慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	造血発生過程におけるシグナル伝達経路のフィードバック制御モデルの構築とWebブラウザを用いた細胞シミュレーターの開発
Sub Title	
Author	眞流, 玄武
Publisher	慶應義塾大学湘南藤沢学会
Publication year	2013
Jtitle	生命と情報 No.20 (2013.) ,p.124- 133
JaLC DOI	
Abstract	血球系細胞の幹細胞である造血幹細胞から赤血球へと分化する過程では, エリスロポエチンと呼ばれるホルモンの刺激が成熟赤血球への分化に必須であることが報告されている。分化に関わるシグナル伝達経路や転写因子などの特定に関する報告は多くあるが, 分化過程での細胞内分子の振る舞いは依然として不明な点が残されている。赤血球分化過程では, シグナル伝達により活性化されるSTAT5とGATA1という2つの転写因子が重要な役割を有していることが知られており, 先行研究としてこれらの転写因子を発現するJAK2-STAT5経路とPI3K-AKT経路それぞれのカスケードとフィードバック制御に関する数理モデルの構築が行われてきた。本研究ではこれらの2つの経路を含む細胞内分子ネットワークモデルをE-Cell SEならびにMATLABを用いて構築し, 統合を行った。シグナル伝達経路の活性化はエリスロポエチン受容体(EpoR)のリン酸化部位に依存している。複数あるリン酸化部位の機能に関する解析は部位毎に進んでいるものの, それぞれのリン酸化部位へのリン酸の分配則は明らかになっていない。本モデルでは, リン酸化の組合せによってシグナル伝達の起点となるEpoRとJAK2の複合体のEpoRpJAK2を5パターンに分類し, より詳細なリン酸化の状態を表現し, シミュレーションを行うことが可能となった。統合モデルの結果から先行研究のパラメータセットの妥当性を検証すると共に, リン酸化の分配則やフィードバック制御の強度変化, 滑降シンプレックス法を用いて, それぞれの分子の挙動が実験データの結果を忠実に再現するパラメータセットの探索を行った。また現在, 細胞シミュレーション研究を行う環境はユーザーのローカル環境に強く依存しており, E-Cell SEのような環境面の制限が大きいソフトウェアなどはインストールコストが高い。モデルの動作を確認するためにE-Cell SEで構築されたモデルをWebブラウザ上で実行できるWebアプリケーション開発も行った。
Notes	慶應義塾大学湘南藤沢キャンパス先端生命科学研究会 2013年度学生論文集 卒業論文ダイジェスト
Genre	Technical Report
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO92001004-00000020-0124

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

卒業論文ダイジェスト

造血発生過程におけるシグナル伝達経路のフィードバック制御モデルの構築とWebブラウザを用いた細胞シミュレーターの開発

慶應義塾大学 環境情報学部4年
眞流　玄武
t10823gm@sfc.keio.ac.jp

要旨

血球系細胞の幹細胞である造血幹細胞から赤血球へと分化する過程では，エリスロポエチンと呼ばれるホルモンの刺激が成熟赤血球への分化に必須であることが報告されている．分化に関わるシグナル伝達経路や転写因子などの特定に関する報告は多くあるが，分化過程での細胞内分子の振る舞いは依然として不明な点が残されている．赤血球分化過程では，シグナル伝達により活性化されるSTAT5 とGATA1 という2 つの転写因子が重要な役割を有していることが知られており，先行研究としてこれらの転写因子を発現するJAK2-STAT5 経路とPI3K-AKT 経路それぞれのカスケードとフィードバック制御に関する数理モデルの構築が行われてきた．本研究ではこれらの2つの経路を含む細胞内分子ネットワークモデルをE-Cell SE ならびにMATLAB を用いて構築し，統合を行った．シグナル伝達経路の活性化はエリスロポエチン受容体(EpoR) のリン酸化部位に依存している．複数あるリン酸化部位の機能に関する解析は部位毎に進んでいるものの，それぞれのリン酸化部位へのリン酸の分配則は明らかになっていない．本モデルでは，リン酸化の組合せによってシグナル伝達の起点となるEpoRとJAK2の複合体のEpoRpJAK2 を5パターンに分類し，より詳細なリン酸化の状態を表現し，シミュレーションを行うことが可能となった．統合モデルの結果から先行研究のパラメータセットの妥当性を検証すると共に，リン酸化の分配則やフィードバック制御の強度変化，滑降シンプレックス法を用いて，それぞれの分子の挙動が実験データの結果を忠実に再現するパラメータセットの探索を行った．また現在，細胞シミュレーション研究を行う環境はユーザーのローカル環境に強く依存しており，E-Cell SEのような環境面の制限が大きいソフトウェアなどはインストールコストが高い．モデルの動作を確認するためにE-Cell SEで構築されたモデルをWebブラウザ上で実行できるWebアプリケーション開発も行った．

キーワード: dynamic cell simulation, signal transduction, erythropoiesis, web application

