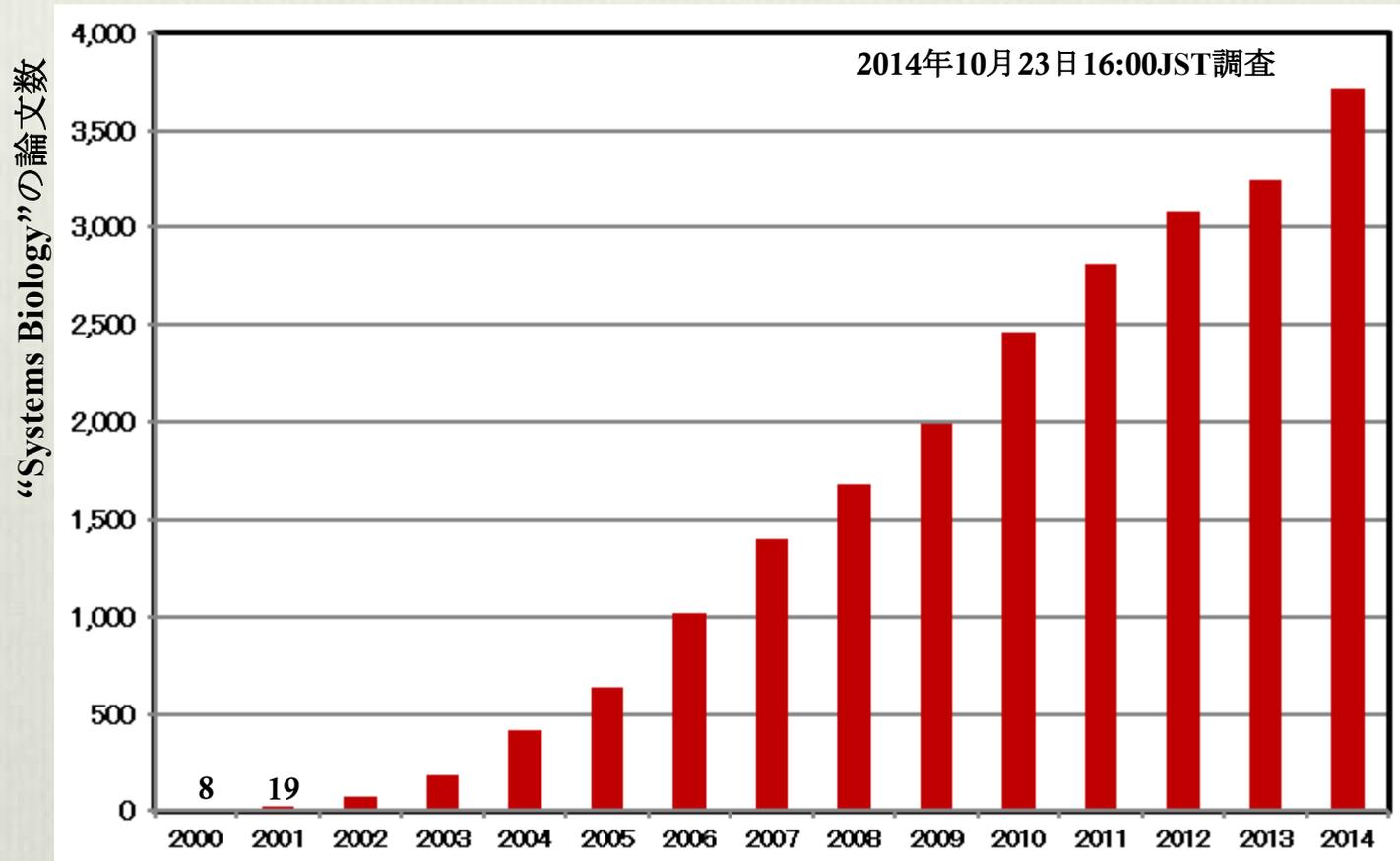


# 細胞の システム生物学

理化学研究所 HPCI計算生命科学推進プログラム  
江口 至洋 (yeguchi@riken.jp)



# システム生物学



- 研究領域としては、1952年のHodgkin-Huxleyモデルに代表されるように古くからあった。
- 言葉としては新しい。最近、急速に用いられるようになってきた言葉である。
- その守備範囲は広い。ここでは「細胞のシステム生物学」について話す。

# 細胞と化学反応

# 細胞

## ❖ 「細胞」の重要性

- ✓ 生命は細胞に始まり、細胞は生命の基本単位です

## ❖ 化学反応の位置付け

- ✓ 細胞の機能は、化学反応に担われています
- ✓ 個々の化学反応は孤立してはいず、単一の連結したネットワークを形成しています

# 細胞内化学反応

- ❖ 細胞内化学反応は極めて多様かつ複雑です
  - ❖ 反応場は動的でかつ不均質です
  - ❖ 反応分子が細胞内に数個しかない場合もあります
    - ✓  $10^{-11}\text{L}$ に10個の分子だと、 $1.66 \times 10^{-12}\text{M} = 1.66\text{pM}$ 。
  - ❖ 細胞内では生体分子の混雑現象がみられます
  - ❖ 化学反応には本質的な非線形の問題があります
  - ❖ **Multi-scale & Multi-sciences**が求められます
- 問題に合致した、近似的な実際的方法(良い理論)が必須です

# システム生物学における数理モデル

## 1. 研究対象と研究目的の明確化

- このがん細胞の自律的増殖促進能はどのように獲得されている？

## 2. 化学反応ネットワーク(モデル)の構築

- KEGGや関連論文から構築しよう。

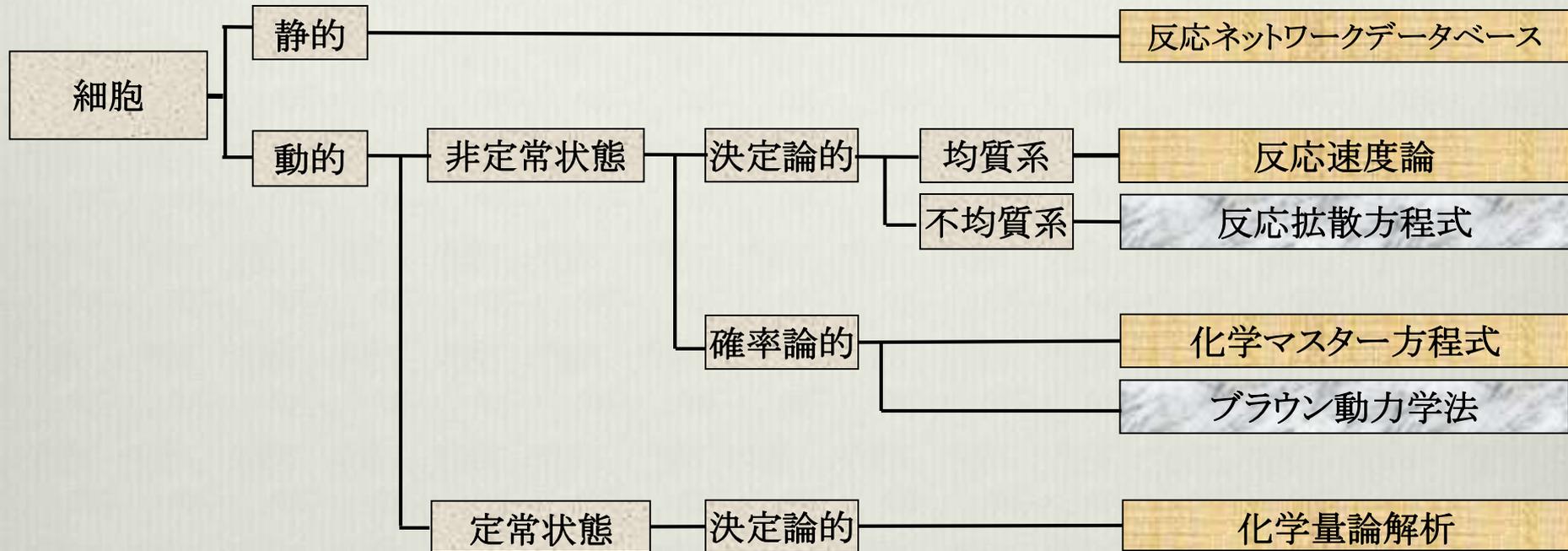
## 3. 「よい理論」に基づく数理モデルの作成と検証

- 近似的ではあるが、反応速度論で記述しよう。
- DNA損傷シグナルによる実験結果の検証をしよう。

## 4. 数理モデルを用いた生命現象のメカニズム解明 (予測と制御方策の検討)

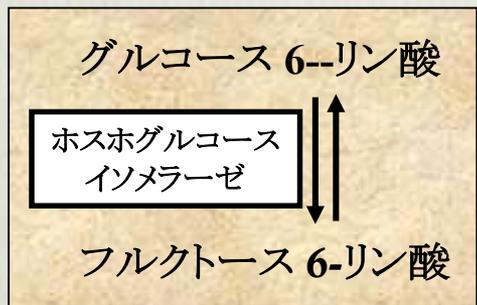
- 患者さんに有効な治療方法(例:カクテルドラッグ)はなんだろう。

# 数理モデルの体系

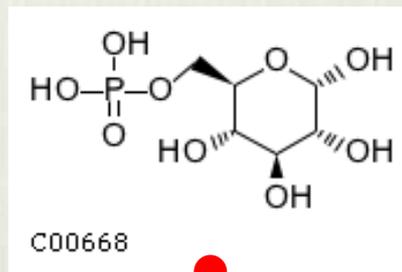


# 反応ネットワーク データベース

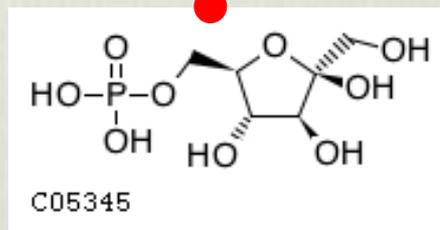
# 化学反応ネットワークの知識DB -KEGGを例に-



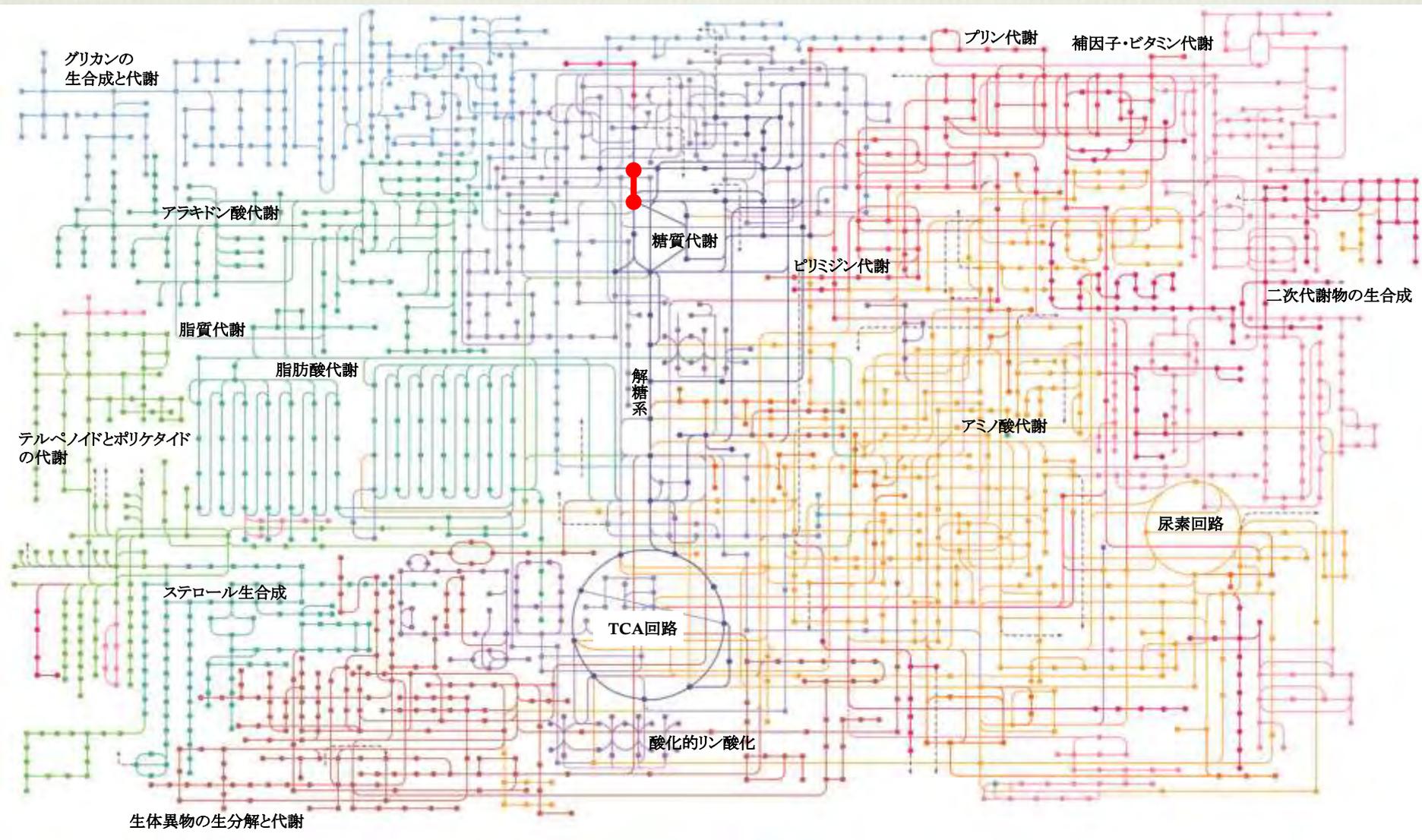
$$\frac{d[F6P]}{dt} = v = \frac{\frac{V_{\max}[G6P]}{K_m} - \frac{V_p[F6P]}{K_p}}{1 + \frac{[G6P]}{K_m} + \frac{[F6P]}{K_p}}$$



