

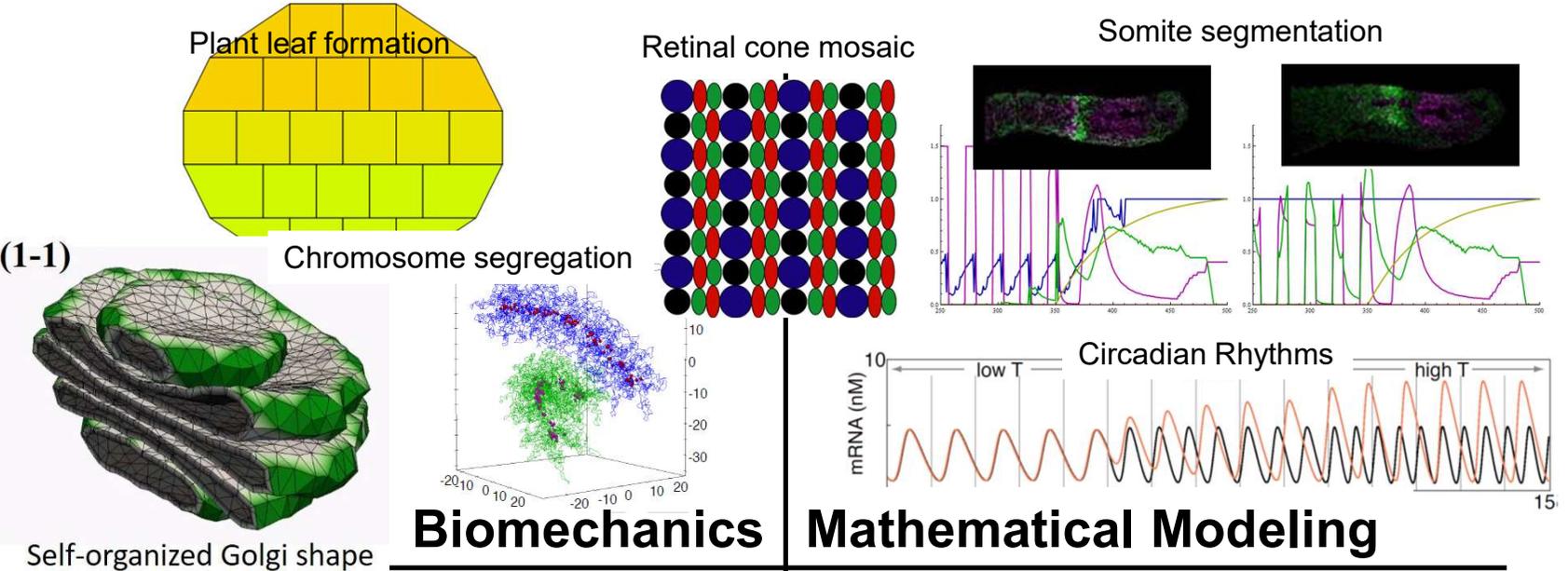
# 生命システムの振る舞いを ネットワークの形だけから決定する

望月 敦史

京都大学 医生物学研究所

[mochi@infront.kyoto-u.ac.jp](mailto:mochi@infront.kyoto-u.ac.jp)

# Research activity of Theoretical Biology Laboratory

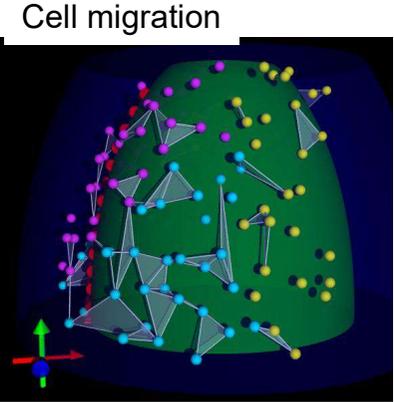
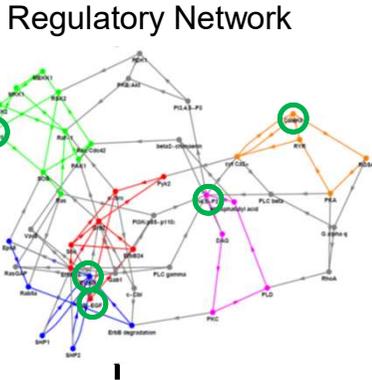
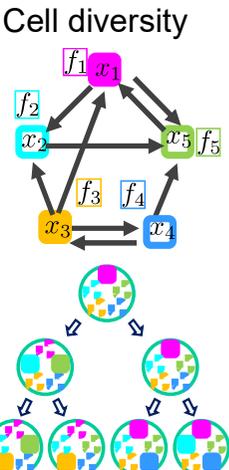
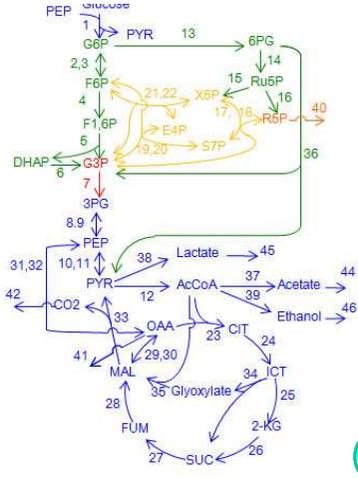


**Biomechanics**

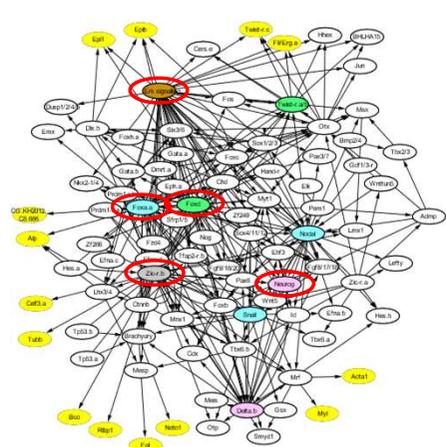
**Mathematical Modeling**

Reaction Network **Network Theories**

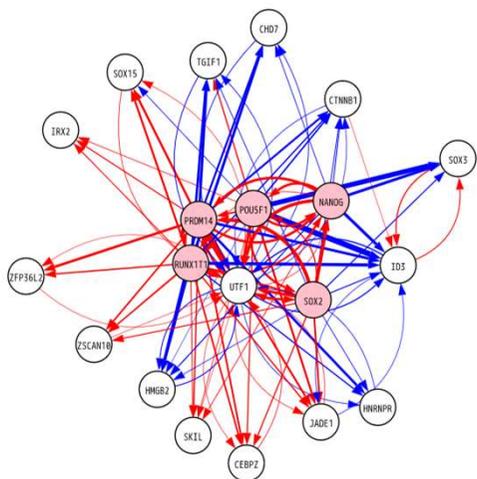
**Data Analysis**



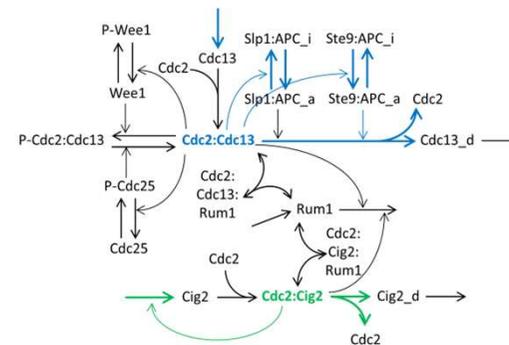
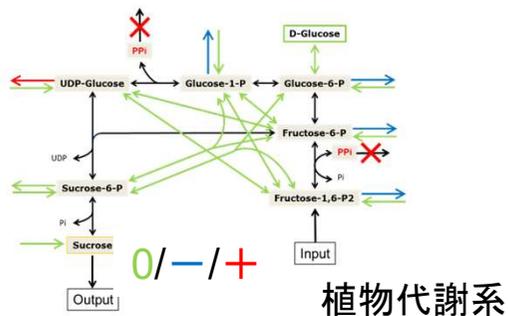
# ネットワークシステムのダイナミクス



ホヤ遺伝子ネットワーク

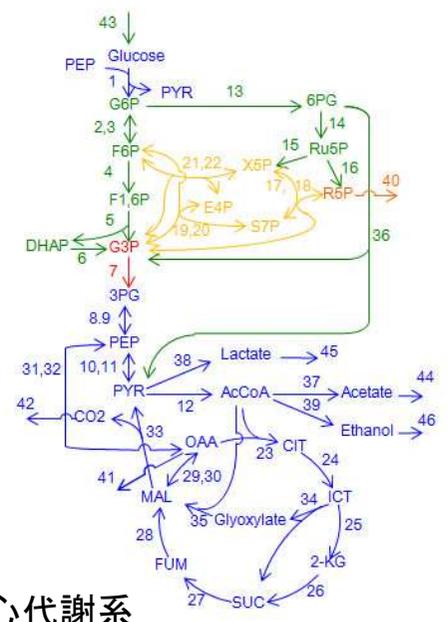
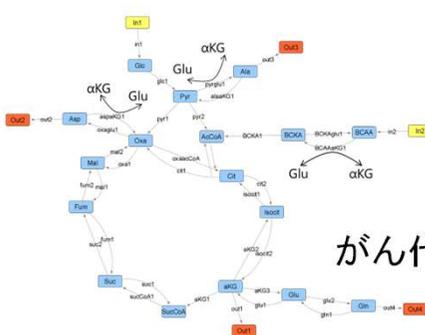


ヒト初期発生遺伝子ネットワーク



**構造理論**

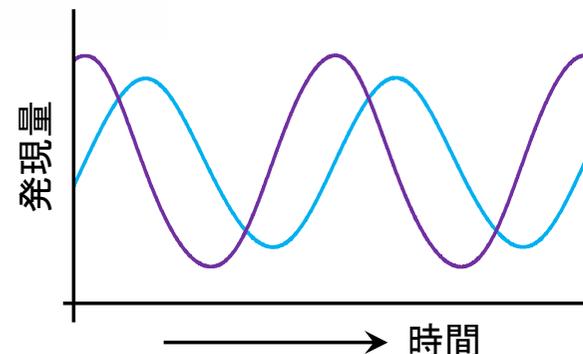
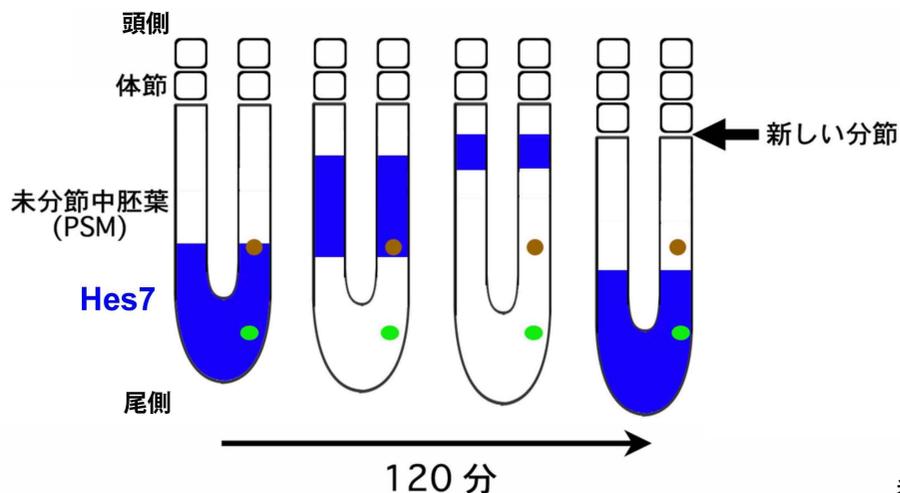
- (1) リンケージロジック  
調節ネットワーク → 重要な分子
- (2) 構造感度解析  
反応ネットワーク → 酵素による調節
- (3) 構造分岐解析  
反応ネットワーク → 酵素による変調



構造と振る舞いを直接結び付ける理論により、生命システムを合理的に理解

# 遺伝子活性のダイナミクスから、生命機能が生まれる

影山龍一郎(京都大学ウイルス再生研)



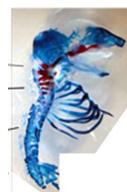
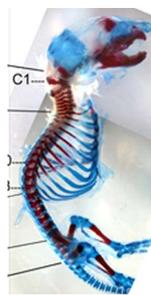
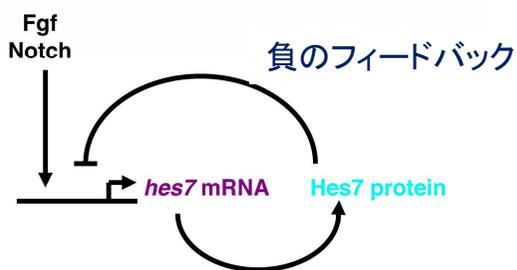
数理モデル

$$\frac{dm(t)}{dt} = f(p(t - T_m)) - cm(t)$$

$T_m$ : 時間遅れ

$$\frac{dp(t)}{dt} = am(t - T_p) - bp(t)$$

$$f(p) = \frac{k}{1 + (p/p_{crit})^2}$$



- ・重要なパラメータの予測
- ・実験的に操作することで検証  
→脊椎骨の数の変化や癒合

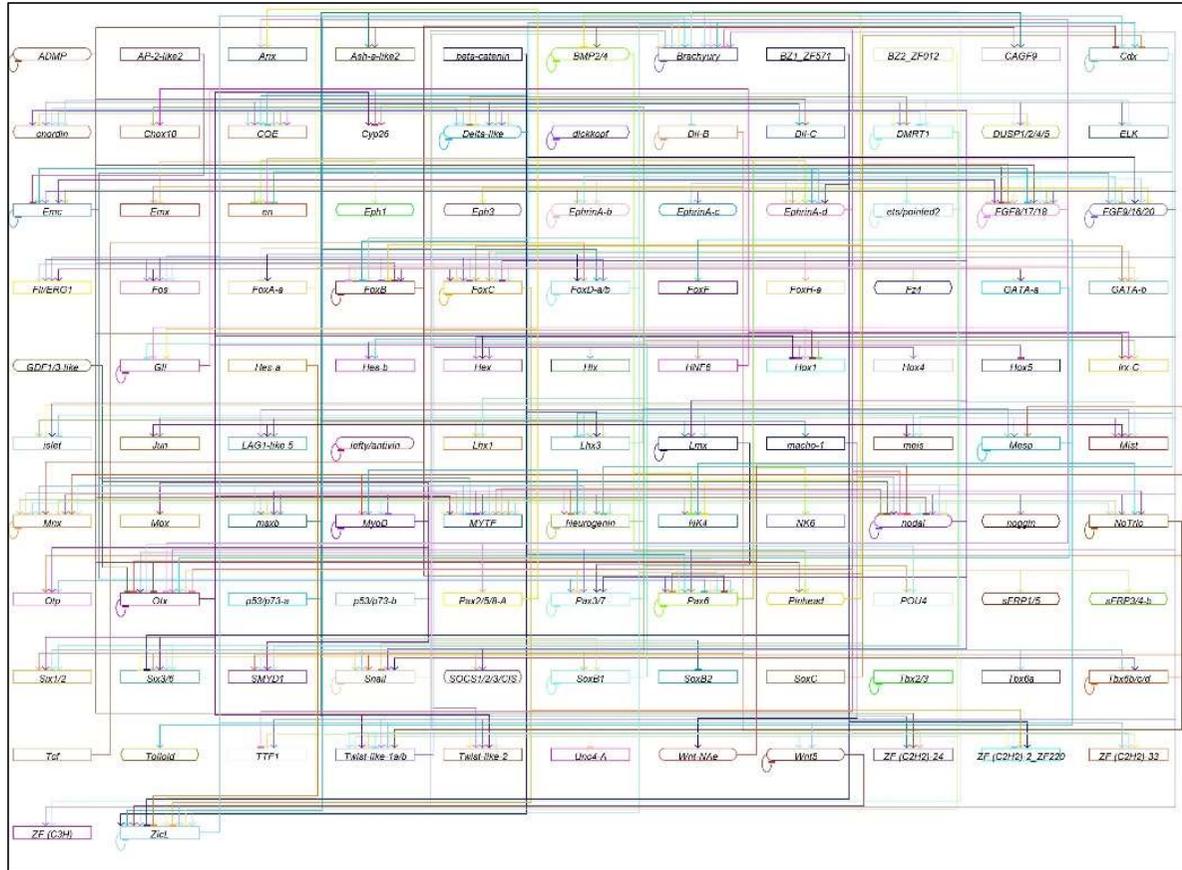
一つの理想形: 「分子の調節関係から、ダイナミクスを理解し、生命機能に迫る」

# ホヤの細胞分化を司る遺伝子制御ネットワーク

佐藤 ゆたか (京都大・理)



