

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 24 日現在

機関番号：85502

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26730153

研究課題名(和文)形式手法を用いた遺伝子ネットワーク解析手法に関する研究

研究課題名(英文)A research on a formal method for analysing gene networks

研究代表者

伊藤 宗平(Ito, Sohei)

独立行政法人水産大学校・その他部局等・助教

研究者番号：50708005

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：時間論理を用いて遺伝子ネットワークの可能な振る舞いを定性的にモデル化し、ネットワークが与えられた生物学的性質を満たすかどうかを検証する枠組みを開発した。特に、生命システムを環境との相互作用を行うオープンシステムと見なし、種々の環境的变化にもシステムの性質が保持されるという生物学的恒常性を数学的に形式化し、その検証手法を与えた。また、一遺伝子-タンパク質の単純なモデルを、一遺伝子から複数のタンパク質が産生される選択的スプライシングの機構をモデル化し、解析する手法を考案した。実際の適用例として、ショウジョウバエの性決定ネットワークの振る舞いを解析することに成功した。

研究成果の概要(英文)：We developed a framework for analysing gene networks using temporal logic. In our method we model the possible behaviours of gene networks with logical formulae in qualitative way and check whether a network satisfies a given biological property. In this research, we regard gene networks as open systems which interact with environment. Then we mathematically formalised biological homeostasis which says that a system maintains its internal property against various changes of environment. We also extended our framework from a simple one gene one protein model to one gene many proteins model by devising a method to model alternative splicing mechanisms. As an analysis of real example, we analysed sex determination network of *Drosophila melanogaster* and verified that the network ensures sex determination.

研究分野：応用論理学、形式手法

キーワード：システム生物学 形式手法 生物学的恒常性 選択的スプライシング 遺伝子ネットワーク 数理論理学

1. 研究開始当初の背景

近年の生物学の発展により、DNA 塩基配列に始まり、発現情報、タンパク質情報、代謝物情報など情報量は増大し、情報の多様性も増してきている。このような背景から、それら大量の情報を活用し、有益な知見を見出すための手法が望まれている。こういった大量の情報処理には、情報科学、計算機科学の手法が不可欠であり、生物情報学と呼ばれる新たな学問領域が形成され、生物学の発展に寄与してきた。しかし、生命を遺伝子やタンパク質のネットワークとして捉え、生物がシステムとしてどのように機能しているかを理解すること(システム生物学)は、まだ発展途上にあり、普遍的なモデリング・解析手法というものは確立されていない。

システム生物学における近年の動向において、システムの計算論的モデルの重要性が指摘されており、stochastic calculus, BioAmbients, BetaBinders, BioPEPA などの、プロセス計算と呼ばれる手法に基づくものや、constraint-based modeling と呼ばれる、生物システムの可能な振る舞いを特徴づける制約によってモデルを記述する手法などが提案されてきた。とりわけ、生物情報は一般に不完全であるため、現時点で利用可能な情報を用いて制約としてモデル化する constraint-based modeling は、生物学上の新たな知見を得た場合に、制約の追加・削除によってモデルの修正を容易に行うことが可能であるという利点がある。

2. 研究の目的

申請者が constraint-based modeling のパラダイムに基づき以前に開発した、遺伝子ネットワークにおける活性・抑制という定性的関係だけに着目し、その遺伝子間の因果関係を論理的に表現することで遺伝子ネットワークの振る舞いをモデル化する手法を拡張し、より複雑な生物学的性質の解析と、より複雑な生物システム現象のモデル化の2つの点に取り組む。前者においては、恒常性と呼ばれる生物学的性質を形式的に定義し解析するための枠組みを確立する。後者においては、真核生物特有の遺伝子調節機構として選択的スプライシングと呼ばれる現象を記述し解析するための手法を確立する。

3. 研究の方法

生体システムの恒常性について、どのような実例が存在するか調査する。特に、どのような遺伝子ネットワークが恒常性を生み出すかに着目し、その機能や振る舞いを理解する。複数の事例を調査し、それらに共通する特徴を見出し、恒常性の数学的定義を与える。これについては、生体システムをリアクティブシステムと対応させるという、本研究の基本的アイデアに基づき、恒常性をリアクティブシステム仕様の実現可能性という性質を用いて定義可能かどうかを検討する。さらに、