[EC:5.3.1.9]  
glucose-6-phosphate isomerase

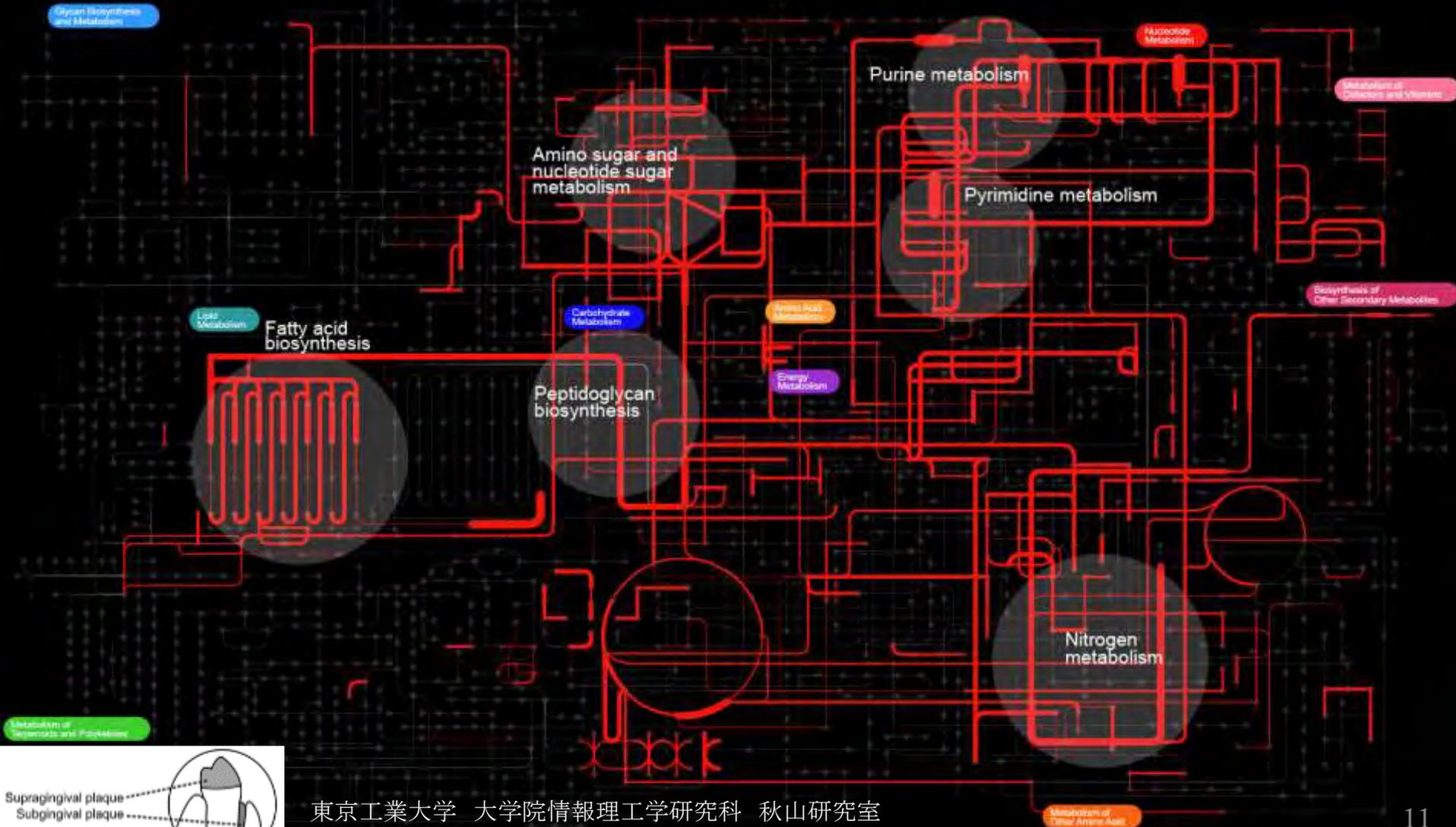


# 知識DBとしてのKEGG



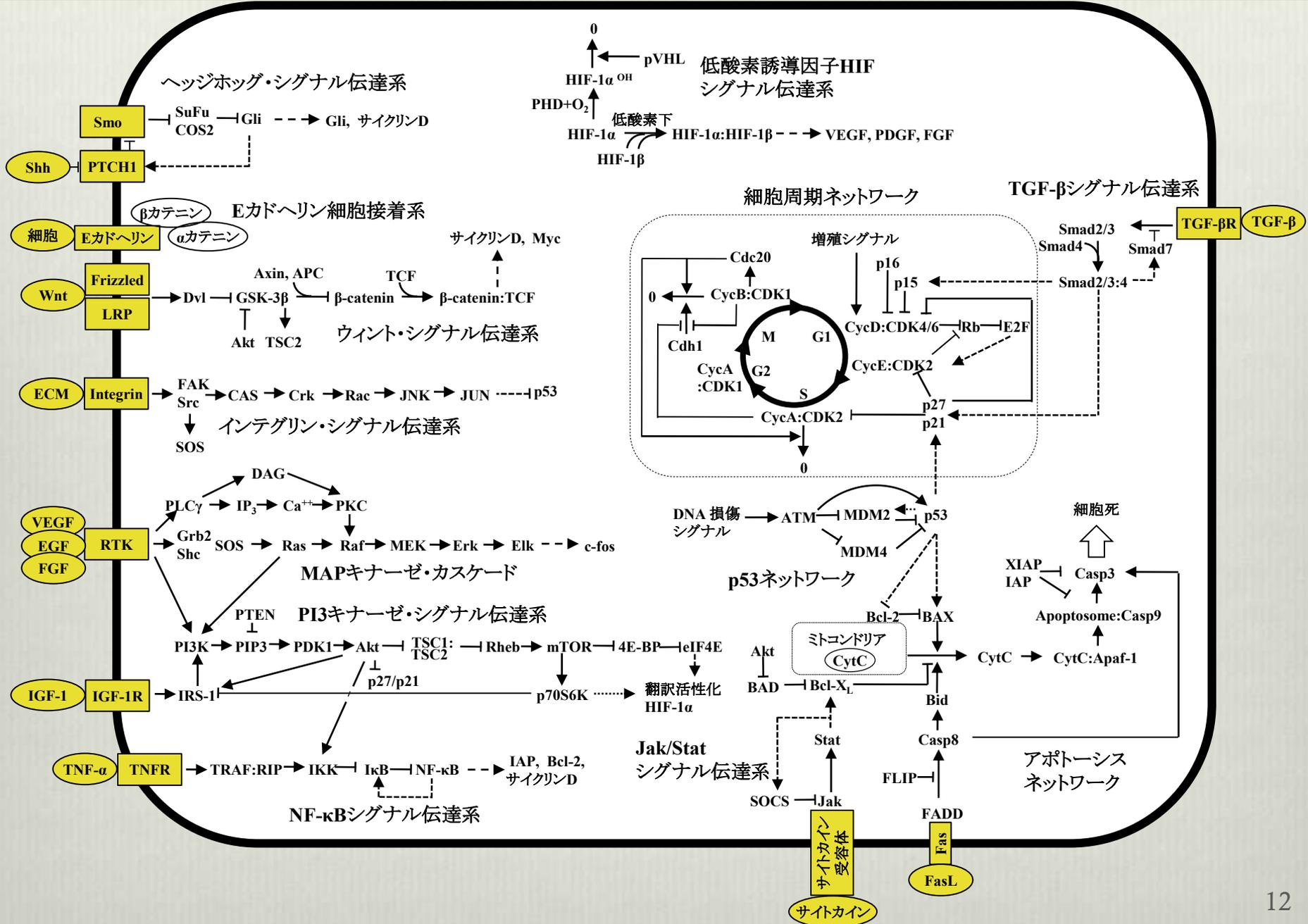
# 口腔内微生物群のメタゲノム解析

Active pathways for human oral microbiome (supragingival 歯肉縁上の)

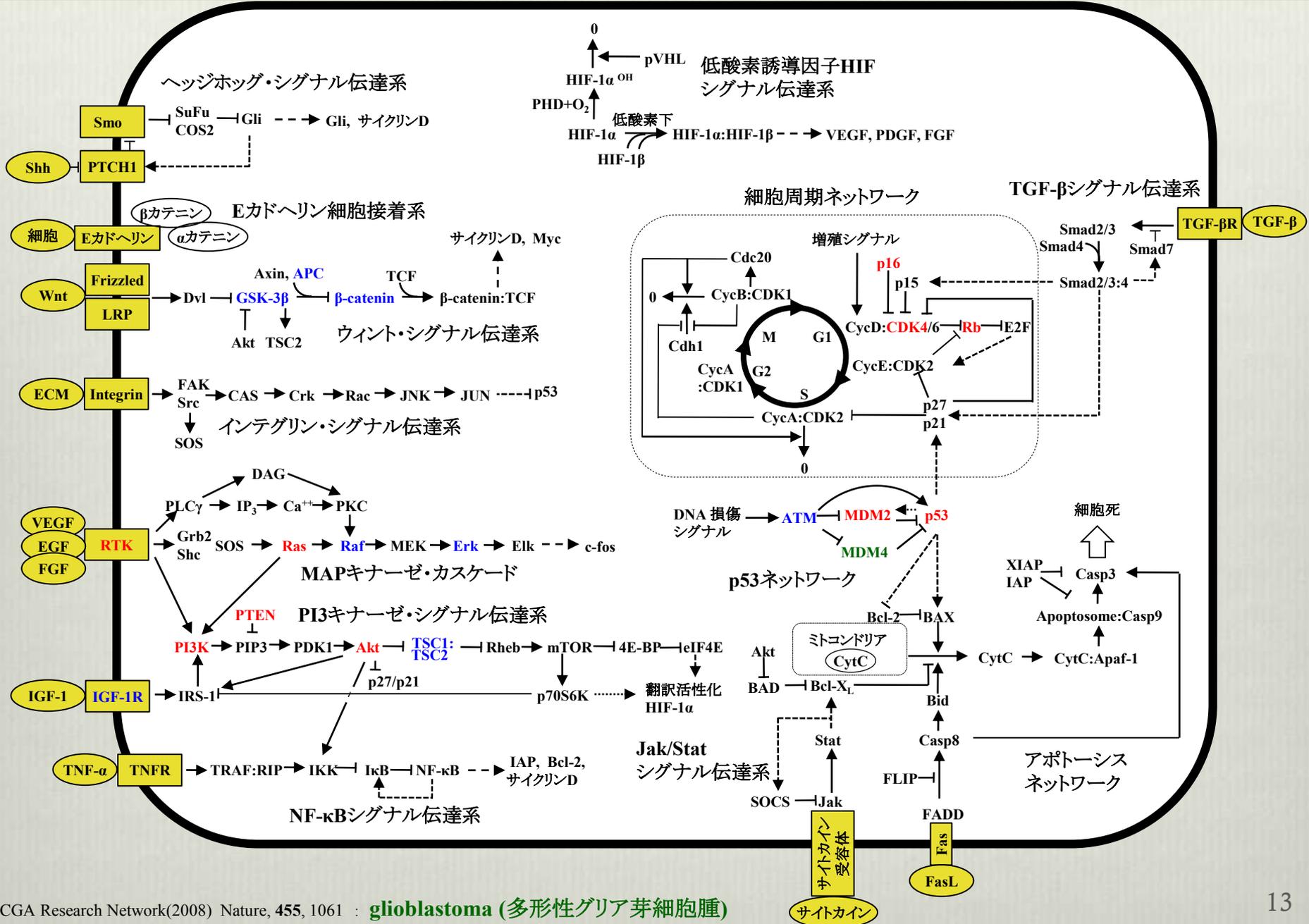


東京工業大学 大学院情報理工学研究科 秋山研究室  
大学院生命理工学研究科 黒川・山田研究室

# がん細胞に特徴的な反応ネットワーク



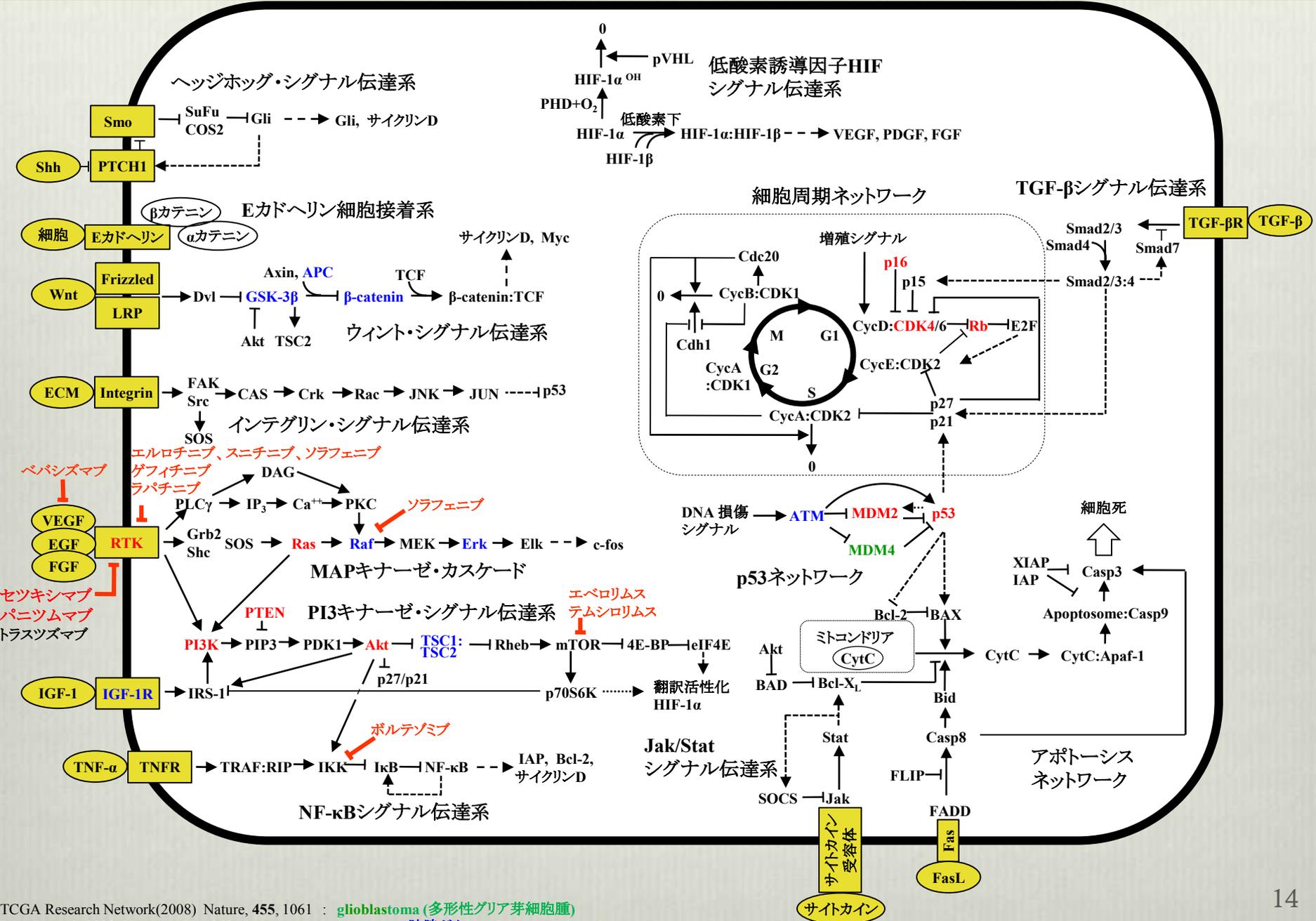
# がん細胞に特徴的な遺伝子変異



TCGA Research Network(2008) Nature, 455, 1061 : glioblastoma (多形性グリア芽細胞腫)

Ding L. et al.(2008) Nature, 455, 1069 : lung adenocarcinoma (肺腺がん), Cancer = lung adenocarcinoma + glioblastoma

# がんの分子標的薬



TCGA Research Network(2008) Nature, 455, 1061 : glioblastoma (多形性グリア芽細胞腫)  
 Ding L. et al.(2008) Nature, 455, 1069 : lung adenocarcinoma (肺腺がん)、 Cancer = lung adenocarcinoma + glioblastoma

# 反應速度論

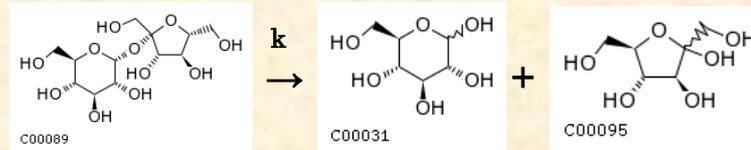
# 反応速度論の基本は3つ

1. **Wilhelmyの主張**
2. **Michaelis-Mentenのモデル**
3. **アロステリック酵素のモデル**
  - **MonodらやKoshlandらのモデル**

# 反応速度論の基礎 - 反応速度式 -

## 1850年 L.F.Wilhelmy

ショ糖のグルコースとフルクトースへの加水分解反応



でショ糖のモル濃度 $[A]$ の時間変化が微分方程式

$$\frac{d[A]}{dt} = -k[A]$$

で記述されることを示す。(注: 速度定数 $k$ の単位 $\text{sec}^{-1}$ )

- ① 反応速度式は時間に関して一階の微分方程式で記述される。
- ② 反応速度は濃度によって決まり、反応の進行に伴い濃度が増えるため、時間とともに反応速度は変化する。

$$\frac{dc_i(t)}{dt} = f_i(c_1, c_2, K, c_n)$$

# 反応速度論の基礎 - 反応速度式 -

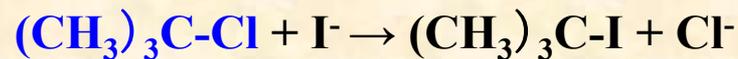
- ① 反応速度式は時間に関して一階の微分方程式で記述される。
- ② 反応速度は濃度によって決まり、反応の進行に伴い濃度が変化するため、時間とともに反応速度は変化する。

$$\frac{dc_i(t)}{dt} = f_i(c_1, c_2, K, c_n)$$

この関数形を決めるのは反応機構の解明に繋がります。簡単には決まりません！

一般に、

化学反応式



から

反応速度式

$$v = k[(\text{CH}_3)_3\text{C-Cl}]$$

を求めることはできません。

なぜ？

tertiary-ブチルクロライドはカルボニウム・イオンに自発的に開裂し、この段階が反応の律速段階です。

反応が素反応(一段階反応)の場合、

化学反応式



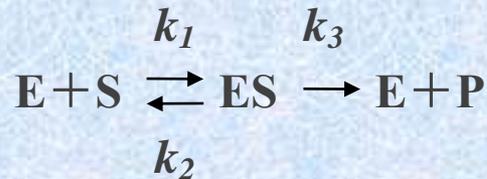
から反応速度式を

$$v = k[\text{A}][\text{B}]$$

と推計することは、衝突理論から合理的ではありません。

# 反応速度論の基礎 —Michaelis-Menten機構—

## ❖ Michaelis-Menten機構 (1913年)



## ❖ 速度式

$$\frac{d[\text{S}]}{dt} = -k_1[\text{E}][\text{S}] + k_2[\text{ES}]$$

$$\frac{d[\text{E}]}{dt} = -k_1[\text{E}][\text{S}] + k_2[\text{ES}] + k_3[\text{ES}]$$

$$\frac{d[\text{ES}]}{dt} = k_1[\text{E}][\text{S}] - k_2[\text{ES}] - k_3[\text{ES}]$$

$$\frac{d[\text{P}]}{dt} = k_3[\text{ES}]$$

- 酵素基質複合体ESの存在を仮定した。
- そして、3つの素反応を設定した。
  - $\text{E} + \text{S} \rightarrow \text{ES}$  速度式  $v_1 = k_1[\text{E}][\text{S}]$
  - $\text{ES} \rightarrow \text{E} + \text{S}$  速度式  $v_2 = k_2[\text{ES}]$
  - $\text{ES} \rightarrow \text{E} + \text{P}$  速度式  $v_3 = k_3[\text{ES}]$