>90 genes



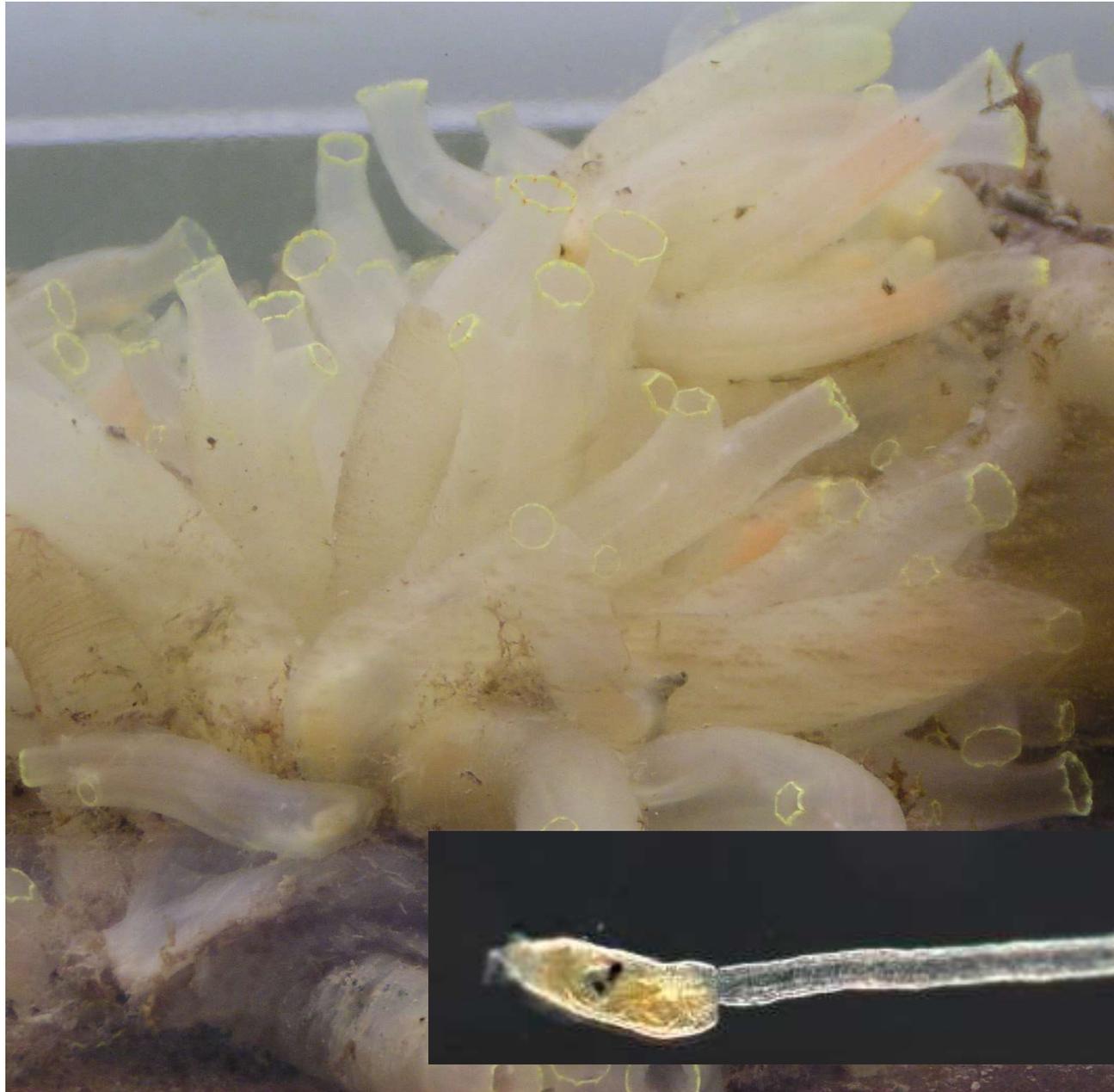
- 表皮
- 脳
- 神経索
- 内胚葉
- 脊索
- 間充織
- 筋肉



initial conditions

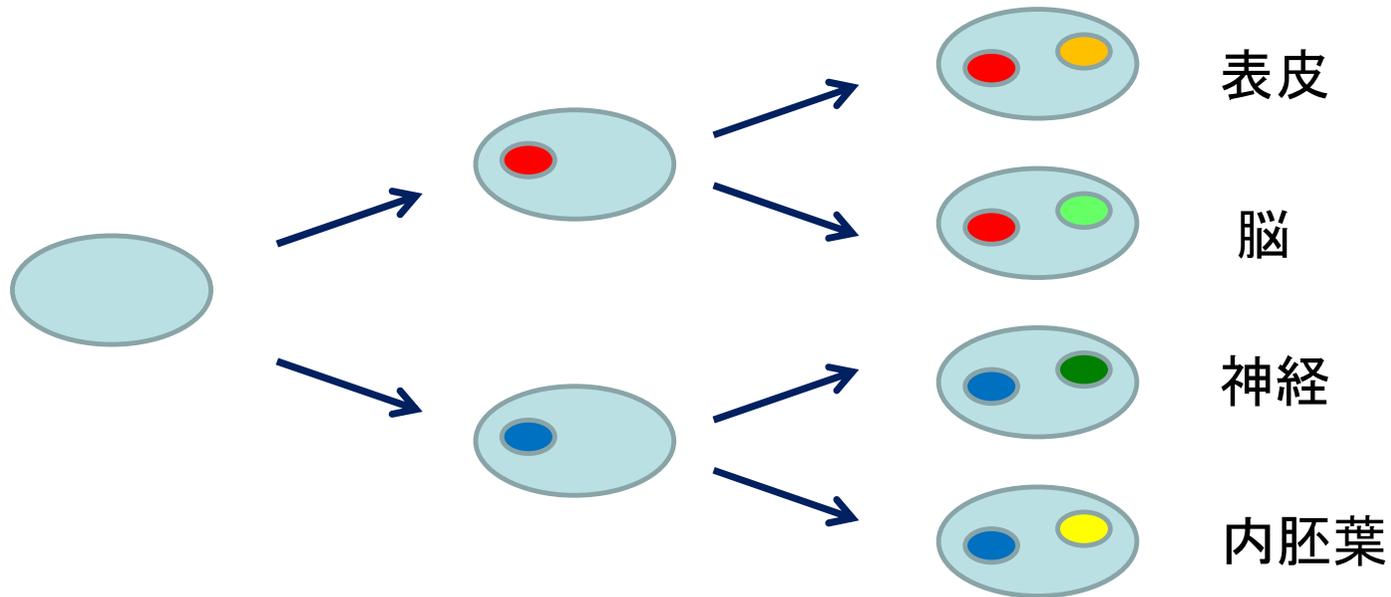
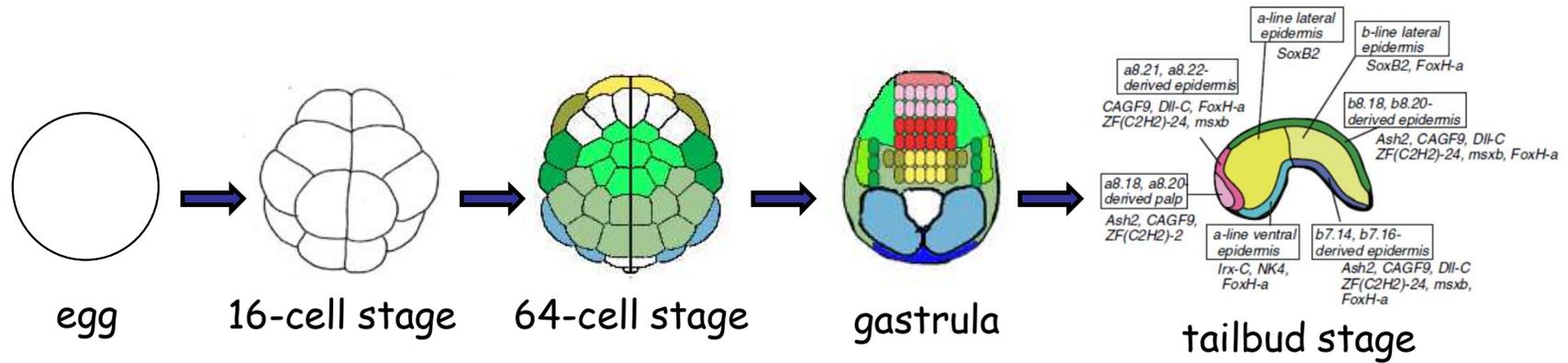
cell-cell interactions

Imai, K., et al. *Science* (2006) **312**, 1183-1187.



ホヤ  
尾索動物(脊椎動物と近縁)

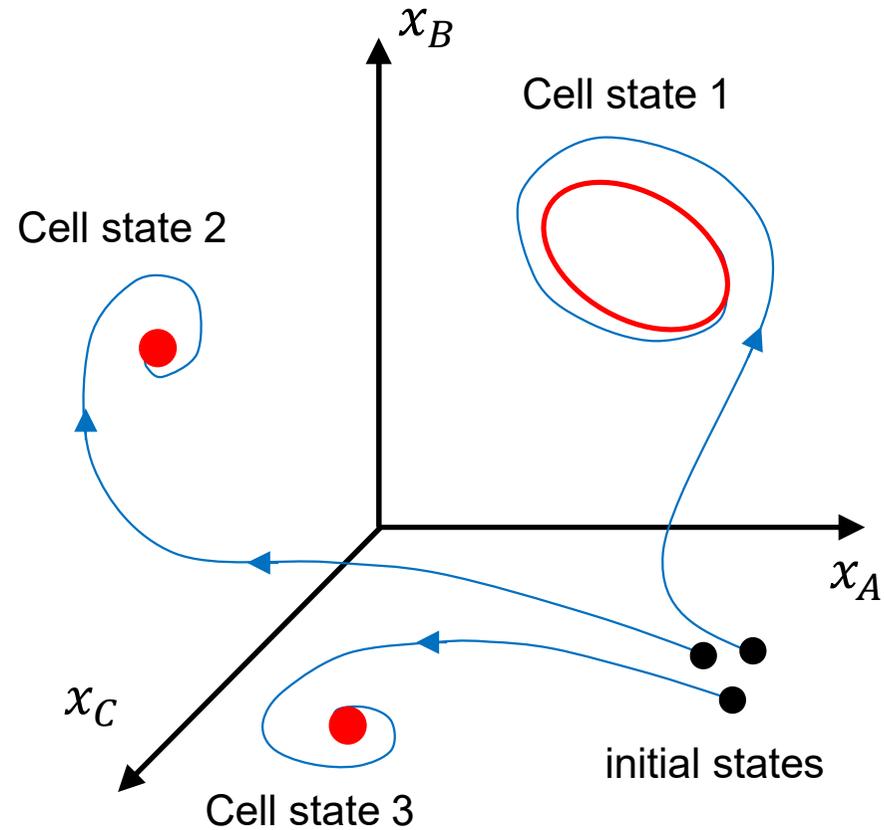
# 細胞運命と遺伝子活性



細胞状態 ≡ 遺伝子発現の持続的状态

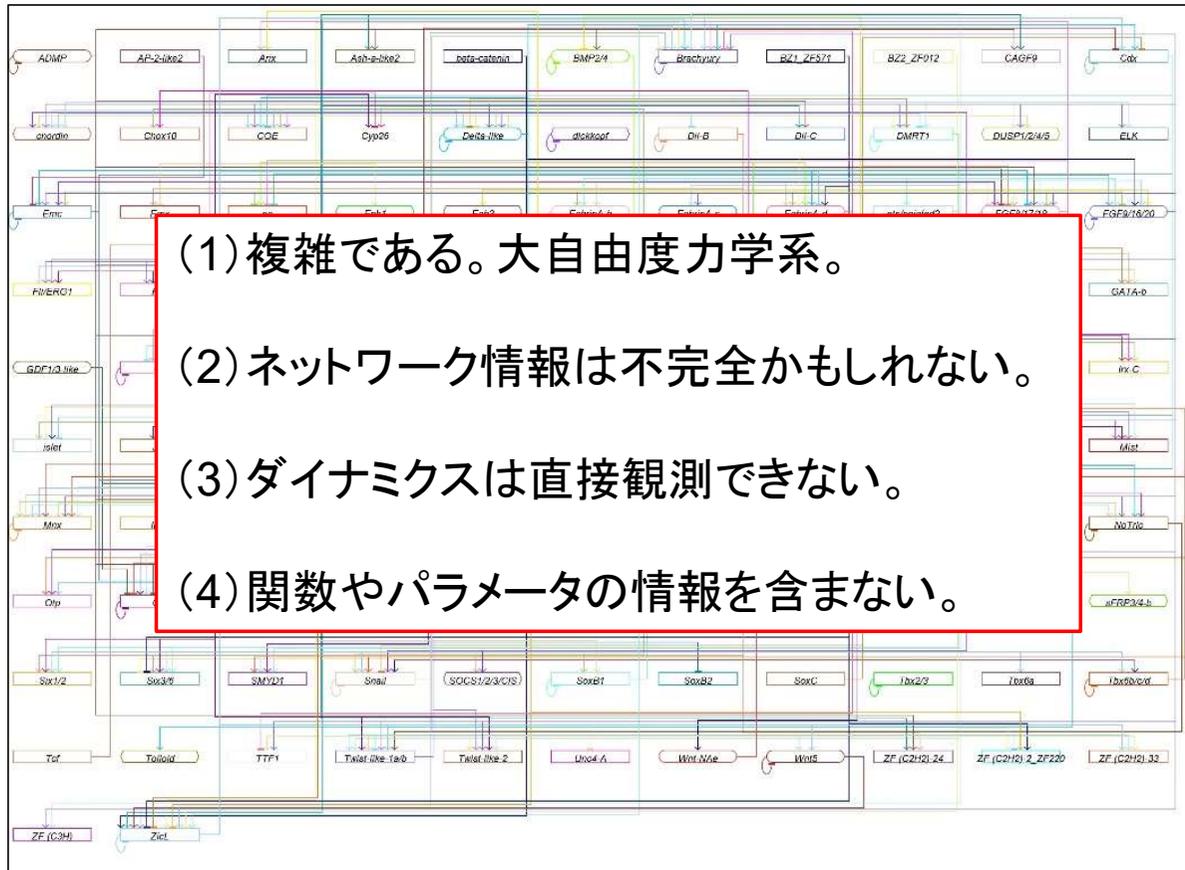
# 細胞状態 ≡ ダイナミクス of 定常状態

持続的な状態



様々な細胞種が作られる ≡ ダイナミクス of 定常状態が多数存在する

# 遺伝子ネットワークが突きつける問題



-  表皮
-  脳
-  神経索
-  内胚葉
-  脊索
-  間充織
-  筋肉



initial conditions

cell-cell interactions

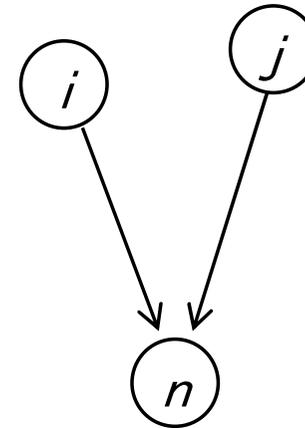
Imai, K., et al. *Science* (2006) **312**, 1183-1187.

# 構造理論「リンケージロジック」

依存関係だけから振る舞いを決める理論

引数だけに注目  
関数形は問わない

$$\frac{dx_n}{dt} = F_n(x_n; x_i, x_j)$$



ネットワーク構造

⇒ 重要な変数(分子、遺伝子)の決定

Mochizuki, A., Fiedler, B. *et al.* *J. Theor. Biol.* (2013) **335**, 130-146.

Fiedler, B., Mochizuki, A. *et al.* *J. Dyn. Differ. Eqns.* (2013) **25**, 563-604.

# Mathematical Concepts

## Feedback Vertex Set $I$

取り除いたらループ構造が無くなる  
ような、ノードの部分集合

$I(\subseteq V)$  is a feedback vertex set  
if, and only if,  $\Gamma \setminus I$  is cycle free.

## Determining nodes $J$

全ての解(アトラクター)の観測を  
可能とする変数の部分集合

$$\begin{aligned} \tilde{x}_J(t) - x_J(t) &\xrightarrow[t \rightarrow \infty]{} 0 \\ \Downarrow \\ \tilde{x}(t) - x(t) &\xrightarrow[t \rightarrow \infty]{} 0 \end{aligned}$$

## Theorem

Feedback Vertex Set  $I$   
of the network



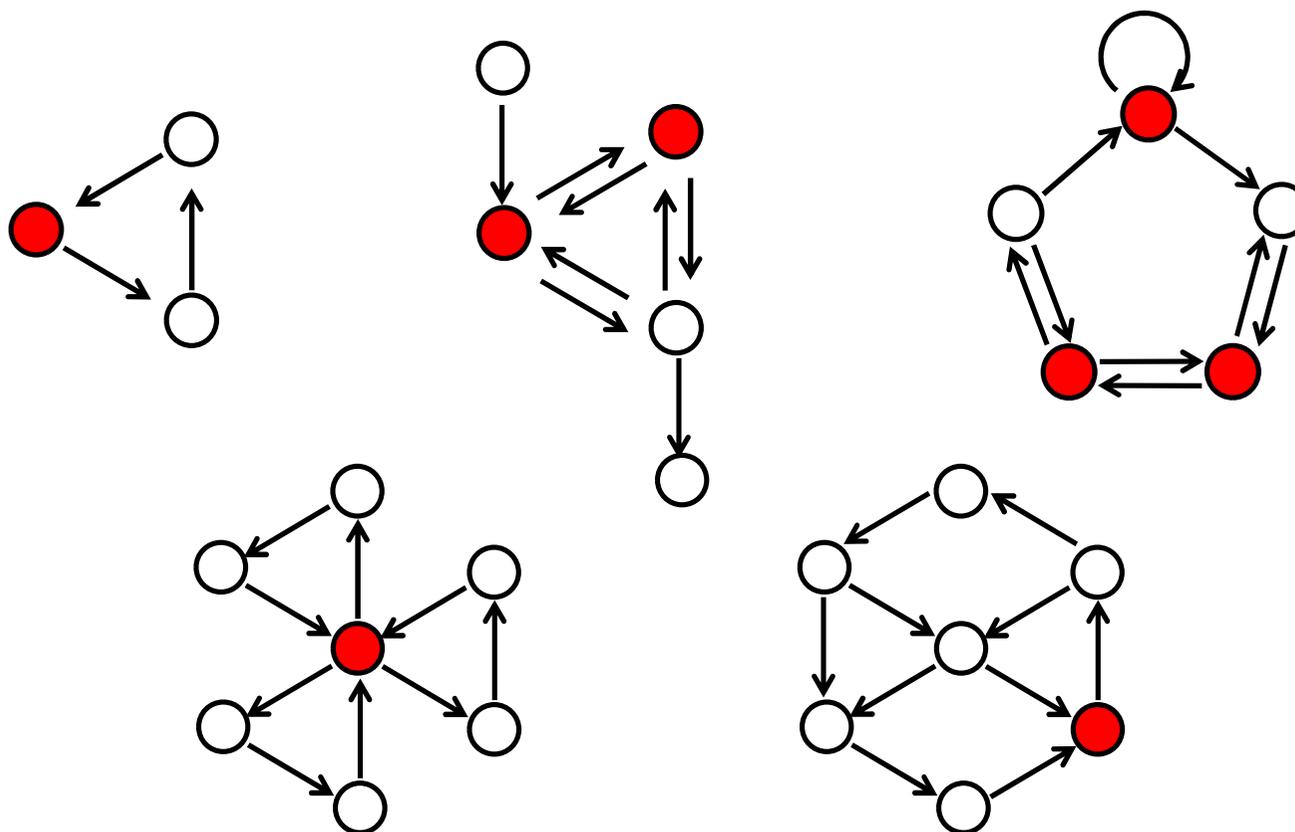
Determining nodes  $J$  of  
dynamics on the network  
for any functions.

Fiedler, B., Mochizuki, A. *et al.* *J. Dyn. Differ. Eqns.* (2013) **25**, 563-604.  
Mochizuki, A., Fiedler, B. *et al.* *J. Theor. Biol.* (2013) **335**, 130-146

## Feedback vertex set

:それらを取り除くとサイクルがなくなるような頂点の集合

- (1) FVSの観測により、システムの全ての解(アトラクター)が捉えられる
- (2) FVSの操作により、システム全体を任意の解(アトラクター)に収束できる  
これらは関数の選択に依らない。



## (2) FVSの操作により、システム全体を任意の振る舞いに収束させることができる

### Theorem

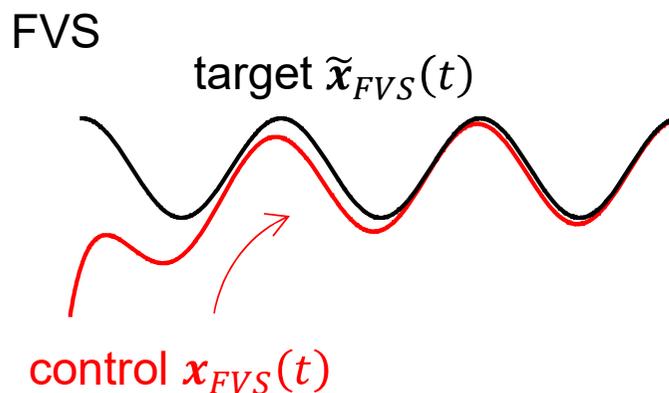
$$\tilde{\mathbf{x}}_{FVS}(t) - \mathbf{x}_{FVS}(t) \xrightarrow{t \rightarrow \infty} 0$$

⇓

$$\tilde{\mathbf{x}}(t) - \mathbf{x}(t) \xrightarrow{t \rightarrow \infty} 0$$

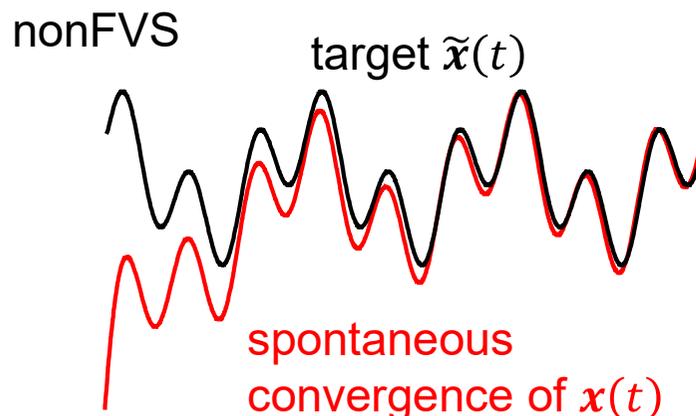
$\tilde{\mathbf{x}}_{FVS}(t), \mathbf{x}_{FVS}(t)$  :  
two trajectories of FVS

$\tilde{\mathbf{x}}(t), \mathbf{x}(t)$  :  
two trajectories of whole system



By **controlling** behaviors of FVS only to **converge** to a **target** trajectory,

⇓



the **whole system** is spontaneously close to **converge** to the **target** attractor.

