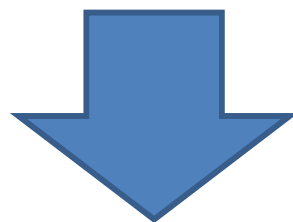


システム生物学入門

ダイナミクスを考える

- パスウェイ解析では生体分子の相互作用をネットワークとして表現し、その構造に基づいて解析を行った。

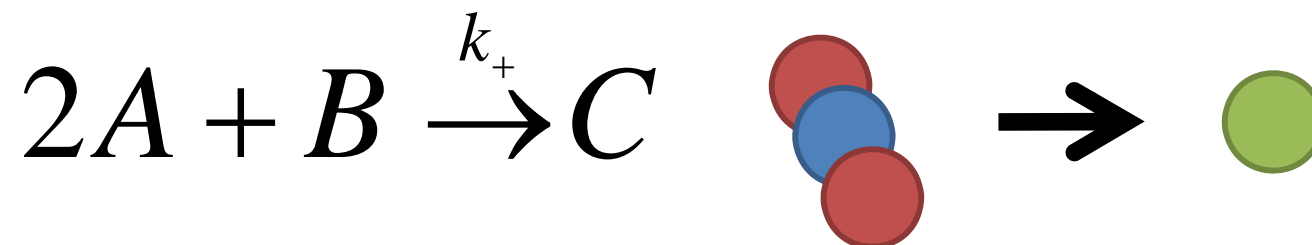


- このようにネットワークで表現されるシステムのダイナミクス（e.g. 生体内での生体分子の濃度変化）を理解する。

化学反応速度論

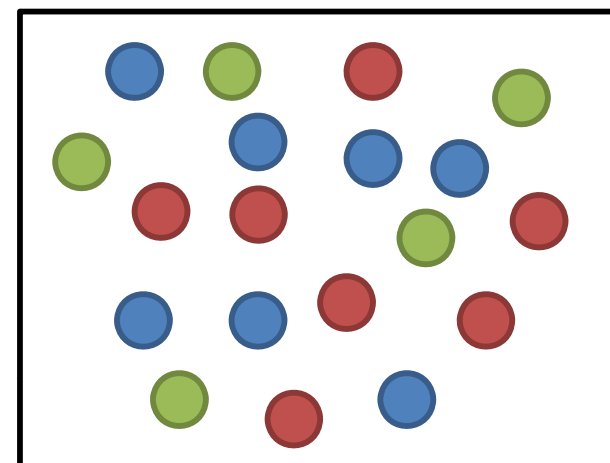
- 質量作用の法則

- 適切な濃度で系が充分均一であることを仮定



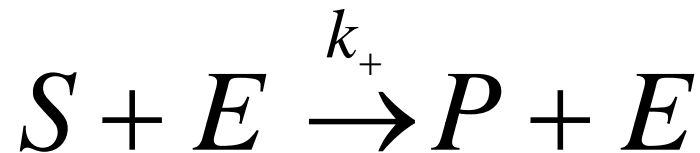
化合物Cの生成速度は微分方程式で記述される

$$\frac{d}{dt}[C] = k_+[A]^2[B]$$



酵素反応

- 酵素Eによって基質Sから生成物Pが生成されることを考える。



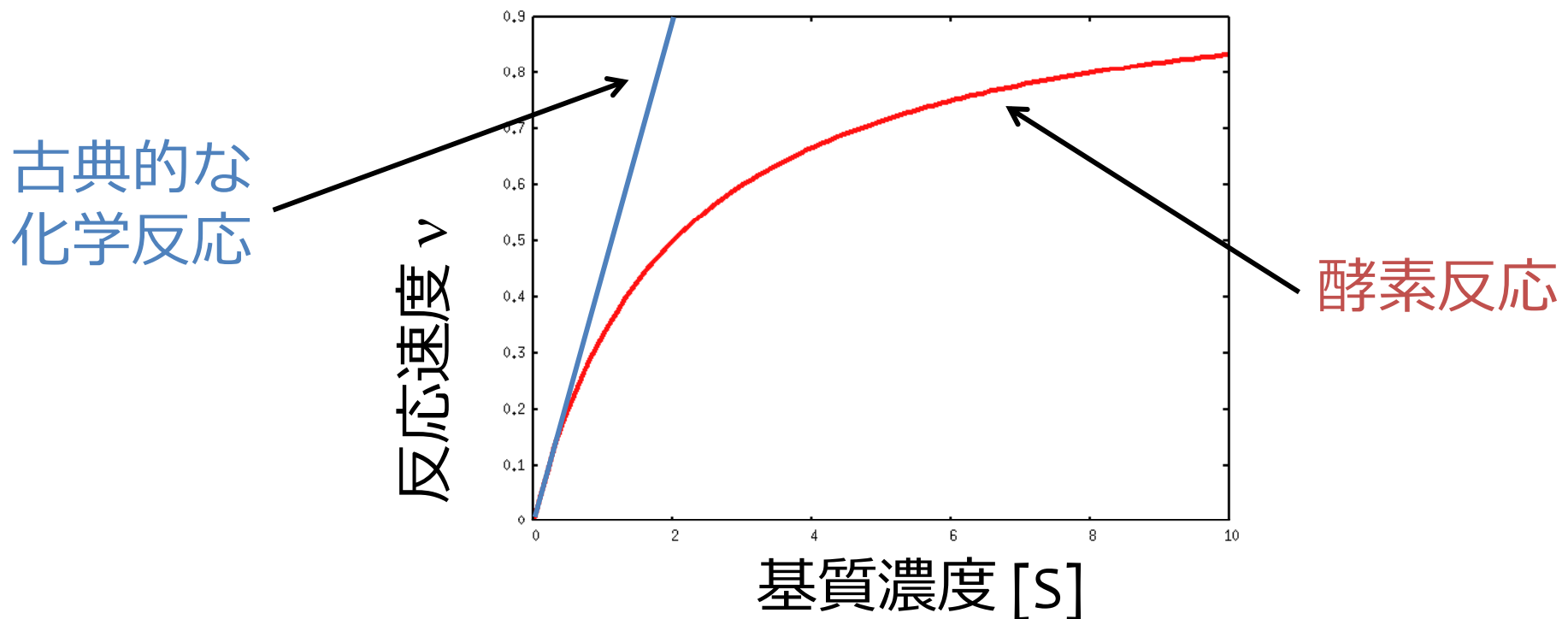
酵素濃度が一定なら

$$\frac{d}{dt}[P] \propto [S]$$

- これでいい? → ダメ
- 反応速度($d[P]/dt$)は基質濃度 $[S]$ の増加とともに頭打ちになる。
 - 基質濃度に比例しない。

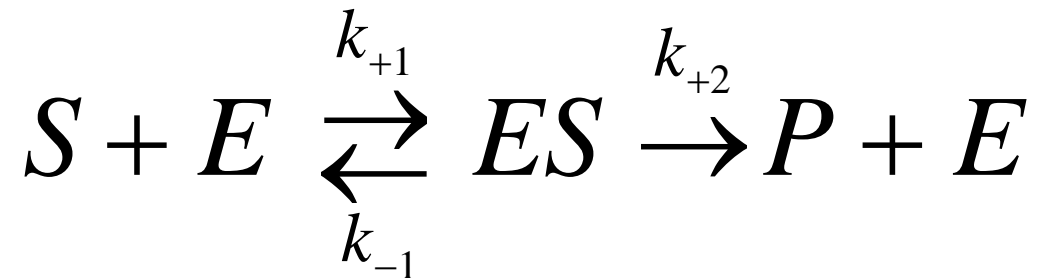
酵素反応の特徴

- 基質濃度[S]が一定のときは[E]に比例
- 基質濃度[S]が低い時は[S]に比例
- 基質濃度[S]が高い場合は一定



ミカエリス・メンテン(MM)モデル

- 反応中間体ESを考慮



- 迅速平衡法での導出

- これは多段階反応

- $ES \Rightarrow P + E$ を反応の律速段階と考える。

- $S + E \rightleftharpoons ES$ の速度は $d[P]/dt$ に影響しないと考える

- 迅速に平衡状態に達していると考ええる。

$$\frac{d}{dt}[P] = k_{+2}[ES]$$



迅速平衡法による導出

- $S + E \xrightleftharpoons[k_{-1}]{k_{+1}} ES$ は平衡状態なので

$$k_{+1}[S][E] = k_{-1}[ES] \quad \text{これより} \quad \frac{k_{-1}}{k_{+1}} = \frac{[S][E]}{[ES]} = K_S \quad \text{解離定数}$$

また $[E] + [ES] = [E]_0$ なので $[E]_0$: 酵素の初期濃度

$$[ES] = \frac{[E]_0[S]}{K_S + [S]}$$

$$\text{つまり} \quad \frac{d}{dt}[P] = k_{+2}[ES] = \frac{k_{+2}[E]_0[S]}{K_S + [S]} = \frac{V_{\max}[S]}{K_S + [S]}$$

ミカエリス・メンテン式

定常状態法による導出

- 多段階反応を考慮する。 $S + E \xrightleftharpoons[k_{-1}]{k_{+1}} ES \xrightarrow{k_{+2}} P + E$
- ただ、酵素種濃度([E]と[ES])の時間変化はない(定常状態にある)と考える。

$$\frac{d}{dt}[E] = (k_{-1} + k_{+2})[ES] - k_{+1}[E][S] = 0$$

$$\frac{d}{dt}[ES] = k_{+1}[S][E] - (k_{-1} + k_{+2})[ES] = 0$$

また $[E] + [ES] = [E]_0$

$$[ES] = \frac{[E]_0[S]}{K_m + [S]}$$

ここで $K_m = \frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}}$

$$\text{これより } \frac{d}{dt}[P] = k_{+2}[ES] = \frac{k_{+2}[E]_0[S]}{K_m + [S]} = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]}$$