# 反応速度論の基礎 –Michaelis-Menten機構–

## Michaelis-Menten機構のMATLABプログラム

```
function MMreacriion
% Michaelis-Menten type enzyme reaction
% S + E <-> ES -> P + E
% dS/dt=-k1*E*S+k2*C,          dE/dt=-k1*E*S+k2*C+k3*C
% dC/dt= k1*E*S-k2*C+k3*C,    dP/dt= k3*C

global k1 k2 k3                % 速度定数
k1=1050; k2=300; k3=15;        % [k1]=1/mM/min, [k2]=[k3]=1/min
tspan=[0 100];                % 計算時間 0~100分
S0=10.0; E0=0.01; C0=0.0; P0=0.0; % 初期値
[t, y]=ode15s(@MMscheme, tspan, [S0; E0; C0; P0]); % stiffな微分方程式向き

figure(1)
plot(t, y(:, 1), 'k', t, 1000*y(:, 2), 'b', t, 1000*y(:, 3), 'g', t, y(:, 4), 'r')
xlabel('時間(分)', 'FontSize', 16);
ylabel('濃度(mM)', 'FontSize', 16, 'Rotation', 90);
legend('S', '1000*E', '1000*ES', 'P', 1);
grid on

function dydt=MMscheme(t, y)
global k1 k2 k3
r1=-k1*y(1)*y(2)+k2*y(3);      r2= k3*y(3);
dydt(1, 1)=r1;                 % S
dydt(2, 1)=r1+r2;              % E
dydt(3, 1)=-r1-r2;             % ES complex
dydt(4, 1)=r2;                 % P
```

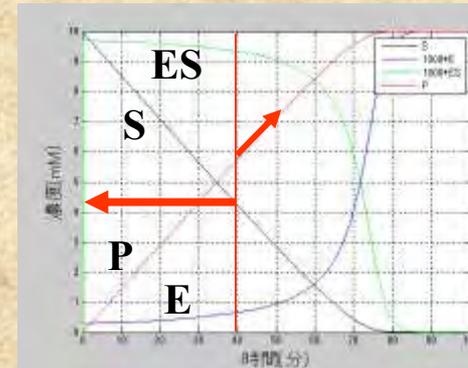
# 反応速度論の基礎 —Michaelis-Menten機構—

## Michaelis-Menten機構



$$k_1=1,050\text{mM}^{-1}\text{min}^{-1}, k_2=300\text{min}^{-1}, k_3=15\text{min}^{-1}$$

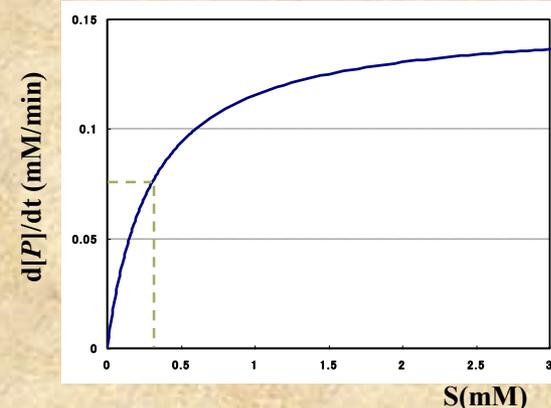
$$K_m=0.3\text{mM}, S_0=10\text{mM}, E_0=0.01\text{mM}$$



定常状態速度式( $d[ES]/dt = 0$ )

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

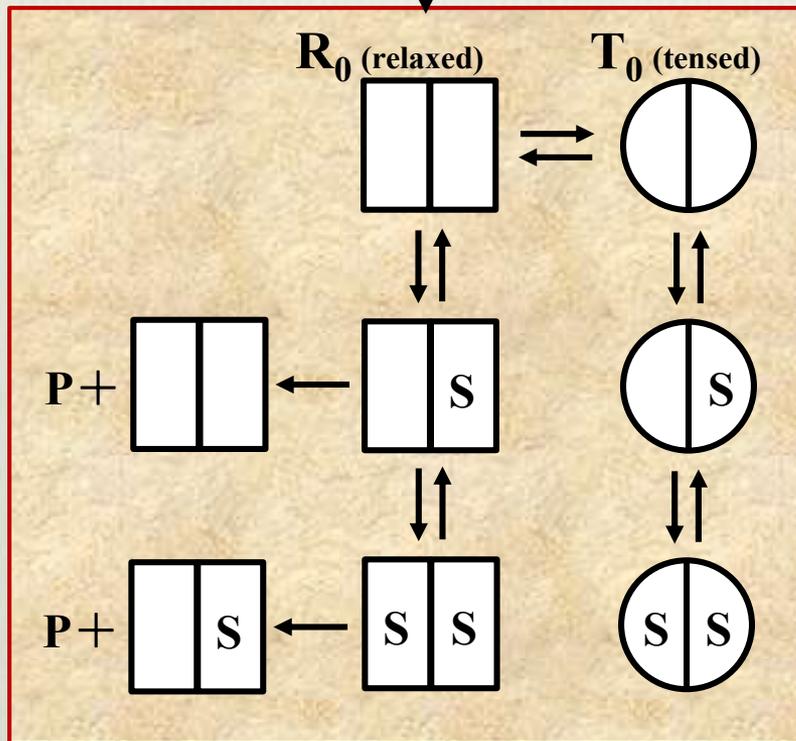
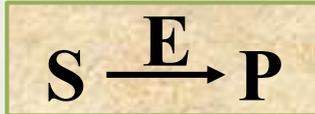
但し  $V_{\max} = k_3[E_0]$ ,  $K_m = (k_2 + k_3)/k_1$



一次速度式

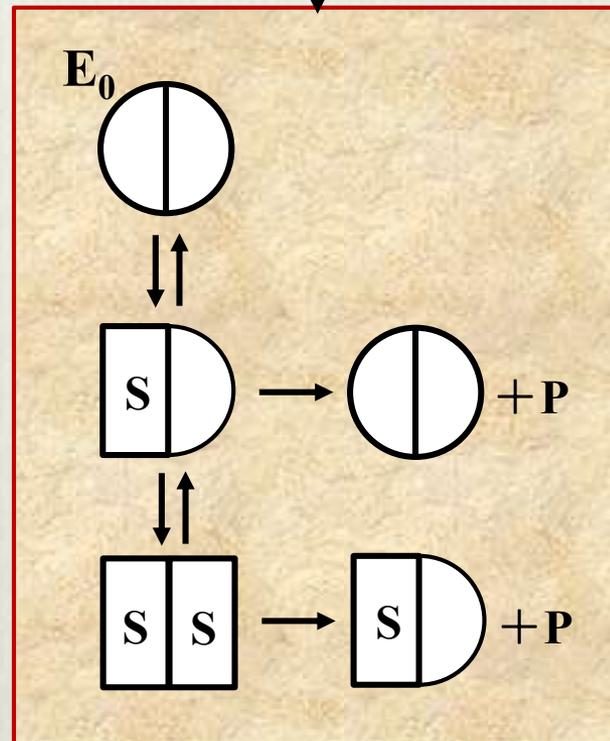
$$\frac{d[P]}{dt} = k[S]$$

# 反応速度論の基礎 - アロステリック酵素のモデル -



**Monod-Wyman-Changeux model**

$$\frac{v}{V_{\max}} = \frac{S / K_R (1 + S / K_R)}{L(1 + S / K_T)^2 + (1 + S / K_R)^2}$$



**Koshland-Némethy-Filmer model**

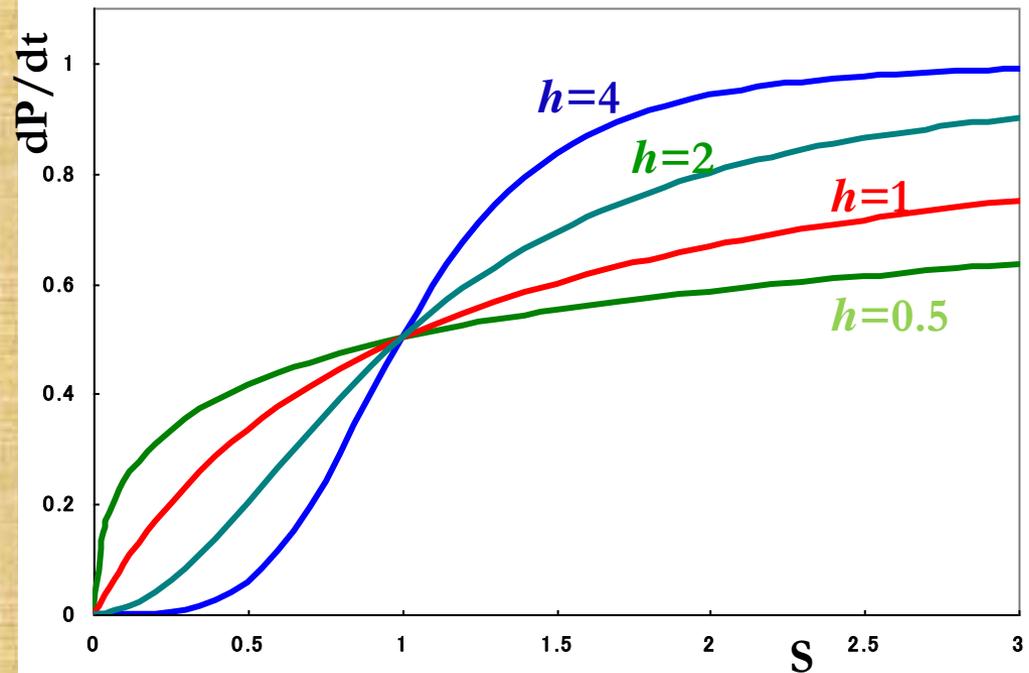
$$\frac{v}{V_{\max}} = \frac{S(K_{SS} + S)}{K_S K_{SS} + K_{SS} S + S^2}$$

# 反応速度論の基礎 - アロステリック酵素のHillモデル -



迅速平衡を仮定すると

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

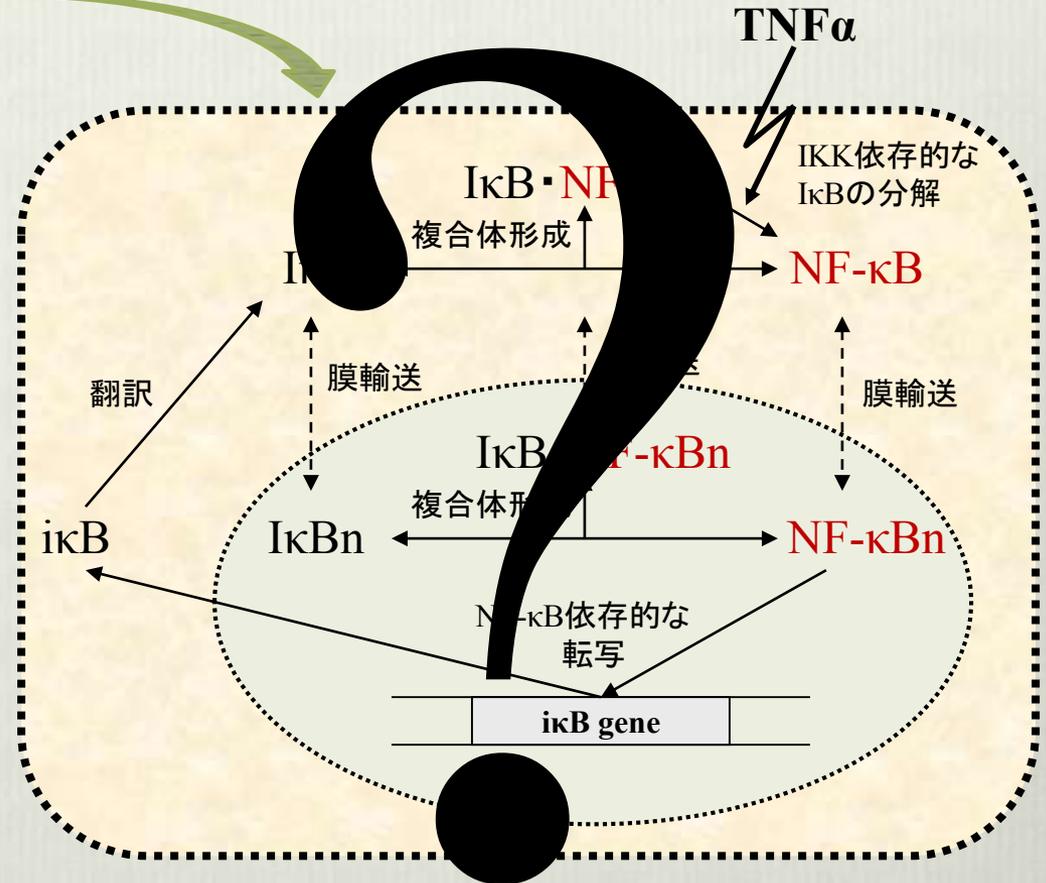


# NF-κBシグナル伝達系

## モデル化

培養細胞を用いた実験結果:

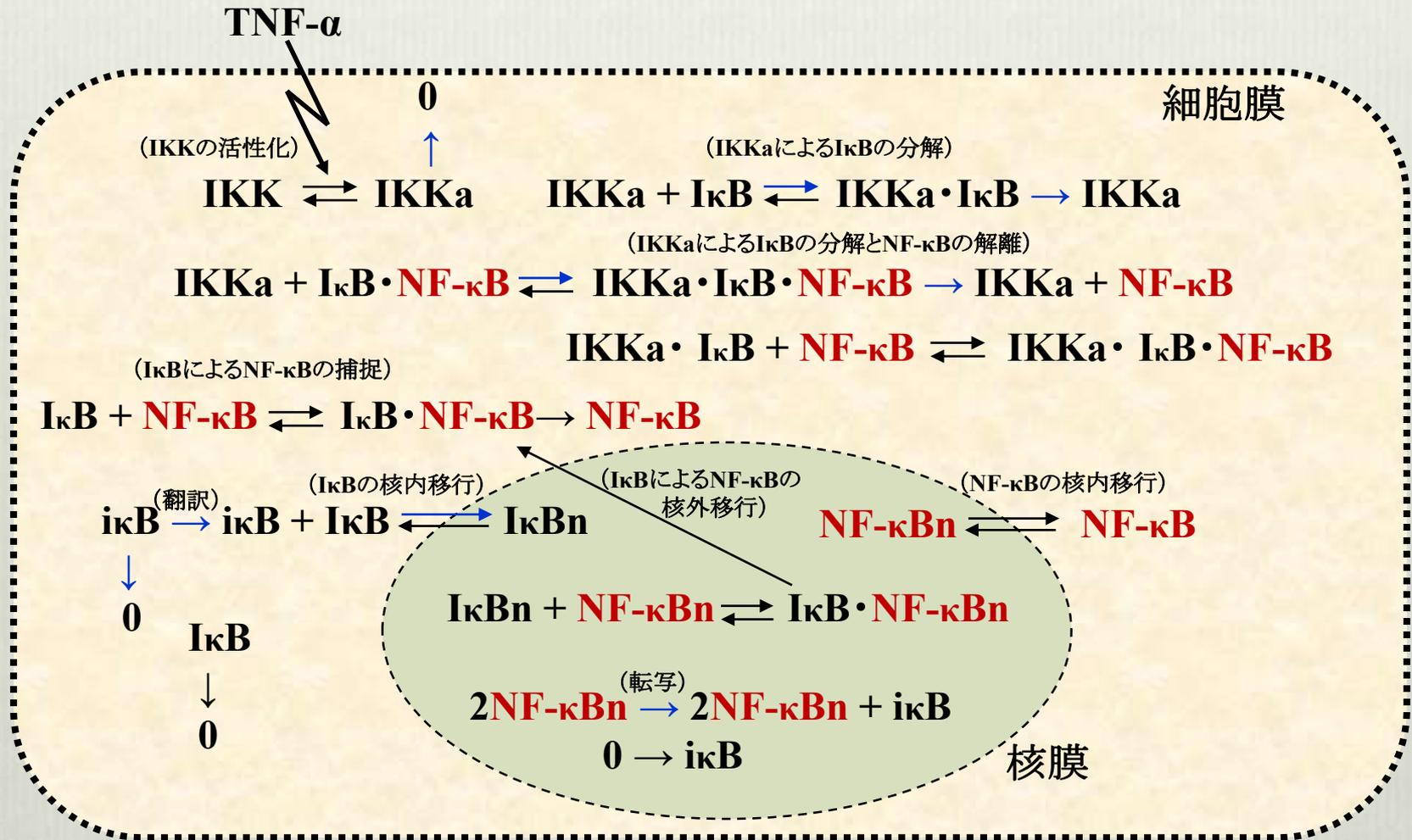
- 培養細胞にTNFαで刺激を与えると
- NF-κBは細胞質と核内の間を周期的に移動する。
- 核内のNF-κB濃度は周期90分～120分で振動する



