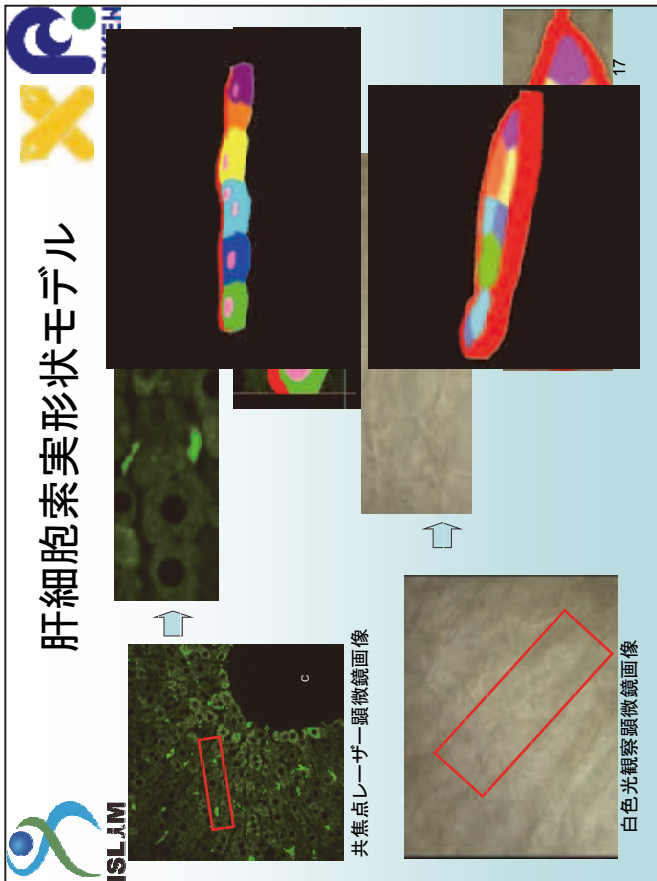
ISLiM 反応一拡散一膜透過の連成計算を100万Voxel空間で実現

- 肝代謝の恒常性を維持している細胞機能分担：慶応義塾
- 癌細胞の代謝機能解明：慶応義塾
- 血小板細胞活性化反応、抗血小板薬の薬効予測：東海大
- 膜β細胞のシミュレーション：神戸大

赤血球形状モデル
64 × 64 × 25 (=102400)ボクセルを逐次(1CPU)で計算
実行時間1分:600h 10万並列:3hr Δt=0.05ms

肝細胞詳細モデル
100 × 100 × 100(百万)ボクセルを10万並列で計算
実行時間1分 : 10万並列:30hr Δt=0.05ms

肝小葉モデル(代謝骨格モデル)
50 × 50 × 500(百万)ボクセルを10万並列で計算
実行時間10分 : 10万並列:40hr Δt=0.5ms



血小板内生化学反応シミュレータ

ISLiM RIKEN

一実証実験にて計測された細胞内小器官の局在を上に局在するGPIIbとvon Willebrand因子の相互作用により、細胞膜の一部から活性化シグナルが細胞内局所に開始され、細胞全体に広がる現象を再現した。細胞内の濃染顆粒放出が活性化の広がりに与える影響を組み込んだ。

一直径2 μmの血小板細胞内局所における活性化シグナルを担うカルシウムイオン濃度、リン酸化シグナル蛋白の局在変化の時間経過に関する定量的実証実験によるシミュレーションの精緻化。濃染顆粒内の生理活性物質の局所放出のモデル化。

一定量的実証実験法の開発。細胞内局所への活性化シグナル到達時に、濃染顆粒内の物質が、細胞膜表面の局所に移動する「フープ機能」の実装

一実証実験によるシグナル蛋白局在
同定
VASP-Pの局在
刺激時
非刺激時

濃染顆粒の放出を考慮した場合(E)には、考慮しない場合(A)よりも単位時間内の血小板細胞内の活性化範囲が広く
シグナル1 | シグナル2 | シグナル3
活性化GPIIb/IIIa | 顆粒内ADP | 顆粒内ATP