ミカエリス・メンテン式

ふたつのモデルの比較

- 式の形は同じだがミカエリス定数の意味が異なる。

$$\frac{d}{dt}[P] = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]}$$

迅速平衡法の場合

$$K_m = \frac{k_{-1}}{k_{+1}}$$

定常状態法の場合

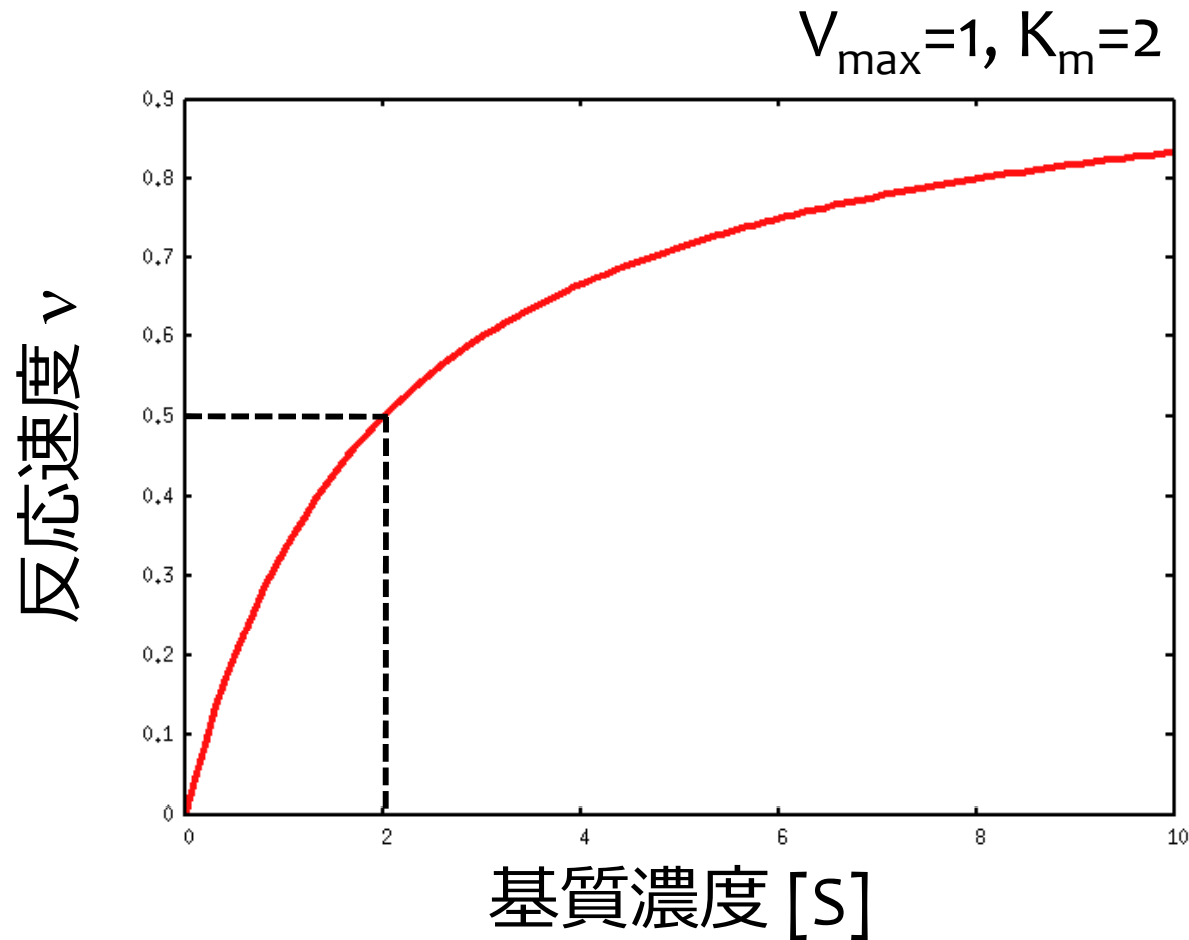
$$K_m = \frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}}$$

定常状態法由来のモデルの特別な場合

($k_{+2} \ll k_{-1}, k_{+1}$) が迅速平衡法由来のモデル

- 定常状態法由来のモデルが一般的

ミカエリス・メンテン(MM)式



$$v = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

K_m : 最大速度 V_{\max} の
半分の速度を与える
基質濃度

基質 S と酵素 E の
解離の程度

実験データからの V_{\max} と K_m の推定

ラインウィーバー-バークプロット

$$v = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]} \Leftrightarrow \frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}} \quad \text{なので}$$

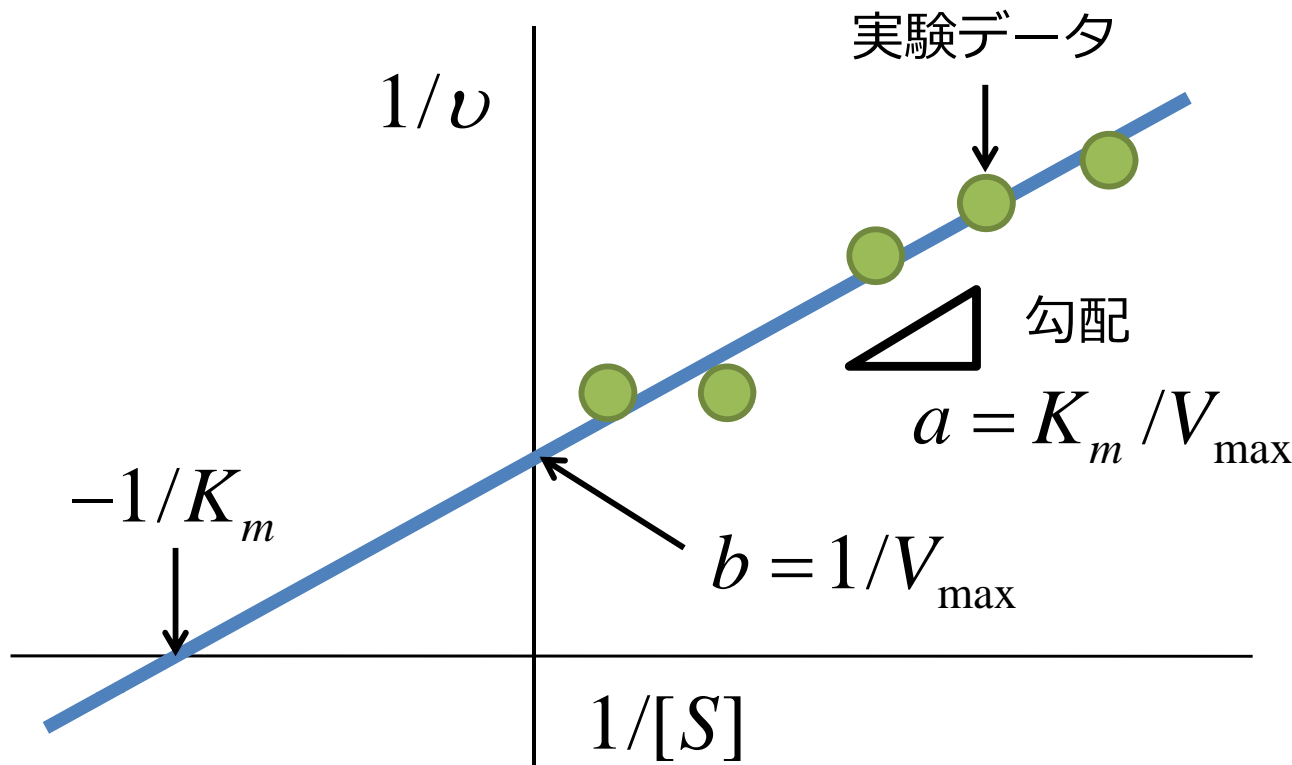
$$x = 1/[S], \quad y = 1/v$$

他にもプロットの方法は幾つかある

として、最小二乗法等で

$$y = ax + b$$

を求める。



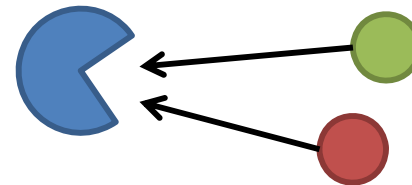
欠点：
逆数を使うので $[S]$ が小さい時の誤差が推定の結果に強く影響する。