このモデルでいいか？

考えるべき分子はこれだけでいいか？

# NF-κBシグナル伝達系のモデル



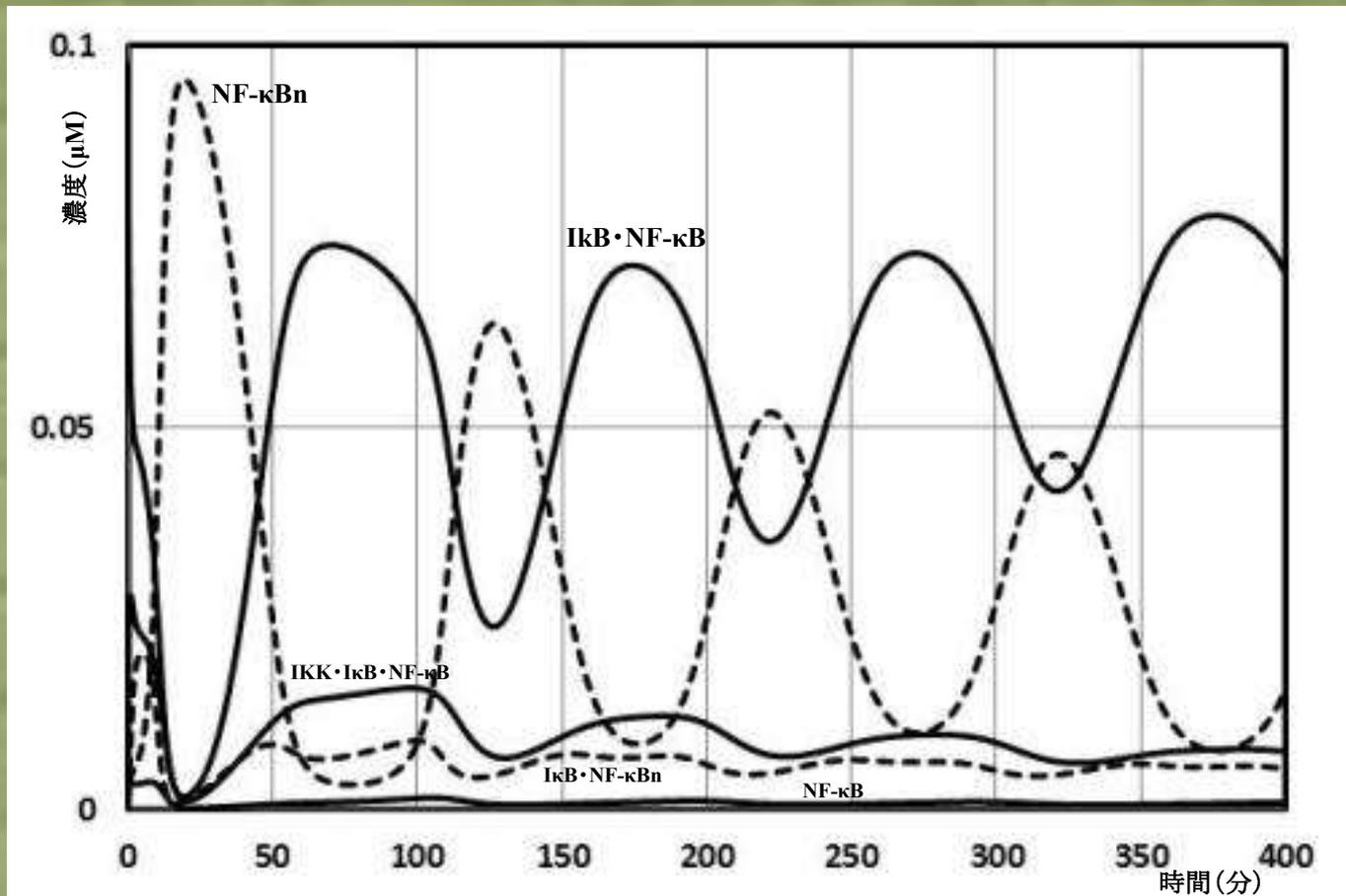
# NF- $\kappa$ Bシグナル伝達系の数理モデル

## MATLABを用いたプログラム

```
function ohoff
% Hoffmann A et al.(2002) Science, vol.298, 1241
% Unit: Time(minute), Concentration( $\mu$ M)
% 1:NF $\kappa$ B,2:NF $\kappa$ Bn,3:I $\kappa$ B mRNA,4:I $\kappa$ B,5:I $\kappa$ Bn,6:I $\kappa$ B-NF $\kappa$ B,7:I $\kappa$ B-NF $\kappa$ Bn,8:IKKa,9:IKKa-I $\kappa$ B,10:IKKa-I $\kappa$ B-NF $\kappa$ B
% [NF- $\kappa$ B]=0.1 $\mu$ M、他の濃度を0 $\mu$ Mとして3,000分のシミュレーションを行い、その時の濃度と[IKKa]=0.1 $\mu$ Mを初期値。
tspan=[0 400]; options=odeset('RelTol',1e-6 );
[t,y]=ode15s(@HoffScheme,tspan,[0.0003; 0.0004; 0.0055; 0.1805; 0.1440; 0.0975; 0.0018; 0.1; 0; 0],options);
figure(1)
plot(t,y(:,1),'b',t,y(:,2),'g',t,y(:,6),'r',t,y(:,7),'m',t,y(:,10),'k')
xlabel('時間(分)','FontSize',16); ylabel('濃度( $\mu$ M)','FontSize',16,'Rotation',90);
grid on

function dydt=HoffScheme(t,y)
a4=0.5*60; d4=0.0005*60; a1=0.0225*60; d1=0.00125*60; r1=0.00407*60; a7=0.185*60;
r4=0.0204*60; tr2=0.0165*60; tr2a=0.00000154*60; tr3=0.00028*60; tr1=0.00408*60;
deg1=0.000113*60; deg4=0.0000225*60; tp1=0.0003*60; tp2=0.0002*60;
k1=0.09*60; k01=0.00008*60; k2=0.0138*60; k02=0.00012*60;
x1=-a4*y(4)*y(1)+d4*y(6)-a4*y(9)*y(1)+(r4+d4)*y(10)+deg4*y(6)-k1*y(1)+k01*y(2);
x2=k1*y(1)-a4*y(5)*y(2)+d4*y(7)-k01*y(2);
x3=tr2a+tr2*y(2)*y(2)-tr3*y(3);
x4=-a1*y(8)*y(4)+d1*y(9)-a4*y(4)*y(1)+d4*y(6)+tr1*y(3)-deg1*y(4)-tp1*y(4)+tp2*y(5);
x5=tp1*y(4)-tp2*y(5)-a4*y(5)*y(2)+d4*y(7);
x6=a4*y(4)*y(1)-d4*y(6)-a7*y(8)*y(6)+d1*y(10)+k2*y(7)-deg4*y(6);
x7=a4*y(5)*y(2)-d4*y(7)-k2*y(7);
x8=-k02*y(8)-a1*y(8)*y(4)+(d1+r1)*y(9)-a7*y(8)*y(6)+(d1+r4)*y(10);
x9=a1*y(8)*y(4)-(d1+r1)*y(9)-a4*y(9)*y(1)+d4*y(10);
x10=a7*y(8)*y(6)+a4*y(9)*y(1)-(d1+d4+r4)*y(10);
dydt=[x1; x2; x3; x4; x5; x6; x7; x8; x9; x10];
```

# NF- $\kappa$ Bシグナル伝達系のシミュレーション結果

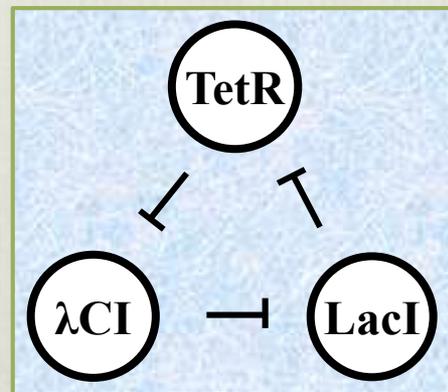


# 振動系を設計する: Repressilator

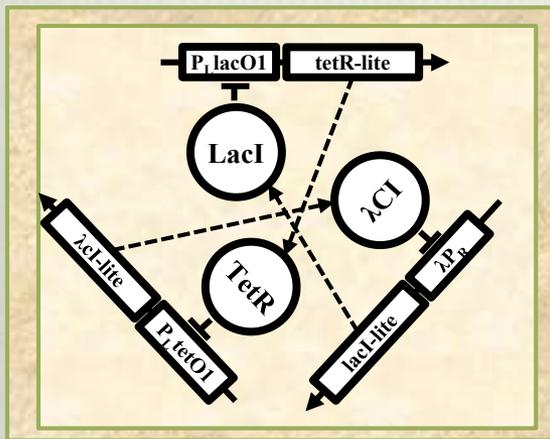
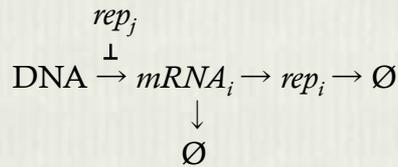
Elowitz MB& Leibler S (2000) A **synthetic oscillatory network** of transcriptional regulators, Nature, **403**, 335

細胞内の化学反応ネットワークの個々の要素を改変し、組み立てることにより、

- ❖ 新しい機能を生み出そう
- ❖ 反応ネットワークの設計原理を明らかにしよう



# 振動系を設計する: Repressilator



$$\frac{d[\text{mRNA}_i]}{dt} = -[\text{mRNA}_i] + \frac{\alpha}{1 + [\text{repressor}_j]^n} + \alpha_0$$

$$\frac{d[\text{repressor}_i]}{dt} = -\beta_1[\text{repressor}_i] + \beta_2[\text{mRNA}_i]$$

ただし、 $i = \text{lacI}, \text{tetR}, \lambda\text{cI}$ ;  $j = \lambda\text{cI}, \text{lacI}, \text{tetR}$

1. 高いプロモータ活性
2. レプレッサーによる強い抑制
3. タンパク質とmRNAの半減期は同程度

- $\lambda P_L$ プロモータに *lac* と *tet* のオペレータ配列を結合した2つのプロモータ  $P_L \text{tetO1}$ 、 $P_L \text{lacO1}$  と、プロモータ  $\lambda P_R$  を用いる
- レプレッサー・タンパク質のC末端に11残基からなるペプチド・タグをつける。  
(lacI-lite、 $\lambda\text{cI}$ -lite、tetR-lite)

# 振動系を設計する: Repressilator

```
function RepressilatorByElowitz
% Elowitz MB & Leibler S (2000) Nature, volume403, pp335-338
% y(:,1)=lacI, y(:,2)=LacI, y(:,3)=tetR, y(:,4)=TetR, y(:,5)=cI, y(:,6)=CI
% LacI -| TetR -| CI -| LacI
clear all;
global alpha alpha0 n beta1 beta2
tspan=[0 250];
alpha=100;
alpha0=.1;
n=2;
beta1=0.2;
beta2=0.5;
```

% 微分方程式を解き、描画する

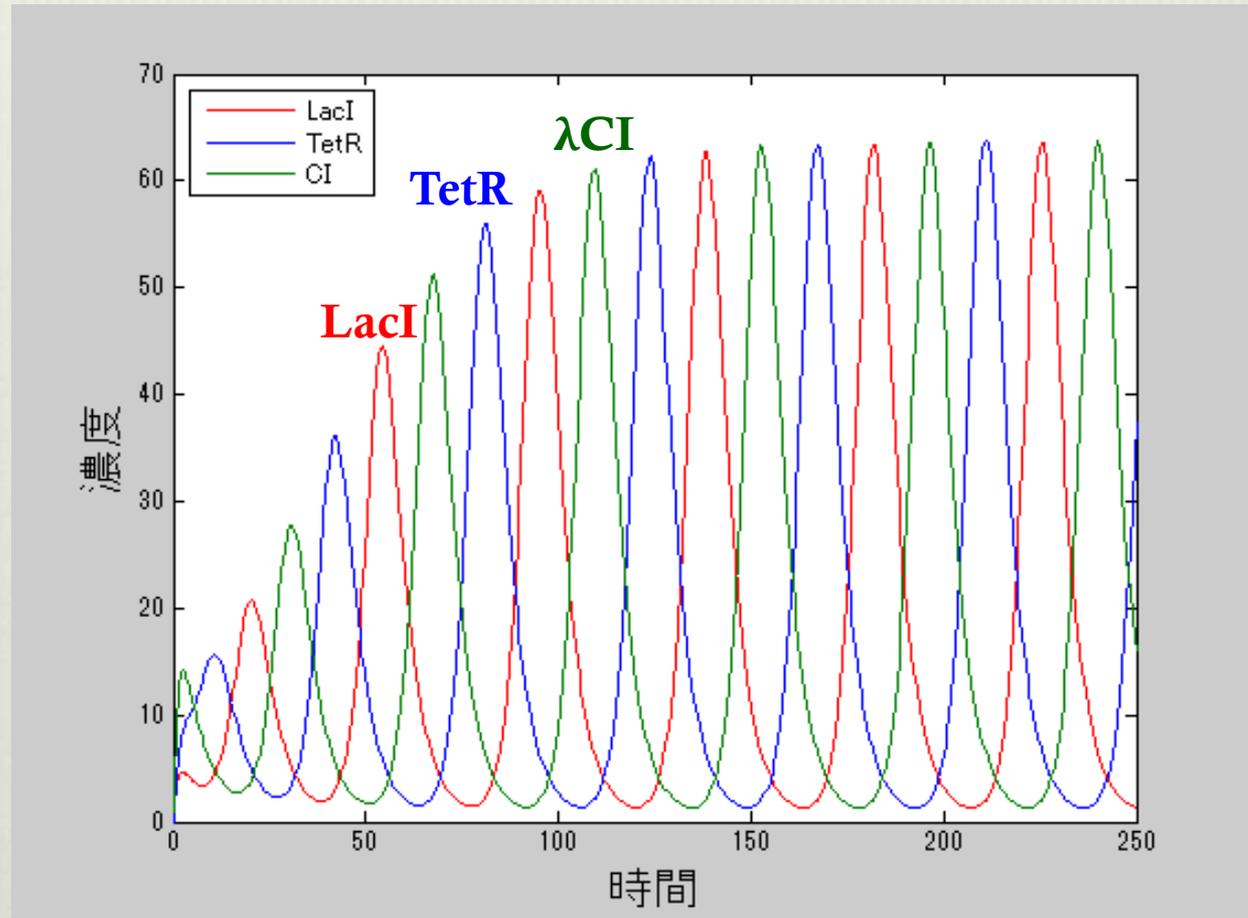
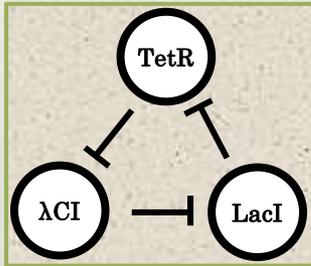
```
[t,y]=ode15s(@Repressilator,tspan,[0; 1; 0; 0; 0; 1]);
figure(1);
plot(t,y(:,2),'r',t,y(:,4),t,y(:,6));
xlabel('時間','FontSize',16);
ylabel('濃度','FontSize',16,'Rotation',90);
legend('LacI','TetR','CI','Location','NorthWest');
```

```
function dydt=Repressilator(t,y)
global alpha alpha0 n beta1 beta2
dydt(1,1)=-y(1)+alpha/(1+y(6)^n)+alpha0;
dydt(2,1)=-beta1*y(2)+beta2*y(1);
dydt(3,1)=-y(3)+alpha/(1+y(2)^n)+alpha0;
dydt(4,1)=-beta1*y(4)+beta2*y(3);
dydt(5,1)=-y(5)+alpha/(1+y(4)^n)+alpha0;
dydt(6,1)=-beta1*y(6)+beta2*y(5);
```

$$\frac{d[mRNA_i]}{dt} = -[mRNA_i] + \frac{\alpha}{1 + [repressor_j]^n} + \alpha_0$$
$$\frac{d[repressor_i]}{dt} = -\beta_1[repressor_i] + \beta_2[mRNA_i]$$