Fiedler, B., Mochizuki, A. *et al.* *J. Dyn. Differ. Eqns.* (2013) **25**, 563-604.

Mochizuki, A., Fiedler, B. *et al.* *J. Theor. Biol.* (2013) **335**, 130-146

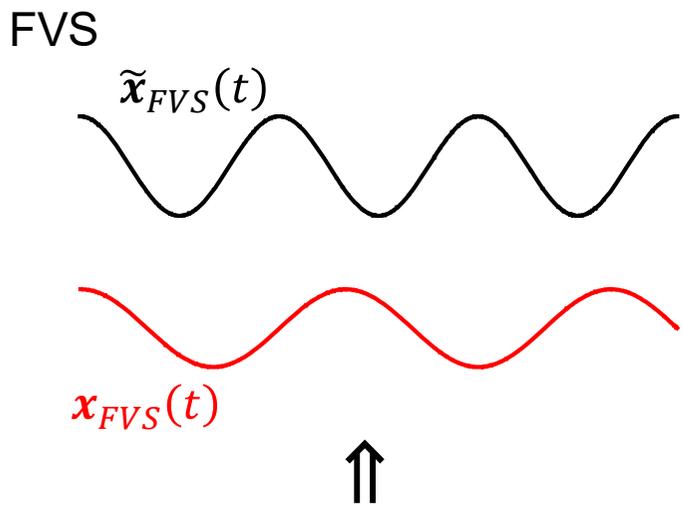
# (1) FVSの観測により、システム全体のあらゆる振る舞いが捉えられる

contrapositive of  
Theorem

$$\tilde{\mathbf{x}}_{FVS}(t) - \mathbf{x}_{FVS}(t) \not\rightarrow_{t \rightarrow \infty} 0$$

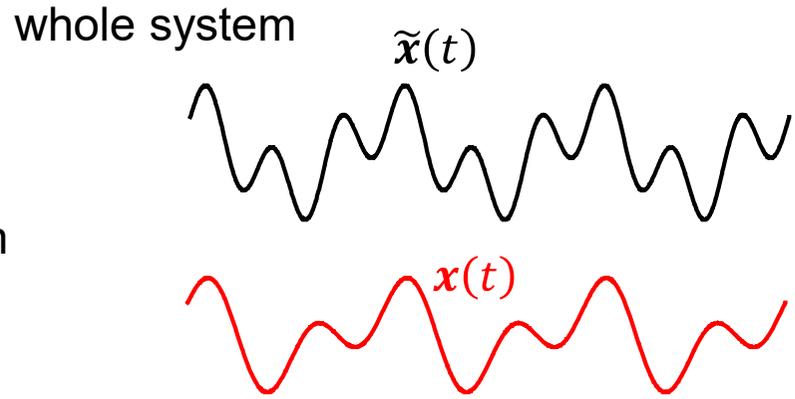
↑

$$\tilde{\mathbf{x}}(t) - \mathbf{x}(t) \not\rightarrow_{t \rightarrow \infty} 0$$



the difference is **detectable** by observing behaviors of **FVS** only.

$\tilde{\mathbf{x}}_{FVS}(t), \mathbf{x}_{FVS}(t)$  :  
two trajectories of FVS



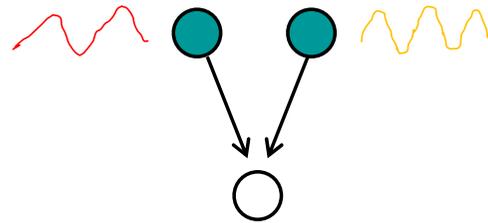
When two solutions **do not converge** to the same attractor,

$\tilde{\mathbf{x}}(t), \mathbf{x}(t)$  :  
two trajectories of whole system

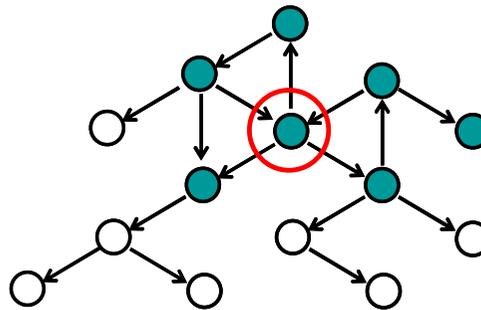
Fiedler, B., Mochizuki, A. et al. *J. Dyn. Differ. Eqns.* (2013) **25**, 563-604.  
Mochizuki, A., Fiedler, B. et al. *J. Theor. Biol.* (2013) **335**, 130-146

# 直感的に説明

1. 「上」の振る舞いが決まれば、  
(セルフループが無い限り)、「下」の振る舞いは一通りに決まる。



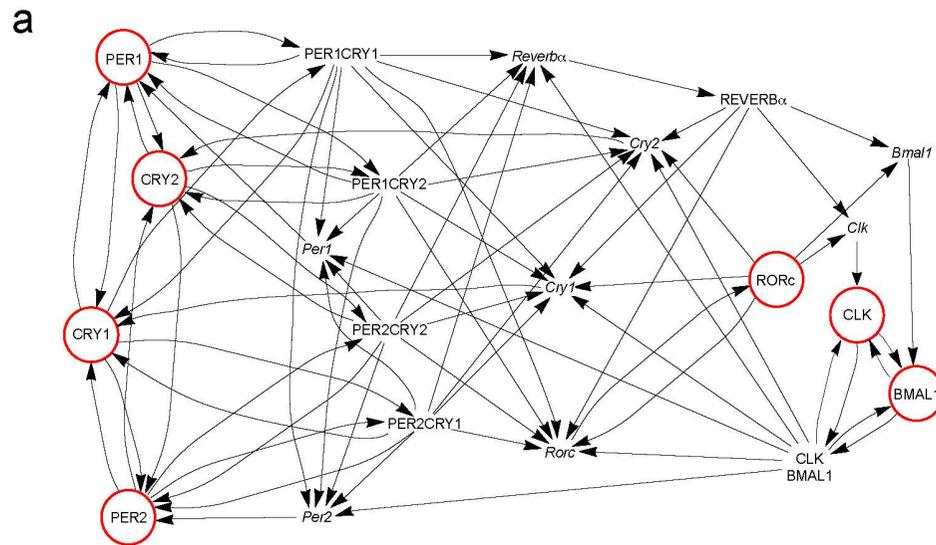
2. 振る舞いを決める(観測/制御する)頂点集合を「上手く選んでくれば」、  
「残りの頂点の振る舞いが一通りに決まる」ようにできる。



3. 「残りが一通りに決まる」という条件の下で、  
振る舞いを決める(観測/操作する)頂点を最少にするには？

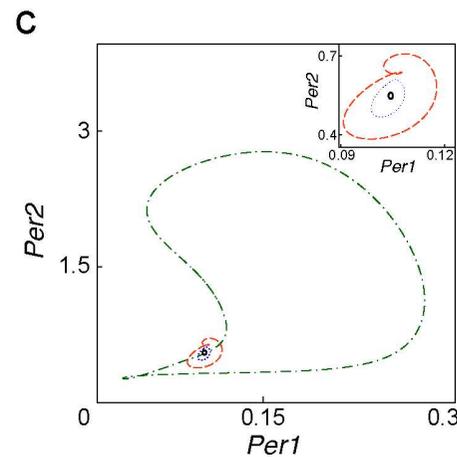
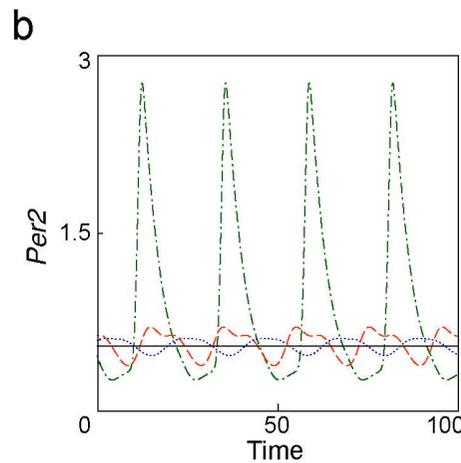
⇒ Feedback Vertex Set!

# Controlling a dynamical system



- A mathematical model for mammalian circadian rhythms
- 7 FVs among 21 variables

Modified from Mirsky et al., 2009



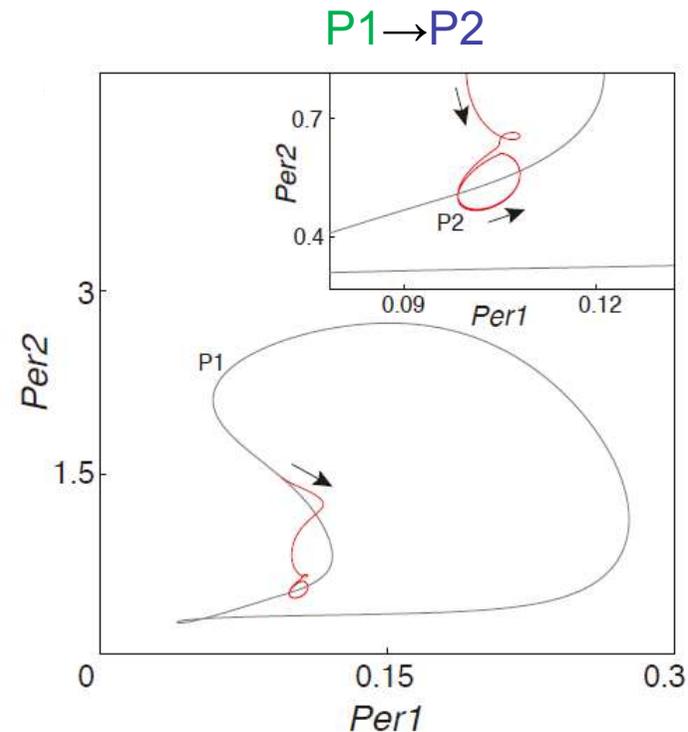
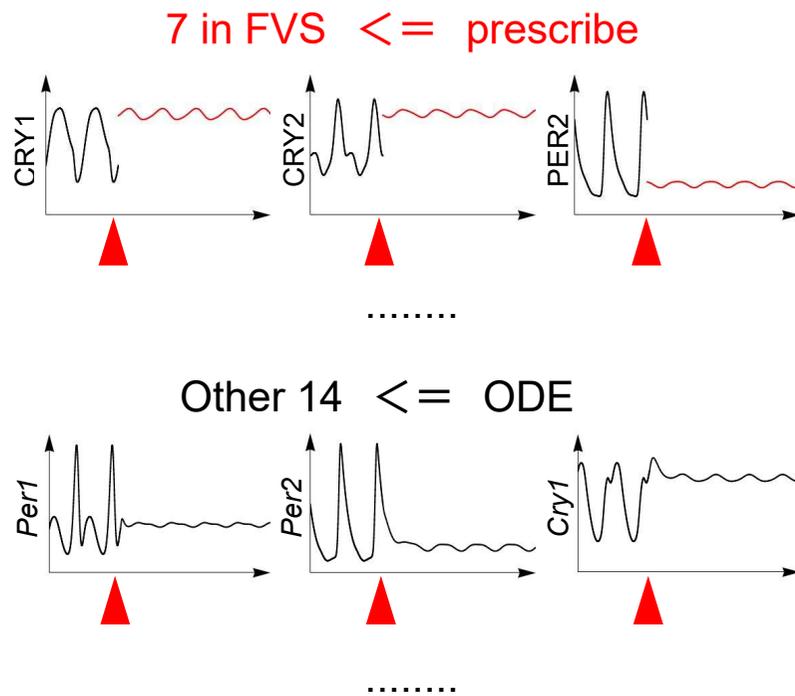
## 4 solutions

- 2 stable oscillations (P1, P2)
- 1 unstable oscillation (UP)
- 1 unstable stationary point (USS)

# Controlling a dynamical system

- 7 FVs among 21 variables

Whole system can be controlled by controlling FVS.

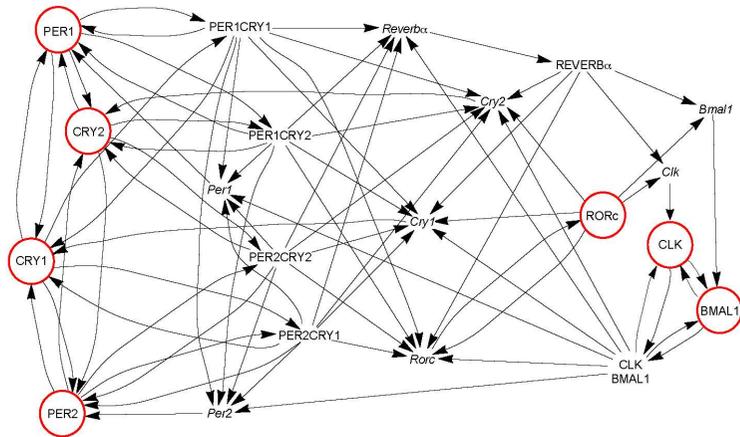


- (1) Prepare time series of **FVS** on the solution, P1, P2, UP, USS.
- (2-1) Prescribe **FVS**, to follow the value on the solution.
- (2-2) The remaining variables, **nonFVS**, are calculated by remaining ODEs.

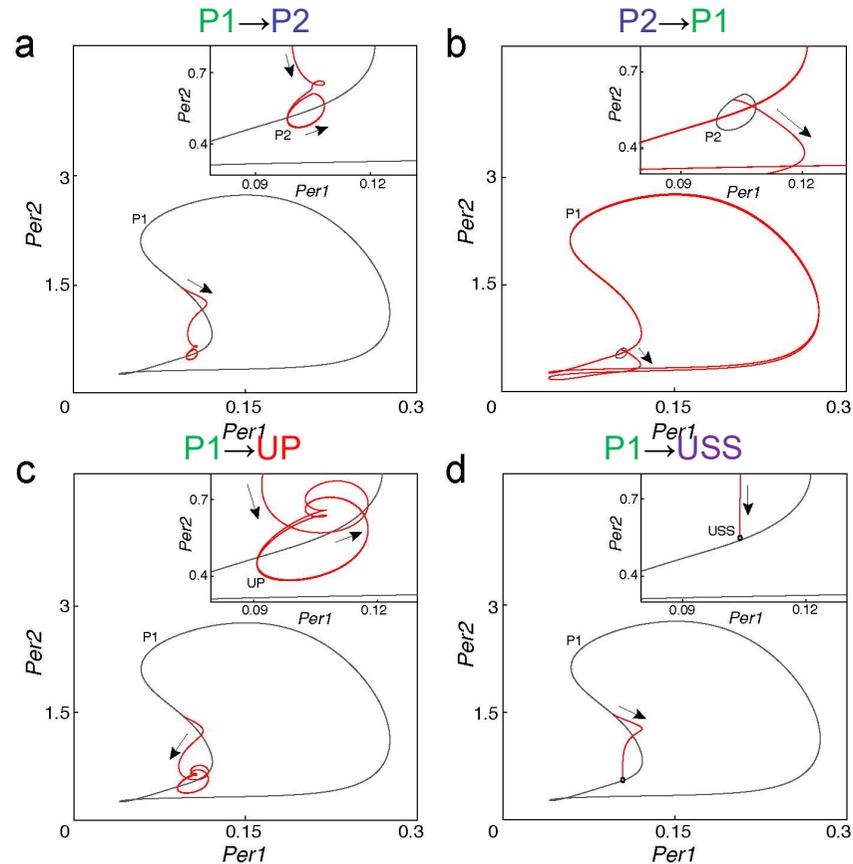
# Controlling a dynamical system

Whole system can be controlled by controlling FVS.

- 7 FVs among 21 variables



FVS  $\leq$  prescribe  
Others  $\leq$  ODE



UP, USS; unstable in original system with 21 variable, but **globally stable** in reduced system with 14 variables.

# Structural Theory (1): Linkage Logic

## Structure $\Leftrightarrow$ Dynamics

Feedback vertex set (ネットワークの構造から決まる)

- (1) システム全体の挙動を捉えるために十分な関数に依存しない最小の変数集合
- (2) システム全体を操作するために十分な関数に依存しない最小の変数集合

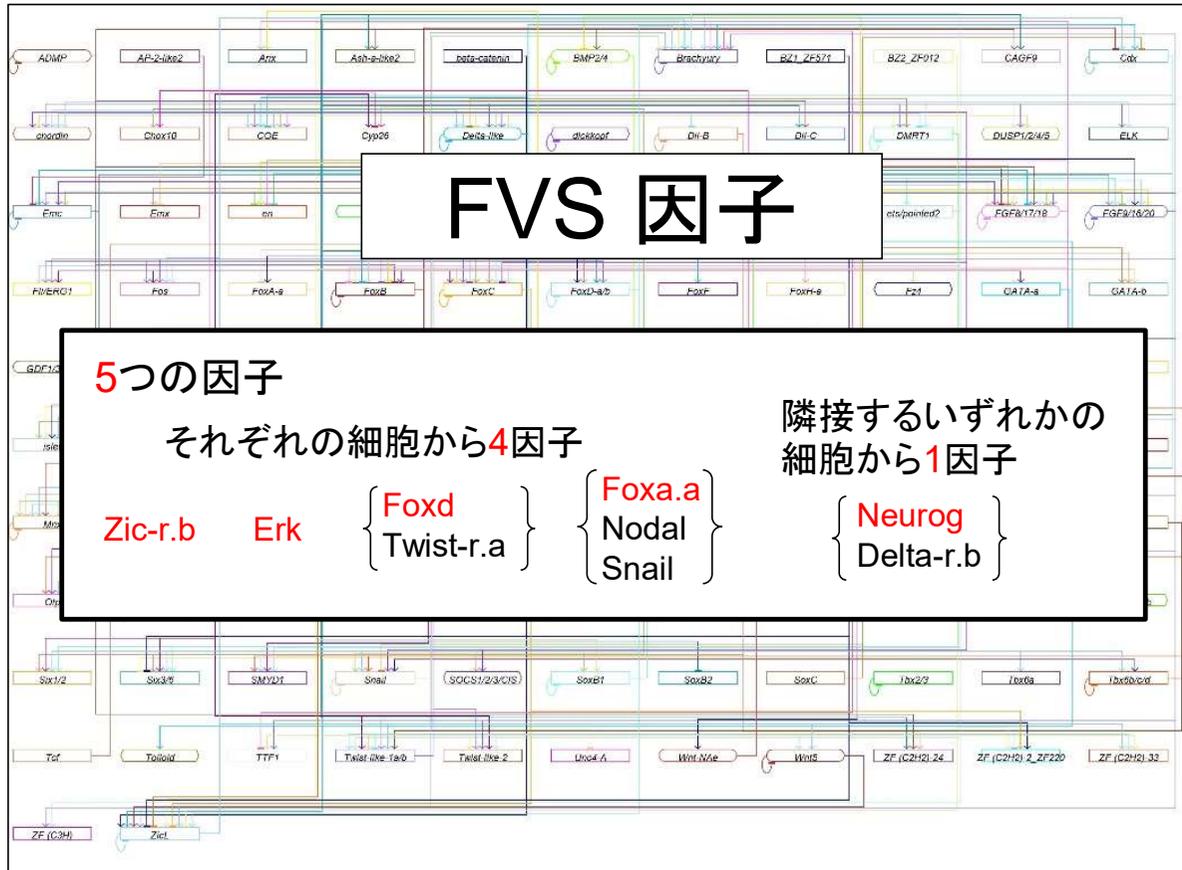
Fiedler, B., Mochizuki, A. *et al.* *J. Dyn. Differ. Eqns.* (2013) **25**, 563-604.