本研究手法の枠組みで恒常性を検証するためのモデル化手法と検証方法・アルゴリズムについて考案・実装する。そして実際の遺伝子ネットワークの恒常性解析を行い、本手法の有用性を確認する。

選択的スプライシングによる遺伝子調節の具体例とそのメカニズムを書籍や文献から調査する。その調査結果をもとに、時間論理を用いてどのようにその調節機構が記述できるか考察する。現在の記述法では一つの遺伝子に対し発現状態に一つの命題を割り当てていたが、選択的スプライシング機構を持つ遺伝子の場合、そのスプライスバリエーションの数だけ命題を割り当てることで対応できると予想される。それらバリエーションの間の発現制御については調査結果に基づいて記述法を考案する。その考案した記述法で、実際の遺伝子ネットワークのモデル化を行い、実際に解析を行いその有用性を確認する

4. 研究成果

(1) 生物学的恒常性について

生物学的恒常性は自然言語で一般的には次のように説明される。

システムの各部分の協調した反応により、システム内部の条件や機能を乱そうとするあらゆる環境変化や刺激に対しても自己の安定性を維持するシステムの傾向

やや複雑で分かりにくい説明だが、この中にあるキーワードを抽出してみると「あらゆる環境刺激に対し」「システムが機能を維持する」という性質であることがわかる。興味深いことに、我々の時間論理による遺伝子ネットワークの定性的解析手法と発想を同じくする、リアクティブシステムの仕様検証技術で重要な性質とされる実現可能性という概念はほぼこれと同一のことを述べている。

リアクティブシステム仕様が実現可能であるとは、任意の環境からの入力に対し仕様通りに振る舞うシステムが存在することをいう。

ここで、リアクティブシステムとは、環境からの入力に対し適切に応答し、半永久的に環境と相互作用しながら動作し続けるシステムの抽象的モデルである(図1)。

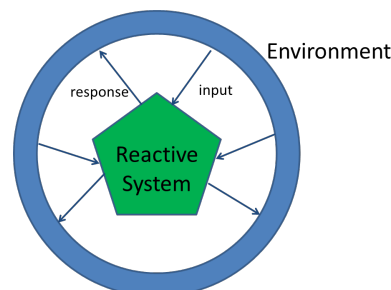


図1 リアクティブシステムの概念図

本研究ではこの類似性に着目し、ある性質がある遺伝子ネットワークにおいて恒常的である、という性質を次のように形式化した。

定義 I を入力命題、 O を出力命題、 τ を時間論理式による遺伝子ネットワークの振る舞い記述、 ϕ を生物学的性質の時間論理式による記述とする。この時、 $\langle I, O, \tau \rangle$ が実現可能である時、 $\langle I, O, \phi \rangle$ に関し恒常的であるという。

この定義は、上述の(ややもすると曖昧な)定性的な恒常性の定義の初めての数学的な形式的定義である。この定義に基づき、生物学的恒常性の解析を、時間論理式の実現可能性判定器を用いて行うことができる。