序論

多細胞生物においてはその活動を維持するために，様々な特化した機能をもつ細胞が器官を構成しており，個々の細胞の機能は分化と呼ばれる過程を経て獲得されることは広く知られている[1]．血球細胞の一種である赤血球は造血幹細胞と呼ばれる多能性幹細胞の終末分化の1つの結末であり，またその細胞の有用性から分化に関する様々な因子が特定する研究が行われてきた[2-3]．赤血球分化過程において非常に重要な因子として，サイトカインのエリスロポエチン(Erythropoietin: Epo)とそれによって活性化されるシグナル伝達経路である，JAK2-STAT5経路，PI3K-AKT経路，Ras-MAPK経路などが知られている[4]．Epoが結合することによって活性化されたシグナル伝達経路はその下流で転写因子を発現し，その転写因子によってさまざまなタンパク質が発現する[5-6]．こうしたタンパク質はそれぞれが機能を有しており，細胞内の生化学反応の制御を行うことや，表現型としての機能を示す．JAK2-STAT5経路の下流にて発現するCISとSOCS3の転写抑制制御因子はその経路の上流で起こるリン酸化反応を阻害し，シグナル伝達の収束を促す[7]．一方，PI3K-AKT経路の下流で活性化する転写因子GATA1は自身とEpoの受容体であるエリスロポエチン受容体(Erythropoietin Receptor: EpoR)のプロモーター領域に結合し，これらの遺伝子の発現を行う[8]．このEpoRを生成する反応は系に流れるシグナルの量を増加させるものであり，転写抑制因子とは逆の性質を持つ．これらのシグナル伝達の下流で活性化したタンパク質が上流に影響を与える機構をフィードバック制御機構と呼び，こうした細胞内の分子の振る舞いを細胞は解釈し，細胞の運命が決定されていく．フィードバック制御機構は生命現象中にのみ見られるものではなく，これまでは主にシステム工学の学問領域で研究が行われてきた．生命現象に理論を用いてアプローチし，システムとして解明しようという試みが行われ，システム生物学と呼ばれる分野が誕生した[9]．定量的な値を用いて，生命現象をコンピュータ上に再現することは*in vivo*や*in vitro*での生命の動作原理を明らかにすることが可能となる．造血発生過程のJAK2-STAT5経路とPI3K-AKT経路で起こるフィードバック制御に関して数理モデルが構築されてきた[10-11]．先行研究により，それぞれの経路でのフィードバック制御の詳細な振る舞いが明らかになったが，実際に細胞内でネットワークを構成しているこれら経路がシステムとしてどのように振る舞うかは明らかになっていない．本研究を行うことにより，異なる性質を持つフィードバック制御の存在下では分子ネットワークがどのような振る舞い示し，システムとして働くために必要な条件などを数値解析を通して理解することが可能となる．今回対象にしている2つのシグナル伝達経路は同一の物質からリン酸基を受け取り活性化が起こることから，リン酸基の分配時に生じる偏りの生物学的意義に関しても議論することが可能となる．

生命科学の分野において数理モデルを用いた研究とその重要さが認知されるにしたがって，構築された数理モデルやシミュレーションを行う環境の開発が多くの研究者によって行われてきた．本研究で用いたE-Cell SEやMATLABのみならず，様々なプラットフォームが構築されているが，それらは互換性に乏しく，シミュレーションを実行するには専用のソフトウェアが必要である[12-13]．数理モデルを用いた研究を行うにあたって，モデルの動作を確認することは最も重要なプロセスであるが，シミュレーターごとにソフトウェアをインストールすることはユーザーのローカル環境に強く依存しており，またPC操作に不慣れなユーザーには非常に負荷が大きいことが問題視されてきた．Webサービスはインストールやメンテナンスが不要であり，OSに非依存であるという利点を持っているため，既存のモデルを実行するにあたって，Webサーバーを用いて計算を行い，Webブラウザでその結果を確認することが可能な環境を提供することにより，この問題を解決できると考えられた．

そのため，本論文ではE-CellとMATLABによる赤血球分化過程のシグナル伝達経路のフィードバック制御モデルを構築するとともに，Webアプリケーション開発の初期段階として，E-CellをWebサービスとして提供するためのプラットフォーム構築を行った．

対象と手法

先行研究のモデルの再構築

EpoRJAK2には8つリン酸化部位が存在し(図1)，Y343，Y410の2つの部位がリン酸化されるとJAK2-STAT5経路が，Y479 がリン酸化されるとPI3K-AKT経路が活性化されることが知られている．これらの経路での前章で述べたフィードバック制御モデルがPalaniらとBachmanらによって構築されていたことから，先行研究の結果を基にE-Cell SEとMATLABを用いてモデルの再実装を行った．

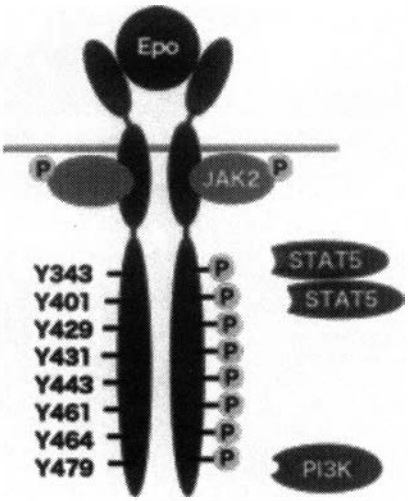

図1. EpoRJAK2に存在する8つのリン酸化部位

受容体には8つのチロシンリン酸化残基が存在しており，Y343,Y401ではJAK2-STAT5経路，Y479ではPI3K-AKT経路の活性化が行われる．

統合モデルの構築

E-Cell SEとMATLAB上で再構築を行ったモデルの統合を行った．2つの経路にはEpoRJAK2が共通の物質として存在しており，EpoRpJAK2のリン酸化部位によってパターン分けを行い，PI3K-AKT経路を活性化する際のリン酸化反応の式はJAK2-STAT5経路のモデルを参考にして再定義を行った．パターン分けを表1に示す．リン酸化反応の詳細に関しては卒業論文の2.2.3を参照していただきたい．