Mochizuki, A., Fiedler, B. *et al.* *J. Theor. Biol.* (2013) **335**, 130-146

Kobayashi, Maeda, Tokuoka, Mochizuki, Satou. (2018) *iScience* **4**, 281–293.

# ホヤの遺伝子ネットワーク解析

Version 2015 >90 genes



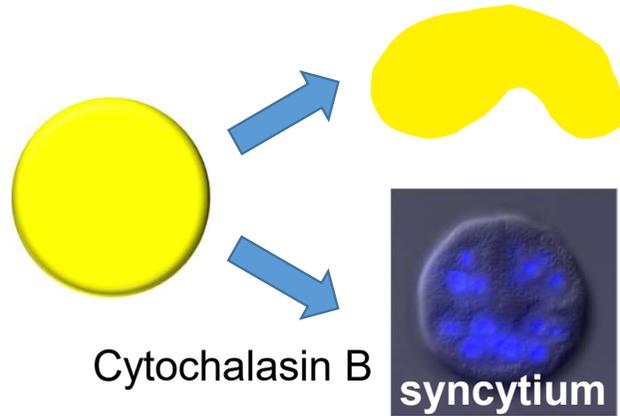
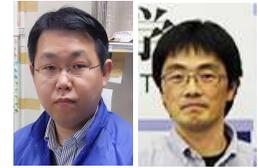
- ➔ 表皮
- ➔ 脳
- ➔ 神経索
- ➔ 内胚葉
- ➔ 脊索
- ➔ 間充織
- ➔ 筋肉



Thm: FVSを制御することで、システム全体のダイナミクスが制御できる。

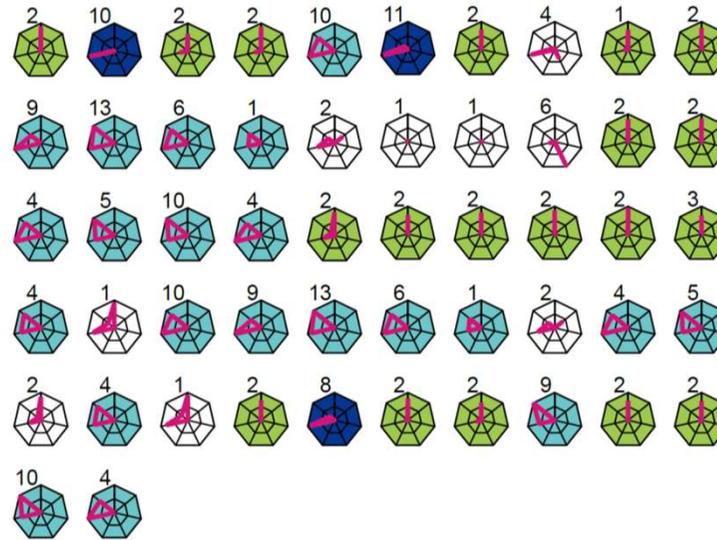
・5つの分子の活性を操作することで、細胞運命を操作できるか？

# 多核1細胞胚実験系



まずは、  
細胞間相互作用や空間構造の効果を除いて  
考えたい。

cell divisions are blocked  
nuclear divisions and gene regulatory  
networks are not blocked

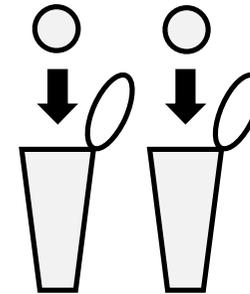
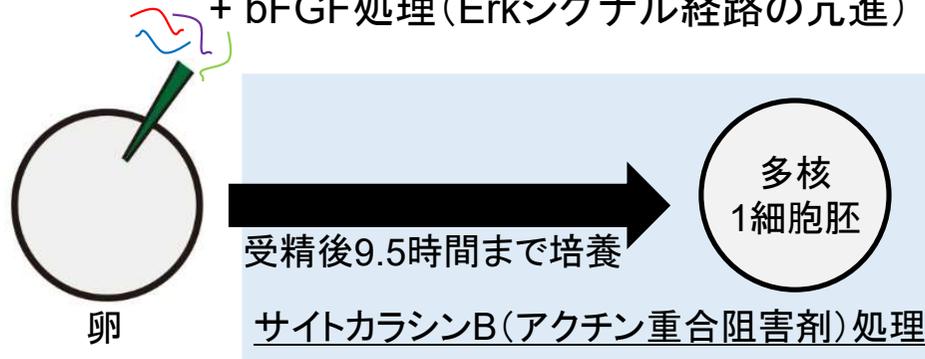


一部の運命(表皮、脳、神経)しか現れず、かつ胚によってバラバラ(一意に定まらない)

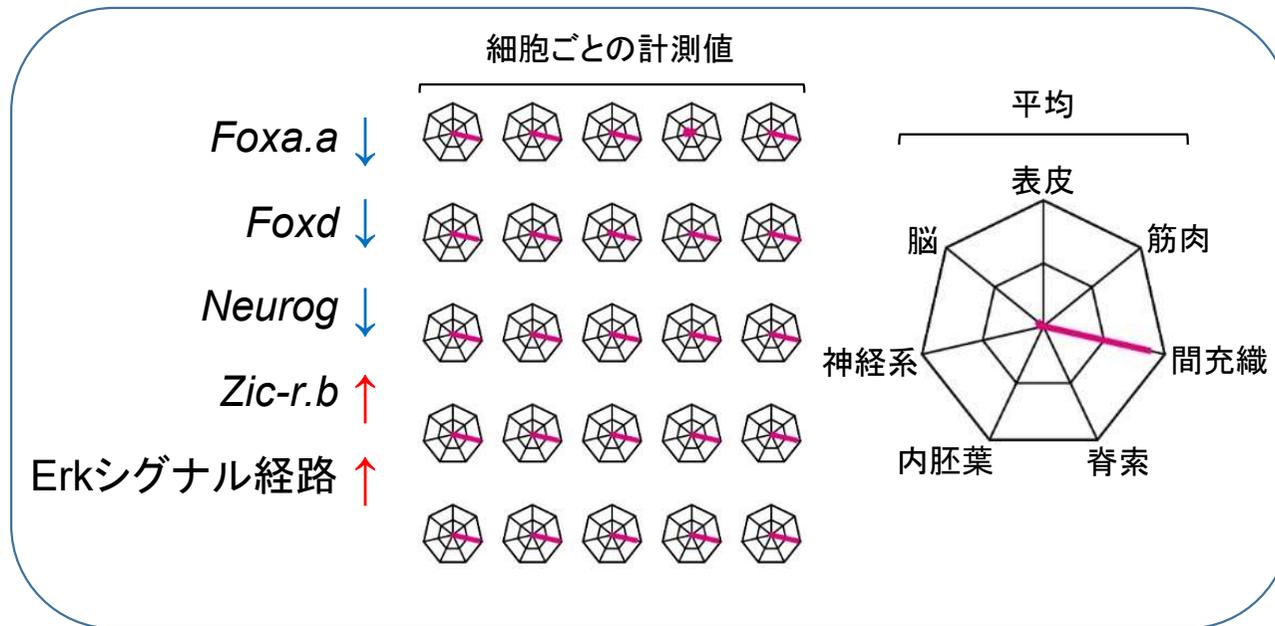
# 多核1細胞胚実験系を用いたFVS因子の操作



*Foxa.a* MO (モルフォリノアンチセンスオリゴ) + *Foxd* MO + *Neurog* MO  
 + *Zic-r.b* mRNA を顕微注入  
 + bFGF処理 (Erkシグナル経路の亢進)



RT-qPCRによる  
細胞ごとの  
組織マーカーの  
発現解析



間充織  
マーカーが  
特異的に  
発現した

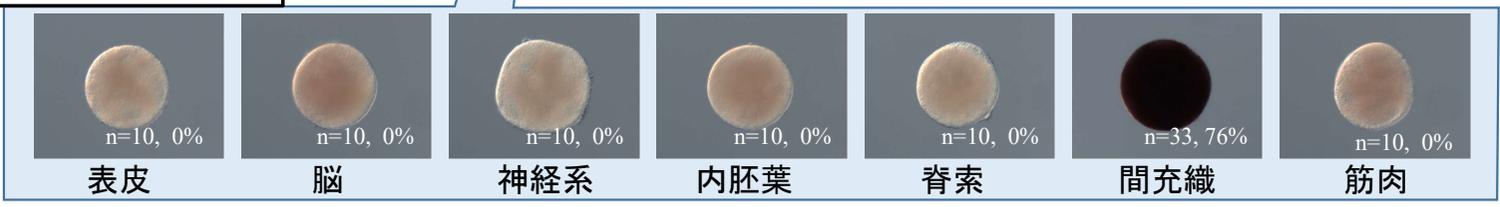
# 2<sup>5</sup>=32通りのFVS操作胚におけるマーカー遺伝子発現



RT-qPCR それぞれのFVS操作胚においてプレドミナントに発現しているマーカー遺伝子

Foxa.a	Foxd	Neurog	Zic-r.b	Erkシグナル経路	マーカー発現	Foxa.a	Foxd	Neurog	Zic-r.b	Erkシグナル経路	マーカー発現
Down	Down	Down	Down	Down	表皮	Up	Up	Down	Down	Up	なし
Down	Down	Down	Down	Up	なし	Up	Down	Up	Down	Up	神経系
Up	Down	Down	Down	Down	内胚葉	Up	Down	Down	Up	Up	神経系
Down	Up	Down	Down	Down	脊索	Down	Up	Up	Down	Up	神経系
Down	Down	Up	Down	Down	神経系	Down	Up	Down	Up	Up	なし
Down	Down	Down	Up	Down	脳	Down	Down	Up	Up	Up	神経系
Up	Down	Down	Down	Up	なし	Up	Up	Up	Down	Down	脊索
Down	Up	Down	Down	Up	なし	Up	Up	Down	Up	Down	内胚葉
Down	Down	Up	Down	Up	神経系	Up	Down	Up	Up	Down	神経系
Down	Down	Down	Up	Up	間充織	Down	Up	Up	Up	Down	内胚葉
Up	Up	Down	Down	Down	脊索	Up	Up	Up	Down	Up	脊索
Up	Down	Up	Down	Down	神経系	Up	Up	Down	Up	Up	内胚葉
Up	Down	Down	Up	Down	神経系	Up	Down	Up	Up	Up	脳
Down	Up	Up	Down	Down	なし	Down	Up	Up	Up	Up	なし
Down	Up	Down	Up	Down	なし	Up	Up	Up	Up	Down	なし
Down	Down	Up	Up	Down	脳	Up	Up	Up	Up	Up	なし

in situ hybridization

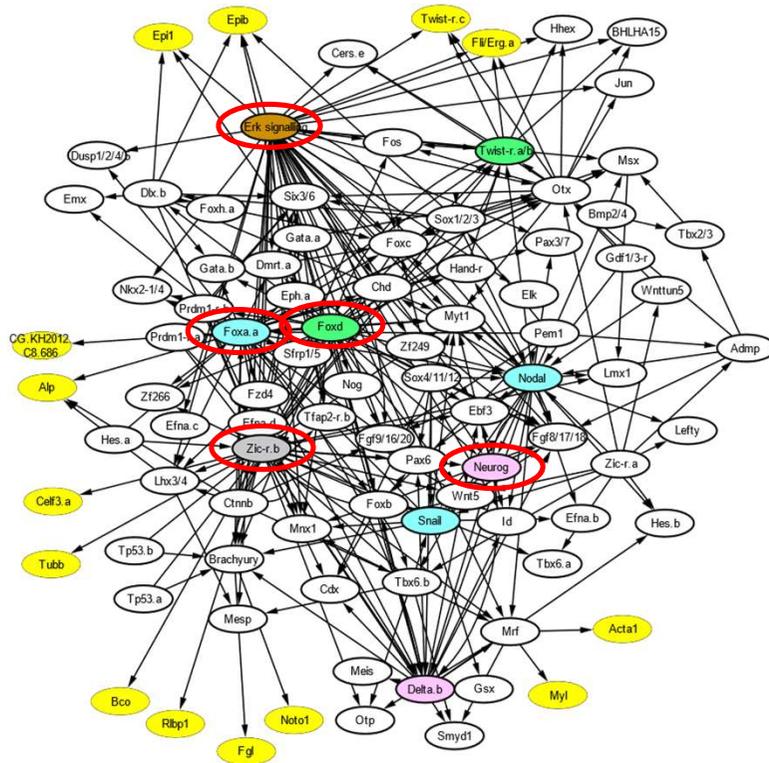


筋肉を除いて、すべての細胞種が理論通りに FVS因子の操作で再現された。

Kobayashi, Maeda, Tokuoka, Mochizuki, Satou. (2018) *iScience* 4, 281–293.

# まとめ？

## ホヤ遺伝子ネットワーク



⇒5つのFVS因子

Foxa.a, Foxd, Neurog, Zic-r.b, Erk

ネットワーク全体のコントロールには、  
この5つの操作で十分のはず。

実際に5因子の操作で、  
7種の組織のうち、6種が誘導できた。

「期待された7種の細胞のうち、  
6種(筋肉以外)しか誘導できなかった」  
とも言える。

⇒何か欠けている情報があるのでは？

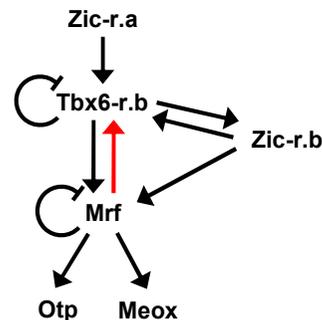
# つづき

## ネットワーク解析(その2)

「未知の制御」の候補  
 付加することでFVSが変わるエッジ

- |                  |                       |
|------------------|-----------------------|
| Foxc → Admp      | Admp → Lhx3/4         |
| Foxc → Otx       | Admp → Bmp3           |
| Foxc → Lhx3/4    | Admp → Prdm1-r.a      |
| Foxc → Bmp3      | Efna.d → Prdm1-r.a    |
| Foxc → Prdm1-r.a | Efna.d → Prdm1-r.b    |
| Foxc → Dlx.b     | Hand-r → Prdm1-r.a    |
| Foxc → Dmrt.a    | <b>Mrf → Tbx6-r.b</b> |
| Foxc → Wnttun5   | Msx → Prdm1-r.a       |
| Otx → Admp       | Prdm1-r.b → Prdm1-r.a |
| Otx → Lhx3/4     |                       |
| Otx → Bmp3       |                       |
| Otx → Prdm1-r.a  |                       |
| Otx → Wnttun5    |                       |

実験により発見された新たな制御



6つのFVS因子

Foxa.a, Foxd, Neurog, Zic-r.b, Erk, **Tbx6-r.b**

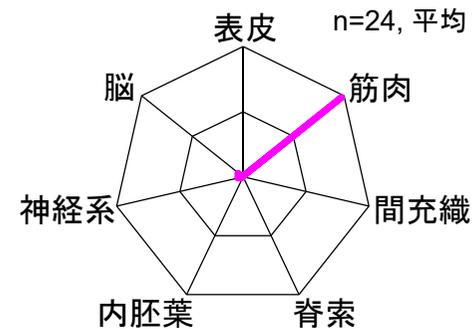
## 操作実験

2<sup>6</sup>通りの網羅実験は難しいため、  
 以下の操作をまず行った。

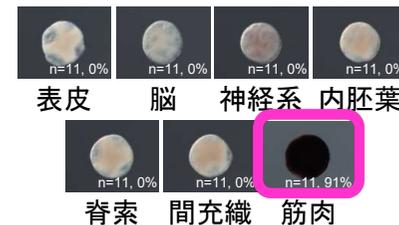
Foxa.a ↓, Foxd ↓, Neurog ↓, Zic-r.b ↓, Erk ↓,

Tbx6-r.b ↑

RT-qPCR



*in situ* hybridization

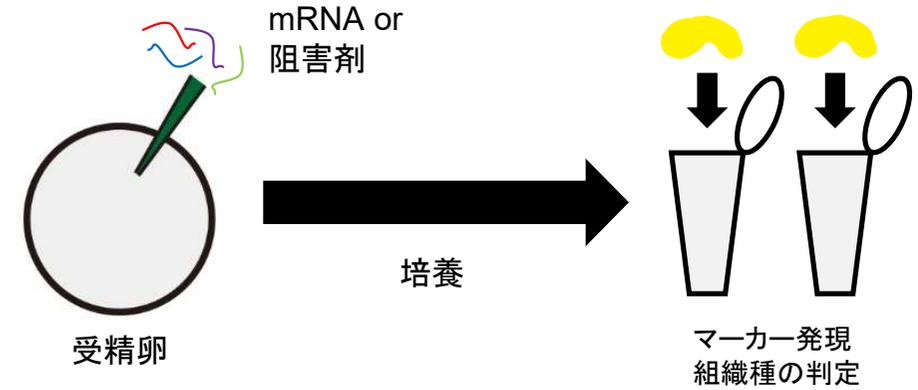
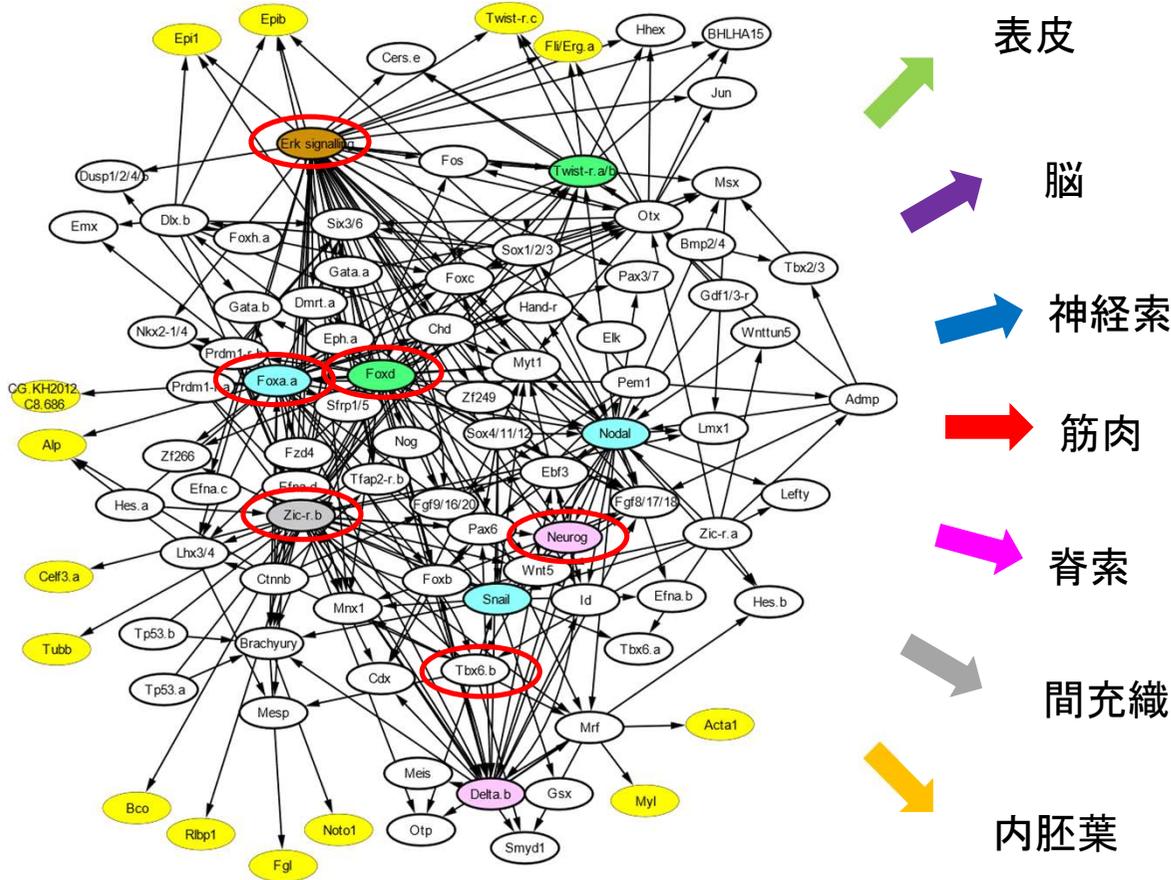


**筋肉が誘導できた!!**

# ホヤ遺伝子ネットワークの操作

(1) ネットワーク構造 ⇒ FVSの決定

(2) FVS因子の活性操作



<i>Foxa.a</i>	<i>Foxd</i>	<i>Neurog</i>	<i>Zic-r.b</i>	Erk Signal	<i>Tbx6</i>	Marker Expression
Down	Down	Down	Down	Down	Down	epidermis
Up	Down	Down	Down	Down	Down	endoderm
Down	Up	Down	Down	Down	Down	notochord
Down	Down	Up	Down	Down	Down	nerve cord
Down	Down	Down	Up	Down	Down	brain
Down	Down	Down	Up	Up	Down	mesenchyme
Down	Down	Down	Down	Down	Up	Muscle

- 完全操作！
- 理論解析により、ネットワーク情報の更新

Kobayashi, Maeda, Tokuoka, Mochizuki, Satou. (2018) *iScience* 4, 281–293.