この定義に基づき、下図に示す対ストレス応答遺伝子ネットワークの恒常性の解析を行った。

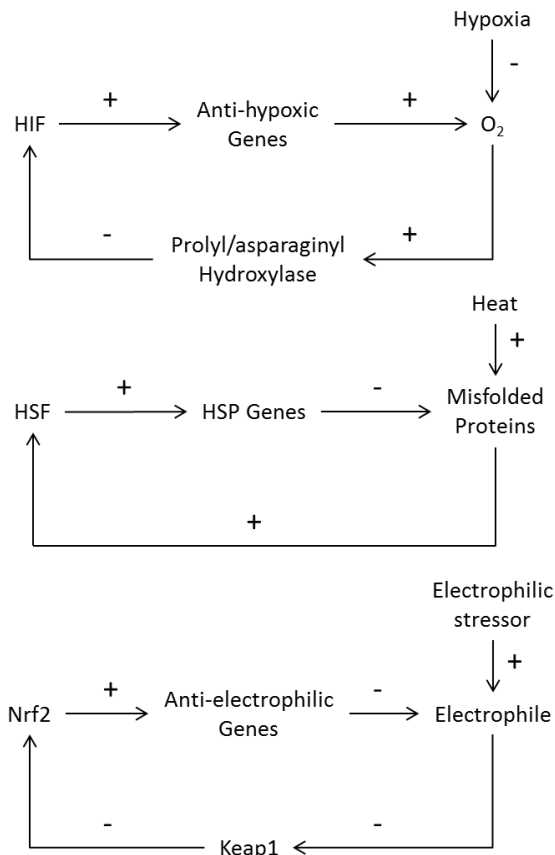


図 2 対ストレス応答ネットワーク

これらのネットワークは酸素欠乏や熱ショック、電気ショックなどのストレスが外部から与えられた際、それに対抗するための遺伝子の発現が誘導される対ストレス応答システムとなっている。従来の手法(微分方程式モデル)では、刺激に対する遺伝子発現レベルの微分係数を見て恒常的かどうかを判断していたが、本研究の枠組みでは、そのような瞬間的な応答だけでなく、長い時間を見たときの環境に対する応答も含

めて検証している点が画期的である。また、この対ストレスネットワークを修正し、例えば Anti-hypoxic Genes が外部からの抑制シグナルにより調節されるとした場合には、この恒常性は成り立たないことも確認できた。このように、複数の外部入力があったとしても本手法による解析は特段の修正なく可能である。また、ネットワーク構造を修正しながら仮説を検証するような場合にも、モデル記述の変更は容易である点も本手法の利点として挙げられる。

我々がネットワークの振る舞い記述に用いている線形時相論理の実現可能性判定問題は、2重指数時間完全であることが知られており、大きな論理式の実現可能性判定は困難である。我々のモデル化手法ではネットワークの大きさに対し、その振る舞いを表す論理式のサイズは線形である。したがって大きなネットワークの解析は現実的ではない。そこで我々は、遺伝子ネットワークの振る舞いを近似することでその論理式のサイズや命題数を抑えることを試みた。ここで、振る舞いの近似とは、真の振る舞い集合を包含するような記述(過大近似)あるいはそれに包含されるような記述(過小近似)の二通りが考えられる。現段階では、本来の恒常性よりも若干弱い性質である、弱恒常性という性質についてのみ理論的に正しい近似的な解析手法を得ることができた。これを真の恒常性の近似手法に拡張することは今後の課題である。

(2) 選択的スプライシングについて

真核生物においては、DNA 上の遺伝子が mRNA 前駆体に転写されたのち、種々の化学的処理によりいくつかの成熟 mRNA バリエーションを生み出すことが知られている。それぞれのバリエーションは異なったタンパク質に翻訳されたため、同一の遺伝子から複数のタンパク質が発現する。この仕組みを選択的スプライシングという。

この選択的スプライシングの機構にはいくつかのパターンが知られているが、例えばプロモータの違いにより異なったスプライシングが生じることが知られている(図3)。

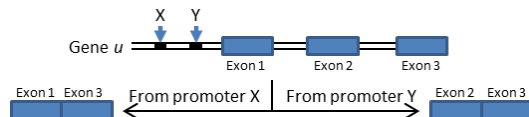


図 3 プロモータの違いによる選択的スプライシング

我々がこれまで研究してきた遺伝子ネットワークのモデル化手法では、原核生物に見られるような一遺伝子から一タンパク質という単純な原理を仮定していたため、ヒトなどの真核生物の遺伝子ネットワークの解析が可能かどうかは明らかでなかった。そこで

本研究では、我々の枠組みを拡張し、選択的スプライシングによる一遺伝子から複数のタンパク質が発現するシステムのモデル化手法を確立する。

このために、従来は一つの遺伝子に対し、それが発現していることを示す命題を一つ割り当てていたが、これを一つの遺伝子に対し、そのスプライシングバリエーションの数だけの命題を割り当てる方式を考案した。その際に、どのようにそのバリエーションの発現が制御されるかについては、種々の文献から選択的スプライシングの分子生物学的機構を調査することで、その仕組みを我々の枠組みで記述する方法を考案した。

