生化学反応系で見られる振動現象

藤井 雅史
東京大学 黒田研

お知らせ

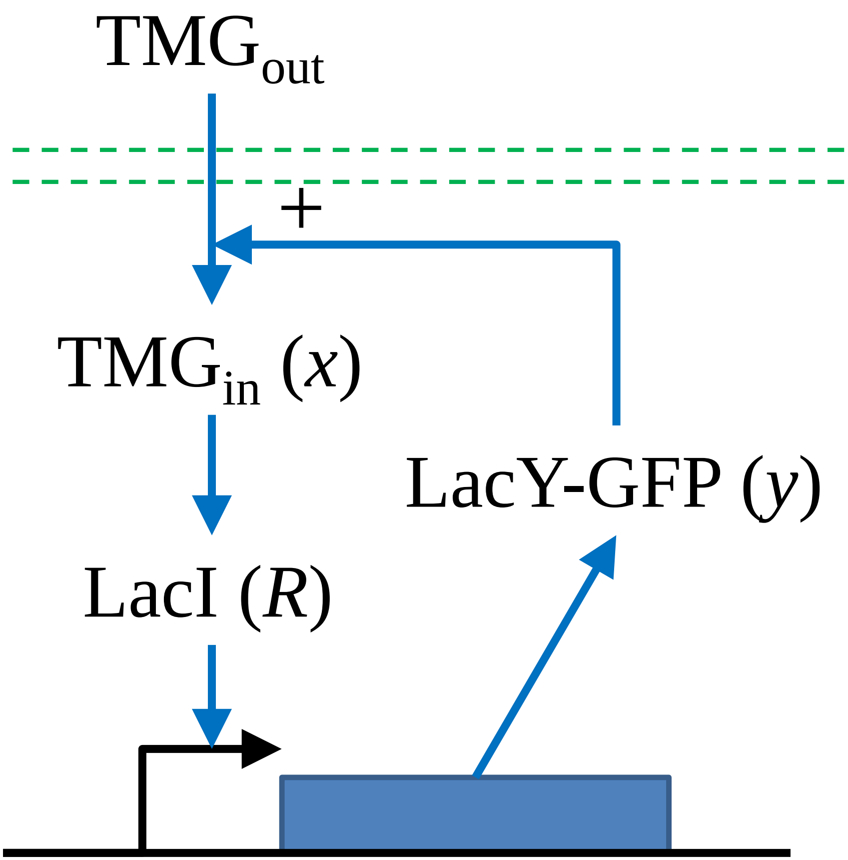
今日使うファイル類は
http://kurodalab.bi.s.u-tokyo.ac.jp/class/Summer/2013/Day6/kadai/
に置いてあります。(テキストエンコーディングはSJIS)