阻害の効果

- 酵素反応には何からの形で阻害が影響

- 競合阻害

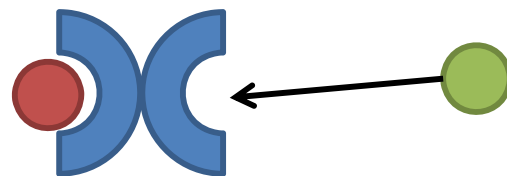
- 異なる分子が酵素の同じ活性部位を奪い合う。



K_m が上がる
 V_{max} は変わらない

- 非競合阻害

- ある分子が反応を遅くする。異なる活性部位に結合するが、結果的もう片方の反応の邪魔をする。



K_m は変わらない
 V_{max} が下がる

他にも、基質阻害や不競争阻害などがある。

Hillの式

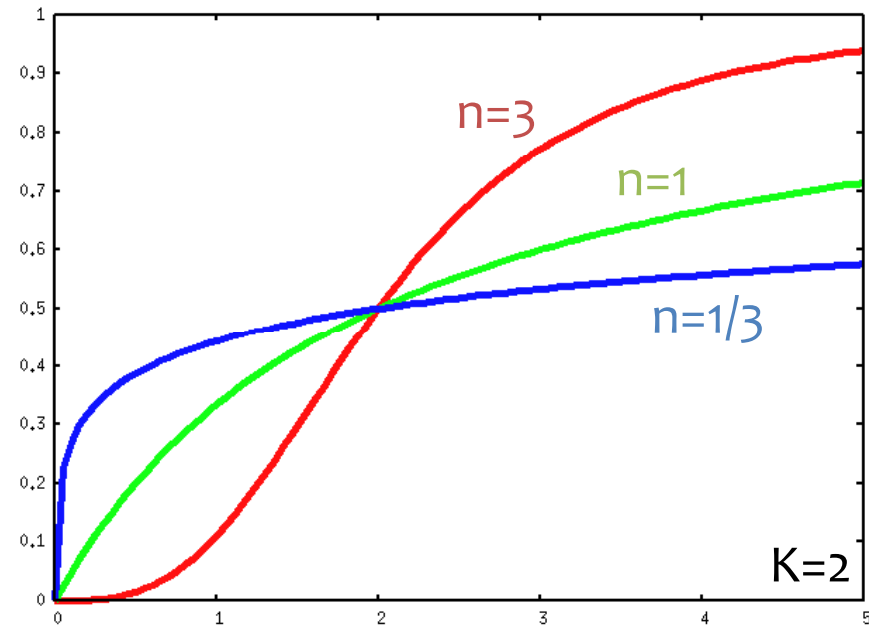
- 基質と酵素の結合が独立でない場合に見られる経験則

$$v = \frac{[S]^n}{K^n + [S]^n}$$

n=1: ミカエリス・メンテン式

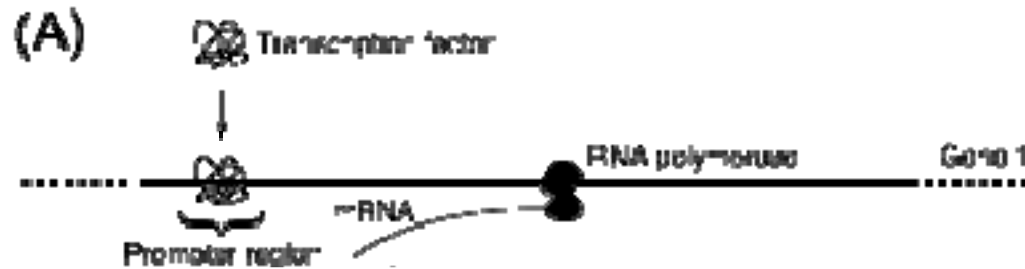
n>1: 基質の結合に伴い、
結合が促進される。

n<1: 基質の結合に伴い、
結合が抑制される。



元々は酵素反応ではなく結合タンパク質（ヘモグロビン）で見出された関係

遺伝子発現への応用



遺伝子発現の考え方は
酵素反応と似ている

酵素反応	遺伝子発現
基質	転写因子
酵素	遺伝子（プロモータ）
生成物	mRNA

従って、ミカエリス・メンテン式や Hill の式も使える。

活性因子と抑制因子

- 活性因子

- 結合によって発現が促進される。

- 抑制因子

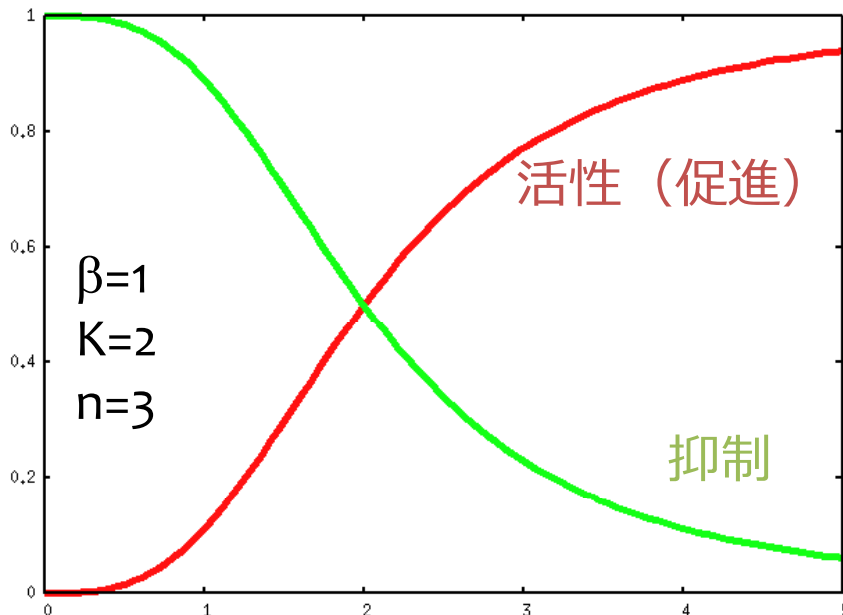
- 結合によって発現が抑制される。

最大発現レベル

$$f(X) = \frac{\beta X^n}{K^n + X^n}$$

↑
活性化係数
転写因子とプロモータの
親和性とも関係

$$f(X) = \frac{\beta}{1 + (X/K)^n}$$

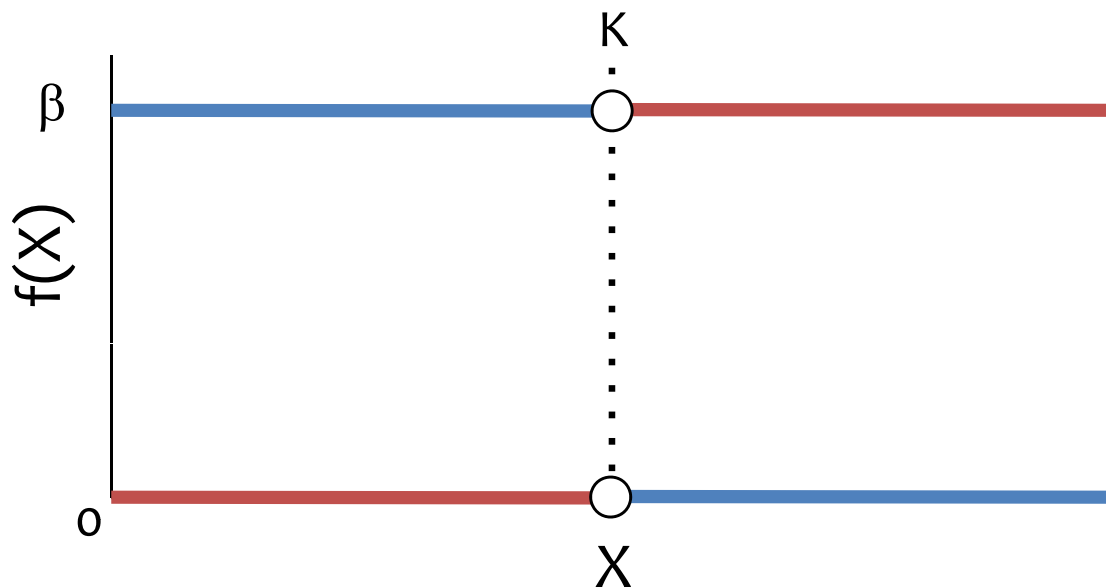


論理近似

- 単純化のためステップ関数を使用する。

$$f(X) = \beta \times \theta(X > K) \quad \text{活性因子の場合}$$

$$f(X) = \beta \times \theta(X < K) \quad \text{抑制因子の場合}$$



$n \rightarrow \infty$ の時の

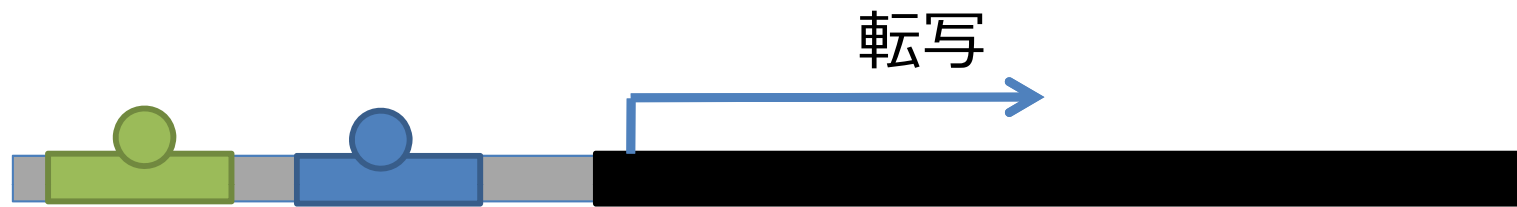
$$f(X) = \frac{\beta X^n}{K^n + X^n} \quad \text{と対応}$$