表1. リン酸化が行われる部位によるEpoRpJAK2のパターン分け

Complex / Phosphosite	p1EpoRpJAK2	p2EpoRpJAK2	p3EpoRpJAK2	p4EpoRpJAK2	p5EpoRpJAK2
Y343	●			●	●
Y401	●			●	●
Y429		●		●	●
Y431		●		●	●
Y443		●		●	●
Y461		●		●	●
Y464		●		●	●
Y479		●	●		●

黒点はリン酸化されていることを示している．p1EpoRpJAK2とp4EpoRpJAK2はJAK2−STAT5経路を活性化し，p2EpoRpJAK2とp3EpoRpJAK2はPI3K-AKT経路を活性化する．p5EpoRpJAK2は両方の経路を活性化する．

モデルの最適化

モデルを統合したことにより，PI3K−AKT経路の活性が低下するという問題が発生したため，その原因を究明し，解決するために以下の3つの解析を行った．

経路に流れるリン酸化の量の調節

統合モデルではリン酸化反応は確率的な反応であることから，どのリン酸化部位に関してもほぼ同量のリン酸化が起こると仮定し，等量のリン酸化が起こるように定義を行なっていた．本解析では図2のように新たな物質を定義することにより，それぞれの経路に流れるリン酸化の量を11段階に分けて解析を行った．

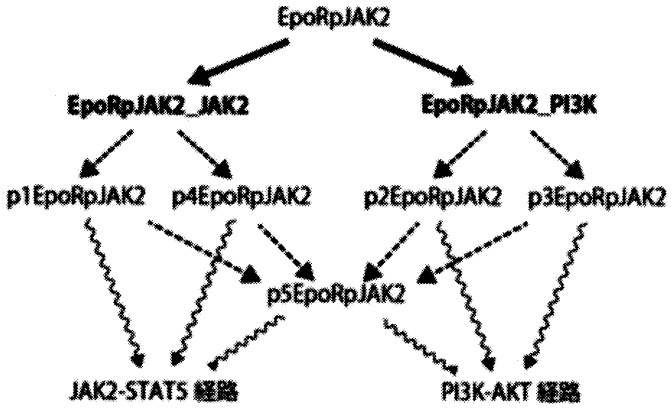

図2. リン酸化に偏りを生じさせるために行ったモデルの改変

EpoRpJAK2 の量を分配することで，経路ごとにリン酸化の偏りを生じさせることを可能にした.太い実線が今回加えたリン酸化が進行する前にどの経路のシグナル伝達経路を活性するかの振り分けるプロセスである．破線がリン酸化反応，波線がシグナル伝達経路に伝わる反応を示している．

ポジティブフィードバック制御の強度の調節

Palaniらによって構築されたモデルのフィードバック制御に関するパラメータはパラメータ推定を用いて決定されていた．GATA1はEpoRと自身の発現を促すという知見と，リン酸化勾配をつけた前項のモデルによる解析結果を踏まえ，GATA1のポジティブフィードバック制御がモデルの活性の向上に大きく関与していると仮定し，本解析ではGATA1のポジティブフィードバック制御を行うパラメータであるF1の数値を変化させ，反応の活性が取り戻されるかの検証を行った．

Nelder-Mead法による反応パラメータの推定

上記の2つの解析結果から，先行研究で構築されたモデルのパラメータがモデルを統合したことにより実験データの挙動から外れるような値であることが示唆されたため，本解析ではNelder-Mead法を用いてパラメータ推定を行った[14]．パラメータ推定を行うにあたって，13のパラメータ(T2, A16, B16, A17, B17, A24, A19, A22, A18, A20, A23, F1, F2)を選出し，AKT,PI3KA, GATA1, GATA1A, EpoRmRNA_cyt, GATA1mRNA_cytの先行研究のシミュレーション結果をフィッティング対象のデータとして用いた．今回選出したパラメータは先行研究中でパラメータ推定によって決定されており，またGATA1のリン酸化反応や，GATA1によりmRNAが発現することを表現した反応式に用いられている．推定された結果を次回の推定に用い，3回試行を行うことでより精度の良いフィッティングを目指した．

Webサービスの構築

先行研究のモデルの動作を確認する際にユーザーのローカル環境に依存しているという問題点と本研究を通じて構築してきたモデルを研究成果として公表する手段としてWebブラウザを用いたシミュレーション実行環境の必要性を感じ，Webサービスの構築を行った．開発の初段階としてE-Cell SEをサービスとして提供するための実装を行った．実装を行うにあたってはサーバーでの処理はPython言語を用い，Webブラウザでの表示はJavaScript言語を用いた．E-Cell SEを実行するためにE-Cell SEで提供されているメソッドのAPIの実装を行い，ブラウザ上ではシミュレーションを行うにあたってユーザーフレンドリーなGUIの作成と，グラフの描画を行った．実装の詳細に関しては卒業論文の4.2を参照していいただきたい．