組織化された細胞代謝シミュレーションの 開発と応用：がん転移モデルにおける展開と 実測データによる強化

末松 誠

慶應義塾大学医学部医化学教室 教授
細胞スケール研究開発チーム



発表者紹介

- 1983年 3月 慶應義塾大学医学部卒業、同内科学教室入局
- 1990年 5月 カリフォルニア大サンディエゴ校応用生体医工学部リサーチエンジニア
- 2001年 4月 慶應義塾大学医学部教授（医化学教室）
- 2007年 10月 グローバル COE 生命科学「In vivo ヒト代謝システム生物学拠点」拠点リーダー
- 2007年 10月 慶應義塾大学医学部長
- 2009年 10月 科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業（ERATO）「末松ガスバイオロジープロジェクト」研究総括

研究分野

病態生化学、Gas Biology, 微小循環学



X
 組織化された細胞代謝シミュレーションの
 開発と応用
 一がん転移モデルにおける展開と実測データによる強化—

末松 誠
 慶應義塾大学医学部医化学教室 教授
 細胞スケール研究開発チーム

KEIO 150
 Design the Future
 ISLIM 成果報告会 資料

Copyright © 2008 Keio University

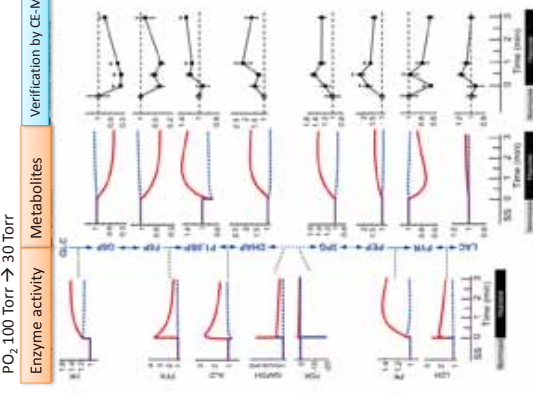
Predictable biology by large-scale biosimulation
 Mining PFK/ALD/GAPDH-BandIII complex as a hypoxic switch in RBC

PO₂ 100 Torr → 30 Torr

Enzyme activity

Metabolites

Verification by CE-MS



ヒト赤血球の主要代謝経路を文献の反応速度論情報に基づいてコンピュータ上に再構築

BandIII膜タンパクへのヘモグロビンと解糖系3酵素(PFK,ALD,GAPDH)の競合的な結合の効果をモデリングすると、メタボローム測定による低酸素代謝応答を再現できることを示し、メタボローム解析による流速解析で実際にモデルの結果が正しいことを証明した

Kinoshita(Yachie) A. et al., *J Biol Chem.* (2007)
Yachie-Kinoshita A. et al., *J Biomed Biotech* (2010)

網羅的代謝解析・バイオイメージングにより強化された肝臓代謝シミュレーションへの展開

「細胞内代謝 + 拡散 + 膜透過 + 血流 + と、それらの臓器内部位特異性を動素した肝臓代謝モデル」

STEP 1: 肝臓代謝モデル
 <2008-2009>

細胞シミュレーションプラットフォーム (ICCS)による拡散・膜透過の実装

代謝 + 拡散 + 膜透過

Xの介在する反応によって生成する物質Pの初期局在

● t=0

● t+Δt

STEP 2: 類団単位代謝モデル
 <2009-2010>

拡散・膜透過を動素した小葉モデル構築

臨床情報に立脚した個別化肝硬変・転移性肝臓モデル

病態下での肝臓予備能予測

門脈域

中心静脈域

10数個の類団・毛細血管網の極性のある肝細胞列

STEP 3: 臓器代謝モデルへの拡張
 <2010-2011>

臨床情報に立脚した個別化肝硬変・転移性肝臓モデル

病態下での肝臓予備能予測

STEP 4: 臓器代謝モデルへの拡張
 <2010-2011>

臨床情報に立脚した個別化肝硬変・転移性肝臓モデル

病態下での肝臓予備能予測

応用実績: *PNS 2005 Circ Res 2005*, *J Biol Chem 2006*, *J Biol Chem 2007*, *Science 2007*

「代謝センサ」としての転写因子の分子標的解析

「酸素センサ」としての転写因子の分子標的解析

Imaging MISによる代謝物画像情報による実証

Metabolite解析

「酸素センサ」としての転写因子の分子標的解析

「酸素センサ」としての転写因子の分子標的解析

「酸素センサ」としての転写因子の分子標的解析

肝細胞の大規模な代謝シミュレーションモデルの構築①

細胞質代謝系

Pyruvate, Glucose, Lactate, Glycerate, etc.