ただし、i=lacI, tetR, λcI; j=λcI, lacI, tetR

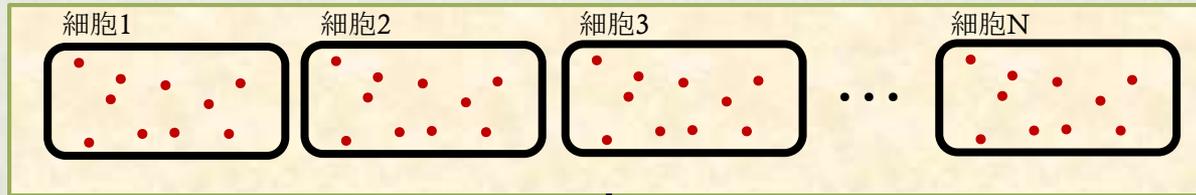
# 振動系を設計する: Repressilator



# 化学マスター 方程式

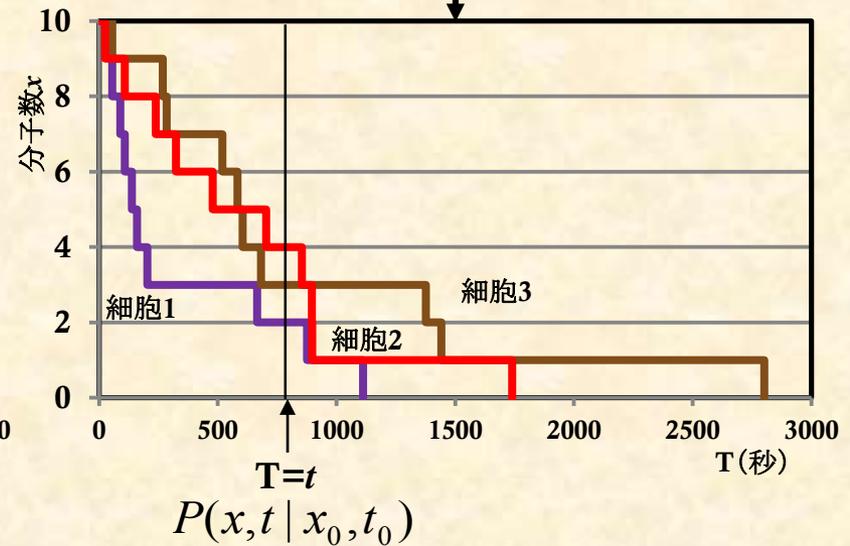
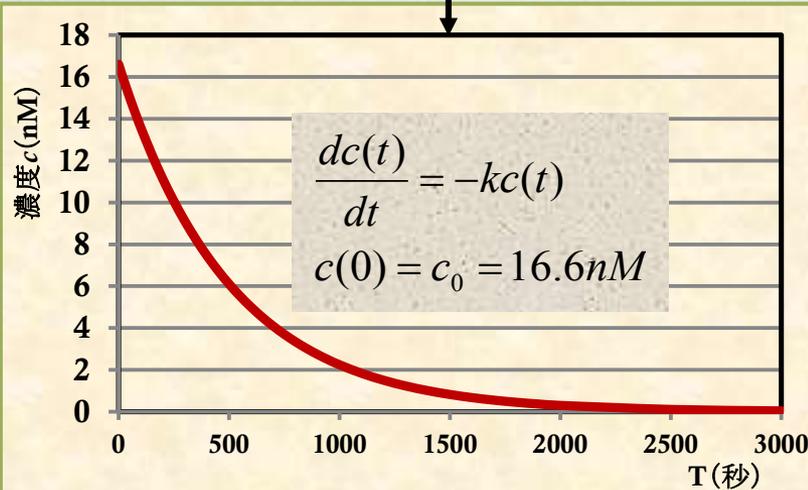
# 細胞内化学反応の二つの見方

$10^{-15}$ Lの細胞内に10個のタンパク質Xがある。  
それらは  $X \rightarrow \emptyset$  ( $k=0.002\text{sec}^{-1}$ ) で自己分解している。

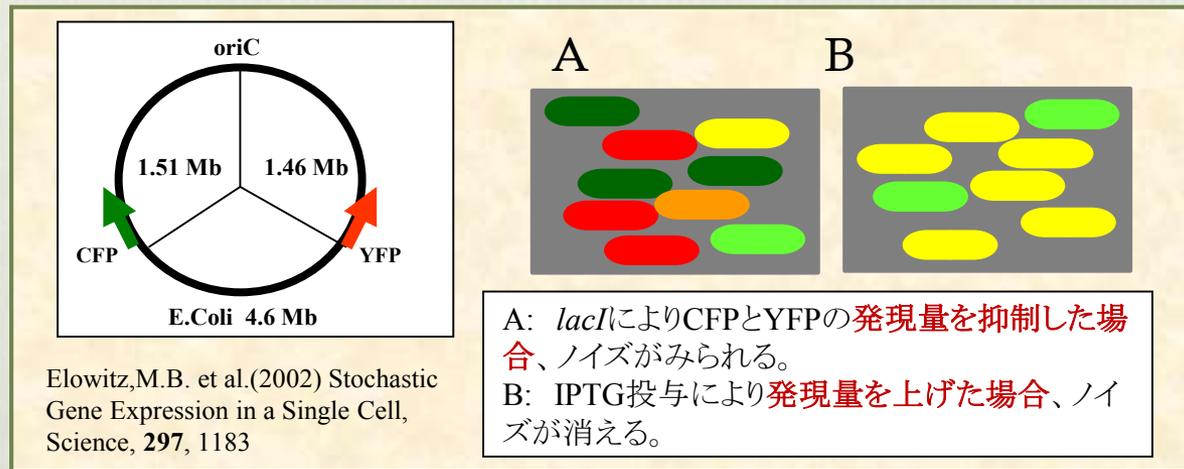


確定的

確率的



# 確率過程としての表現の必要性



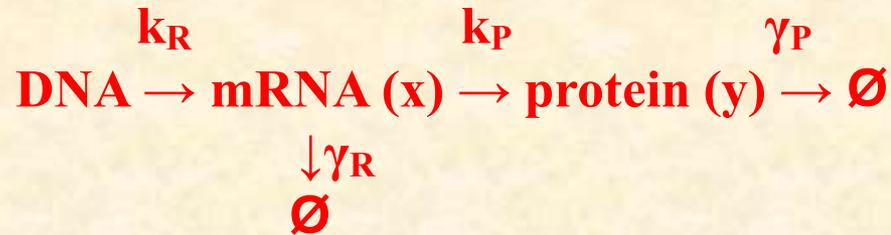
Elowitz, M.B. et al. (2002) Stochastic Gene Expression in a Single Cell, *Science*, **297**, 1183

化学マスター方程式

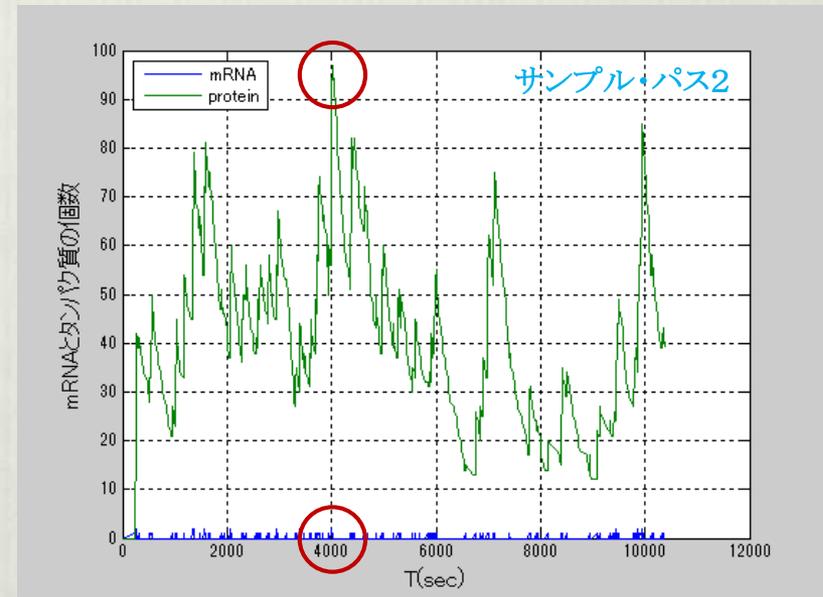
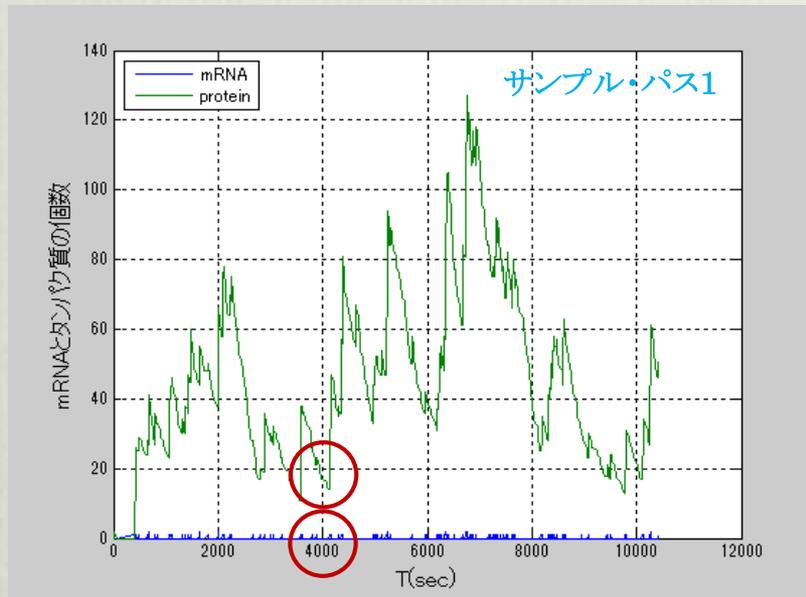
$$\frac{dP(x, t | x_0, t_0)}{dt} = \sum_i \{c_i h_i(x - r_i) P(x - r_i, t | x_0, t_0) - c_i h_i(x) P(x, t | x_0, t_0)\}$$

$P(x, t | x_0, t_0)$ : 時刻  $t_0$  に状態  $x_0$  にあった系が時刻  $t$  に状態  $x$  である確率

# 確率過程としての転写・翻訳モデル



$$k_R=0.01\text{s}^{-1}, k_P=1\text{s}^{-1}, \gamma_R=0.1\text{s}^{-1}, \gamma_P=0.002\text{s}^{-1}$$



# サンプル・パスを求めるMATLABプログラム

```
% Ozbudak Model DNA -> mRNA -> Protein by Gillespie direct method
% Ozbudak EM et al. (2002) Nat Genet, volume31, pp69-73
% Number of chemical species mRNA, Protein
% 確率速度定数 Kv(1):kr, Kv(2):kp, Kv(3):gr, Kv(4):gp
% Propensity of reaction i: Kv(i)*Hc(i) 注) 単位時間あたりの反応iの生起確率
% 反応1 DNA -> mRNA :kr=0.1/0.01 (1/sec) :Sc(1,*)= 1, 0 :Hc(1)=1
% 反応2 mRNA -> Protein :kp=10*gr/gr (1/sec) :Sc(2,*)= 0, 1 :Hc(2)=mRNA
% 反応3 mRNA -> 0 :gr=0.1 (1/sec) :Sc(3,*)= -1, 0 :Hc(3)=mRNA
% 反応4 Protein -> 0 :gp=0.002 (1/sec) :Sc(4,*)= 0, -1 :Hc(4)=protein
% 反応パラメータ
Kv = [0.01 1.0 0.1 0.002]; % burst coefficient = kp/gr = 10
Sc = [1 0; 0 1; -1 0; 0 -1];
% 初期値
Nit=2000; Tm=zeros(1,Nit); mRNA=zeros(1,Nit); protein=zeros(1,Nit);
Tm(1)=0;
% mRNAの平均個数 = Kv(1)/Kv(3); proteinの平均個数 = Kv(1)*Kv(2)/Kv(3)/Kv(4);
mRNA(1)=0; protein(1)=0;
rng('shuffle') % 乱数発生器のseedを設定 例rng('default')
for i=2:Nit
    r1=rand(1); % 1つの乱数を発生させる
    r2=rand(1); % 次の乱数を発生させる
    A(1)=Kv(1); % 反応1のpropensity
    A(2)=Kv(2)*mRNA(i-1); % 反応2のpropensity
    A(3)=Kv(3)*mRNA(i-1); % 反応3のpropensity
    A(4)=Kv(4)*protein(i-1); % 反応4のpropensity
    Atotal=A(1)+A(2)+A(3)+A(4); % 系全体のpropensity
    tau=log(1/r1)/Atotal; % 乱数r1を用いて次に反応する時間を決める
    a1=A(1)/Atotal; % [0,1]での反応1の発生区間[0, a1]
    a2=a1+A(2)/Atotal; % [0,1]での反応2の発生区間[a1, a2]
    a3=a2+A(3)/Atotal; % [0,1]での反応3の発生区間[a2, a3]
    % [0,1]での反応4の発生区間[a3, 1]
```

```
% どの反応が生じたかを乱数r2を用いて決める
if r2<a1
    Nreaction=1;
elseif r2<a2
    Nreaction=2;
elseif r2<a3
    Nreaction=3;
else
    Nreaction=4;
end
Tm(i)=Tm(i-1)+tau;
mRNA(i)=mRNA(i-1)+Sc(Nreaction,1);
protein(i)=protein(i-1)+Sc(Nreaction,2);
end

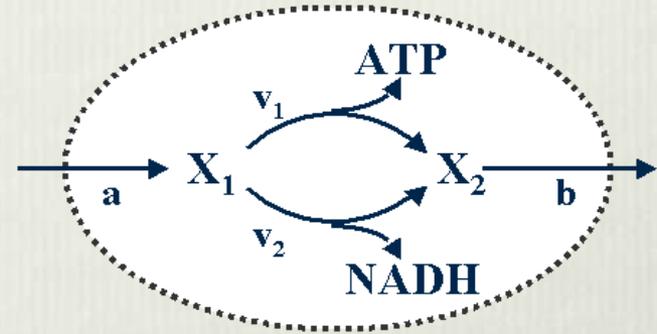
figure(1)
plot(Tm, mRNA, Tm, protein)
xlabel('T(sec)', 'FontSize', 12);
ylabel('mRNAとタンパク質の個数', 'FontSize', 12);
legend('mRNA', 'protein', 2)
grid on
```

# 化学量論解析

# 簡単な例で化学量論解析を考えてみよう

定常状態における細胞内の個々の反応速度(流速)を求めたい!