Kobayashi, Maeda, Tokuoka, Mochizuki, Satou. (2021) *Sci. Rep.* 11, 4001.

# 網羅的な1細胞・1遺伝子スクリーニングによる ヒト初期胚の遺伝子ネットワークの推定

- ・CRISPRスクリーニングにより、ヒトiPS細胞に対し、網羅的な1細胞・1遺伝子摂動実験を行う。
- ・時系列に沿ったscRNA-seqデータを取得する。
- ・摂動後の時系列から因果関係を推定する新しい方法の開発。

# 遺伝子制御ネットワーク推定法

## 多変量解析に基づく手法

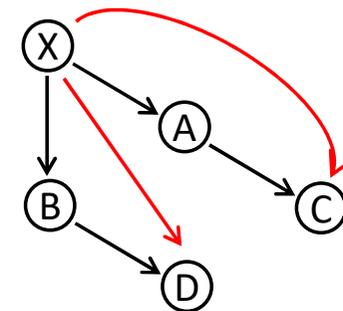
⇒ 相関関係は得やすいが、因果関係（制御関係）の検出は困難

## 網羅的摂動と発現変化の計測

・ Perturb-Seq (MIMOSCA (Dixit et al., 2016))

⇒ 全遺伝子を摂動しなければいけない

⇒ 直接制御と間接効果を区別できない



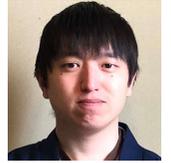
## 新規推定手法：RENGE(仮)

⇒ 摂動していない遺伝子からの制御の推定

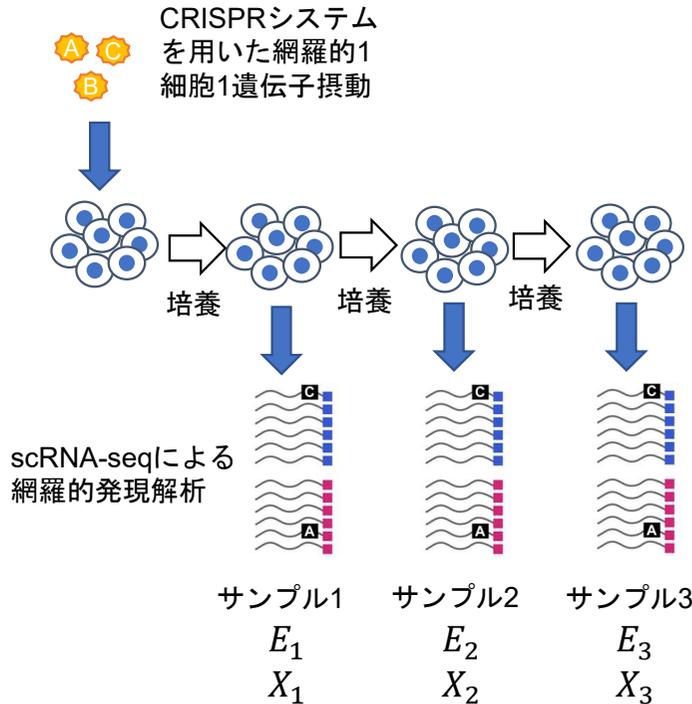
⇒ 直接制御と間接効果の区別

# 新規ネットワーク推定法: **RENGE**

-REgulatory Network inference using GEne perturbation data-



石川雅人 (東大新領域)



モデル式 
$$E_s = \sum_{k=1}^K w(s, k) A^k X_s + base_s$$

発現  $[e_{i,c}^s]$       1次制御  $w(s, 1)[a_{i \leftarrow j}]$       2次制御  $w(s, 2)[a_{i \leftarrow j}]^2$       3次制御  $w(s, 3)[a_{i \leftarrow j}]^3 + \dots$       摂動  $[x_{j,c}^s] + [base_i^s]$

$w(s, k)$ : サンプルsにおけるk次制御の効果の大きさ

$$w(s, k) = \frac{1}{1 + e^{-(\alpha + \beta s - \gamma k)}}$$

(高次の制御ほど弱く現れ、後のサンプルほど高次の制御まで現れる)

発現行列と摂動行列から、制御行列Aおよび $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、と $[base_i^s]$ を推定。

$e_{i,c}^s$ : サンプルsにおいて、細胞cでの遺伝子iの発現  
 $x_{j,c}^s$ : サンプルsにおいて、細胞cで摂動された遺伝子j

制御行列  $A = [a_{i \leftarrow j}]$  は、遺伝子jから遺伝子iへの直接の制御。  
 データに含まれる2次、3次...の影響は、 $A^2$ 、 $A^3$ ...で捉える。

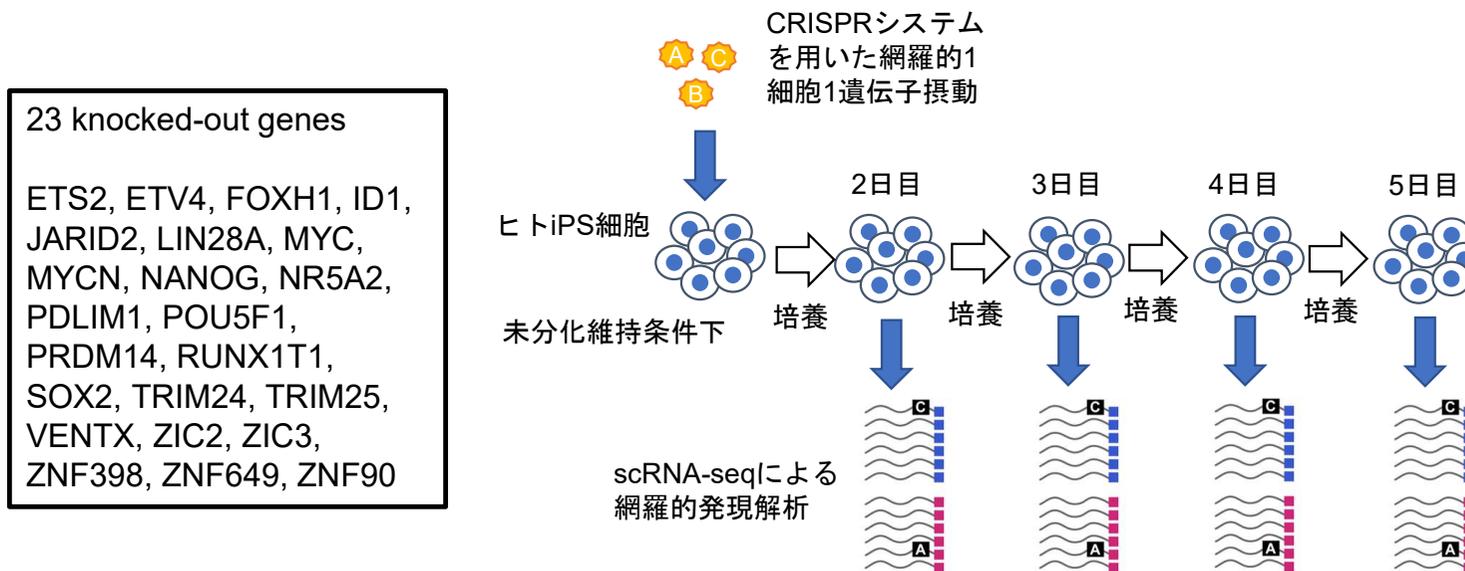
直接制御と間接効果の区別が可能

摂動していない遺伝子からの制御も推定可能

# 網羅的な1細胞・1遺伝子スクリーニング

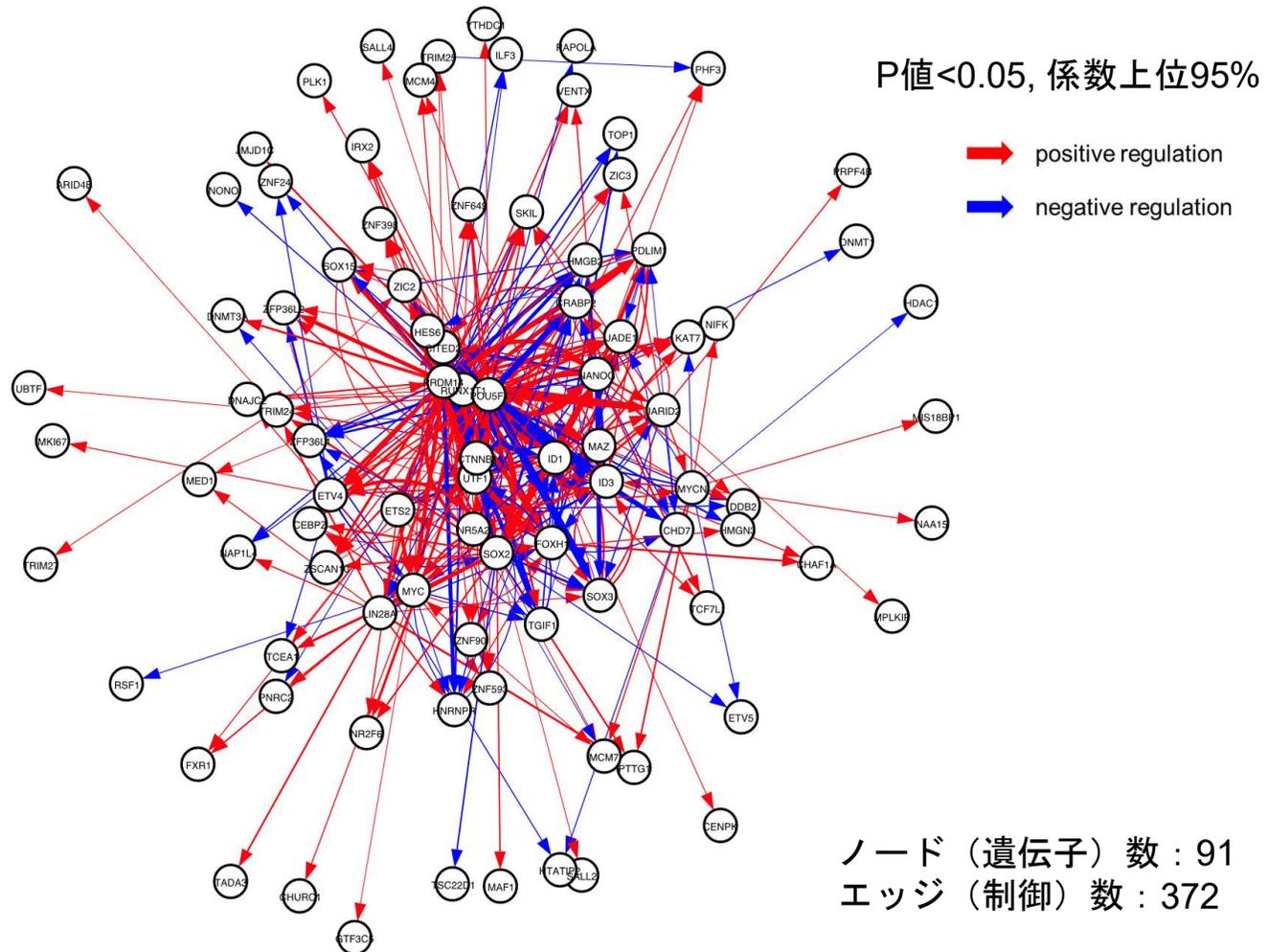
- ・CRISPRスクリーニングにより、ヒトiPS細胞に対し、網羅的な1細胞・1遺伝子摂動実験を行う。
- ・時系列に沿ったscRNA-seqデータを取得する。

永樂元次教授(医生研)  
遊佐宏介教授(医生研)  
との共同研究



# 推定されたネットワーク(ヒト初期発生)

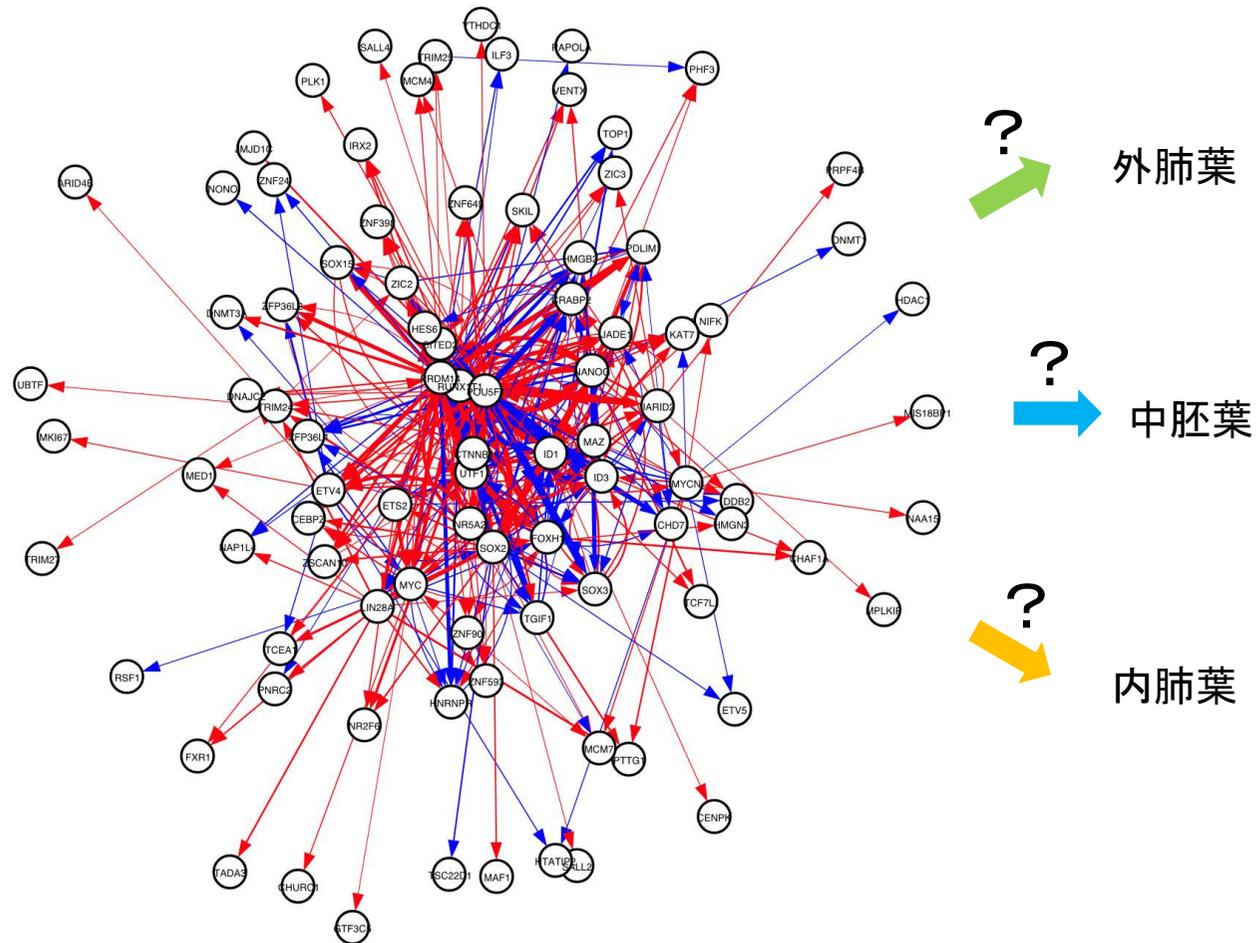
各制御(矢印)に、制御の大きさ(係数  $a_{i \leftarrow j}$ )と有意度(P値)が与えられる