細胞外-細胞質輸送系

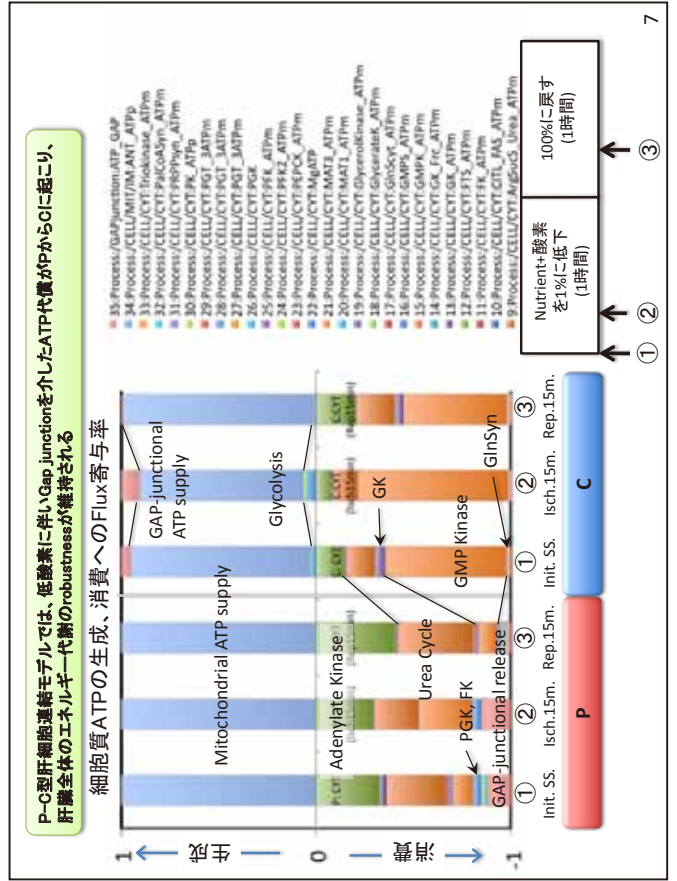
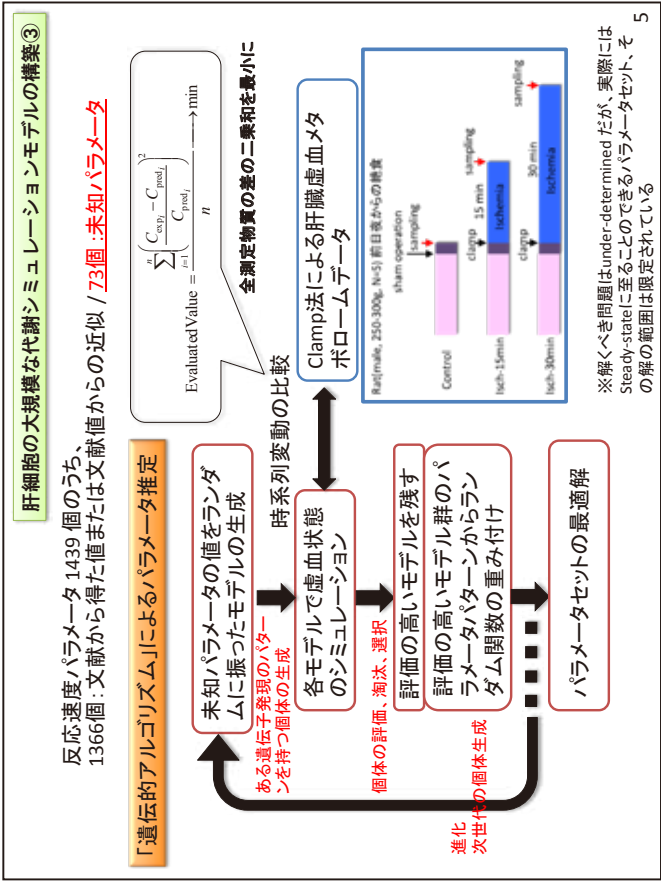