モデルは?



定常状態だから

$$a = b = 1.0 \text{ mM/min}$$
$$v_1 + v_2 = 1.0$$

想像するに

$v_1 = 0.3, v_2 = 0.7$  ?

$v_1 = 0.9, v_2 = 0.1$  ?

$v_1 = 0.5, v_2 = 0.5$  ?

$v_1$ だけでも計測しよう

化学量論的代謝流速解析

$$v_1 = 0.4 \text{ mM/min}$$

$\Rightarrow$

$$v_2 = 0.6 \text{ mM/min}$$

この系の機能は? (今、ATP生成系だよ)

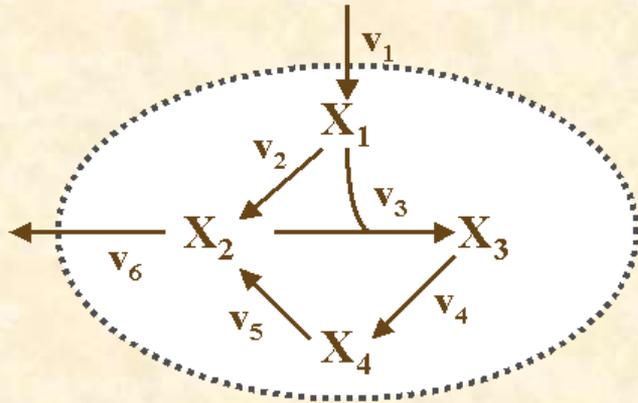
流速収支解析

$$v_1 = 1.0 \text{ mM/min}$$

$$v_2 = 0.0 \text{ mM/min}$$

# 化学量論的代謝流速解析と流速収支解析

反応ネットワークモデル



物質収支則に基づく数理モデル

$$\frac{dX_1}{dt} = v_1 - v_2 - v_3$$

$$\frac{dX_2}{dt} = v_2 - v_3 + v_5 - v_6$$

$$\frac{dX_3}{dt} = v_3 - v_4$$

$$\frac{dX_4}{dt} = v_4 - v_5$$

$$\frac{dX}{dt} = S \cdot v$$

$$S = \begin{pmatrix} 1 & -1 & -1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & -1 & 0 & 1 & -1 \\ 0 & 0 & 1 & -1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & -1 & 0 \end{pmatrix}$$

S: 化学量論係数行列

$$S \cdot v = 0$$

線形代数方程式

$$v_2 = v_6$$

$$v_3 = v_1 - v_6$$

$$v_4 = v_1 - v_6$$

$$v_5 = v_1 - v_6$$

化学量論的代謝流速解析

数理計画法

物質収支則  $S \cdot v = 0$

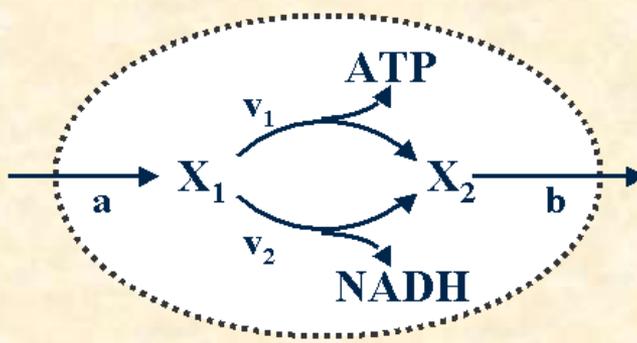
拘束条件 1  $v_i^{\min} \leq v_i \leq v_i^{\max}$

拘束条件 2  $v_i = v_i^{obs}$

目的関数  $z = f(v)$

流速収支解析

# 流速収支解析



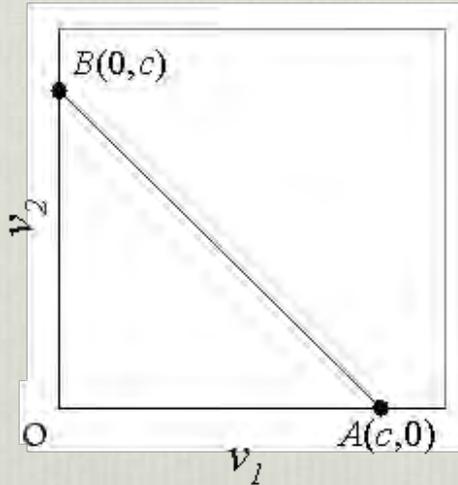
物質収支則  $S \cdot v = \begin{pmatrix} -1 & -1 & 1 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & -1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} v_1 \\ v_2 \\ a \\ b \end{pmatrix} = 0$

拘束条件 1  $0 \leq v_1, v_2$

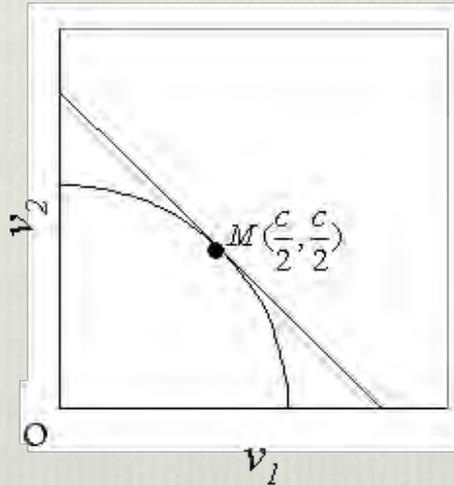
拘束条件 2  $a = b = c(\text{const.})$

目的関数  $z = f(v)$

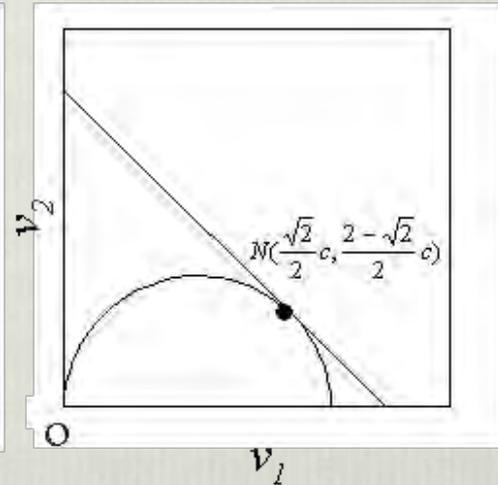
a) ATPあるいはNADHの生成速度最大  
 $f = \max(v_1) \text{ or } \max(v_2)$



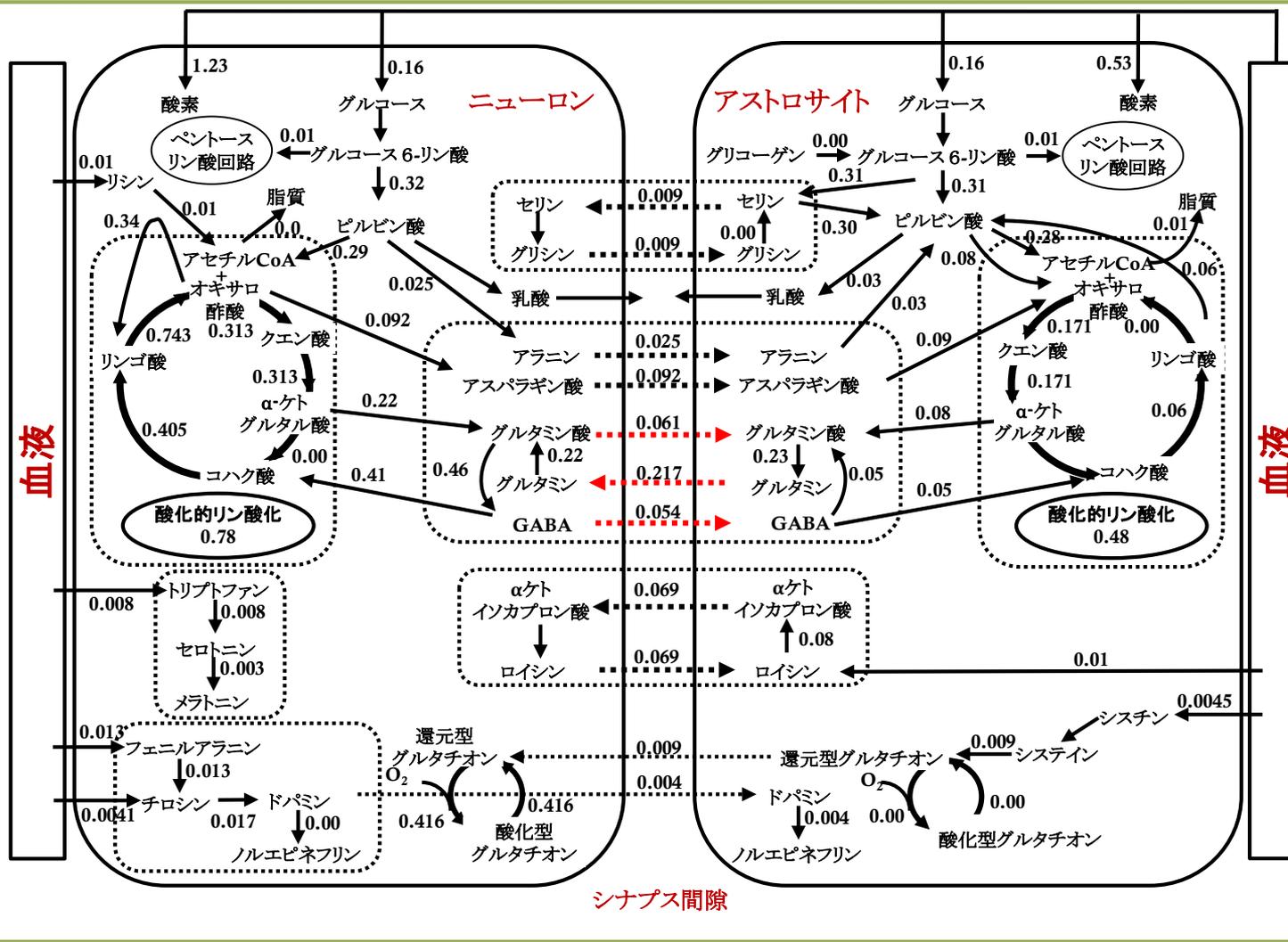
b) 内部流速ベクトルの二乗和最小  
 $f = \min(v_1^2 + v_2^2)$



c) 流速当たりのATP生成速度最大  
 $f = \max\{v_1 / (v_1^2 + v_2^2)\}$



# 流速収支解析：ニューロン・アストロサイト代謝連関



1. ニューロンとアストロサイトの代謝反応ネットワークの作成

217の反応過程(184の内部反応と33の交換反応)、216代謝産物(183の内部、33の外部代謝物)からなる。

2. 物質収支則と拘束条件の設定

3. 目的関数の設定

グルタミン酸、グルタミン、GABAのサイクル流速の最大化、および全流速の2乗和最小化。

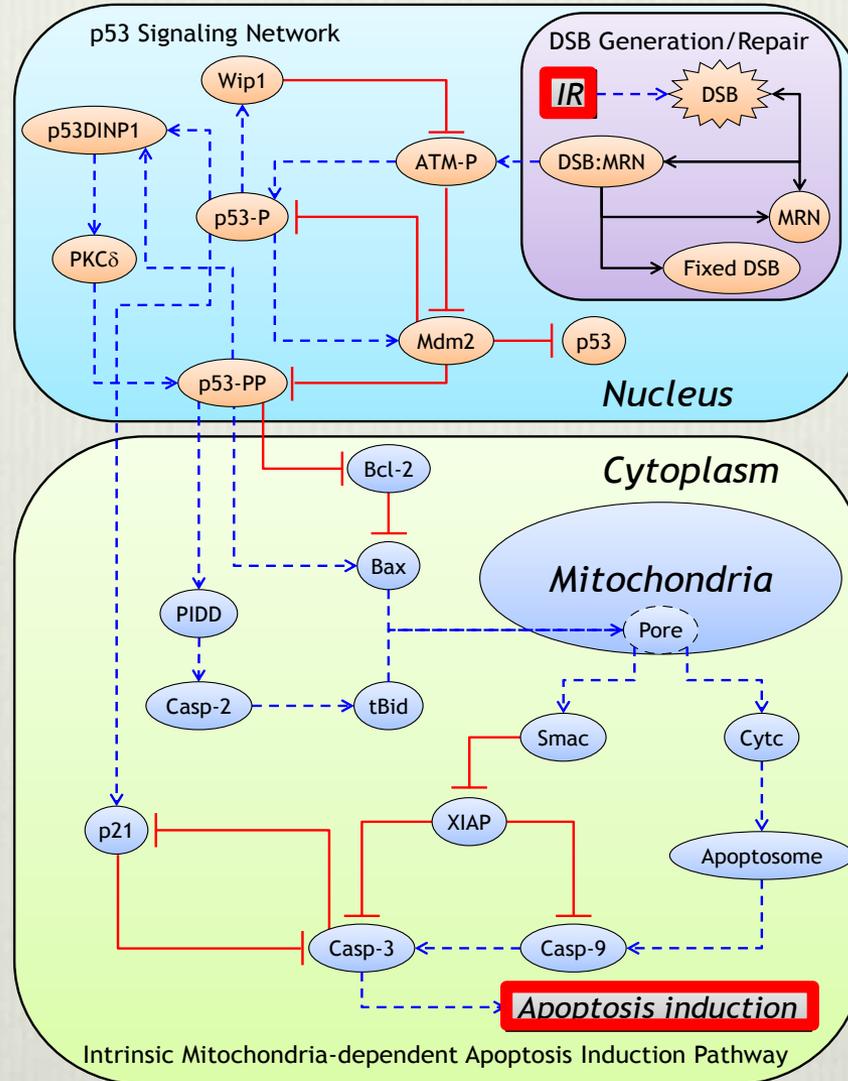
4. 流速収支解析の実施

○ TCAサイクルの流速比は実験と整合的である。  
 × ニューロンからアストロサイトへのアスパラギン酸の輸送(0.092)は実験に比べ高い値を示している。

# 時間的空間的 階層統合

# 細胞の統合シミュレーション

-電離放射線照射に伴うp53の振動-



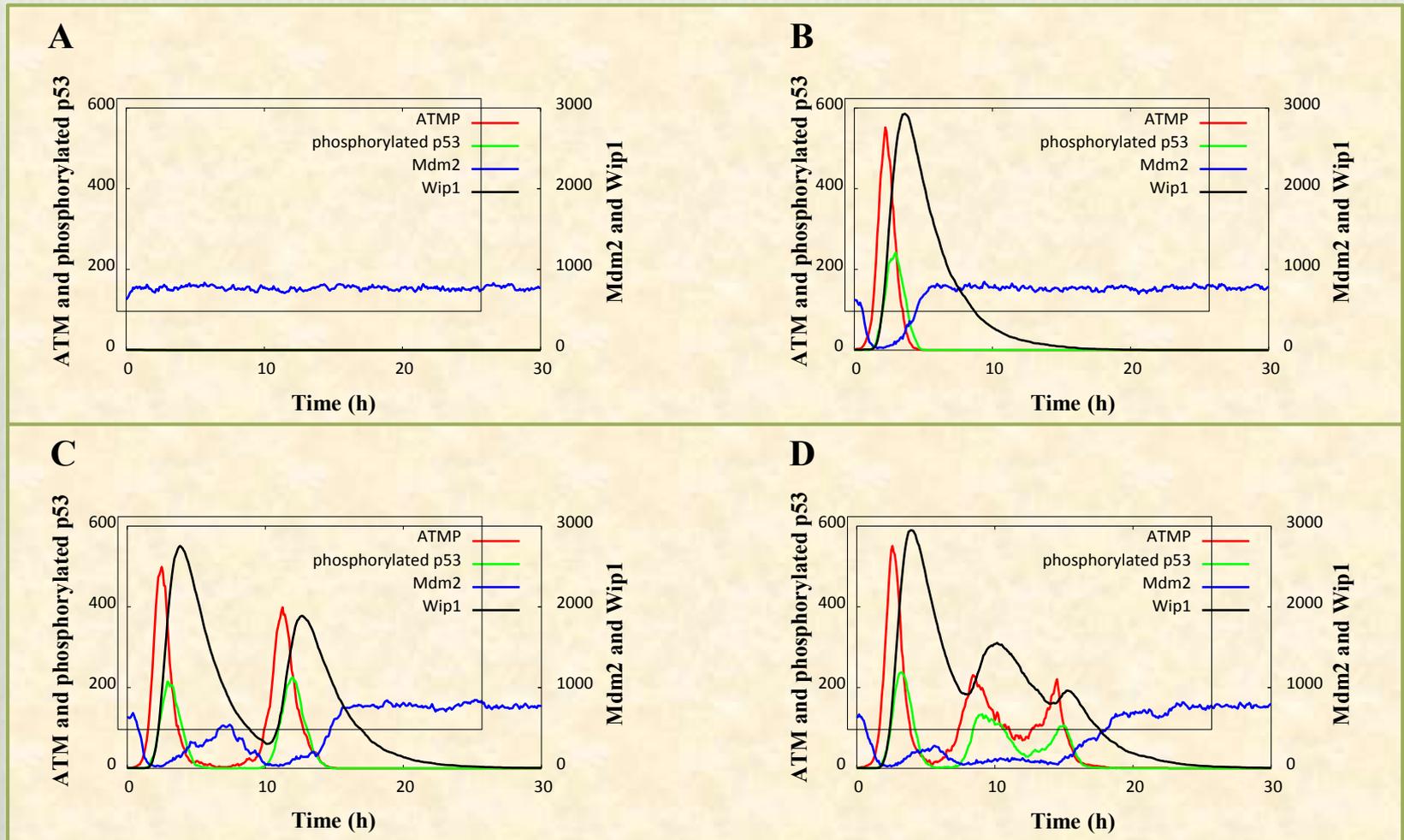
核内: 化学マスター方程式  
(Gillespieの方法)