結果と議論

モデル構築

E-Cell SEとMATLABを用いて先行研究の再実装を行うことが出来た(データ不掲載). 統合モデルの結果を図3に示す. 細胞内分子ネットワークを構成する全て物質において物質量の変化に違いが見られたが, JAK2-STAT5 経路を構成する各物質は先行研究の結果と概ね一致する結果が得られた. 一方, PI3K-AKT 経路に関してはAKTやPIP2,PIP3などは濃度変化のスケールは一致しているが, 統合後のモデルでは濃度が0の近傍で定常状態に収束しており,その挙動には大きな違いが生じた.また, GATA1やmRNAでは反応活性が大幅に下がり,先行研究の結果とは大きく異なった. PI3KAやAKTpがピーク値では先行研究の結果に近い値を示しているが, その値が急激に減少することから, PI3K-AKT経路全体を活性化させるために必要なEpoRpJAK2が供給されていない, もしくはモデルのパラメータがモデルの構造が変化したことにより, パラメータが対応できなかったとの2点が原因として考えられた.

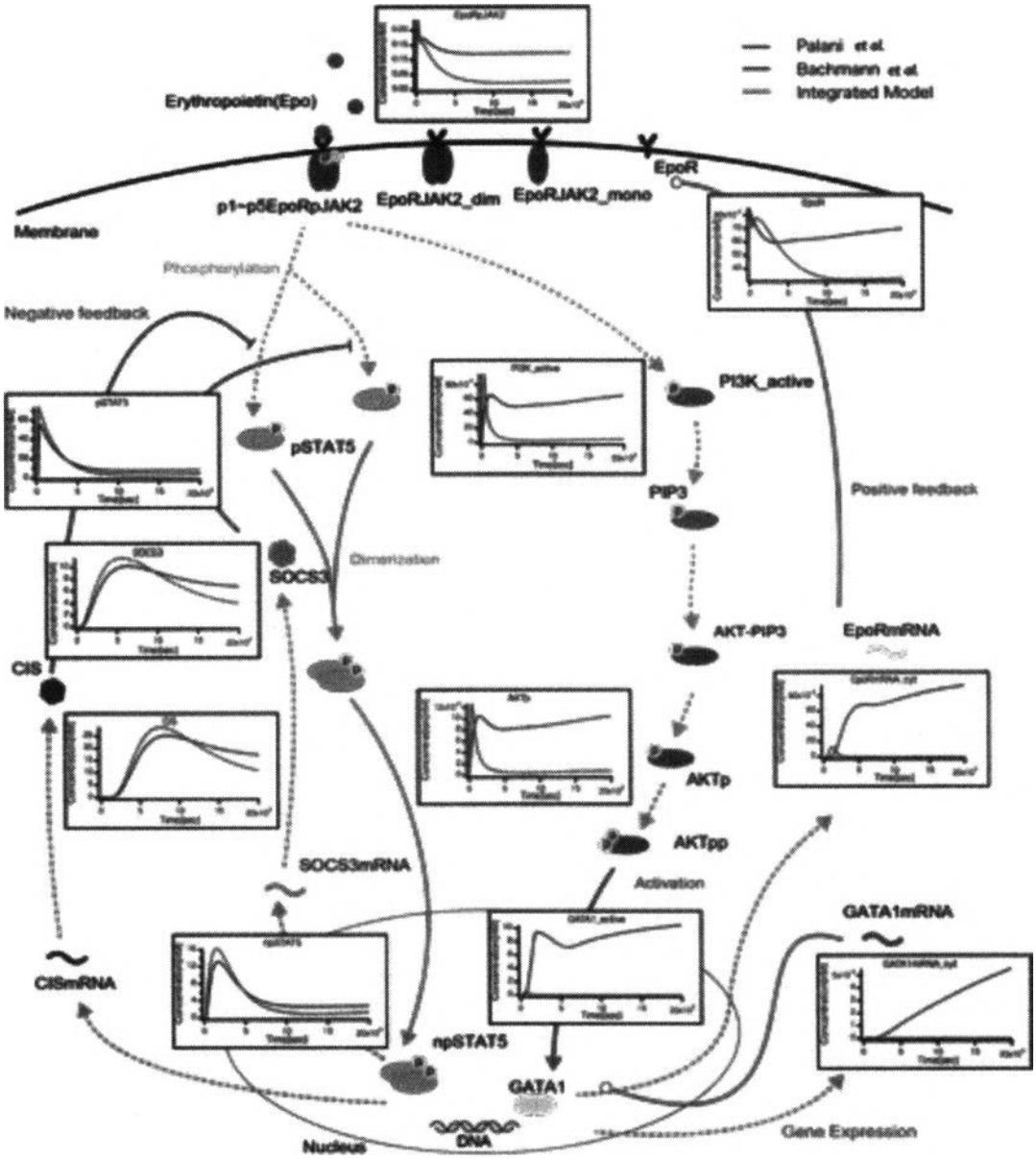

図3.統合モデルのシミュレーション結果と先行研究との比較

赤線がPalaniらのモデルの結果, 青線がBachmannらのモデルの結果, 緑線は統合モデルを示す.