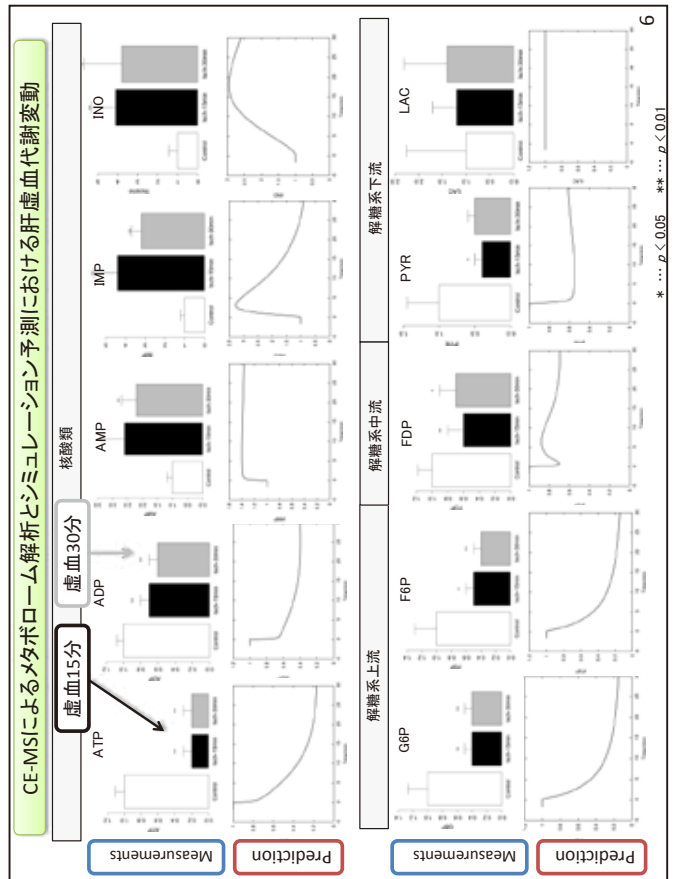
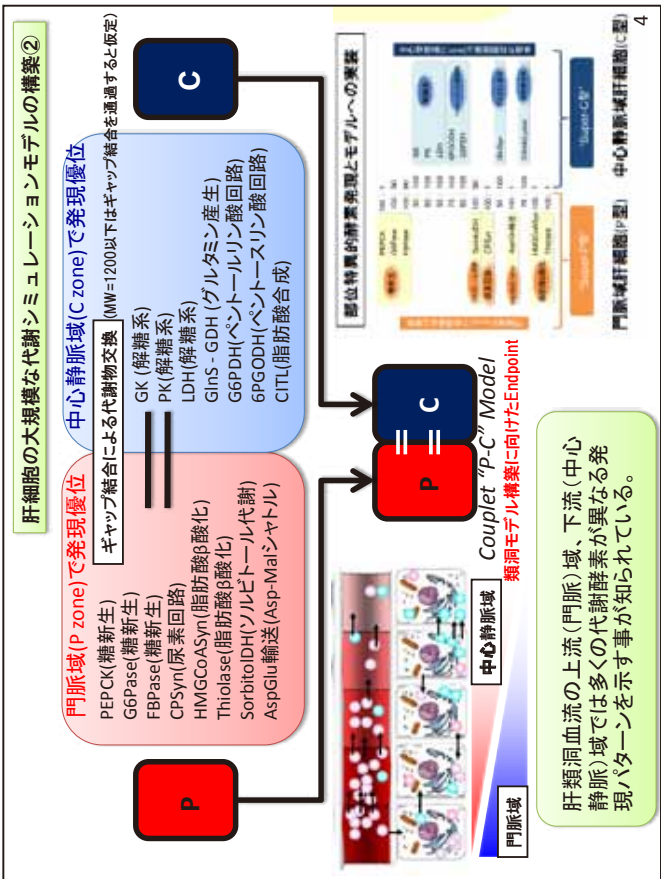
Glucose, Lactate, etc.