細胞質内: 反応速度論

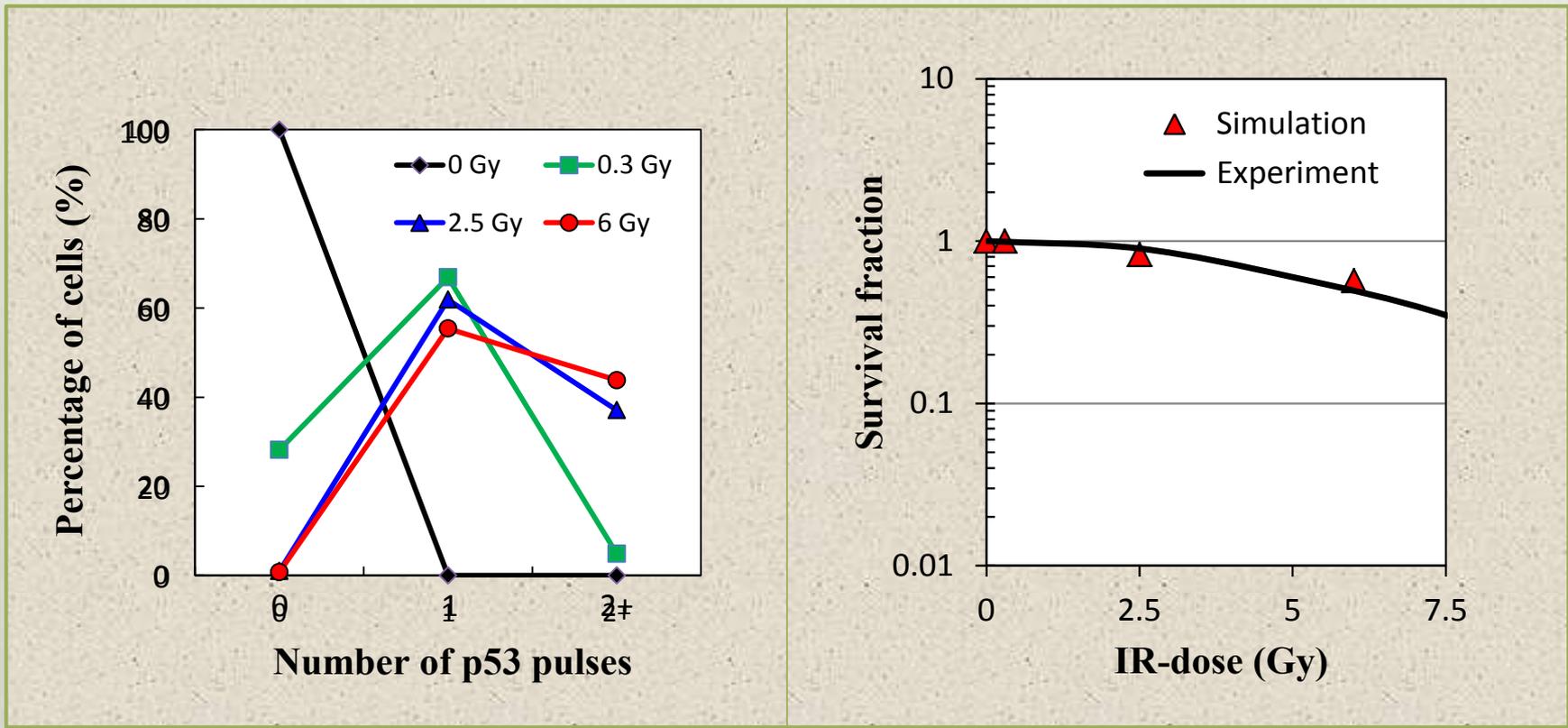
← - - - Activation | - - - Suppression ← - - - Reaction

IR: ionizing radiation, DSB: double-strand break

## 電離放射線を2.5グレイ(Gy)照射したときのp53の振動現象



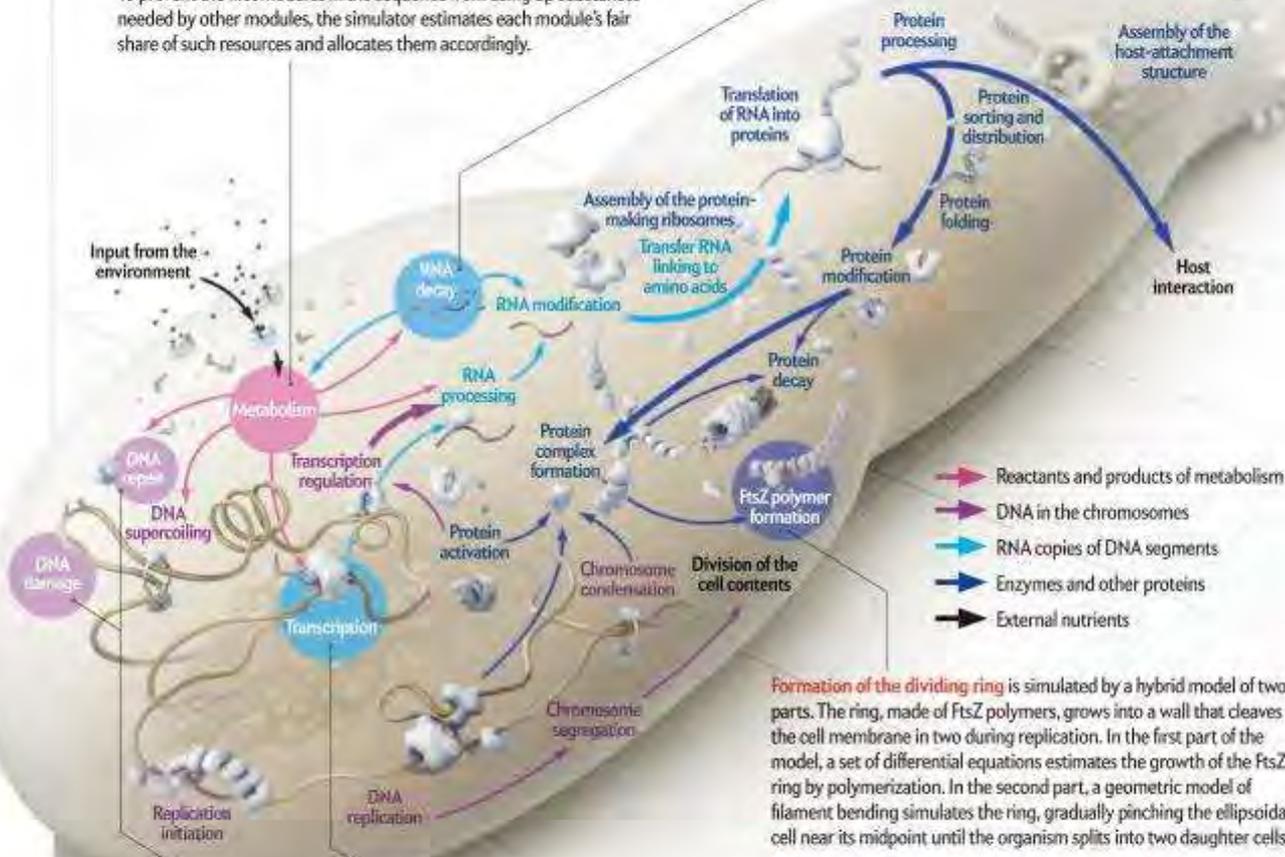
細胞A、B、C、Dで異なった応答がみられる(p53のパルス数が2以上でアポトーシスが生じる)



# 細胞の統合シミュレーション *-Mycoplasma genitalium-*

Metabolism of energy, nutrients and waste is modeled by using flux-balance analysis, which exploits linear programming techniques to calculate the reaction rates that produce optimal growth, energy production or some other characteristic the modeler chooses. This method assumes that the reactions occur rapidly enough to achieve a steady state within the one-second time step of the simulation. To prevent the first modules in the sequence from using up substances needed by other modules, the simulator estimates each module's fair share of such resources and allocates them accordingly.

Decay and recycling of RNA and protein are modeled by using Poisson processes, which make use of a random-number generator and probability functions to decide whether a particular piece of RNA or protein decays or survives to the next time step.



Formation of the dividing ring is simulated by a hybrid model of two parts. The ring, made of FtsZ polymers, grows into a wall that cleaves the cell membrane in two during replication. In the first part of the model, a set of differential equations estimates the growth of the FtsZ ring by polymerization. In the second part, a geometric model of filament bending simulates the ring, gradually pinching the ellipsoidal cell near its midpoint until the organism splits into two daughter cells.

Gene transcription and translation—the steps that make many of the proteins needed for cell growth and duplication—are simulated by multipart algorithms that include Markov models (which track over time the states of the enzymes that copy genes from DNA into RNA), probabilistic binding of these enzymes to the DNA, and linear programming to allocate energy and other resources.

DNA damage and repair are also modeled in this nondeterministic way.

## マイコプラズマの増殖過程をモデル化

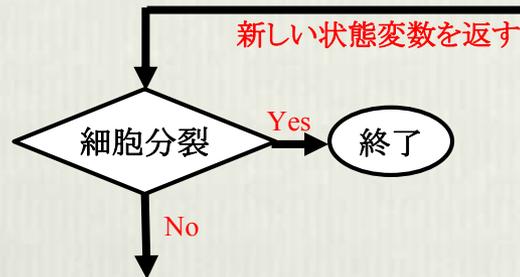
・ゲノム(580,076塩基対)に含まれる525遺伝子を基に反応ネットワークを構成

・2年をかけ900以上の文献を調べ、1,900以上の反応パラメータを設定。  
参考生物種: *M. pneumonia*  
*E. coli*

・マルチ・スケールの問題を1秒という時間軸の中で解決。(1秒間の間、各プロセス間の相互作用はなし。細胞の状態は1秒毎に変化)

・計算時間は128-node cluster 計算機で10時間。ほぼ、*M. genitalium*の細胞分裂周期と同じ。

# 細胞の統合シミュレーション *-Mycoplasma genitalium-*



- RNA**
  - 染色体(タンパク質の結合等)
  - 転写物(転写の方向等)
  - RNA(重さ、組成、長さ等)
- タンパク質**
  - ポリペプチド(翻訳段階情報等)
  - タンパク質単量体
  - タンパク質複合体
  - RNAポリメラーゼ
  - リボソーム
- 代謝**
  - FtsZ環
  - 代謝反応(代謝流速等)
  - 代謝物
- その他**
  - 幾何形状(細胞中央の直径等)
  - 宿主(自然免疫の活性等)
  - 質量
  - 刺激(温度、X線等)
  - 時刻

細胞の状態変数

状態変数を送る

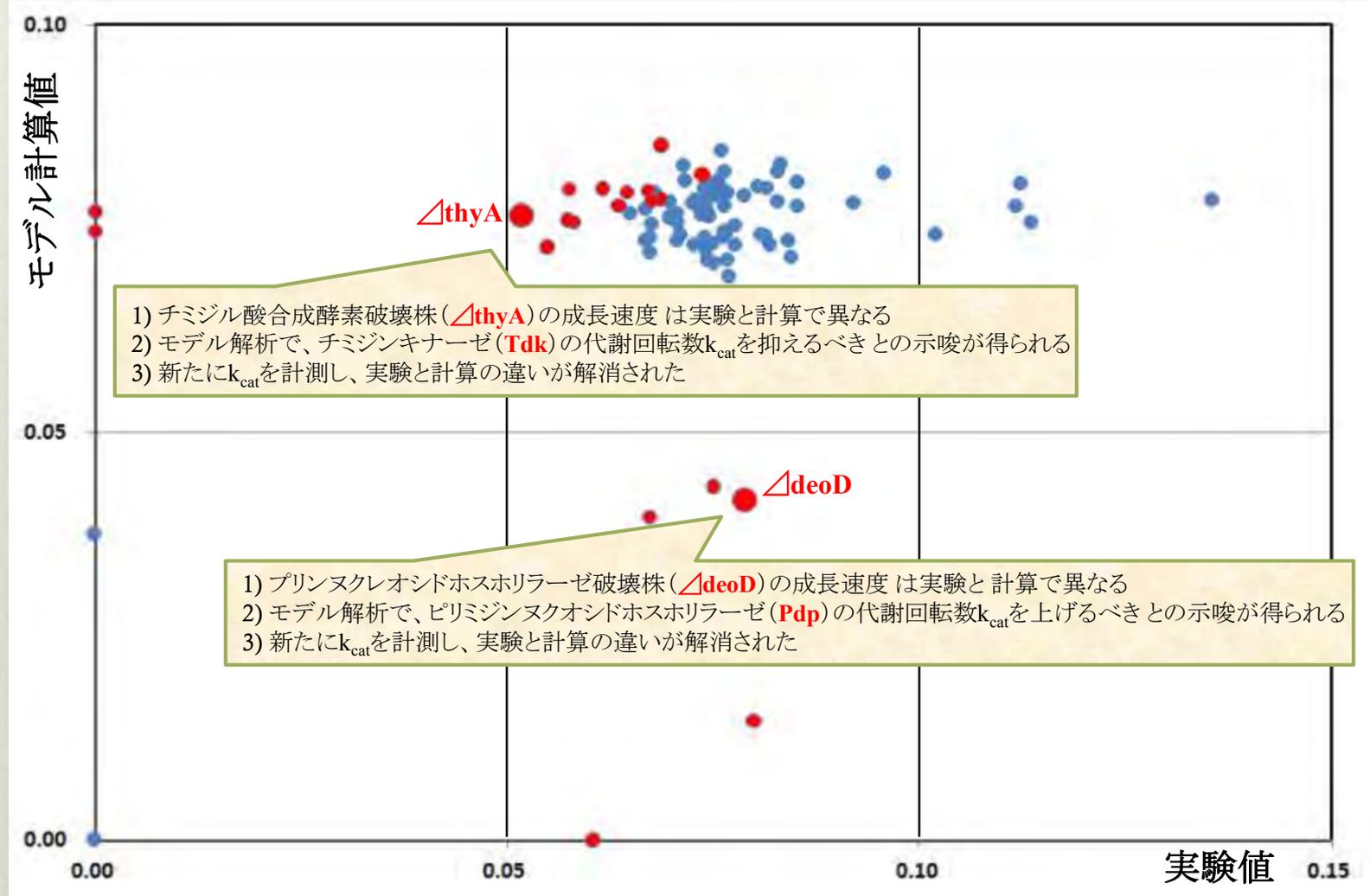
- DNA**
  - 凝縮 [確率的結合モデル]
  - 分離 [ブール代数モデル]
  - 損傷 [ポアソン過程]
  - 修復 [ポアソン過程]
  - 超らせん形成 [確率的結合モデル、反応速度論]
  - 複製 [確率的結合モデル、反応速度論]
  - 複製開始 [確率的結合モデル、反応速度論]
  - 転写制御 [確率的結合モデル]
  - 転写 [マルコフ・モデル、確率的結合モデル]
- RNA**
  - プロセッシング [ポアソン過程]
  - 修飾 [ポアソン過程]
  - アミノアシル化 [確率的反応モデル]
  - 崩壊 [ポアソン過程]
  - 翻訳 [マルコフ・モデル、確率的結合モデル]
  - プロセッシングI [ポアソン過程]
  - 転位置 [ポアソン過程]
  - プロセッシングII [ポアソン過程]
- タンパク質**
  - 折り畳み [ブール代数モデル]
  - 修飾 [ポアソン過程]
  - 複合体形成 [確率的結合モデル、反応速度論]
  - リボソーム構築 [確率的結合モデル、ブール代数モデル]
  - 末端器官構築 [ブール代数モデル]
  - 活性化 [ブール代数モデル]
  - 崩壊 [ポアソン過程]
  - FtsZの重合 [反応速度論 (常微分方程式)]
- その他**
  - 代謝 [流速収支解析]
  - 細胞質分裂 [幾何学的モデル、確率的結合モデル]
  - ホストとの相互作用 [ブール代数モデル]