我々は現在知られている以下の4つの主なスプライシング機構についてその記述方法を確立した。

1. プロモータの違い
2. スプライシング因子の有無
3. スプライシング因子のメチル化
4. ナンセンスコドンによる非機能 mRNA 分解

基本的には、通常の遺伝子ネットワークの調節関係に加え、転写複合体やスプライシング因子を表す命題を追加することで複雑なスプライシング制御関係を論理式で表現している。

我々はこの記述法を実際の生物の遺伝子ネットワークの解析に利用し、その有用性を実証した。対象としたネットワークは、ショウジョウバエの性決定遺伝子ネットワークである(図4)。

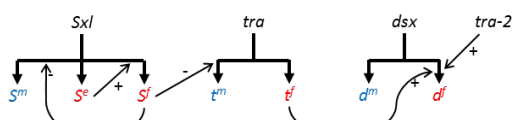


図4 ショウジョウバエの性決定遺伝子ネットワーク

このネットワークは3つの遺伝子 Sxl, tra, dsx から成っており、それぞれ雄特有のスプライシングバリエーション(青字)と雌特有のスプライシングバリエーション(赤字)を持つ。このネットワークはこれまでも研究の対象になっており、Sxl 遺伝子のプロモータの違いにより雄になるか雌になるかが決定されることが報告されている。具体的には、早期プロモータ(バリエーション S^e を発現)から転写された場合には雌特有のスプライシングが誘導されるが、そうでない場合は雄特有のスプライシングが誘導される。我々はこのことを以下の論理式で表現し、この性質が成り立つかどうかを検証し、それが満たされることを確認した。

$$\left(TC_S^E \rightarrow FG(on_S^f \wedge on_t^f \wedge on_d^f) \right) \wedge \left(\neg TC_S^E \rightarrow FG(on_S^m \wedge on_t^m \wedge on_d^m) \right)$$

一方、このネットワークが雄特有のスプラ

イシングパターンを発現し、かつ雌特有のスプライシングパターンを発現するということがあってはならない。そうでなければ性決定ができないからである。我々はこの性質も以下のように時間論理式で記述し、この性質が満たされないことを確認した。

$$FG(on_S^f \wedge on_t^f \wedge on_d^f \wedge on_S^m \wedge on_t^m \wedge on_d^m)$$

以上により、本手法が実際の真核生物の振る舞い解析に有用であることを確認した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4 件)

1. Sohei Ito (2016). Temporal Logic Based Framework to Model and Analyse Gene Networks with Alternative Splicing. 7th International Conference on Bioinformatics Models, Methods and Algorithms (BIOINFORMATICS2016), pp.151-158. (査読有)
2. Sohei Ito, Takuma Ichinose, Masaya Shimakawa, Naoko Izumi, Shigeki Hagihara and Naoki Yonezaki (2015). Qualitative analysis of gene regulatory networks by temporal logic. Theoretical Computer Science, Vol. 594, No. 23, pp.151-179. (DOI: 10.1016/j.tcs.2015.06.017) (査読有)
3. Sohei Ito, Shigeki Hagihara and Naoki Yonezaki (2015). Approximate Analysis of Homeostasis of Gene Networks by Linear Temporal Logic using Network Motifs. 6th International Conference on Bioinformatics Models, Methods and Algorithms (BIOINFORMATICS2015), pp. 93-101. (査読有)
4. Sohei Ito, Shigeki Hagihara and Naoki Yonezaki (2015). Formulation of Homeostasis by Realisability on Linear Temporal Logic, Communications in Computer and Information Science, Vol. 511, pp. 149-164, Springer.(DOI: 10.1007/978-3-319-26129-4_10) (査読有)

[学会発表](計 1 件)

1. Sohei Ito (2015). Qualitative Analysis of Gene Networks with Alternative Splicing. 13th conference on Computational Methods for Systems Biology (CMSB2015)

6. 研究組織

(1)研究代表者

伊藤 宗平 (ITO, Sohei)

独立行政法人水産大学校・水産流通経営学科・助教

研究者番号: 50708005