$n \rightarrow \infty$ の時の

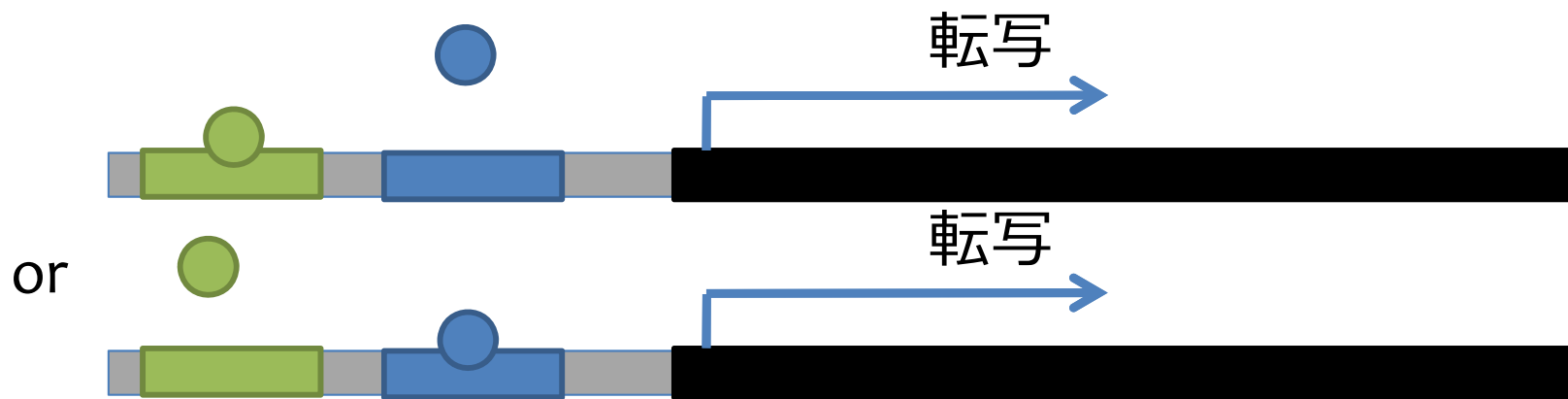
$$f(X) = \frac{\beta}{1 + (X/K)^n} \quad \text{と対応}$$

複数の転写因子による制御

- 論理近似を用いると簡単に表現できる。



$$f(X, Y) = \beta \times \theta(X > K_x) \times \theta(Y > K_y)$$



$$f(X, Y) = \beta \times \theta(X > K_x \text{ or } Y > K_y)$$

ブーリアンネットワーク

- 論理ゲートを用いた転写のモデル

転写因子（入力）

発現（出力）

0: ない

A



0: しない

1: する

1: ある

B

C

OR

A	B	C
0	0	0
1	0	1
0	1	1
1	1	1

AND

A	B	C
0	0	0
1	0	0
0	1	0
1	1	1

遺伝子制御のダイナミクス (1)

- 転写因子Xに制御される遺伝子Yを考える
– $X \rightarrow Y$
- $f(X)$ で表現されるYの産出に加えて、**分解**と**希釈**を考える。

$$\frac{d}{dt}Y = f(X) - \underbrace{(\alpha_{\text{dil}} + \alpha_{\text{deg}})}_{\alpha} Y$$

遺伝子制御のダイナミクス (2)

- 活性因子を考える

$$f(X) = \frac{\beta X^n}{K^n + X^n} \quad \xrightarrow{\text{論理近似}} \quad f(X) = \beta \times \theta(X > K)$$

- $X > K$ の場合 $\frac{d}{dt}Y = \beta - \alpha Y$
- 定常状態($dY/dt=0$)における Y の濃度は β/α
 - 産出速度 β が大きい程、定常状態での Y の濃度は高くなる。

応答時間

- 初期濃度と最終濃度の中間に到達するまでにかかる時間
 - シグナルに対する応答（性能）を評価できる。

- 例えば

$$\frac{d}{dt}Y = \beta - \alpha Y \quad \xrightarrow{\substack{Y \text{ について} \\ \text{解くと}}} \quad Y = \frac{\beta}{\alpha} [1 - \exp(-\alpha t)]$$

定常状態濃度

$\beta/[2\alpha]$ となるような t が応答時間なので

$$t_{1/2} = \ln(2) / \alpha$$

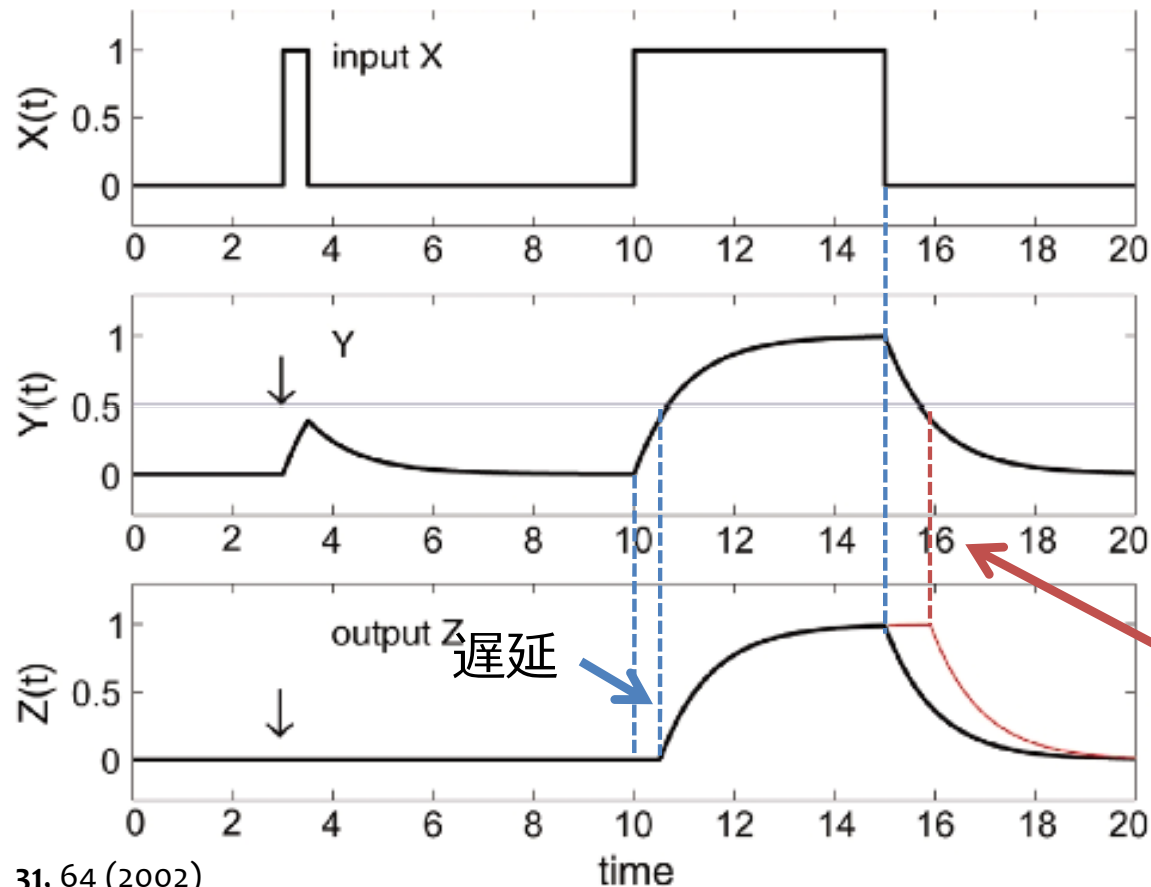
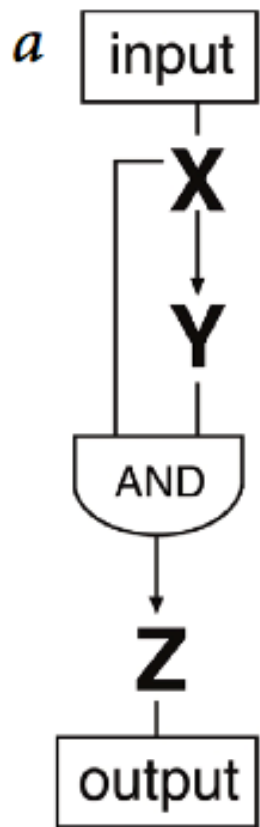
単純な場合、応答時間は希釈・分解速度に依存する。