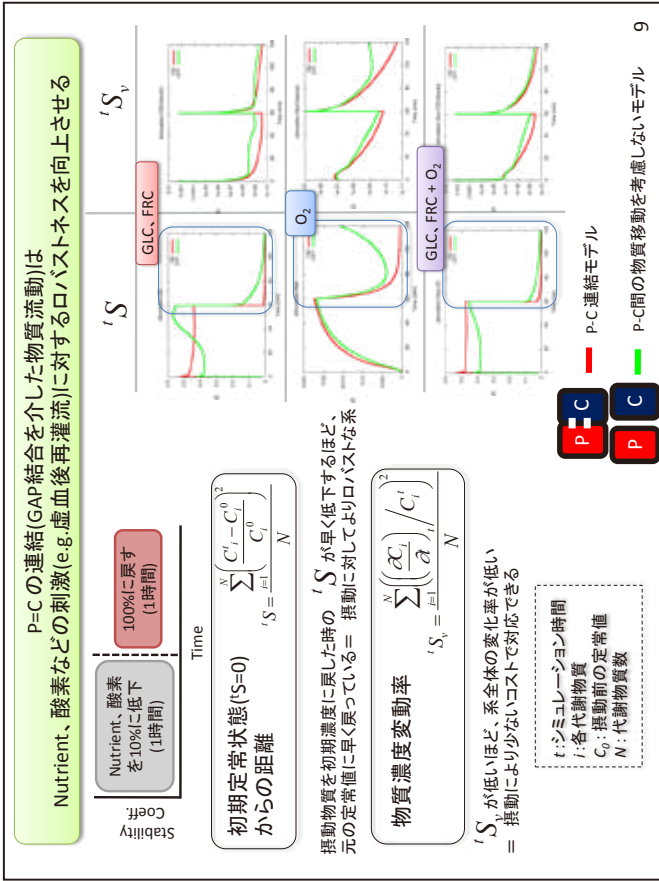
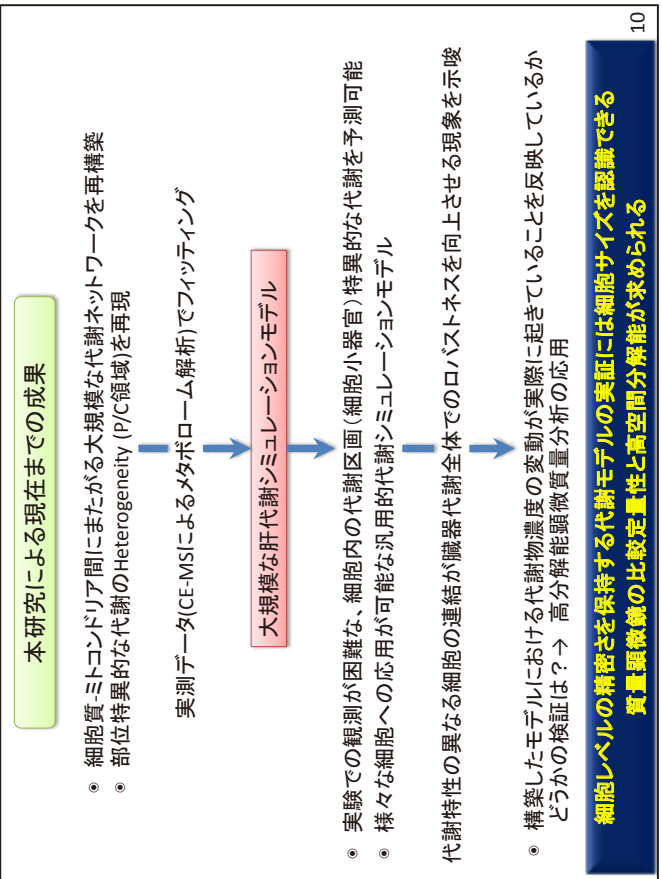
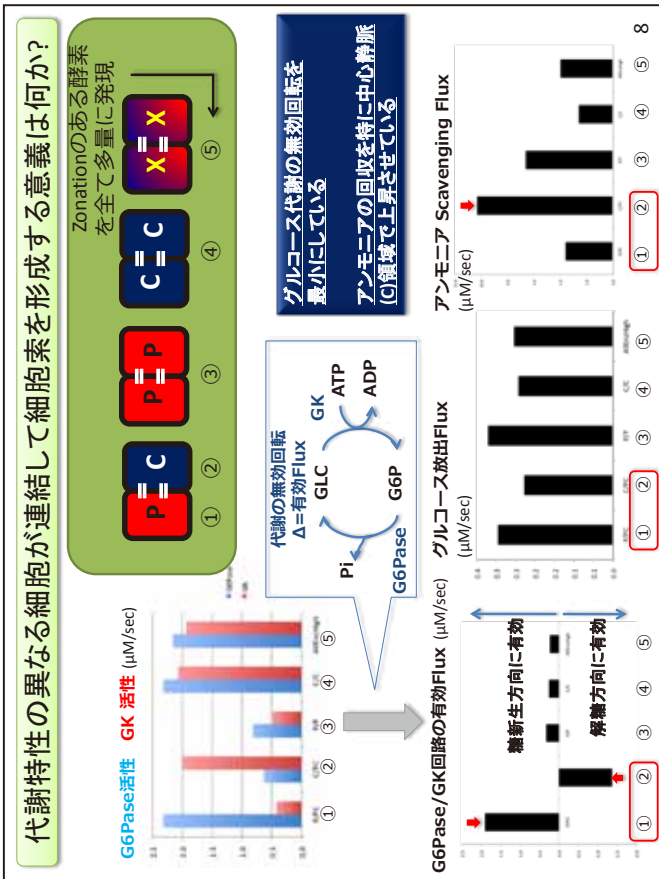