モデルの最適化

経路に流れるリン酸の量の調節

EpoRpJAK2の全体量におけるPI3K-AKT経路に流れるEpoRpJAK2の割合を0%~100%までの11段階に分割し，シミュレーションを行った結果を図４に示す．割合が大きくなるにつれてEpoRpJAK2_PI3Kの濃度は上昇し，それに伴いGATA1_activeやEpoRmRNAの濃度も上昇していた．GATA1_activeに関しては割合が70%を超えると先行研究に近い濃度までパルスのような挙動が見られるが，その変化は一時的で０付近で定常状態をとり，GATA1mRNAはEpoRpJAK2の濃度変化による影響を受けづらく，活性の向上は見られなかった．これらのことからEpoRpJAK2の濃度を増加させることにより，PI3K-AKT経路を構成する物質の活性を向上させることが可能であるが，GATA1のポジティブフィードバック制御に関与しているGATA1mRNAはこの変化への感受性が低く，この点がPI3K-AKT経路全体の活性の低下に強く影響しているのではないかと考えられた．

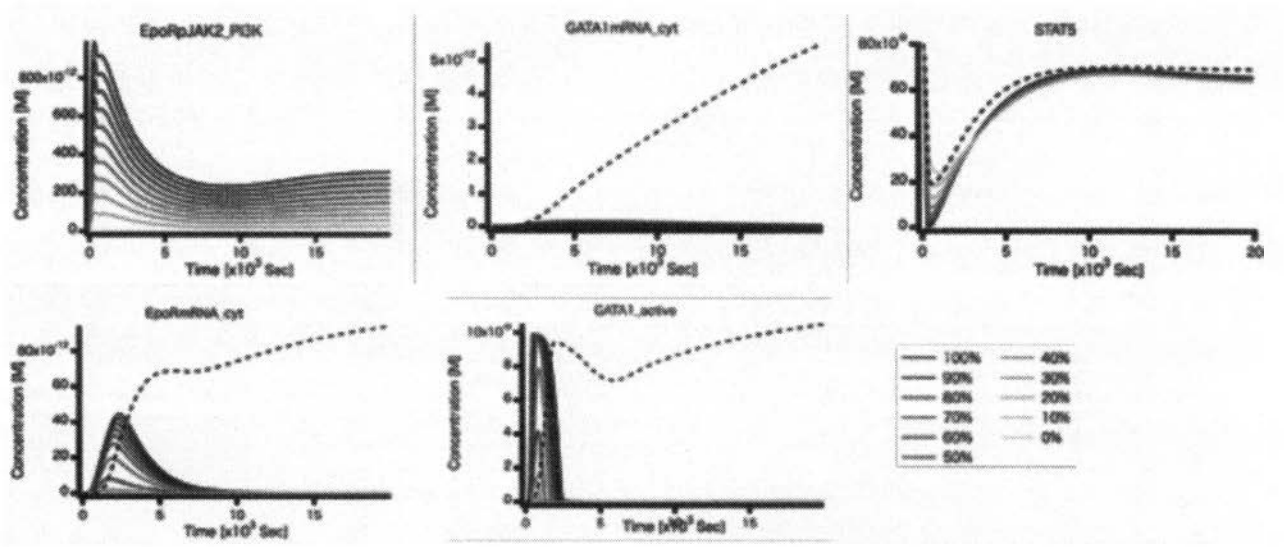

図4. リン酸化勾配をもつ統合モデルの実行結果

PI3K-AKT経路に流れるEpoRpJAK2の割合を0%~100%までの11段階に分けた．黒色に近づくにつれてより多くのEpoRpJAK2がPI3K-AKT経路に流れていることを表しており，点線は先行研究の結果を示している．

ポジティブフィードバック制御の強度の調整

GATA1mRNAの発現を促し，フィードバック制御の因子として定義されていたF1の値を等倍～10倍まで変化させ，10通りのシミュレーションを行った．結果を図5に示す．F1の値を大きくすることにより，GATA1mRNA_cytの濃度が大きくなることが確認されたが，先行研究の結果と比較すると依然として低い状態であり，他の物質への変化も見ることが出来なかった．先行研究での感受性解析では今回の変化幅で経路全体に大きな変化が見られることが述べられており，本モデルで同様の結果が得られなかったことから，本モデルの統合したことによるモデルの構造の変化とそれに伴う他の反応でのパラメータの最適化の必要性が示唆された．