複雑な場合への応用

天然の遺伝子ネットワークに見られる構造
パタンのダイナミクス

$$dY/dt = \beta_y \theta(X > K_{xy}) - \alpha_y Y$$

$$dZ/dt = \beta_z \theta(X > K_{xz}) \theta(Y > K_{yz}) - \alpha_z Z$$



$$\beta_y = \beta_z = \alpha_y = \alpha_z = 1$$

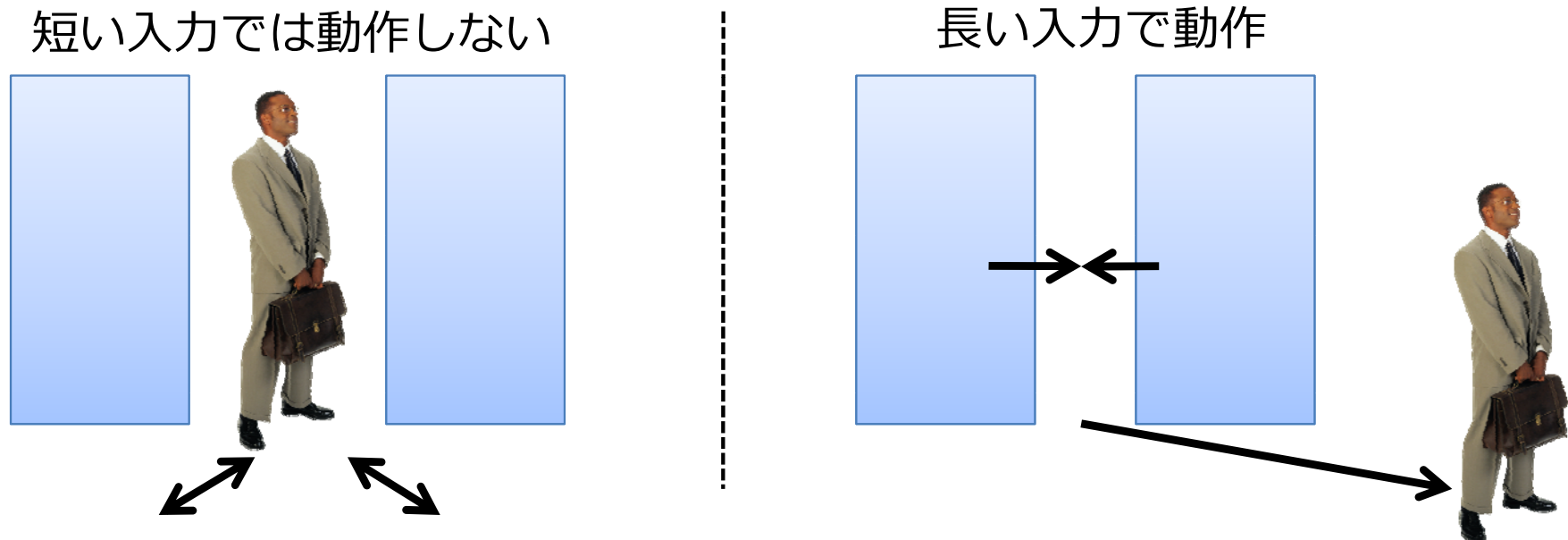
$$K_{xy} = K_{xz} = 0$$

$$K_{yz} = 0.5$$

ORの場合
遅延する

構造パターンが選択される意味

- 感知性の遅延は保護機能の役割を果たす。
 - 例えば自動ドア



細胞は「ゆらぎ」が多く、まれに適切でない入力
が与えられる。FFLはこのような「ゆらぎ」に対
して、適切に応答する機能を提供する。

ロバスト性（ロバストネス）

- 不確定な変動（外乱）に対して、システム
の特性が維持される状態にあること
 - 例：外乱に対して、出力が発散しない。
- 生体内ではゆらぎが大きいため、これを
制御する機構が必要となる。
 - ロバスト制御