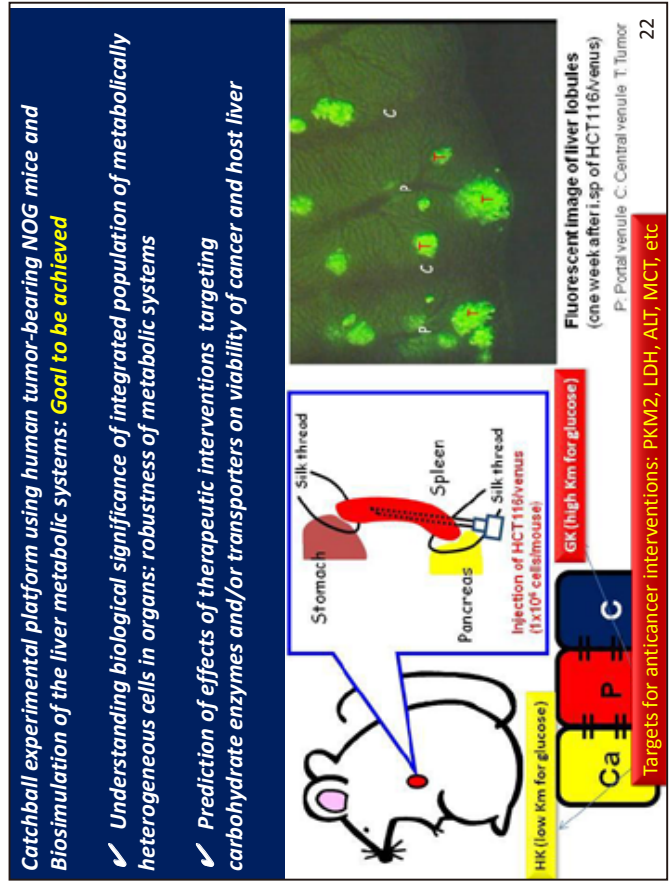
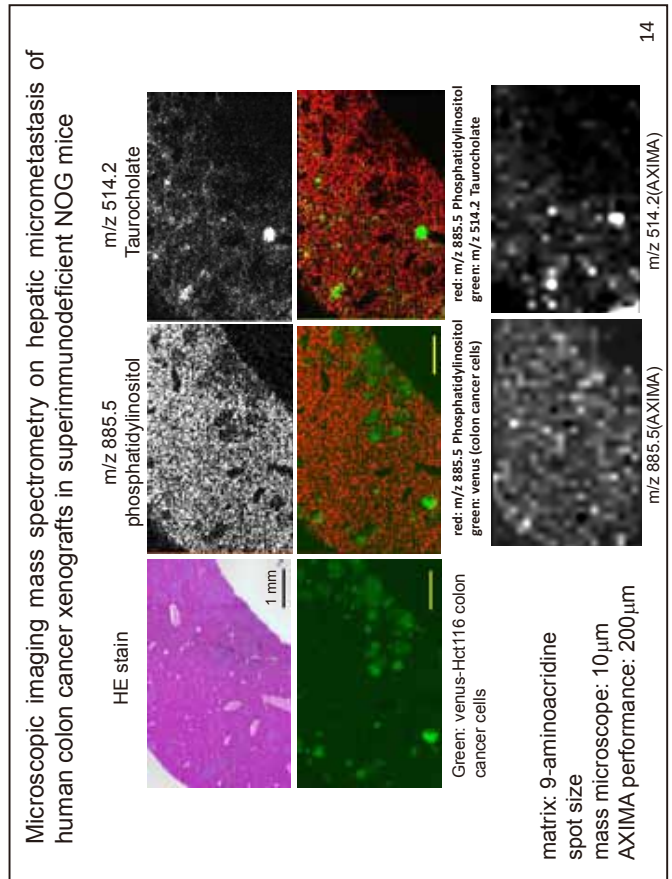
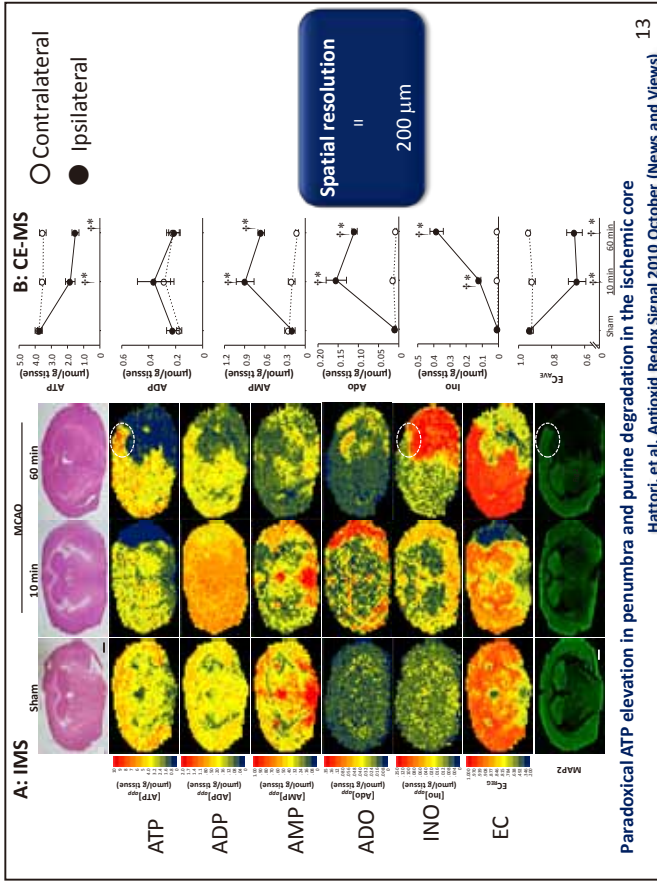
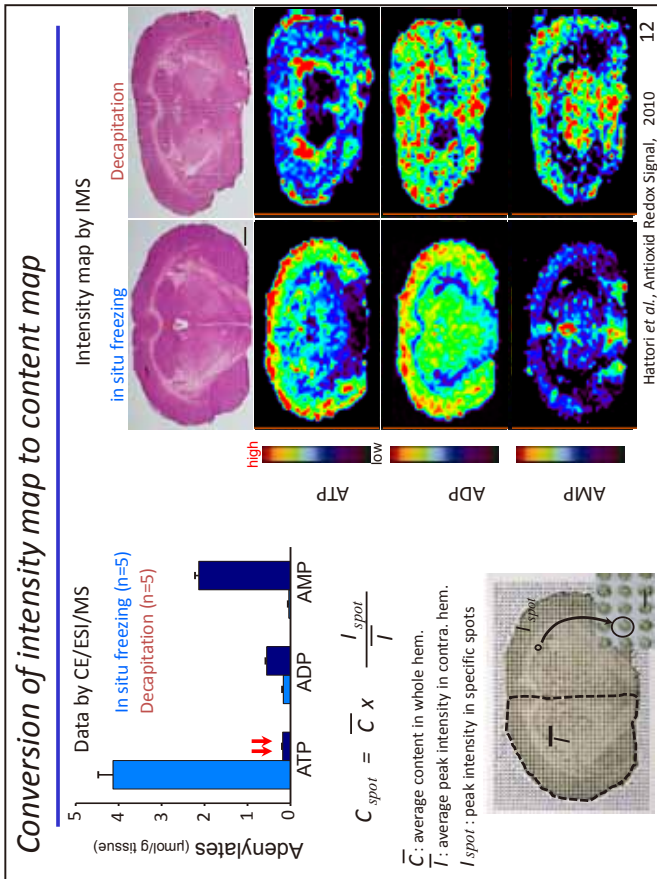
細胞質-ミトコンドリア輸送系

ミトコンドリアと細胞質を多くの代謝物質が直接または間接的に行き来して代謝機能が実現されている

大規模代謝モデルの完成
= 258反応, 476変数
1439酵素反応速度パラメータ







(謝辞)

本資料集に記載されている「京」での計算は、2011年3月の「京」の特別運用およびその後の試験利用によって行われたものです。

また、本資料集に記載されている「京」を使用した測定値は、開発整備中の「京」による、測定時点での数値です。