細胞内の反応プロセス

# 細胞の統合シミュレーション *-Mycoplasma genitalium-*

## 遺伝子破壊を行った株の成長速度

(時間<sup>-1</sup>)





理化学研究所 HPCI計算生命科学推進プログラム  
のみなさんに感謝します

# (補1) 反応速度論の基礎 —質量作用の法則—

熱力学でいうところの**質量作用の法則**

化学反応式



について、この**系が平衡状態にあるとすると**。

反応物  $\{A_i\}$  からなる系と生成物  $\{B_i\}$  からなる系の化学ポテンシャルは等しい。

$$a_1\mu_{A_1} + a_2\mu_{A_2} + \cdots + a_n\mu_{A_n} = b_1\mu_{B_1} + b_2\mu_{B_2} + \cdots + b_m\mu_{B_m}$$

ただし、 $\mu_k(T, p) = \mu_{k0}(T, p) + RT \ln c_k$

$\mu_{k0}(T, p)$ : 標準化学ポテンシャル、 $c_k$ : モル濃度

次式を満たす、温度  $T$  と圧力  $p$  だけに依存する定数  $K(T, p)$  が存在する。

$$K(T, p) = \frac{\prod_k [B_k]_{eq}^{b_k}}{\prod_k [A_k]_{eq}^{a_k}}$$

**質量作用の法則は分子の動的挙動に無頓着であり、反応がどのように進んだのかも知らない。**

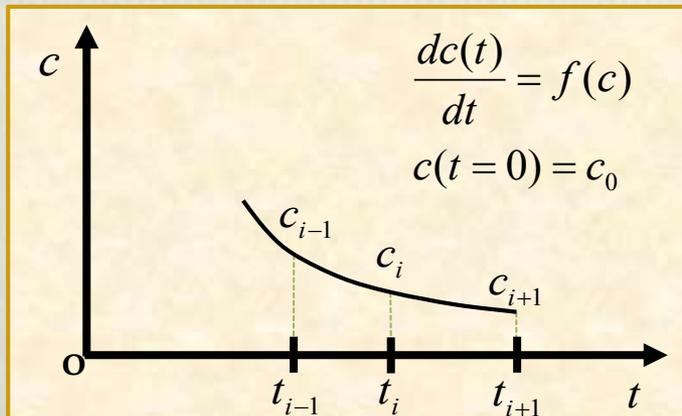
# (補1) 反応速度論の基礎 —数値解法—

## 陽解法

前進Euler法、Runge-Kutta法、……

## 陰解法

後退Euler法、Gear法、……



## 前進Euler法

$$\frac{dc(t)}{dt} \approx \frac{c_{i+1} - c_i}{h} = f(c_i) \quad (1)$$

## 後退Euler法

$$\frac{dc(t)}{dt} \approx \frac{c_{i+1} - c_i}{h} = f(c_{i+1}) \quad (2)$$

ただし、 $h = t_{i+1} - t_i$

## 微分方程式

$$\frac{dc(t)}{dt} = -\lambda c(t), \quad 0 < \lambda$$

## 前進Euler法 ( $1 < |1 - h\lambda|$ だと不安定)

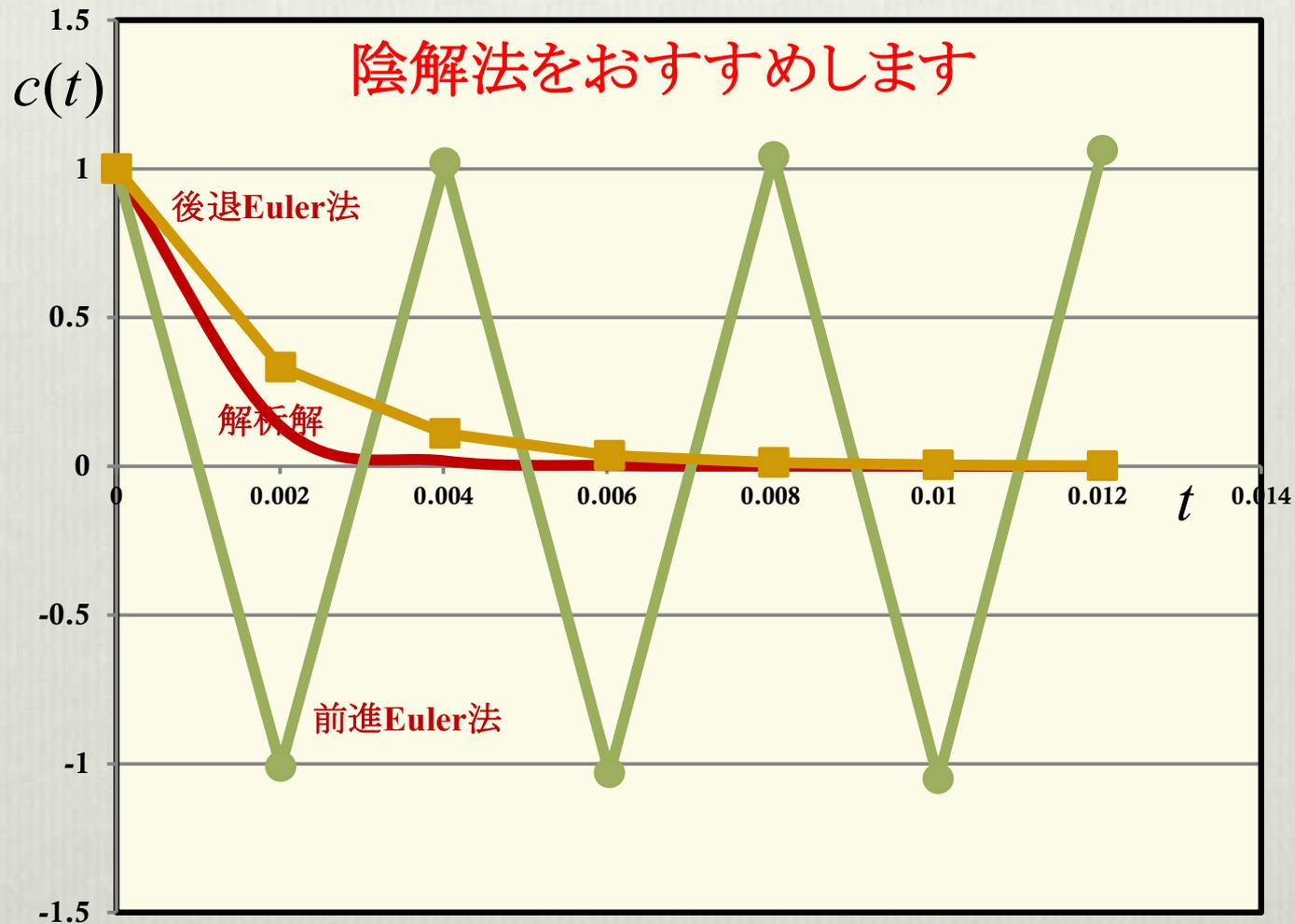
$$c_{i+1} = (1 - h\lambda)c_i \quad (1)'$$

## 後退Euler法 (どのような $h$ でも絶対安定)

$$c_{i+1} = c_i - h\lambda c_{i+1}$$
$$\Rightarrow c_{i+1} = \frac{1}{1 + h\lambda} c_i \quad (2)'$$

# (補1) 反応速度論の基礎 -数値解法-

$$\frac{dc(t)}{dt} = -1000c(t), \quad c(t=0) = 1, \quad h = 0.00201$$



# (補2) Gillespieによる確率過程の取り扱い

系内N種の分子の分子数は $x(t)=(x_1(t), x_2(t), \dots, x_N(t))$ とする。またM種の反応 $R_i$ がある。

前提1: ある時刻 $t$ での分子数が $x$ であった場合、その後の時間 $[t, t+dt)$ の間に反応 $R_i$ が起こる確率は $a_i(x) dt + o(dt)$ である。 $(a_i$ については後述する。)

前提2: ある時刻 $t$ での分子数が $x$ であった場合、その後の時間 $[t, t+dt)$ の間に反応が全く起こらない確率は $1 - \sum_i a_i dt + o(dt)$ である。

前提3: 時間 $[t, t+dt)$ の間に2つ以上の反応が起こる確率は $o(dt)$ である。

時刻 $t_0$ で $x_0$ であった時、後の時刻 $t$ に分子数が $x$ となる確率 $P(x, t | x_0, t_0)$ は次の**化学マスター方程式**で与えられる。

$$\frac{dP(x, t | x_0, t_0)}{dt} = \sum_i \{c_i h_i(x - r_i) P(x - r_i, t | x_0, t_0) - c_i h_i(x) P(x, t | x_0, t_0)\}$$

ある時刻 $t$ に状態 $x$ にあった時、次の反応が反応 $R_i$ で $\tau$ 時間後に生起する確率密度関数 $p(\tau, i | x, t)$ は次式で与えられ、**サンプル・パス**を得るための基本式となる。

$$p(\tau, i | x, t) = \frac{c_i h_i(x)}{a(x)} \underbrace{a(x) e^{-a(x)\tau}}_{\text{次の反応が起きるまでの時間}\tau\text{は指数分布に従う。}}$$

ただし、 $a(x) = \sum_{i=1}^M c_i h_i(x)$

次の反応が $R_i$ である確率

# (補2) 自己分解反応の化学マスター方程式

一般の場合の化学マスター方程式

$$\frac{dP(x,t | x_0, t_0)}{dt} = \sum_i \{c_i h_i(x - r_i) P(x - r_i, t | x_0, t_0) - c_i h_i(x) P(x, t | x_0, t_0)\}$$

**X→∅ (確率速度定数c)** なる自己分解反応の場合の化学マスター方程式

$$\frac{dP(x,t | n, 0)}{dt} = c(x+1)P(x+1, t | n, 0) - cxP(x, t | n, 0), \quad 0 \leq x < n$$

$$\frac{dP(n,t | n, 0)}{dt} = -cnP(n, t | n, 0)$$

ただし、初期条件 $x(t=0)=n$

$$P(x, t | n, 0) = \frac{n!}{x!(n-x)!} e^{-cxt} (1 - e^{-ct})^{n-x}$$

# (補2) Gillespieの直接法

## [Gillespieの直接法]

- 1) 系内の各反応 $R_i$ の確率速度定数 $c_i$ を定める。
- 2)  $t=t_0$ における反応の初期条件として各分子の数 $x=(x_1, x_2, \dots, x_N)$ を定める。
- 3)  $c_i$ および、 $x$ を用いて計算される $h_i$ から  
各反応 $R_i$ の単位時間あたり生起確率 $a_i(x)$ を $a_i(x)=c_i h_i(x)$ で求める。
- 4) 系内でどれか一つの反応が単位時間あたりに生じる確率 $a(x)$ を求める。
- 5) 2つの一様乱数 $rnd_1$ と $rnd_2$ を発生させる。 $rnd_1$ と $rnd_2$ の値域は $[0, 1)$ である。
- 6) 反応の生起時刻 $t+\tau$ を $\tau = \{\ln(1/rnd_1)\}/a(x)$ で計算する。  
(逆関数法により一様乱数から指数分布の乱数を発生させる。)
- 7) 時刻 $t+\tau$ にどの反応 $R_i$ が生起したかを次式で決める。
$$\sum_{k=1}^{i-1} a_k < a(x)rnd_2 \leq \sum_{k=1}^i a_k$$
- 8) 分子数 $x$ を時刻 $t+\tau$ に生起した反応 $R_i$ の変化量ベクトル $r_i$ を用いて $x \rightarrow x+r_i$ と変更する。
- 9)  $t=t+\tau$ と、時刻を $\tau$ だけ進めて3)に戻る。

# (補2) 確率速度定数と反応生起確率

## (1) 基本的な反応の確率速度定数 $c$ (1/sec)と場合の数 $h$

$\emptyset \rightarrow D$	$\frac{dD}{dt} = k$	(M/sec)	$c = kZ$	$h = 1$
$X \rightarrow D$	$\frac{dD}{dt} = kX$	(sec <sup>-1</sup> )	$c = k$	$h = X$
$X + Y \rightarrow D$	$\frac{dD}{dt} = kX \cdot Y$	(M <sup>-1</sup> sec <sup>-1</sup> )	$c = k/Z$	$h = X \cdot Y$
$X + X \rightarrow D$	$\frac{dD}{dt} = kX^2$	(M <sup>-1</sup> sec <sup>-1</sup> )	$c = 2k/Z$	$h = X(X-1)/2$

但し、 $Z = N_a V$  (アボガドロ数  $\times$  体積)。

**場合の数 $h$** : 反応物から反応する分子を選ぶ、その場合の数 (例:  $X$ 、 $Y$  の分子数を  $X$ 、 $Y$  とすると  $h = X \cdot Y$ )。

## (2) 単位時間あたりの反応の生起確率 (propensity) $a = ch$

# (補3) Poisson過程

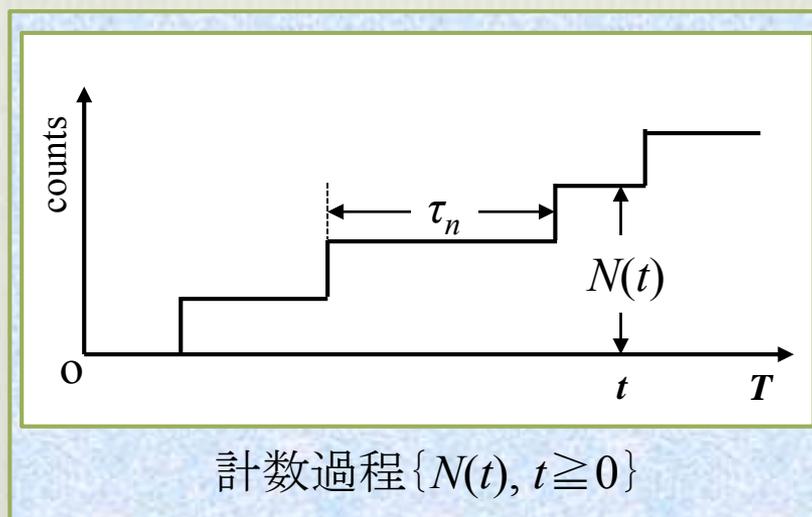
ポアソン過程は計数過程  $\{N(t), t \geq 0\}$  で、以下の性質を持つ。

(1) 確率  $P(N(t)=n)$  はポアソン分布に従う。  $P(N(t)=n) = e^{-\lambda t} (\lambda t)^n / n!$  ,  $n=0,1,2,\dots$

(2) 事象の発生間隔  $\tau$  は独立で、指数分布  $f(\tau) = \lambda e^{-\lambda \tau}$  に従う。

(1)  $\Rightarrow$  時間  $[0, t]$  の間に、事象は平均  $\lambda t$  回発生する。

(2)  $\Rightarrow$  事象の発生間隔の平均は  $1/\lambda$  である。単位時間に平均  $\lambda$  回発生する。



注1) 時間間隔  $[0, t]$  に生じた事象の数を  $N(t)$  とすると  $\{N(t), t \geq 0\}$  は**計数過程**といわれる。ここでは  $N(0)=0$  としている。

注2) なお、ポアソン過程は「**定常かつ独立な増分**」という性質を持っている。