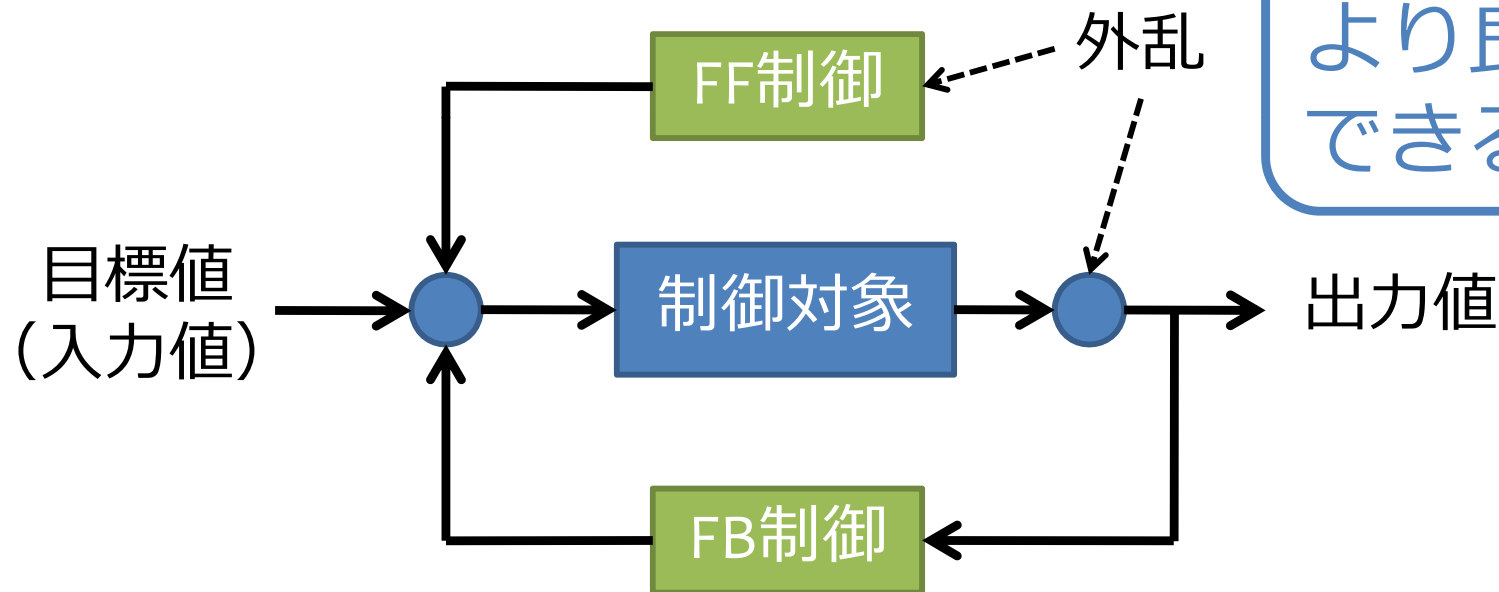
フィードバック制御

フィードフォワード制御

前もって、外乱の影響をなくすように制御する

利点：迅速に制御できる

欠点：制御が難しい



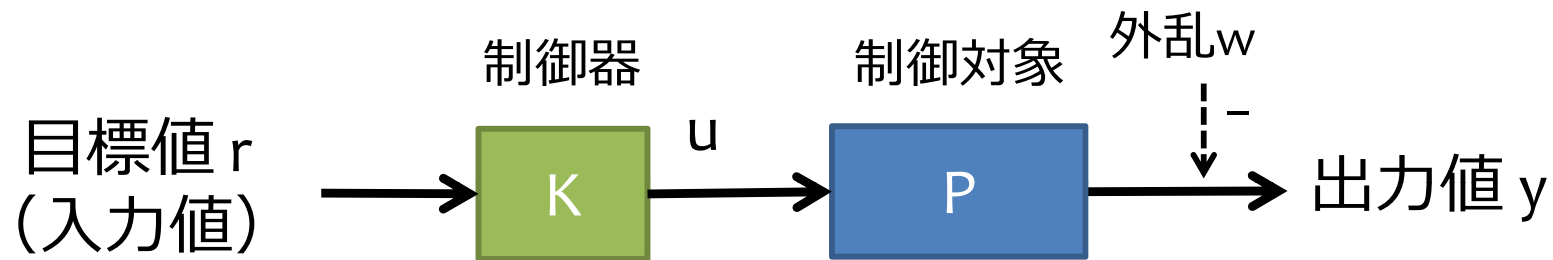
組み合わせで
より良く制御
できる

出力値を見てから、外乱の影響をなくすように制御する。

利点：制御が比較的簡単

欠点：出力を感知してからでないと修正できない。

フィードフォワード：簡単な例

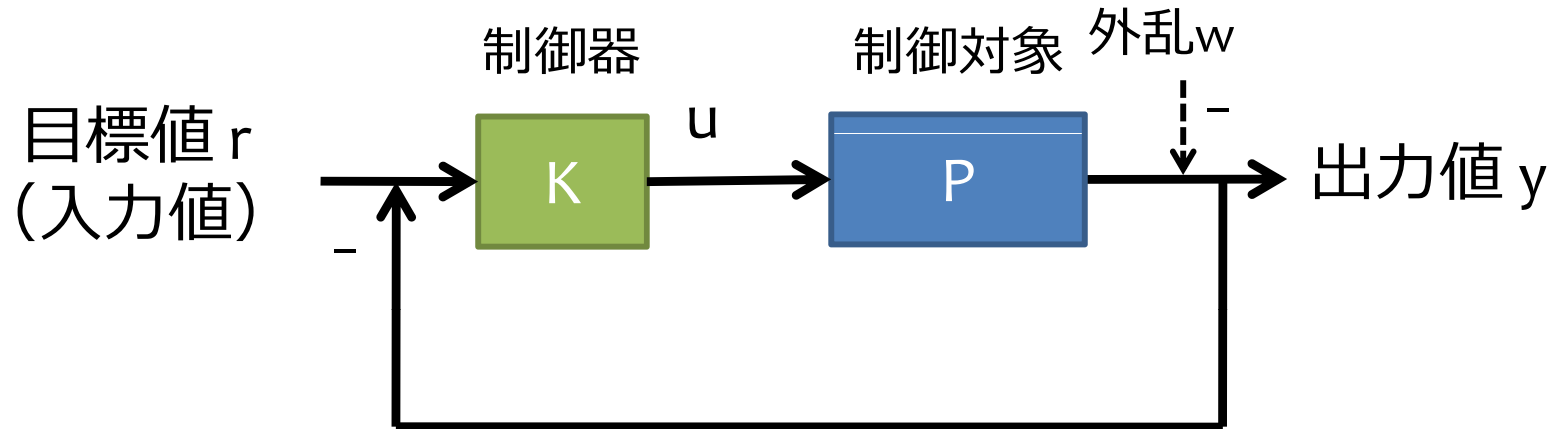


$$u = Kr$$

$$y = Pu - w = PKr - w$$

目標値と出力値を一致させることを考えると外乱による影響を強く受ける。

フィードバック：簡単な例



$$u = K(r - y)$$

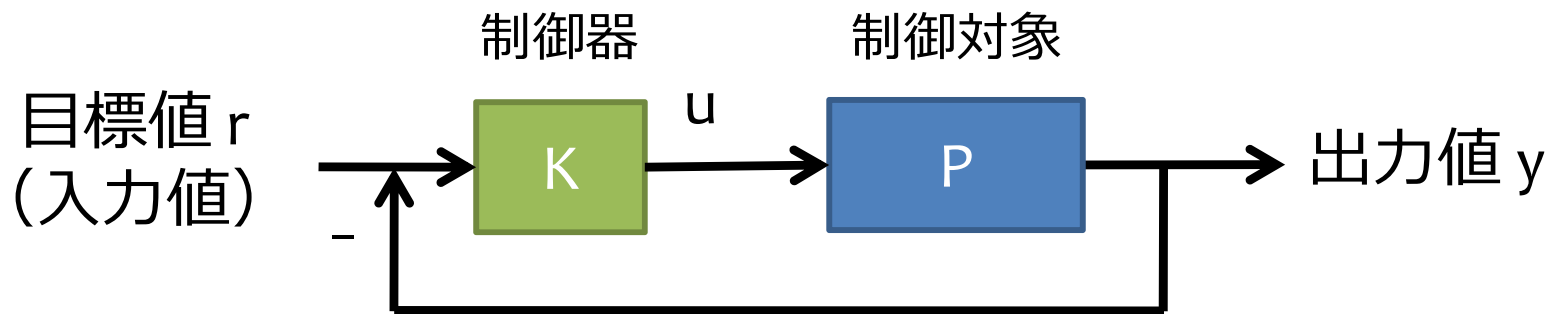
$$y = Pu - w = PK(r - y) - w$$

書き直すと

$$y = \frac{PK}{1 + PK} r - \frac{1}{1 + PK} w$$

$K \gg 1$ ならば $y=r$ で、外乱の影響を小さくできる。

ロバスト性の評価：感度解析



$$r \rightarrow y \text{ の伝達関数 } T := \frac{y}{r} = \frac{PK}{1+PK}$$

P が P^* に変化し、それに伴い T が T^* に変化することを考える。
その変化に対する（相対）感度は以下のように定義される。

$$S = \frac{\Delta T}{\Delta P} \quad \Delta T = \frac{T - T^*}{T^*}, \quad \Delta P = \frac{P - P^*}{P^*}$$

小さくなれば好ましい（=ロバスト）。

感度解析

フィードフォワードの場合

$$\Delta T = \frac{PK - P^*K}{P^*K} = \frac{(P - P^*)}{P^*} = \Delta P \quad S = \frac{\Delta T}{\Delta P} = 1$$

Pの変化がTに反映される

フィードバックの場合

$$\Delta T = \frac{\frac{PK}{1+PK} - \frac{P^*K}{1+P^*K}}{\frac{P^*K}{1+P^*K}} = \frac{(P - P^*)}{P^*(1+PK)} = \Delta P$$



$$S = \frac{\Delta T}{\Delta P} = \frac{1}{1+PK}$$

$K \gg 1$ でフィードフォワードより
小さい感度

固有値によるロバスト性 (安定性) の評価 (1)

- 安定：「収束」すること（一定でなく）

－例えば

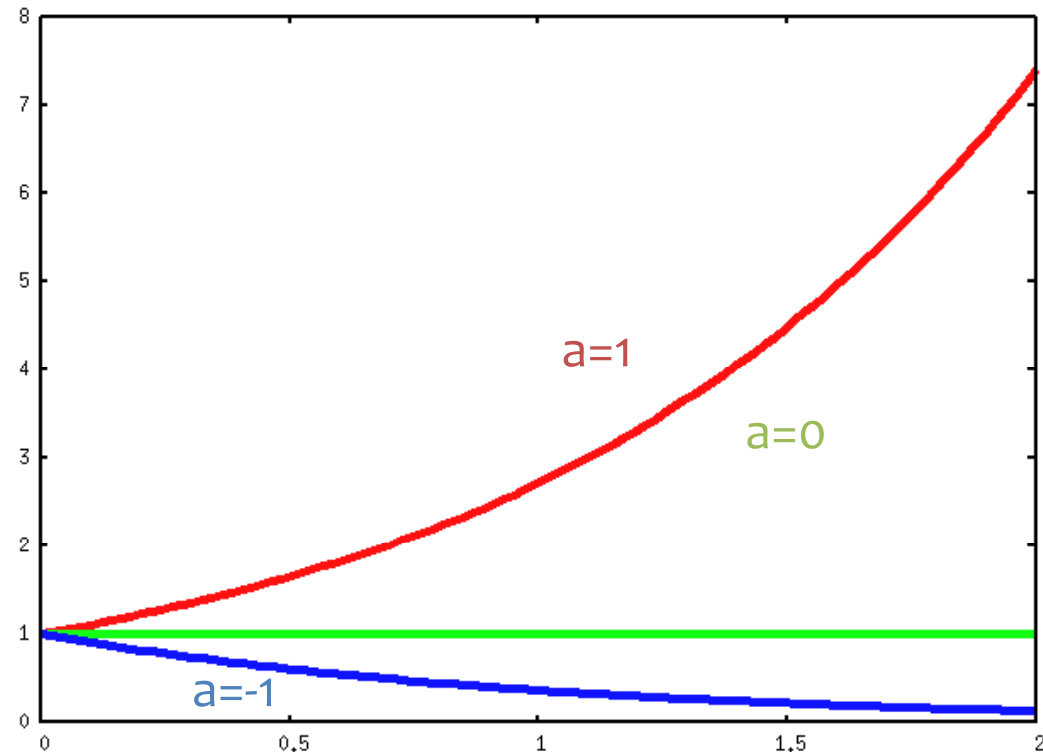
$$\frac{d}{dt} f(t) = a \times f(t)$$

つまり

$$f(t) = \exp(at)$$

$a > 0$: 不安定

$a < 0$: 安定



つまり、 a が系の安定性を特徴づける。

固有値によるロバスト性 (安定性) の評価 (2)

$$\frac{d}{dt} \mathbf{x}(t) = \mathbf{A} \mathbf{x}(t) \quad \text{これを解くと} \quad \mathbf{x}(t) = \mathbf{x}(0) \exp[\mathbf{A}t]$$

Aの固有ベクトル

Aの固有値

対角変換
行列

$$\mathbf{x}(t) = \mathbf{u}_1 z_1(0) \exp(\lambda_1 t) + \mathbf{u}_2 z_2(0) \exp(\lambda_2 t) + \dots + \mathbf{u}_n z_n(0) \exp(\lambda_n t)$$

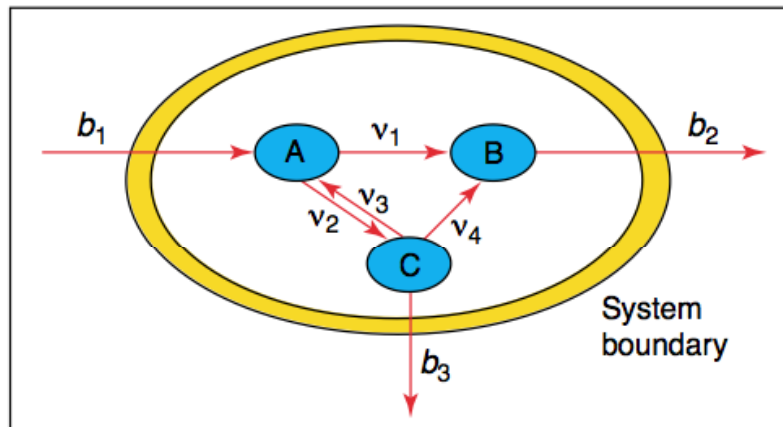
$$\begin{pmatrix} z_1(0) \\ z_2(0) \\ \vdots \\ z_n(0) \end{pmatrix} = \mathbf{x}(0) \mathbf{T}^{-1}$$

系が漸近安定であるための必要十分条件は \mathbf{A} のすべての固有値 λ_i の実部が負であること

代謝流束解析 (1)

- 定常状態における($S \cdot V = 0$)、代謝物の生成量と分解量のバランスを考える

Curr Opin Biotech 14, 491 (2003)



$$\begin{aligned} \frac{dA}{dt} &= -v_1 - v_2 + v_3 + b_1 \\ \frac{dB}{dt} &= v_1 + v_4 - b_2 \\ \frac{dC}{dt} &= v_2 - v_3 - v_4 - b_3 \end{aligned}$$

$$\begin{bmatrix} \frac{dA}{dt} \\ \frac{dB}{dt} \\ \frac{dC}{dt} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -1 & -1 & 1 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 1 & 0 & -1 & 0 \\ 0 & 1 & -1 & -1 & 0 & 0 & -1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} v_1 \\ v_2 \\ v_3 \\ v_4 \\ b_1 \\ b_2 \\ b_3 \end{bmatrix}$$

$\longleftarrow S \longrightarrow$

$\uparrow V \downarrow$

単位はモル数/体積/時間、もしくはモル数/重量/時間

$$-v_1 - v_2 + v_3 + b_1 = 0$$

$$v_1 + v_4 - b_2 = 0$$

$$v_2 - v_3 - v_4 - b_3 = 0$$

一次の連立微分方程式を解くことに対応するが、**解けない、もしくは解が一意に決定されない**場合が大半。

代謝流束解析 (2)