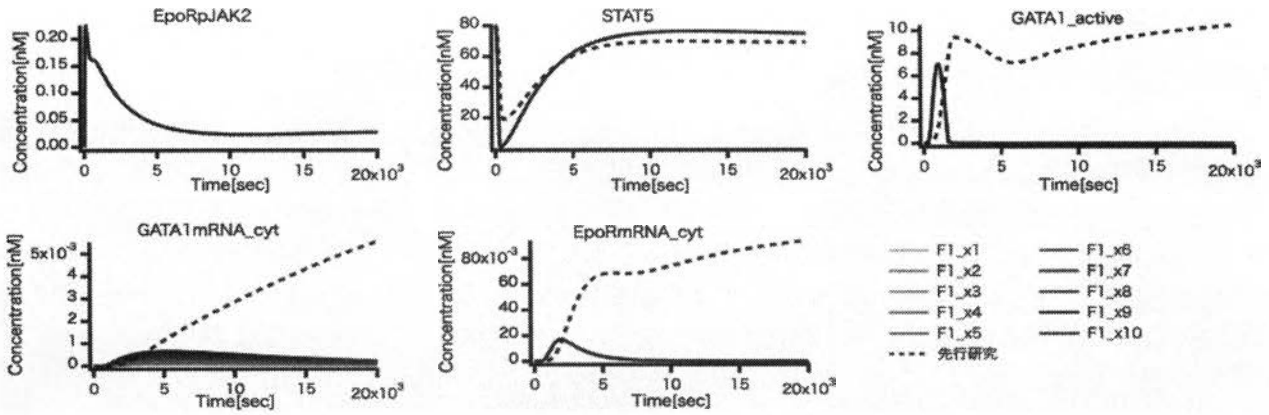

図5. フィードバック制御因子F1を変化させたモデルの実行結果

F1を等倍~10倍までその値を変化させ，シミュレーションを行った．黒色に近づくにつれてF1の値は大きくなる．点線は先行研究の結果を示す．

Nelder-Mead法によるパラメータ推定

13のパラメータに対して，先行研究のシミュレーション結果にフィッティングするようにパラメータ推定を行った．正解セットごとの最終的なパラメータの推定値と最適化コストを表2に示す．推定された値をモデルに代入し，実行した結果を図6に示す．

表2. 推定されたパラメータの値と最適化コスト

Data Sets	T2	A16	B16	A17	B17	A24	A19	A22	A18	A20	A23	F1	F2	Opt. Cost
AKT, PI3KA	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
GATA1, GATA1A	0.00010211	2.09870E-05	5247.32	6.51947E-06	11.3483	4.72769	49.2574	3067.78	5.76189	74.6058	75.1107	3.2104E-05	0.173089	0.0178726
EpoRmRNA GATA1mRNAP	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]
All(9 Variables)	1E-06	0.00288169	5381.16	0.00646823	6.04482	71.8298	156.245	18.0809	19.8085	4.23047	2.0633	0.00533643	0.0091905	1.73761E+17
Before Est.	0.001	0.01881	3430.04	73.718	73.718	388.54	109.277	313.805	23.9877	41.3012	11.98	0.01	0.12	N.D.

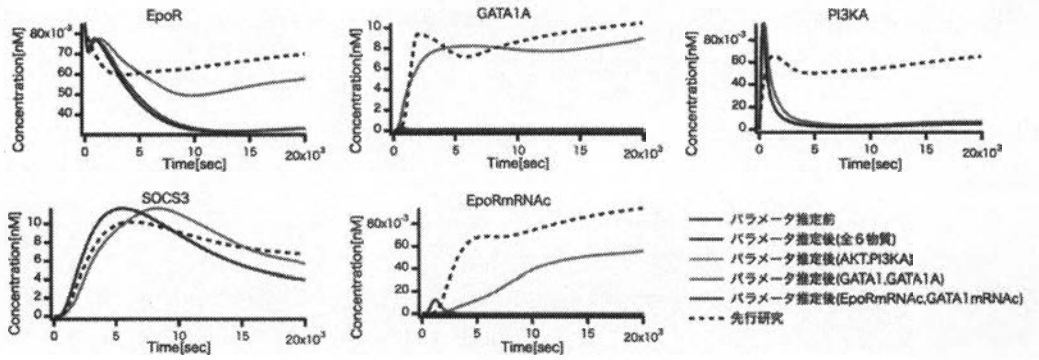

図6. パラメータ推定後のモデルの実行結果

赤線がパラメータ推定前の統合モデル，青線が正解データとして与えた6つの物質でフィッティングを行ったもの，オレンジ線がAKTとPI3KA，水色線がGATA1とGATA1A，緑線がEpoRmRNAcとGATA1mRNAc，黒の破線が先行研究の結果を示している．

図6からも明らかなように，GATA1，GATA1Aのシミュレーション結果を推定のために用いたものが最もよい近似を示した．今回の解析にあたって選択した反応パラメータはGATA1の反応にまつわるものが多く含まれていたため，このような結果になったと考えられる．GATA1の挙動が変化したことに応じてEpoRmRNAとEpoRも先行研究の値に大きく近づいた．EpoRのフィードバック制御に関するパラメータのF2が推定前と推定後で他の推定結果と比較すると大きく変化していないことから，F2が先行研究で決定されていた推定値を統合モデルで用いても問題ないと考えら

れる．しかし，今回の推定値と先行研究中で得られた結果を比較すると大きく違うものも複数存在するため，こうしたパラメータに関しては他のパラメータ手法を用いながら検討する必要がある．

Webサービス構築

本サービスはWeb Based Biosimulator(WeBBs)と命名し，環境情報学部の山久保純氏，林大祐氏，齋藤花華氏と共同で実装を行った．

本研究ではWeb ブラウザとサーバーで通信することで，これまでローカルマシンで行っていたE-Cell SE のシミュレーション計算をサーバーで行い，その結果をWeb ブラウザに表示するツールの開発を行った．サーバー側の処理のプログラムはCommon Gateway Interface (CGI) とPython言語で作成し，Web ブラウザに表示するプログラムはJavaScript 言語を用いた．Representational State Transfer (REST) を用いてサーバーとブラウザ間の通信を行い，XMLHttpRequest による非同期通信を利用したAjax を用いて動的にWeb ページの一部を書き換えることにより，画面遷移を伴わないインターフェースを実現した．本サービスのアーキテクチャを図7 に示す．