# ヒト初期(三胚葉)分化ネットワーク

(1) ネットワーク構造 ⇒ FVSの決定

(2) FVS因子の活性操作



# Structural Theories

## 構造理論

### Linkage Logic

制御ネットワーク

ネットワーク構造 -> 重要な分子

### Structural Sensitivity analysis

化学反応ネットワーク

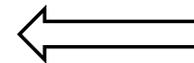
ネットワーク構造 -> 摂動に対する応答

### Structural Bifurcation Analysis

化学反応ネットワーク

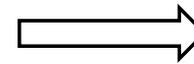
ネットワーク構造 -> 分岐の定性的性質

Network  
information



### Experiment

- Network analysis
- Measuring
- Perturbation

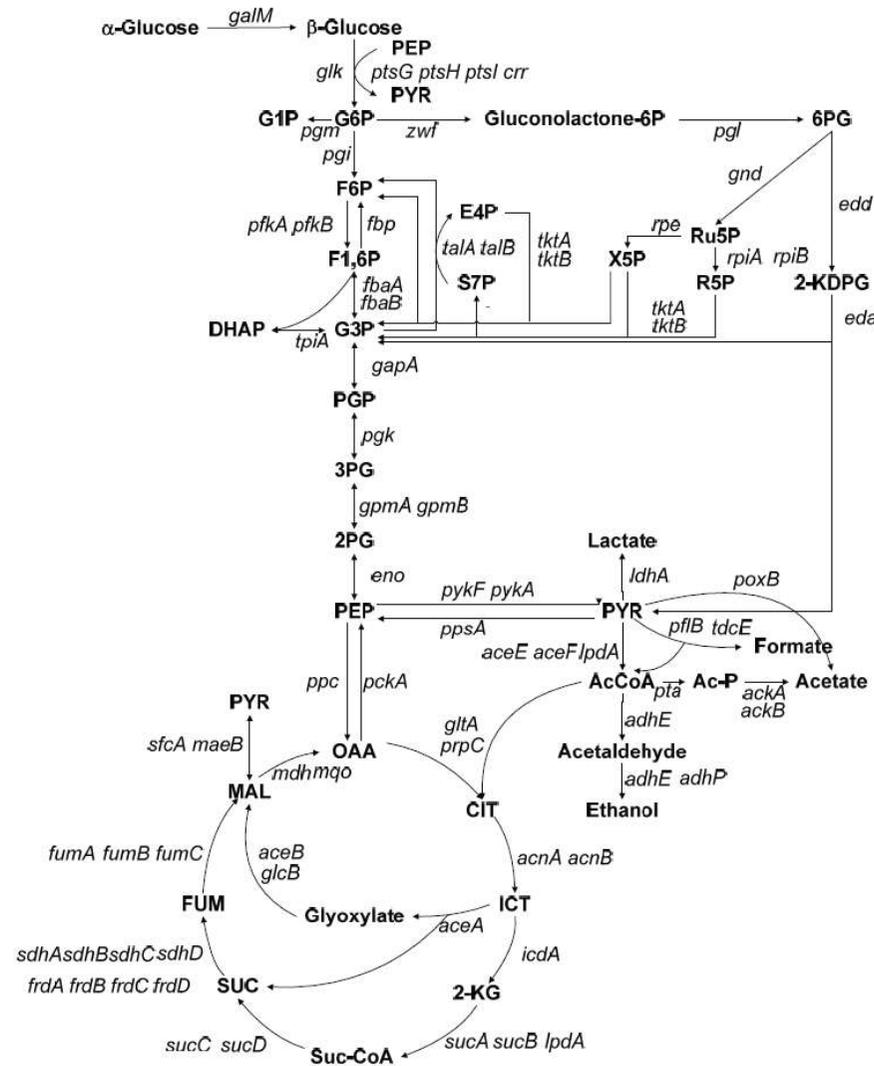


Prediction  
without  
assuming details

現在の生物学では、生体分子の相互作用(ネットワーク)情報が多く得られる。一方でダイナミクスを決定するために必要な定量的情報は未だ限られている。

ネットワーク構造だけからダイナミクスを議論できる理論は、強力では有益なはず。

# Chemical Reaction Network



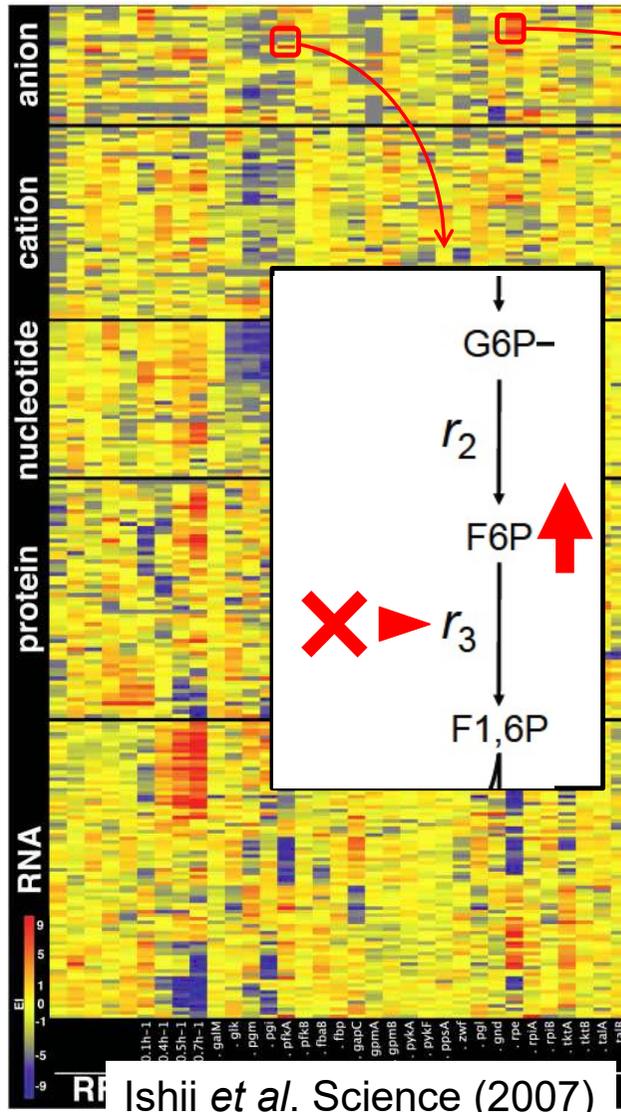
Ex.

## Carbon metabolism

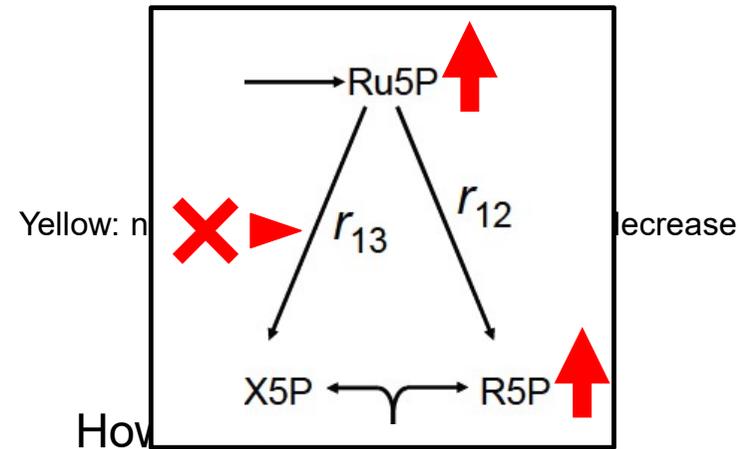
- Glycolysis
- TCA cycle
- ... produces energy from glucose.

- The network is a **summary** of knowledge of reactions and catalyzing enzymes.
- Dynamics is not understood yet.
- The network may be incomplete.

# Perturbation experiments



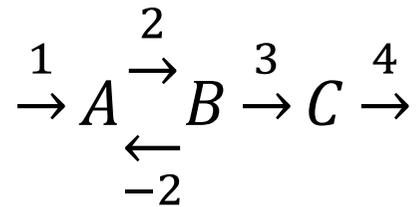
Knock out each of enzymes,  
Observe changes in concentration



How the responses are considered to be difficult to understand.

- Many metabolites do not change.
- Some changes are “counter-intuitive”.

# Chemical reaction



$$\frac{du_A}{dt} = r_1 - r_2 + r_{-2}$$

$$\frac{du_B}{dt} = r_2 - r_{-2} - r_3$$

$$\frac{du_C}{dt} = r_3 - r_4$$

$$r_1(k_1)$$

$$r_2(k_2; u_A)$$

$$r_{-2}(k_{-2}; u_B)$$

$$r_3(k_3; u_B)$$

$$r_4(k_4; u_C)$$

$u_m$  : 物質濃度

$r_j$  : 反応速度

$k_j$  : 反応パラメータ

e.g. Hill function

$$r_2 := k_2 \frac{u_A^n}{u_A^n + K^n}$$

$$\frac{d}{dt} \begin{pmatrix} u_A \\ u_B \\ u_C \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & -1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & -1 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & -1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} r_1 \\ r_2 \\ r_{-2} \\ r_3 \\ r_4 \end{pmatrix}$$

$k_j$  : 酵素活性or量  
(反応速度に影響を与える  
あらゆるパラメータ)

$$\frac{du_m}{dt} = \sum_{j=1}^J v_{mj} r_j(k_j; \mathbf{u})$$

$v = (v_{mj})$  : 化学量論行列

# 構造感度解析

反応ネットワークの形だけからモデルを仮定せず、パラメータ(酵素)変化に対する応答を決定

酵素活性 $k_{j^*}$ の変化 ( $k_{j^*} \rightarrow k_{j^*} + \delta k_{j^*}$ )の前と後で定常だとみなす。

$$v\delta r = 0$$

$$\delta r = \sum_{n=1}^N \delta \mu^n c^n$$

$$\frac{\partial r_j}{\partial k_{j^*}} \delta k_{j^*} + \sum_{m=1}^M \frac{\partial r_j}{\partial u_m} \frac{\partial u_m}{\partial k_{j^*}} \delta k_{j^*} = \sum_{n=1}^N \delta_{j^*} \mu^n c_j^n \quad (j, j^* = 1, \dots, J)$$

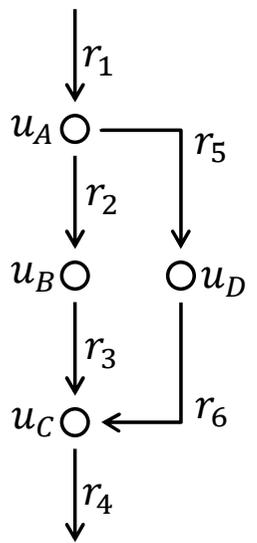
$$\underbrace{\begin{pmatrix} r_{11} & \dots & r_{1M} & | & -c_1^1 & \dots & -c_1^N \\ \vdots & & \vdots & | & \vdots & & \vdots \\ r_{J1} & \dots & r_{JM} & | & -c_J^1 & \dots & -c_J^N \end{pmatrix}}_{\text{A行列}} \underbrace{\begin{pmatrix} \delta_1 u_1 & \dots & \delta_j u_1 \\ \vdots & & \vdots \\ \delta_1 u_M & \dots & \delta_j u_M \\ \vdots & & \vdots \\ \delta_1 \mu^1 & \dots & \delta_j \mu^1 \\ \vdots & & \vdots \\ \delta_1 \mu^N & \dots & \delta_j \mu^N \end{pmatrix}}_{\text{感度行列S}} = - \underbrace{\begin{pmatrix} \frac{\partial r_1}{\partial k_1} \delta k_1 & & 0 \\ & \ddots & \\ 0 & & \frac{\partial r_j}{\partial k_j} \delta k_j \end{pmatrix}}_{\text{diagonal}}$$

$$r_{jm} := \frac{\partial r_j}{\partial u_m}$$

$$\delta_{j^*} u_m := \frac{\partial u_m}{\partial k_{j^*}} \delta k_{j^*}$$

$r_{jm} = 0$ : 反応  $j$  は分子  $m$  に非依存  
 $r_{jm} \neq 0$ : 反応  $j$  は分子  $m$  に依存

ex.



(1) Construct **A**-matrix

$$A = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 \\ r_{2A} & 0 & 0 & 0 & -1 & 1 \\ 0 & r_{3B} & 0 & 0 & -1 & 1 \\ 0 & 0 & r_{4C} & 0 & -1 & 0 \\ r_{5A} & 0 & 0 & 0 & 0 & -1 \\ 0 & 0 & 0 & r_{6D} & 0 & -1 \end{pmatrix}$$

**A**行列の非零成分の分布  
= ネットワーク構造

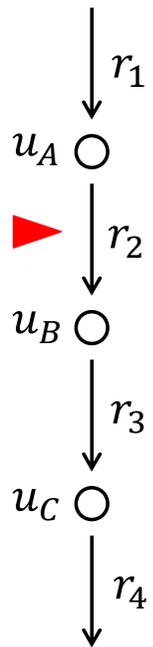
(2) Calculate inverse of **A**

$$S \propto -A^{-1} = \begin{pmatrix} (r_{2A} + r_{5A})^{-1} & -(r_{2A} + r_{5A})^{-1} & 0 & 0 & -(r_{2A} + r_{5A})^{-1} & 0 \\ \frac{r_{2A}}{r_{3B}(r_{2A} + r_{5A})} & \frac{r_{5A}}{r_{3B}(r_{2A} + r_{5A})} & \frac{-1}{r_{3B}} & 0 & \frac{-r_{2A}}{r_{3B}(r_{2A} + r_{5A})} & 0 \\ r_{4C}^{-1} & 0 & 0 & -r_{4C}^{-1} & 0 & 0 \\ \frac{r_{5A}}{r_{6D}(r_{2A} + r_{5A})} & \frac{-r_{5A}}{r_{6D}(r_{2A} + r_{5A})} & 0 & 0 & \frac{r_{2A}}{r_{6D}(r_{2A} + r_{5A})} & \frac{-1}{r_{6D}} \\ \frac{1}{r_{2A} + r_{5A}} & \frac{-r_{5A}}{r_{2A} + r_{5A}} & 0 & 0 & \frac{r_{2A}}{r_{2A} + r_{5A}} & 0 \end{pmatrix}$$

応答の零、非零(や正、負)がネットワーク構造から決まる

# Example 1

$u_m$ : concentration  
 $r_j$ : reaction rate



decrease in  
 substrate only

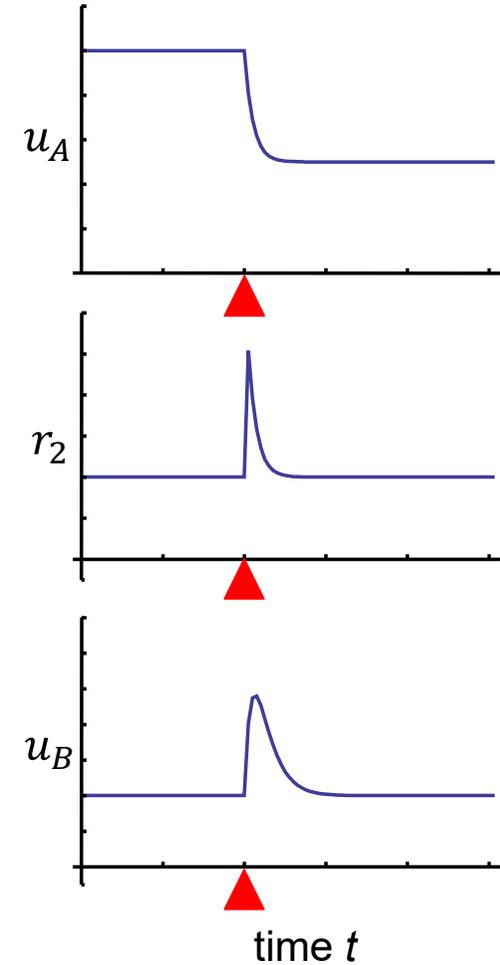
Analysis

$$A = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 & -1 \\ r_{2A} & 0 & 0 & -1 \\ 0 & r_{3B} & 0 & -1 \\ 0 & 0 & r_{4C} & -1 \end{pmatrix}$$

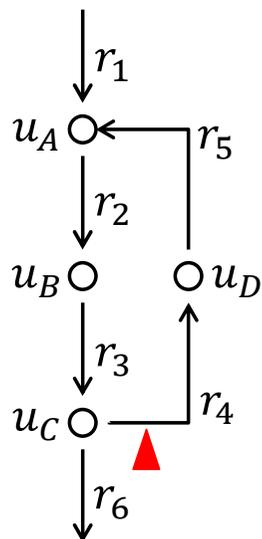
↓

$$S = \begin{pmatrix} 1/r_{2A} & -1/r_{2A} & 0 & 0 \\ 1/r_{3B} & 0 & -1/r_{3B} & 0 \\ 1/r_{4C} & 0 & 0 & -1/r_{4C} \\ 1 & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}$$

Simulation  
 (by giving a function)



# Example 2

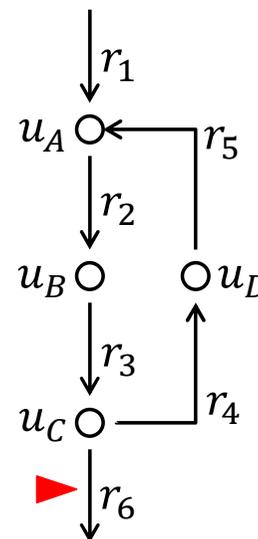


Increase in direct downward

$$A = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 & 0 & -1 & 0 \\ r_{2A} & 0 & 0 & 0 & -1 & -1 \\ 0 & r_{3B} & 0 & 0 & -1 & -1 \\ 0 & 0 & r_{4C} & 0 & 0 & -1 \\ 0 & 0 & 0 & r_{5D} & 0 & -1 \\ 0 & 0 & r_{6C} & 0 & -1 & 0 \end{pmatrix}$$

$\Rightarrow$

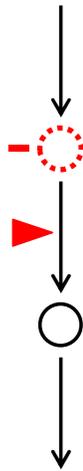
$$S = \begin{pmatrix} (r_{4C} + r_{6C})/r_{2A}r_{6C} & -1/r_{2A} & 0 & 1/r_{2A} & 0 & -r_{4C}/r_{2A}r_{6C} \\ (r_{4C} + r_{6C})/r_{3B}r_{6C} & 0 & -1/r_{3B} & 1/r_{3B} & 0 & -r_{4C}/r_{3B}r_{6C} \\ 1/r_{6C} & 0 & 0 & 0 & 0 & -1/r_{6C} \\ r_{4C}/r_{5D}r_{6C} & 0 & 0 & 1/r_{5D} & -1/r_{5D} & -r_{4C}/r_{5D}r_{6C} \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ r_{4C}/r_{6C} & 0 & 0 & 1 & 0 & -r_{4C}/r_{6C} \end{pmatrix}$$



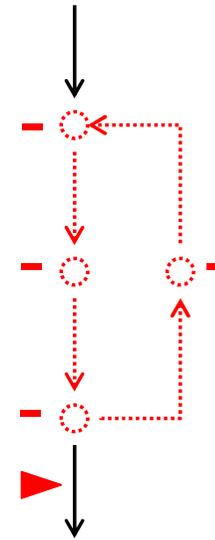
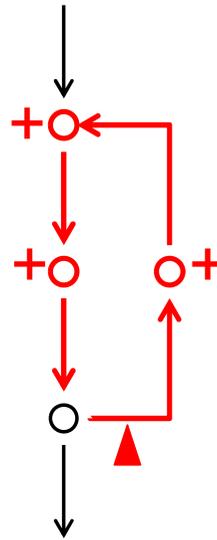
Decrease in side branch

# Regulatory effects are Localized

Example 1



Example 2



Nonzero responses are confined in limited regions in a network.  
「上流が下流に影響する」という理解は間違い。



$$\chi = V - E + F$$

# Law of localization (限局則)

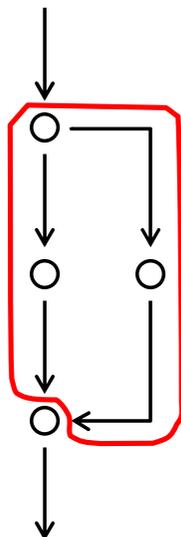
## Buffering structure (緩衝構造)

部分グラフ  $\Gamma = (M, E)$  ( $M$ : 分子の集合,  $E$ : 反応の集合) が次の条件を満たすとき、 $\Gamma$  を **緩衝構造** と呼ぶ。

- i) ( $M$  中の分子に依存する反応)  $\in E$ ,
- ii)  $\chi := (\text{分子数}|M|) - (\text{反応数}|E|) + (\text{サイクル数}) = 0$

$$\mathbf{A} = \begin{matrix} \text{reaction} \\ \left( \begin{array}{c|c} \mathbf{A}_\Gamma & * \\ \hline \mathbf{0} & \mathbf{A}_{\bar{\Gamma}} \end{array} \right) \end{matrix}$$

square      chemical, cycle



$$\begin{aligned} \#.\text{chemical} - \#.\text{reaction} + \#.\text{cycle} \\ = 3 - 4 + 1 \\ = 0 \end{aligned}$$

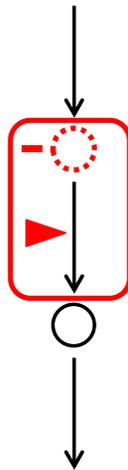
## Theorem

**緩衝構造  $\Gamma$  内の反応パラメータの変化は、 $\Gamma$  内の分子や反応のみに影響する。**

・局所構造(トポロジー)だけから、反応パラメータの影響が及ぶ範囲がきまる。

# Buffering structures

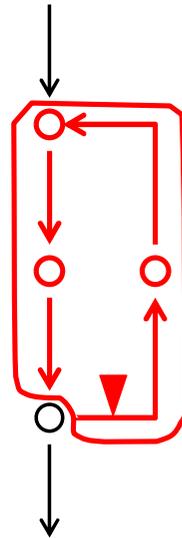
Example 1



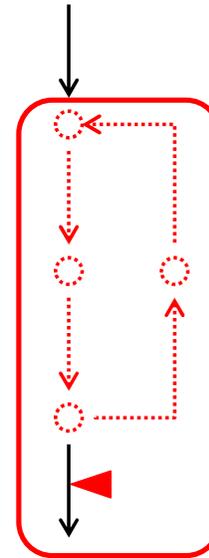
$$\begin{aligned} \#.\text{metabolite} - \#.\text{reaction} + \#.\text{cycle} \\ &= 1 - 1 + 0 \\ &= 0 \end{aligned}$$

metabolite with single output arrow  
is always “buffering structure”.