- 拘束条件を加える。

$$v_i^{\min} \leq v_i \leq v_i^{\max}$$

$$v_k = v_k^{\text{obs}} \quad k \in \{\text{実験的に計測された流束}\}$$

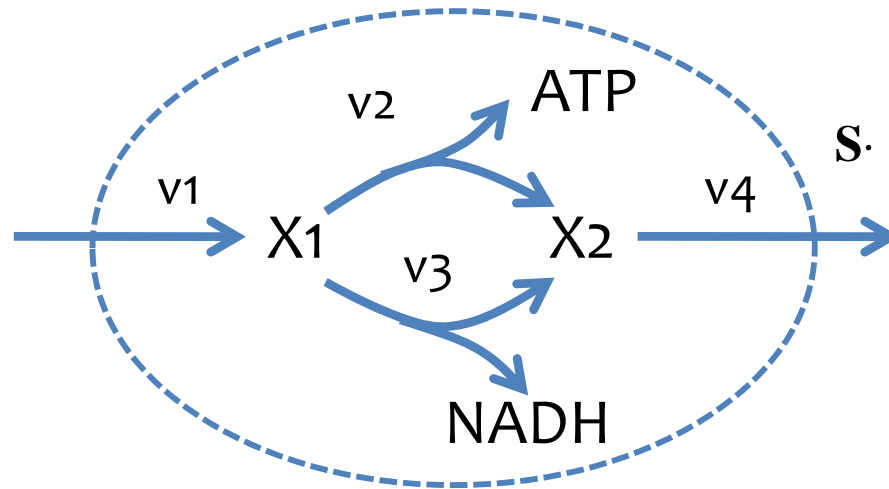
- 目的関数を与える。
 - 例：ある反応の速度を最大化させたい。
- 線形計画問題と対応
 - 古典的な問題でありアルゴリズムも豊富
 - MATLABなどで簡単に計算できる。
 - 多くの最適解が得られる場合も多い。
 - 制約の与え方が鍵になる。

代謝流束解析：簡単な例

制約：

$$v_2 \geq 0, v_3 \geq 0$$

$$v_1 = v_4 = \text{定数}$$

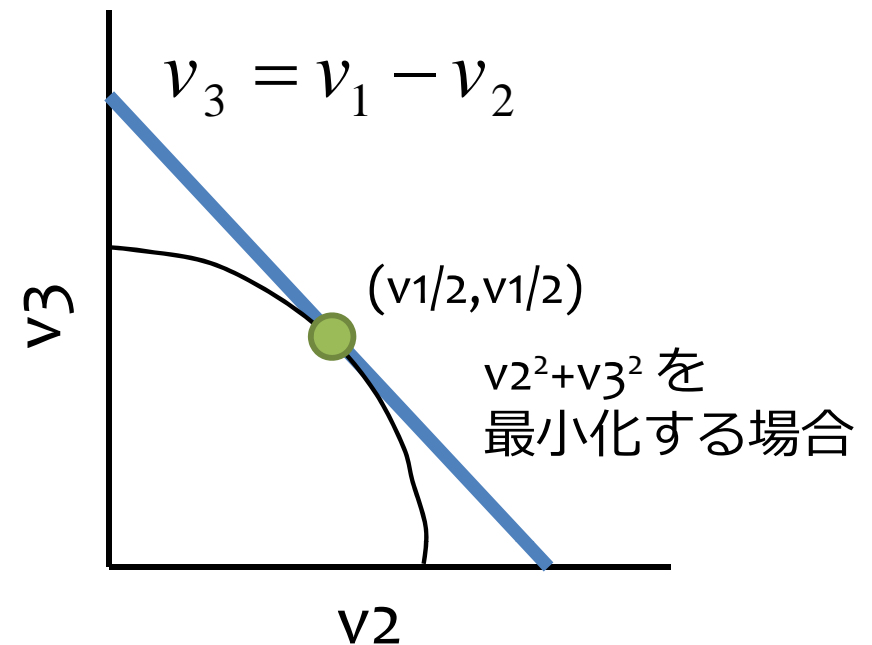
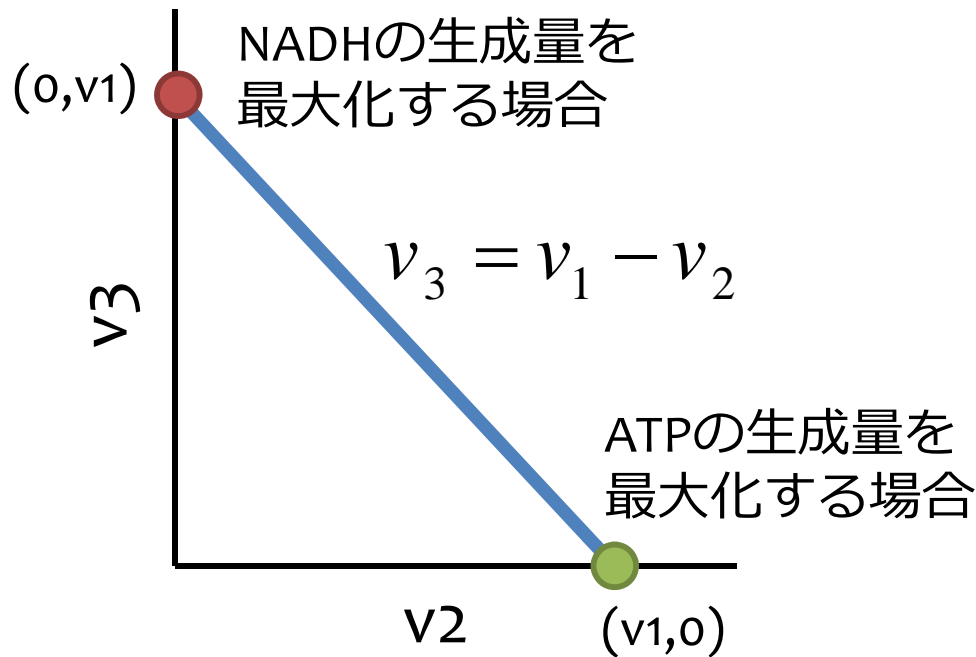


$$S \cdot v = \begin{pmatrix} -1 & -1 & 1 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & -1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} v_2 \\ v_3 \\ v_1 \\ v_4 \end{pmatrix} = 0$$



$$v_1 = v_4 = v_2 + v_3$$

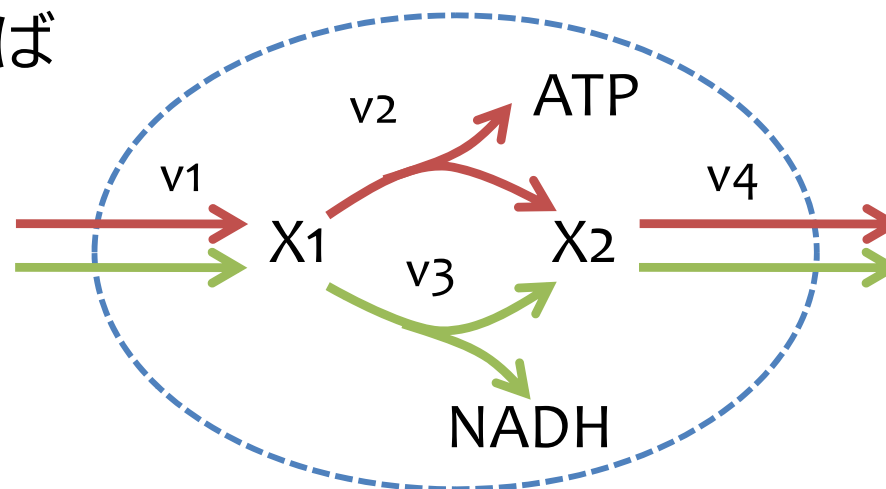
解は一意に決まらない



基準モード (Elementary mode)

- 定常状態 ($S \cdot v = 0$) における代謝流束を構成する不可逆過程の酵素群からなる最小の経路
 - すべてのこの定常状態はこの最小経路の重ね合わせで表現できる。
 - すべての要素が非負である零空間の基底ベクトルに対応する。
 - J Phys Chem B **108**, 2425 (2004)