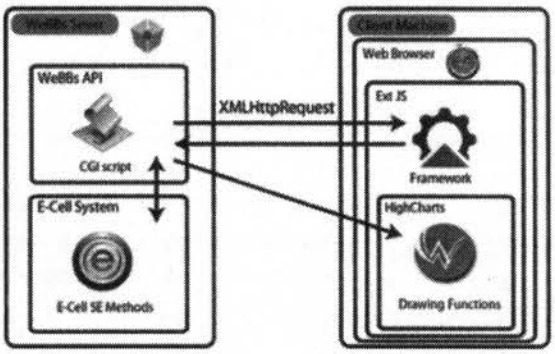

図7. 本サービスのアーキテクチャ

Webサーバーとクライアントマシンの Webブラウザ間ではXMLHttpRequestを利用した非同期通信を行う．受け取った情報に対してそれぞれのマシンがスクリプトを実行し，サービスが展開されていく．

E-Cell SEでは様々なメソッドが提供されており，それらはE-Cell SEの中でのみ使用可能なものである．本サービスの構築と今後の機能拡大を考慮し，Application Programming Interface (API)を作成し，Python言語からE-Cell SEを実行することが可能になった．本実装は林氏と齋藤氏によって行われた．詳細は卒業論文4.3.1を参照していただきたい．

Graphical User Interface (GUI)を構築するにあたり，Sencha社のExt JS4.0を用いた．今回作成したWeb サービスはモデルの選択，モデル情報の確認，シミュレーションの実行，結果の描画となっているため，ユーザーの視点の移動を意識したリストやボタンの配置を行った(図8)．現段階では実装が完了していないが，ユーザーがモデルの初期値を変更しシミュレーションを実行することを想定しており，ブラウザのタブを切り替えることなく，単一のタブ内で複数のモデルを実行することを可能にするためにページ内にモデルごとにタブを生成する．また，モデル情報をEntity，シミュレーション結果をResult としてセッションごとに生成したタブの下位のタブとして生成されるよう実装を行った．このGUI実装は私が担当した．

モデルファイルの実行により，それぞれのモデルに含まれる全ての物質の時系列データが保存される．これらのデータをJavaScript Object Notation(JSON)形式に整形し，グラフ描画ライブラリであるHighChartsを用いて描画を行う．この実装は山久保氏が担当した．本サービスのGUIとグラフの描画結果を図8に示す．

以上の実装を通じてE-Cell SEをWeb上で実行するためのプラットフォームが構築された．現在は全てのモデルに対して実行命令が与えられると計算を行うような実装となっているが，計算量の多いモデルが今後モデルとして登録されることを考えると，モデルのデフォルト値での計算などを想定し，サーバーへの計算負荷の軽減を意識した設計を取り入れる必要がある．また，E-

Cell SEにはDynamic Module(DM)と呼ばれるより高度な計算を行う機能などが備わっているが，本サービスではまだ対応することができていない．2章において構築した数理モデルもこのDMを使用しているため，実際に構築されたモデルを公開するためにはこの点も解決する必要があると考えられた．

A. B.

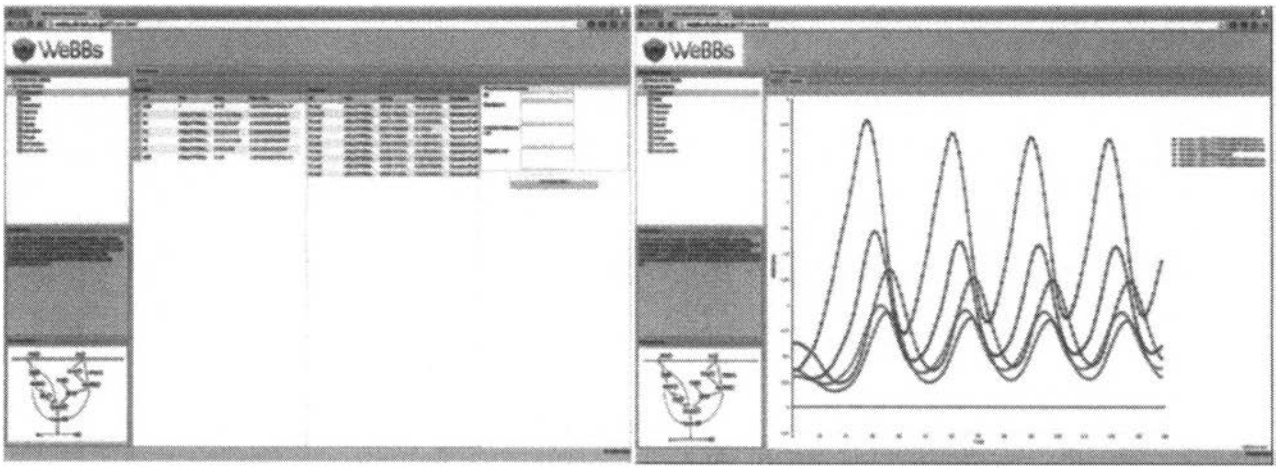

図8. 本サービスのGUIとHighChartsを用いたグラフの描画結果

A. パネルとグリッドを多用した実装を行うことで，それぞれの要素の配置がわかりやすいGUIを作成することが可能となった．モデルの主な情報であるVariableとProcessを画面の中央に配置し，左側にモデルのリストと選択されたモデルに関する情報と反応ネットワークの図，右側に選択された反応式に関する情報が表示されるボックスとシミュレーション実行ボタンを配置した．B. 横軸は時間を表し，縦軸は物質の濃度を表している．HighChartsを用いたことでドラッグ操作により拡大・縮小，凡例をクリックすることで不要な物質を非表示にし，見たい物質のみをウィンドウ内に残すことが可能となった．