Example 2



$$\begin{aligned} \#.\text{metabolite} - \#.\text{reaction} + \#.\text{cycle} \\ &= 3 - 4 + 1 \\ &= 0 \end{aligned}$$



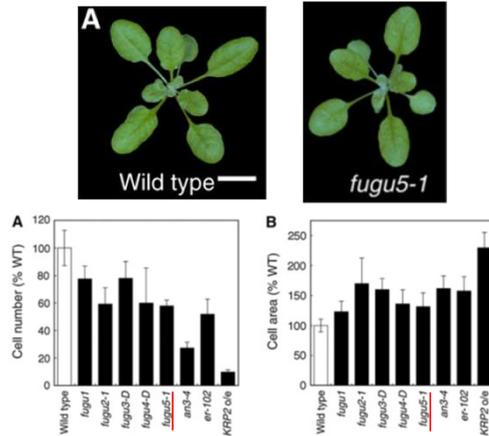
$$\begin{aligned} \#.\text{metabolite} - \#.\text{reaction} + \#.\text{cycle} \\ &= 4 - 5 + 1 \\ &= 0 \end{aligned}$$

・緩衝構造とは、局所構造だけからきまる制御のモジュール(単位構造)

# Example 3

# Arabidopsis metabolism

collaboration with  
 Ali Ferjani (Gakugei Univ),  
 Hirokazu Tsukaya (Univ Tokyo),  
 Masami Y. Hirai (RIKEN)

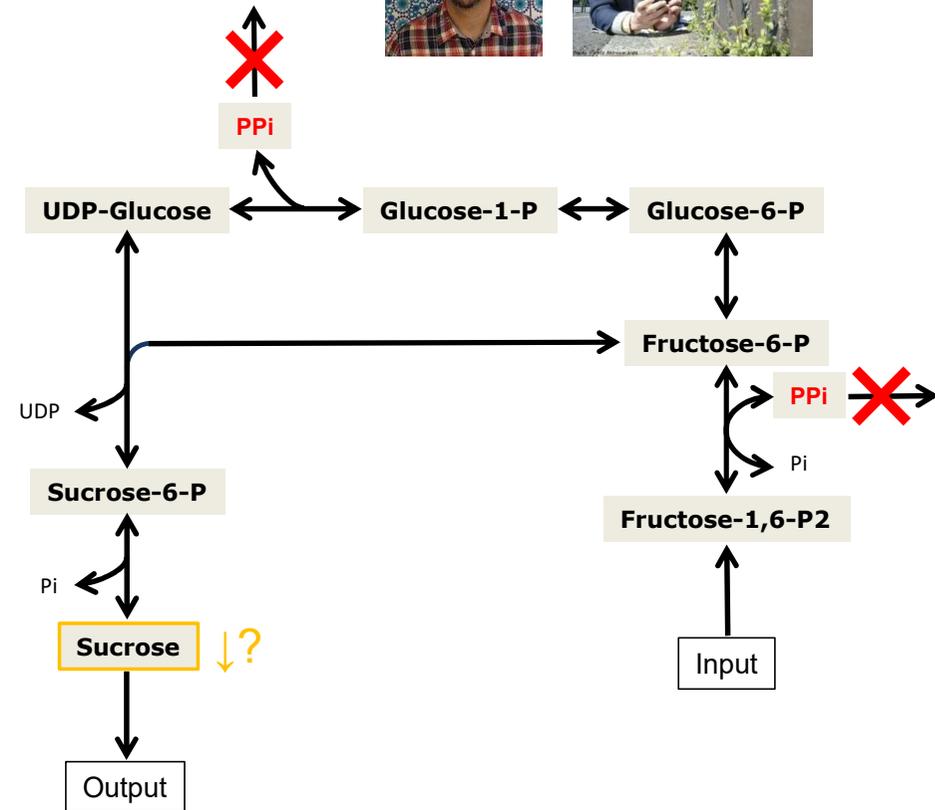


## fugu5 mutant

- compensation between cell-proliferation↓ and cell-expansion↑
- **Decrease** in **Sucrose** production
- Defect of H<sup>+</sup>-pyrophosphatase (H<sup>+</sup>-PPase)

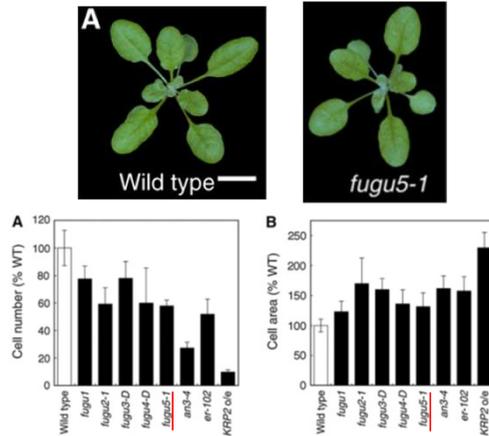
## Story:

PPase break down  
 ⇒ Sucrose↓  
 ⇒ Phenotypes



# Example 3

## Arabidopsis metabolism



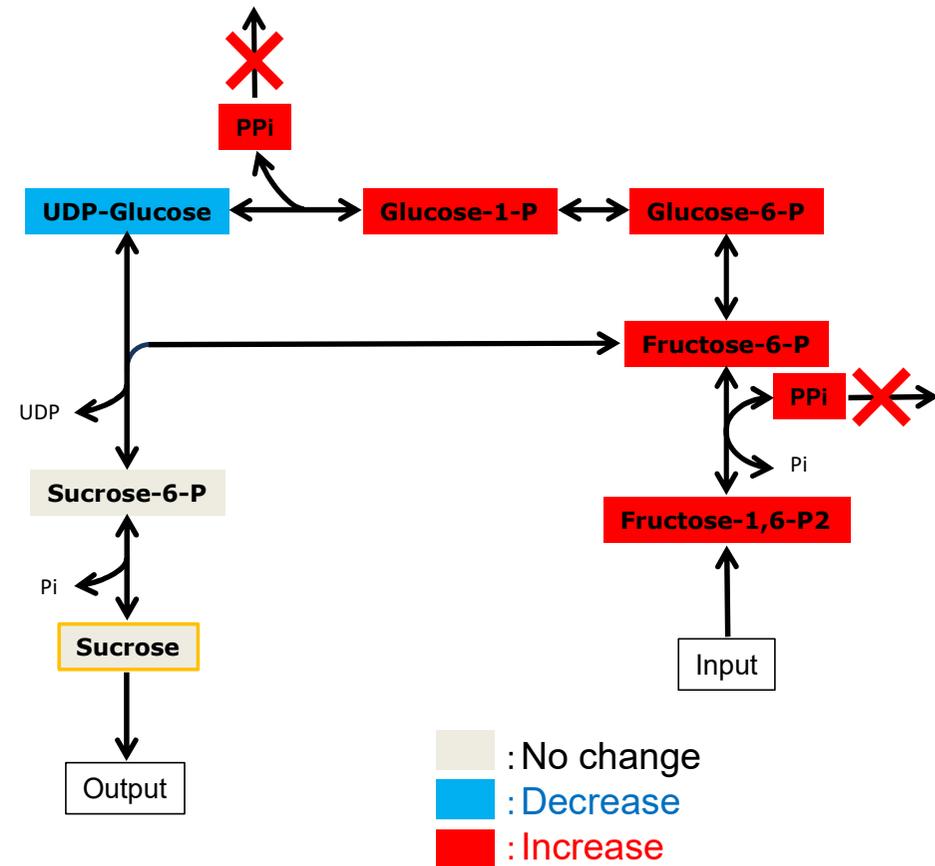
*fugu5* mutant

- compensation between cell-proliferation ↓ and cell-expansion ↑
- Decrease in Sucrose production
- Defect of H<sup>+</sup>-pyrophosphatase (H<sup>+</sup>-PPase)

Story:

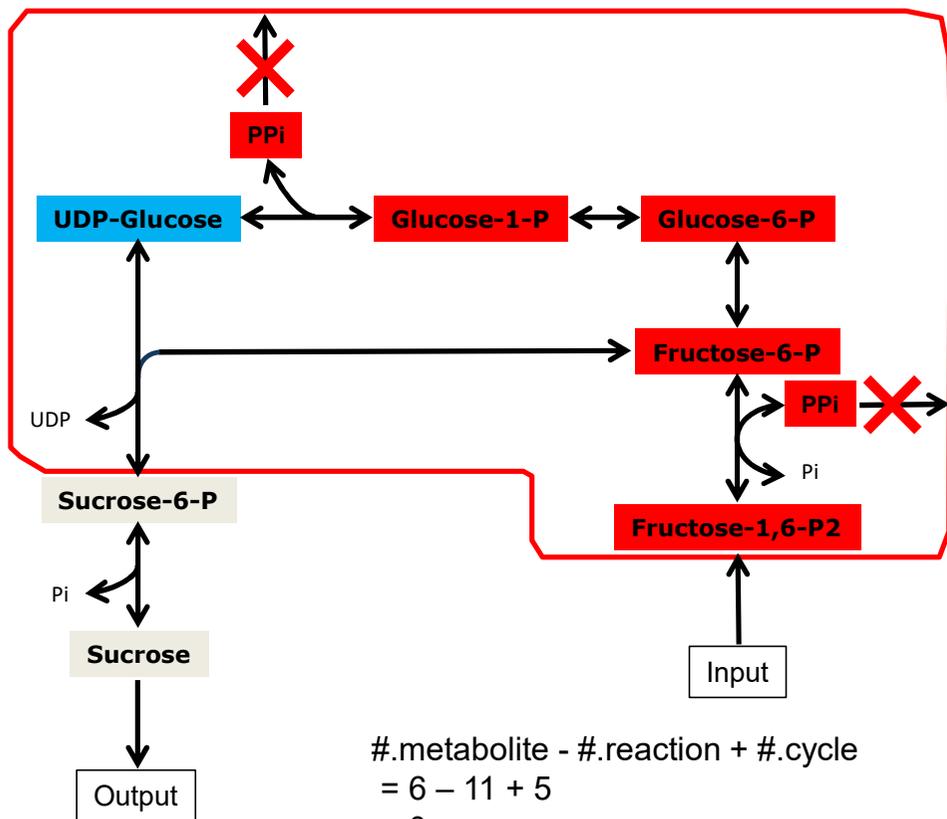
PPase break down  
 ⇒ Sucrose ↓  
 ⇒ Phenotypes

### Theoretical Analysis



Observation cannot be explained by the network → examine network

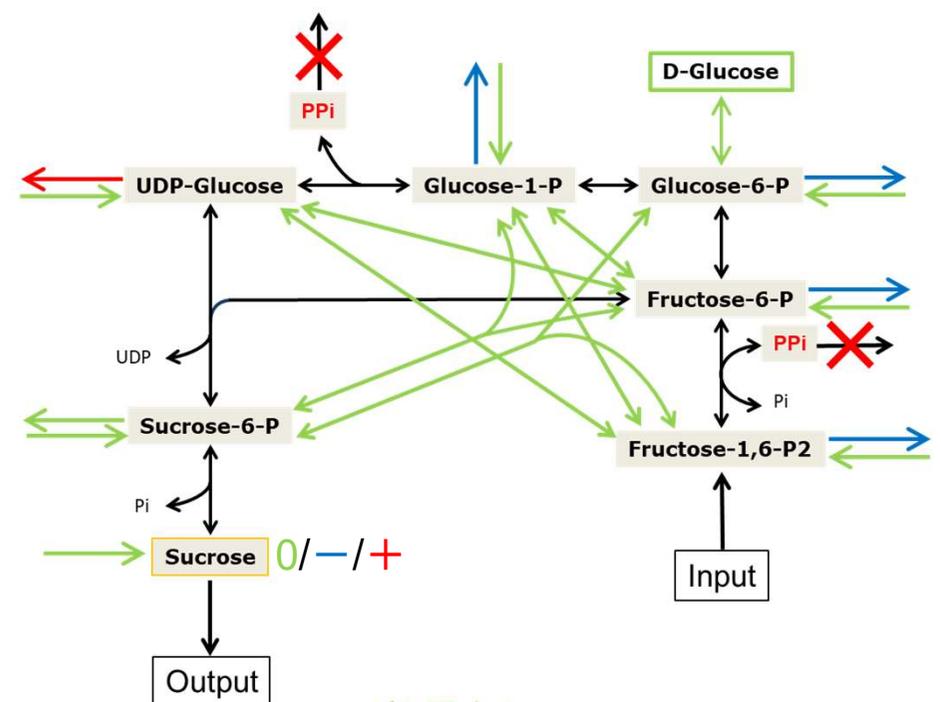
## 緩衝構造



$$\begin{aligned} \#.\text{metabolite} - \#.\text{reaction} + \#.\text{cycle} \\ &= 6 - 11 + 5 \\ &= 0 \end{aligned}$$

- : No change
- : Decrease
- : Increase

## ネットワーク改変の効果



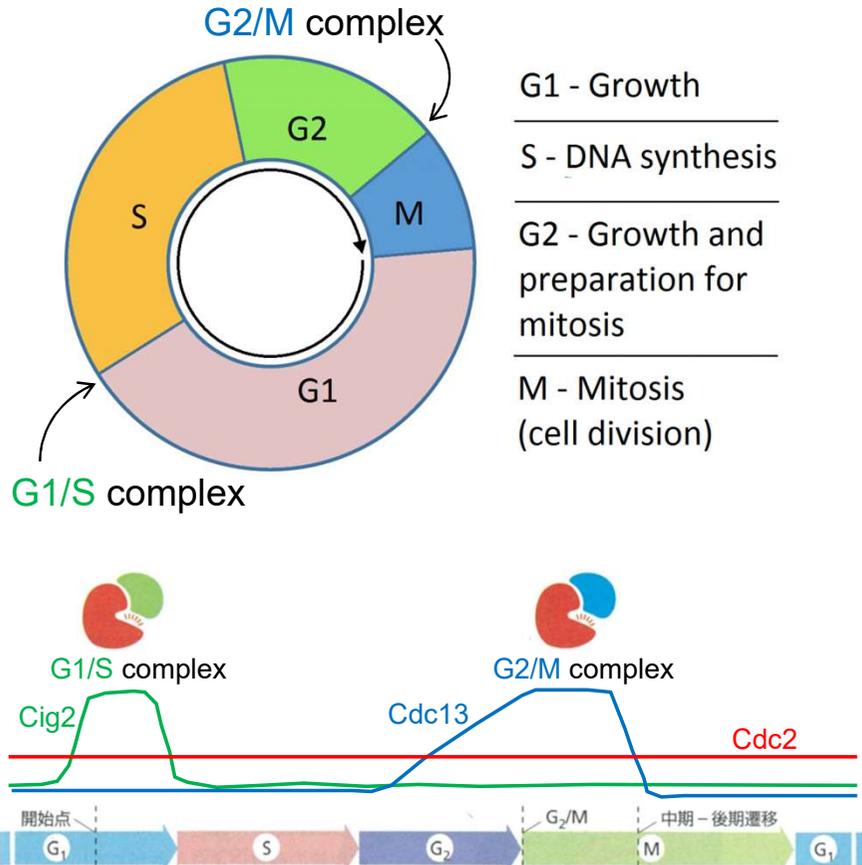
- : 効果なし
- : Sucrose減少 (観測と合致)
- : Sucrose増加 (観測と逆)

Ferjani et al. (2018) *Sci. Rep.* **8**, 14696.