例えば



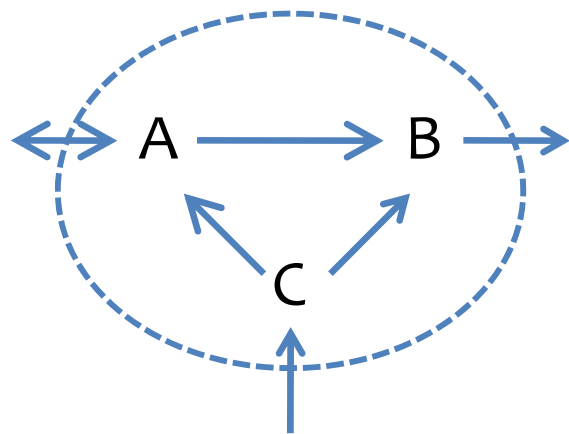
極値パスウェイ

- 基準モードはネットワークの規模が大きくなれば増えるので、独立なものだけに注目する。

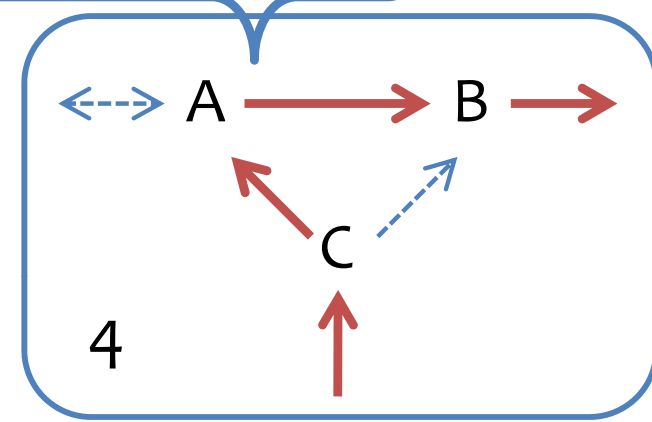
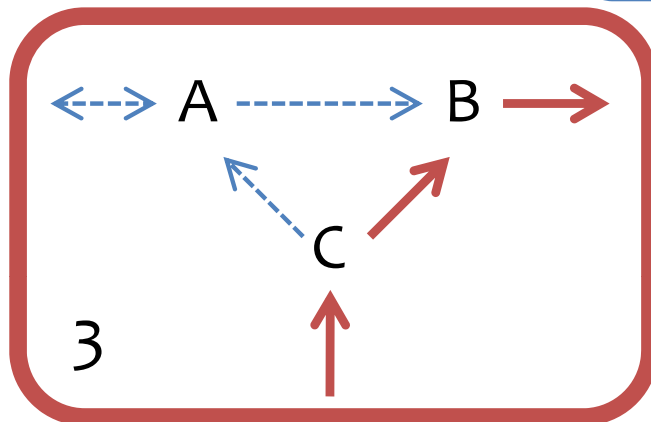
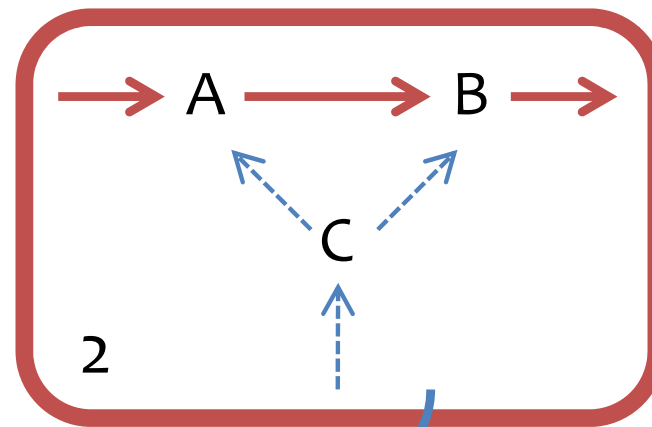
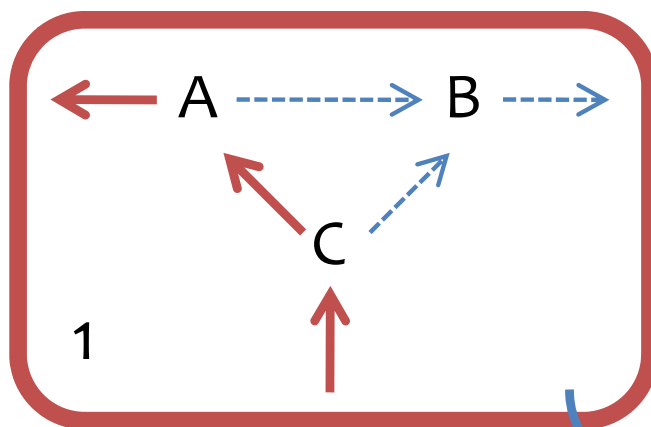
– 非負係数の線形結合で表現できないもの

 極値パスウェイ

代謝ネットワーク



経路4は経路1と経路2の重ね合わせなので極値パスウェイではない。



化学量論的代謝解析の利点

- 基準モードや極値パスウェイが多いということは頑健であることを示唆
 - 定常状態の維持において
- 基準モードや極値パスウェイにおいて共通の反応は重要であると推測される。
 - 重要な反応を見つけるのに役立つ
- どの基準モードや極値パスウェイに含まれない反応は誤りである可能性が高い。

生化学システム理論 (1)

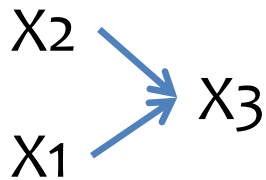
- 個々の反応機構の詳細に踏み込まず、化学種の生成と分解をベキ乗則で表現

- Sシステム

相互作用

$$\frac{d}{dt} X_i = \underbrace{\alpha_i \prod_j X_j^{g_{ij}}}_{\text{生成}} - \underbrace{\beta_i \prod_k X_k^{h_{ik}}}_{\text{分解}}$$

例えば

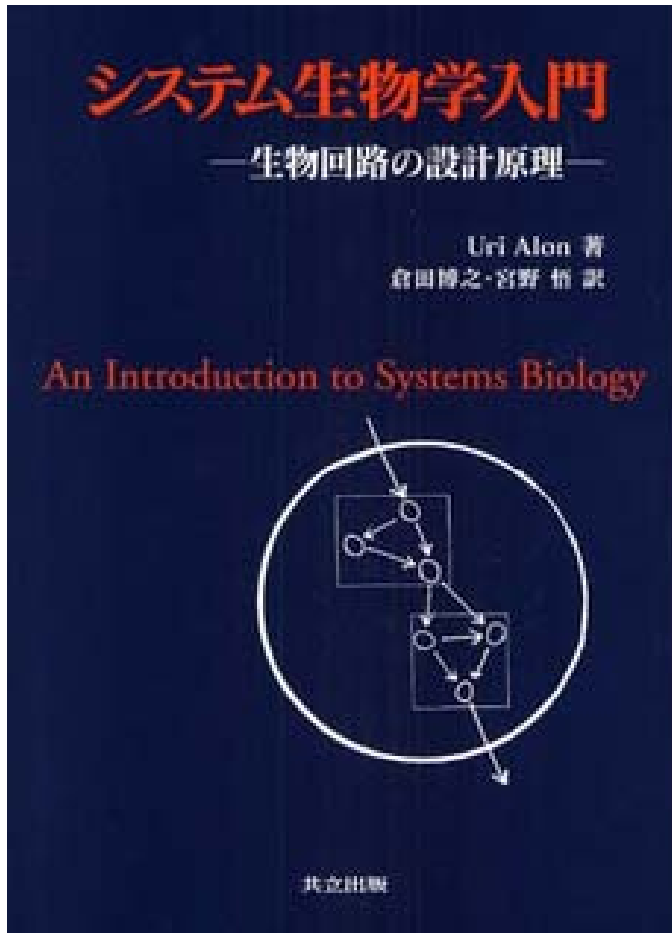


$$\frac{d}{dt} X_3 = \alpha_1 X_1^{g_{31}} X_2^{g_{32}}, \quad \frac{d}{dt} X_1 = -\beta_1 X_3^{h_{13}}, \quad \frac{d}{dt} X_2 = -\beta_2 X_3^{h_{23}}$$

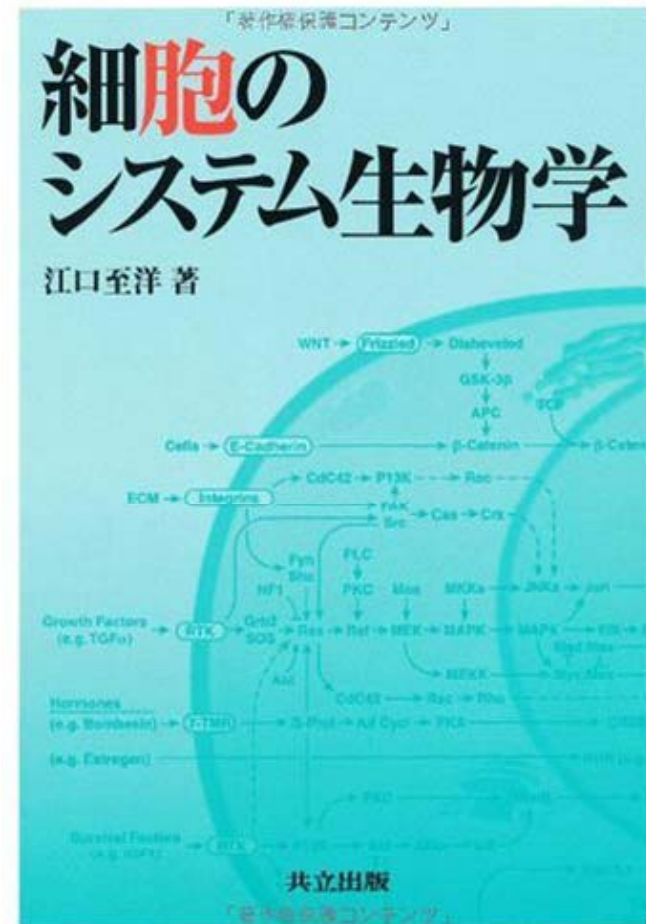
生化学システム理論（2）

- 化学種濃度の時系列データがあれば、各パラメータは原理的には求めることができる。
 - 非線形最適化問題
 - ネットワークの推定にも使える。
 - g_{ij} や h_{ij} はネットワーク構造を反映しているため
- 比較的パラメータ数も少なく、広い範囲で反応ネットワークの挙動を解析できる。

参考資料



Uri Alon (著)
倉田博之、宮野悟 (訳)
共立出版 (2008年)



江口至洋 (著)
共立出版 (2008年)