結論

先行研究で構築された数理モデルを用いてモデルの拡張を行い，リン酸化パターンによって異なるシグナル伝達経路が活性化される数理モデルを新たに構築することが出来た．また，統合モデルでパラメータ推定を行った事により，先行研究の定性的な挙動は再現することが可能になった．しかし，そのパラメータには不確実な点が残っており，こうした問題はモデルの感受性解析や遺伝的アルゴリズムや逐次二次計画法などの他のパラメータ推定手法などを用いたさらなる解析を通じて解決していきたい．本モデルはリン酸化パターンによるシグナルの振り分けが行うことが可能なだけではなく，性質の異なるフィードバック制御が共存する．まだ，モデルに不確実な点が残されているために行うことができていないが，フィードバック強度の調節を行うことなどにより，生体内で起きうることを再現するだけでなく，生体内ではありえないパラメータセットの提示を行うといったアプローチで実験生物学にも有用なモデルを目指したい．

Webブラウザを用いた細胞シミュレーターはサポートできているシミュレーション環境はE-Cell SEのみであるが，実際にモデルを実行しグラフに描画することができるという一連の動作が可能な段階まで開発を進めることが出来た．しかし，まだ実践的に使えるレベルには到達していないため，E-Cell SEの開発者と協力しながらさらなる開発を行いたい．また，E-Cell SEにとどまらず，SBMLなどの他のシミュレーションソフトウェアにも対応し，論文や数理モデルのデータベースと連携をとり，数理モデル研究に必須なサービスとなることに期待したい．

謝辞

本研究を行うにあたって慶應義塾大学 環境情報学部 専任講師の佐野ひとみ 博士，ならびに准教授の内藤泰宏 博士にはモデルの構築方法から研究の進め方に至るまで熱心に指導していただいた．また，同大学 先端生命科学研究会OBの佐伯憲和氏と大下和希氏にも大変お世話になった，この場

を借りてお礼を申し上げたい．最後に，同大学環境情報学部 教授 冨田勝 博士にはこのような素晴らしい研究環境を与えていただいたことに深く感謝いたします．

参考文献

1. Iglesias-Bartolome, R. & Gutkind, J. S. Signaling circuitries controlling stem cell fate: to be or not to be. *Current opinion in cell biology* **23**, 716–23 (2011).
2. Chateauvieux, S., Grigorakaki, C., Morceau, F., Dicato, M. & Diederich, M. Erythropoietin, erythropoiesis and beyond. *Biochemical pharmacology* **82**, 1291–303 (2011).
3. Hattangadi, S. M., Wong, P., Zhang, L., Flygare, J. & Lodish, H. F. From stem cell to red cell: regulation of erythropoiesis at multiple levels by multiple proteins, RNAs, and chromatin modifications. *Blood* **118**, 6258–68 (2011).
4. Sytkowski, A. J. Does erythropoietin have a dark side? Epo signaling and cancer cells. *Science's STKE : signal transduction knowledge environment* **2007**, pe38 (2007).
5. Lowry, J. a & Mackay, J. P. GATA-1: one protein, many partners. *The international journal of biochemistry & cell biology* **38**, 6–11 (2006).
6. Rhodes, M. M., Kopsombut, P., Bondurant, M. C., Price, J. O. & Koury, M. J. Bcl-x(L) prevents apoptosis of late-stage erythroblasts but does not mediate the antiapoptotic effect of erythropoietin. *Blood* **106**, 1857–63 (2005).
7. Ingley, E., Tilbrook, P. a & Klinken, S. P. New insights into the regulation of erythroid cells. *IUBMB life* **56**, 177–84 (2004).
8. Welch, J. J. *et al.* Global regulation of erythroid gene expression by transcription factor GATA-1. *Blood* **104**, 3136–47 (2004).
9. Kitano, H. Systems biology: a brief overview. *Science (New York, N.Y.)*, **295**(5560), 1662–1664 (2002).
10. Bachmann, J. *et al.* Division of labor by dual feedback regulators controls JAK2/STAT5 dsignaling over broad ligand range. *Molecular Systems Biology* **7**, 1–15 (2011).
11. Palani, S. & Sarkar, C. a Positive receptor feedback during lineage commitment can generate ultrasensitivity to ligand and confer robustness to a bistable switch. *Biophysical journal* **95**, 1575–89 (2008).
12. Hoops, S., Sahle, S., Gauges, R., Lee, C., Pahle, J., Simus, N., Singhal, M., Xu, L., Mendes, P., and Kummer, U. COPASI–a COmplex PAthway SImulator. *Bioinformatics (Oxford, England)*, **22**(24), 3067–3074 (2006).
13. Lloyd, C., Halstead, M., and Nielsen, P. CellML: its future, present and past. *Progress in biophysics and molecularbiology*, **85**(2-3), 433–450 (2004).
14. Nelder, J. A. and Mead, R. (1965). A simplex method for function minimization. *The Computer Journal*, 7.