未知の化学反応を「必要条件」として予測

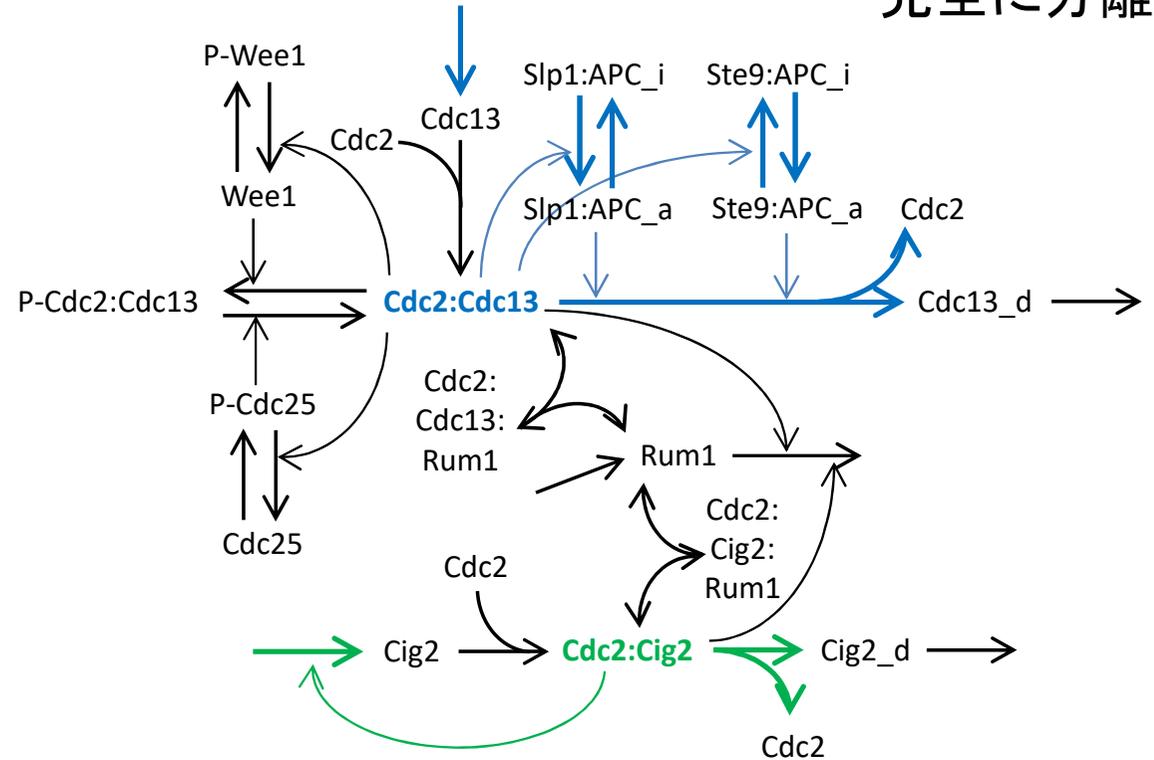
# 例4: 細胞周期システム

Cyclin-Cdk複合体によるcheckpoint 制御



→: G1/S複合体の量を変化させる反応パラメータ  
 →: G2/M複合体の量を変化させる反応パラメータ

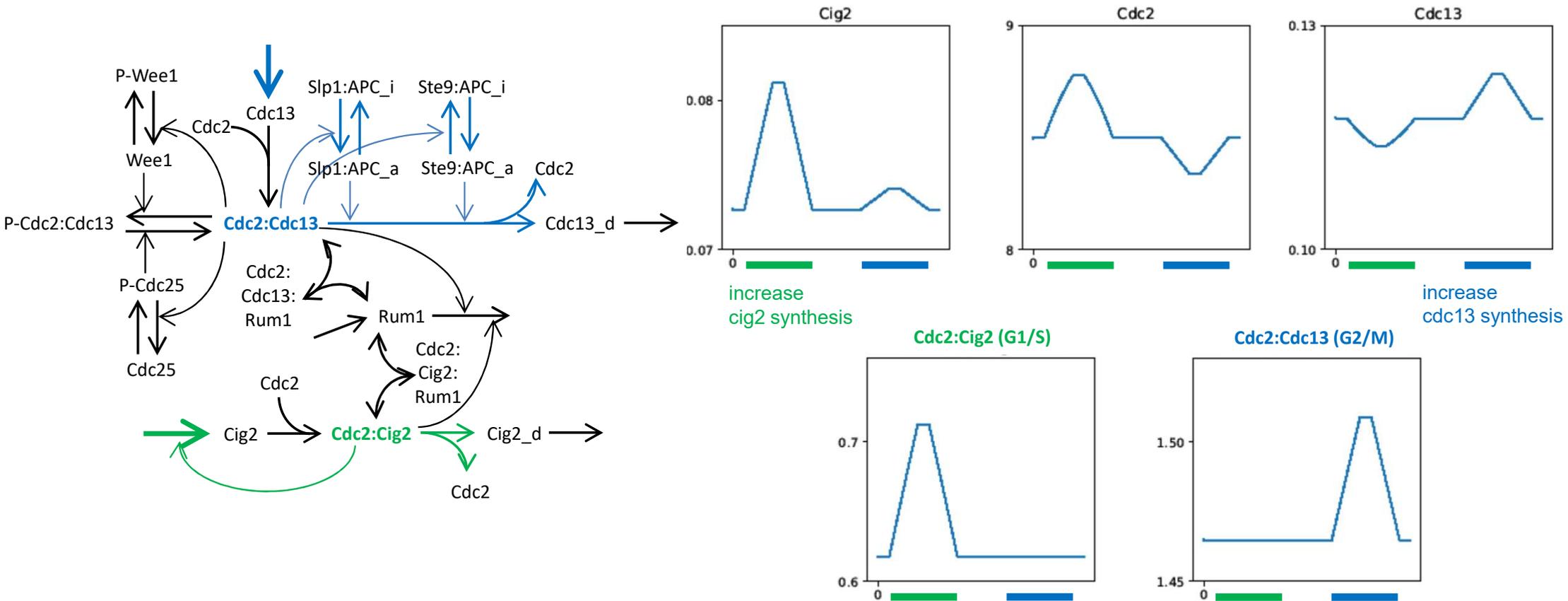
完全に分離



「一方が増えたらもう一方が減る」ということは無い

# 細胞周期制御の数値シミュレーション

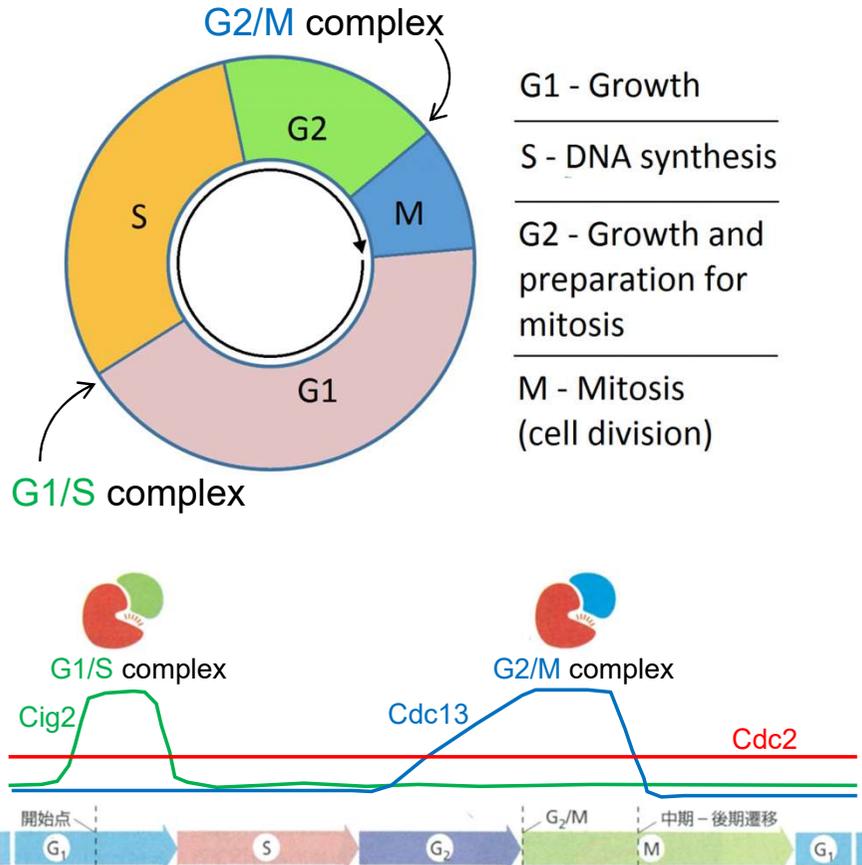
ダイナミクスを計算しながら、Cig2合成速度、Cdc13合成速度を変化



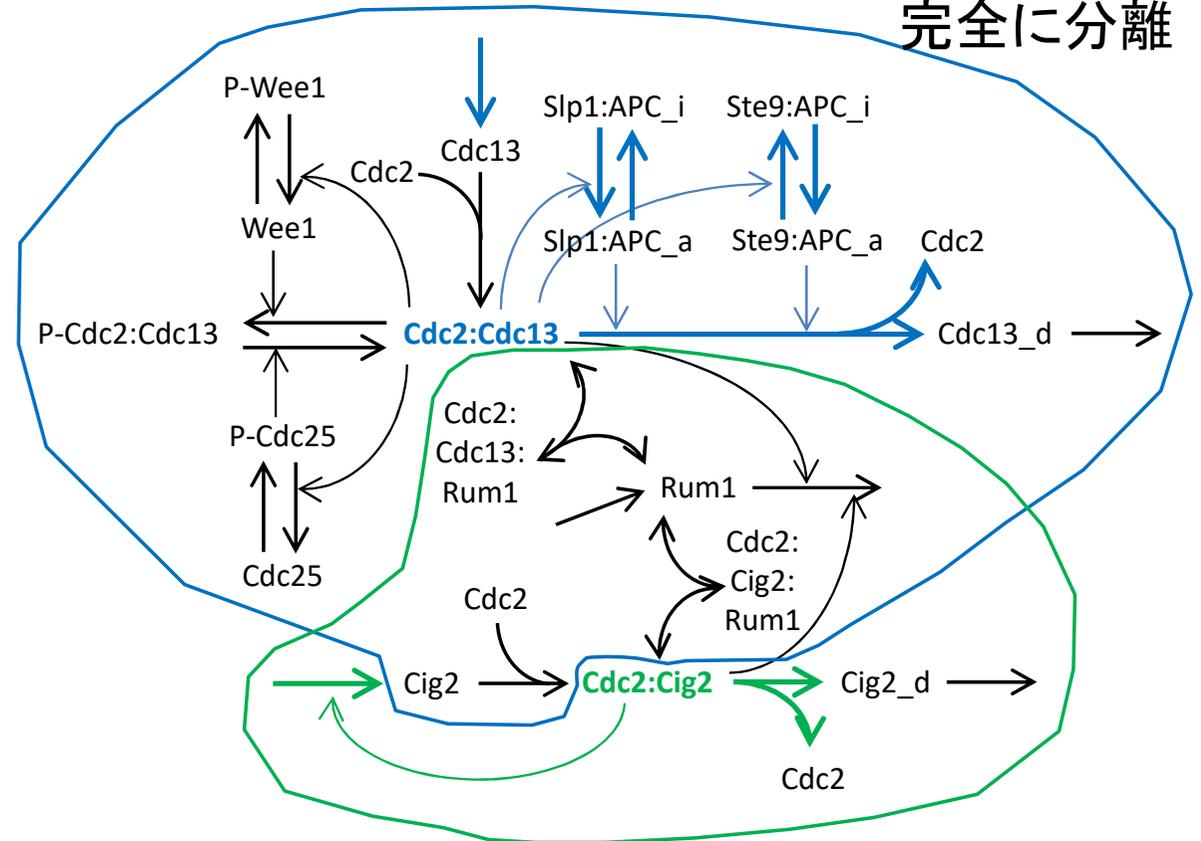
G1/S複合体が大きく変化しているとき、G2/M複合体は全く変化なし。逆も同様。

# 例4: 細胞周期システム

Cyclin-Cdk複合体によるcheckpoint 制御



→: **G1/S複合体**の量を変化させる反応パラメータ  
 →: **G2/M複合体**の量を変化させる反応パラメータ



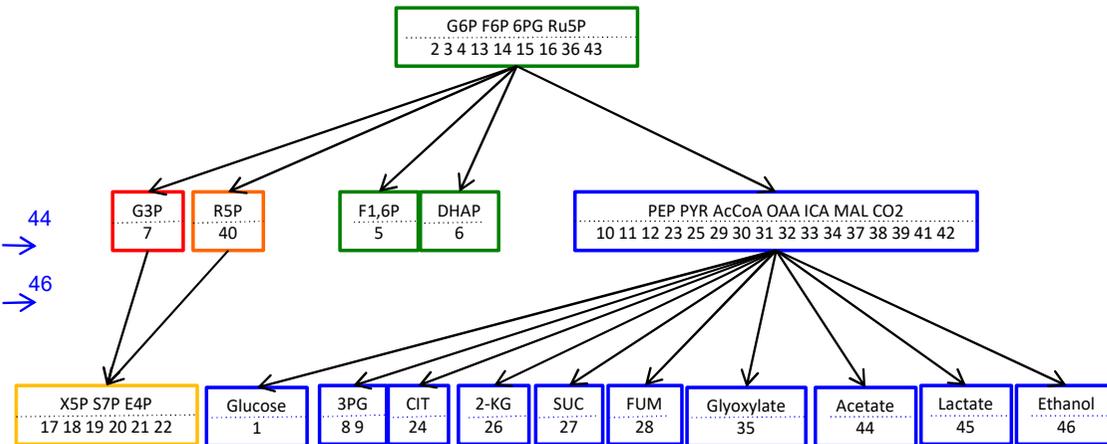
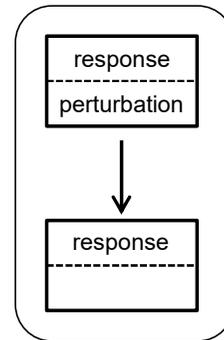
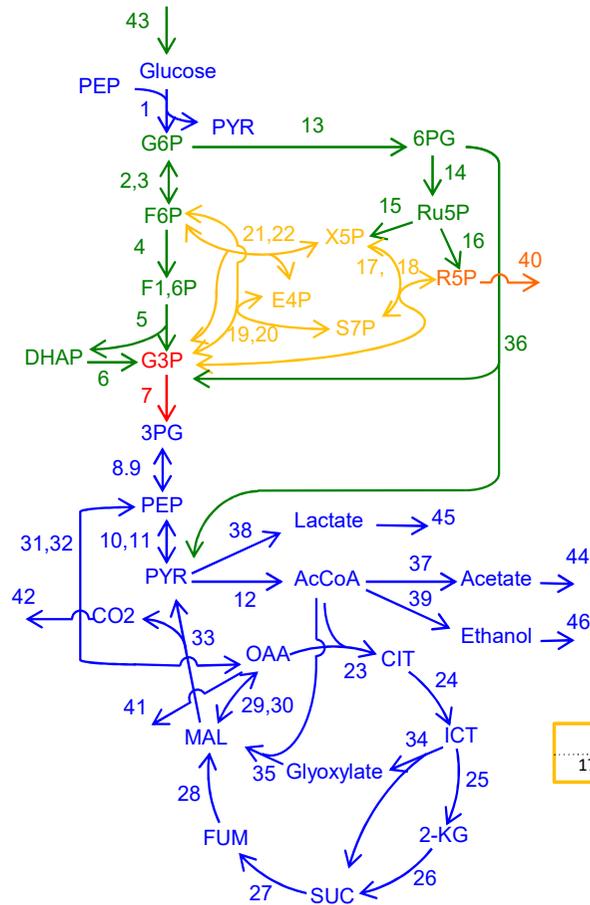
○: **G1/S複合体**を含む最大の緩衝構造  
 ○: **G2/M複合体**を含む最大の緩衝構造

緩衝構造により、チェックポイントの完全な独立制御が実現されている



# 限局性と階層性

E. coli carbon metabolism

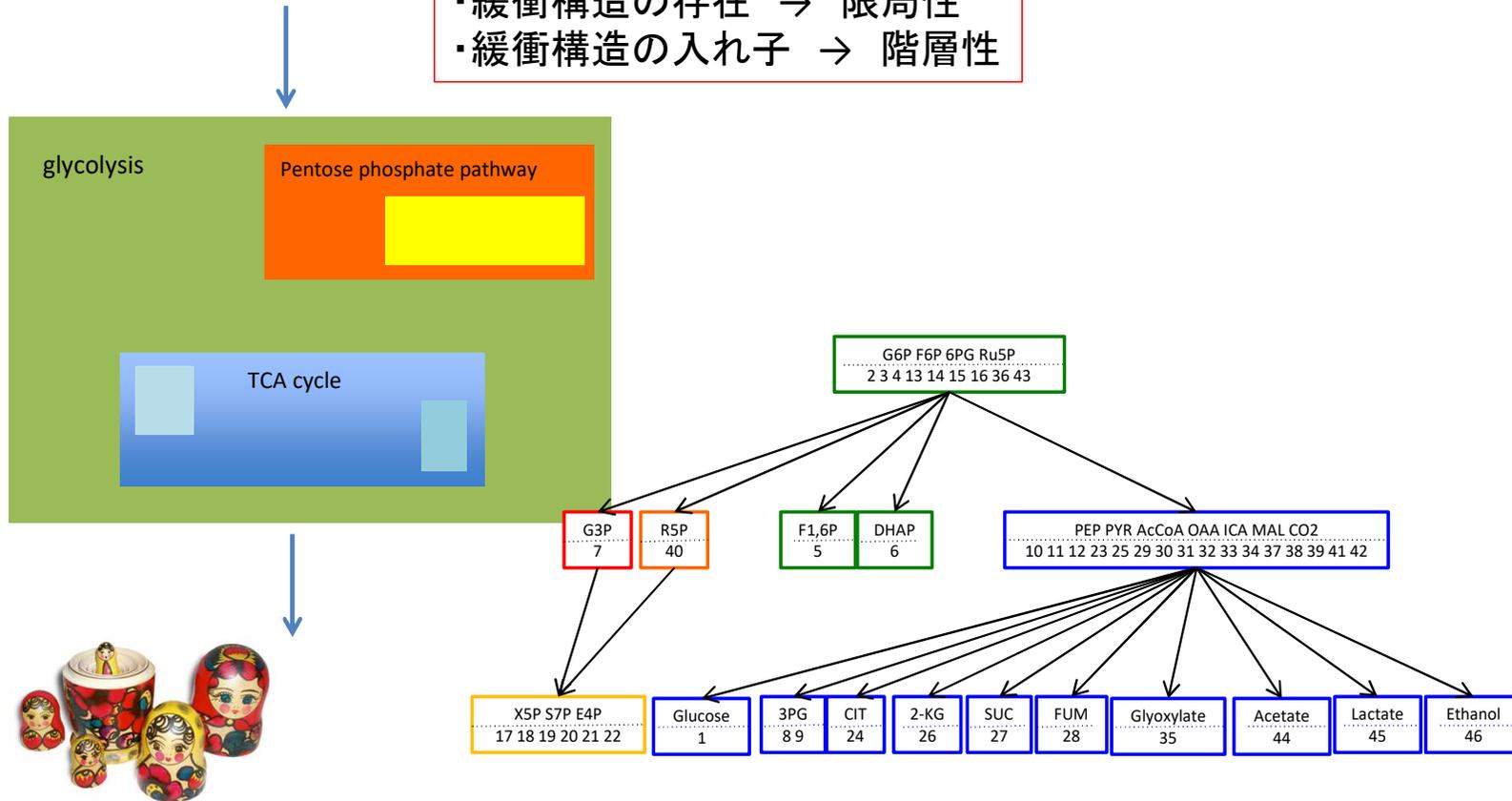


- ・Non-zeroの応答は限局する。
- ・限局パターンは包含関係を示す。

Mochizuki A. & Fiedler B. (2015) *J. Theor. Biol.* **367**, 189-202.  
 Okada T. & Mochizuki A. (2016) *Phys. Rev. Lett.* **117**, 048101

# 緩衝構造 ⇒ 応答パターン

- ・緩衝構造の存在 → 限局性
- ・緩衝構造の入れ子 → 階層性



E. coli中心代謝系は**多重の防火扉**を備えた**頑健性を生むシステム**

# まとめ

酵素パラメータの摂動  $\delta k_j$  に対する、化学反応システムの定性的な応答  $\delta x_m$  は、反応ネットワークの形だけから決定できる。

- (1) 摂動に対する応答は“興味深い”パターン、限局性と階層性を示す。
- (2) 応答パターンは、「限局則」により、局所構造だけから理解できる。
- (3) 測定結果と、理論予測との比較から、未知の反応の存在を予測できる。

「緩衝構造」は、**恒常性や頑健性の起源**だと考えられる。  
さらに恒常性を保ったままでの**複雑システムの制御**も可能にしている、と考えられる。

Mochizuki A. & Fiedler B. (2015) *J. Theor. Biol.* **367**, 189-202.  
Okada T. & Mochizuki A. (2016) *Phys. Rev. Lett.* **117**, 048101  
Okada T. & Mochizuki A. (2017) *Phys. Rev. E* **96**, 022322

# Structural Theories

## 構造理論

### Linkage Logic

制御ネットワーク

ネットワーク構造 -> 重要な分子

### Structural Sensitivity analysis

化学反応ネットワーク

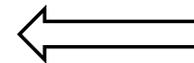
ネットワーク構造 -> 摂動に対する応答

### Structural Bifurcation Analysis

化学反応ネットワーク

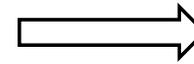
ネットワーク構造 -> 分岐の定性的性質

Network  
information



### Experiment

- Network analysis
- Measuring
- Perturbation

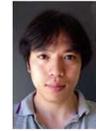


Prediction  
without  
assuming details

生物学の問題意識からスタートし、  
生物現象に限らず広く一般に適用可能な数理法則が得られた。

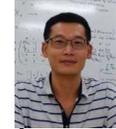
# 共同研究者

前田 一貴 (関西学院大学)



岡田 崇 (理研・iTHEMS)

蔡 志強 (台湾国立精華大)



Bernold Fiedler (Free Univ. Berlin)

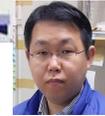
山内 悠平 (京都大・ウイルス再生研)



佐藤 ゆたか (京都大・理)

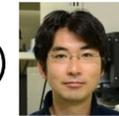


小林 健司 (京都大・理)



徳岡 三紀 (京都大・理)

永樂 元次 (京都大・ウイルス再生研)



遊佐 宏介 (京都大・ウイルス再生研)



木立 尚孝 (東京大・新領域)

石川 雅人 (東京大・新領域)



# 理論生物学・数理生物学の教科書



理論生物学概論

望月敦史 著

共立出版 2021年4月刊行

313頁

第1章: 生命システム概論

第一部: 時間的な変動の数理

第2章: 合成と分解によるダイナミクス

第3章: 遺伝子調節システムとそのダイナミクス

第4章: 振動する生命システムI ー体内時計と分節時計ー

第5章: 振動する生命システムII ーシアノバクテリア体内時計ー

第二部: ネットワークの数理

第6章: 遺伝子調節システムと細胞の多様性

第7章: 調節ネットワークの構造とダイナミクス

第8章: 反応システムI ー酵素による制御ー

第9章: 反応システムII ー振る舞いの多様性と分岐ー

第三部: 時空間パターンの数理

第10章: 神経細胞と興奮系の数理

第11章: 反応拡散方程式とチューリングの拡散不安定性

第12章: 生物で見られる様々な自己組織的周期パターン

第13章: 自己組織的形態形成を実現する反応ネットワーク

第14章: 細胞極性

第15章: 細胞移動による形態形成

第16章: 形態形成と生体分子ダイナミクスの結合

- ・実際の生物現象に対する理論研究をトピックとして紹介し、同時に数理的手法を学べる教科書。
- ・理論に興味のある生命系の学生や、生物学に興味のある理論系の学生が主な対象。

カバーイラスト: 河本 宏 医師研所長

興味のある方は、手に取ってみてください。