慣れてきたら自力で全部書く、あるいは、
これまで作ったプログラムを応用して作るようにして下さい。

課題が終わった人は、
積極的に発展課題に取り組んで下さい。

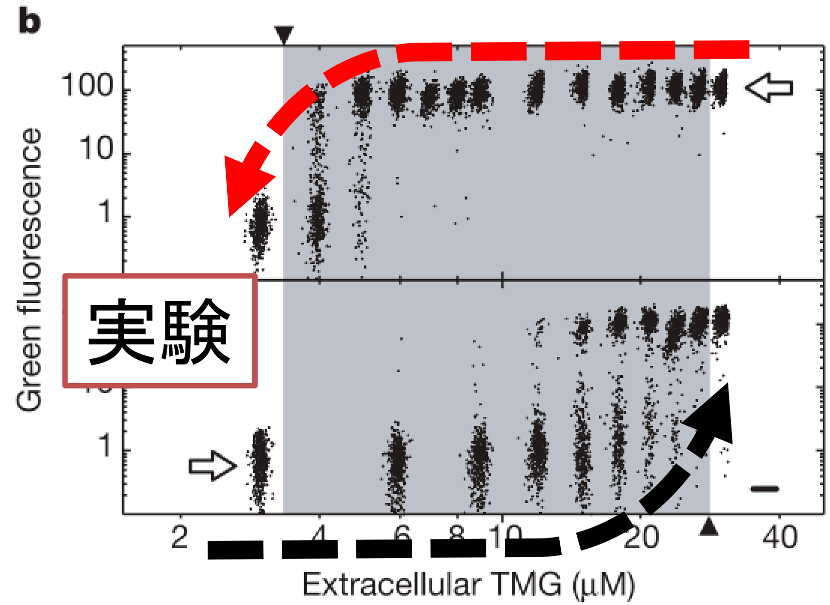
前回の復習 –反応の双安定性–

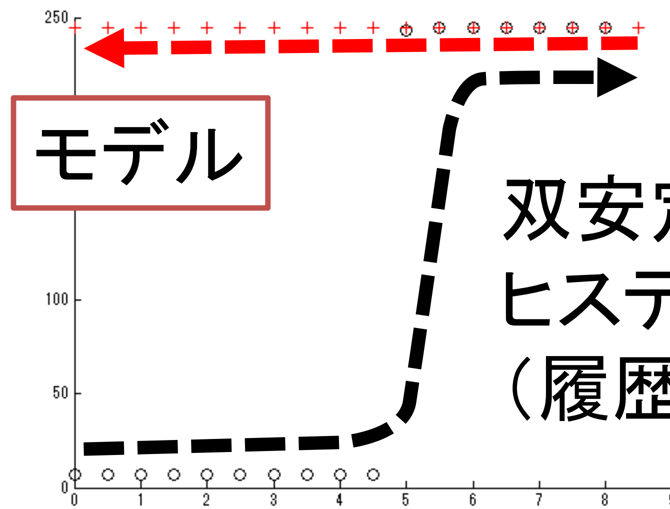
Ozbudak et al. (2004) Nature



$$\tau_x \frac{dx}{dt} = -x + \beta y$$

$$\tau_y \frac{dy}{dt} = \alpha \frac{1 + x^2}{\rho + x^2} - y$$





双安定性
ヒステリシス
（履歴依存性）

生体内での振動現象

・心拍、血糖値、細胞分裂、概日周期、etc…

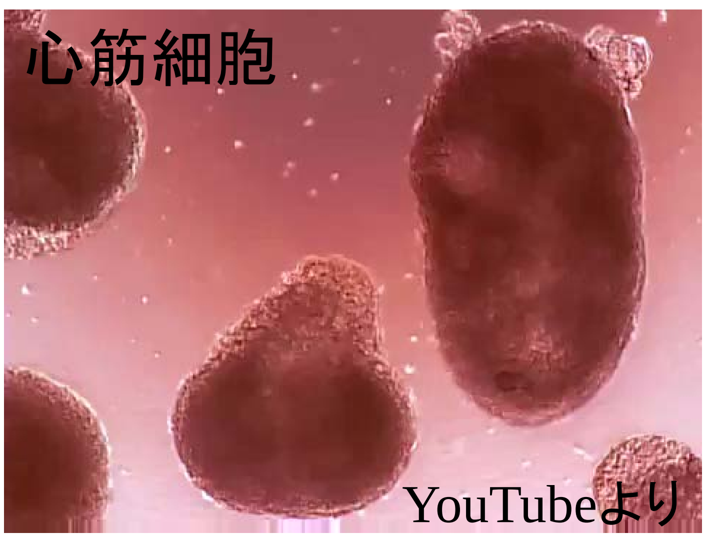
→ 起源: 細胞内の生化学反応・遺伝子発現の振動

本日のメニュー

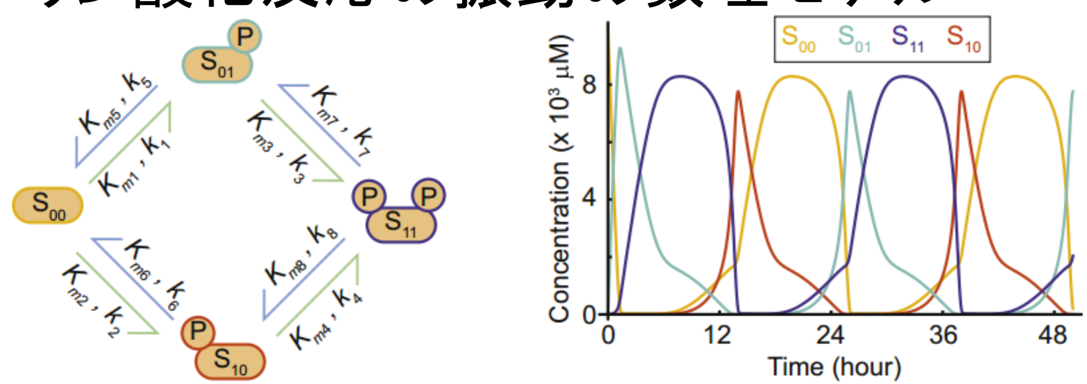
解糖系から: *Sel'kov* モデル

合成生物学から: *Repressilator* モデル

（神経発火から: *FitzHugh-Nagumo*モデル）



リン酸化反応の振動の数理モデル

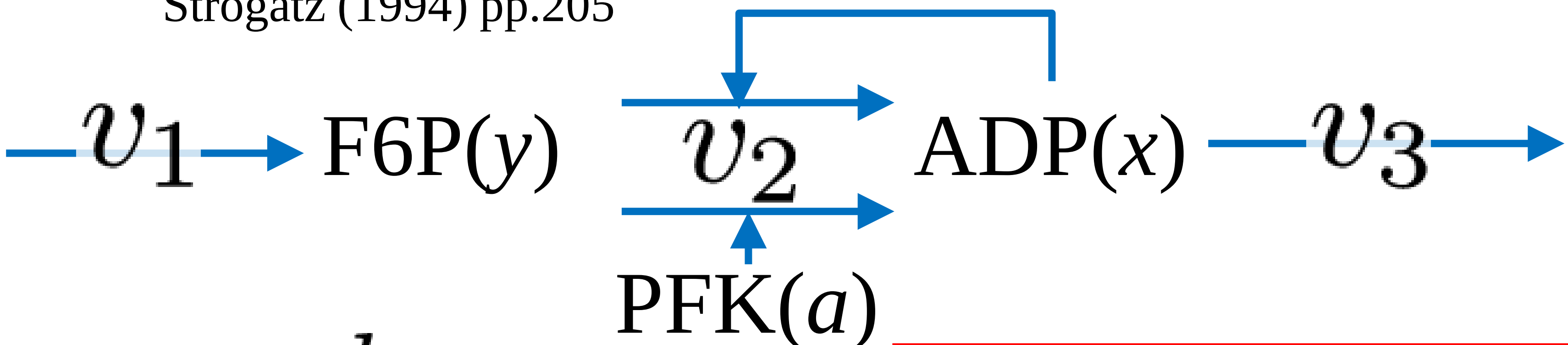


Jolley *et al.*, Cell Report (2012)

生体内での振動現象1

例1. 解糖系の振動モデル（*Sel'kov model*）

Strogatz (1994) pp.205



$$v_1 = b$$
$$v_2 = ay + x^2 y$$
$$v_3 = x$$

$$\boxed{\begin{cases} \dot{x} = v2 - v3 \\ \dot{y} = v1 - v2 \end{cases}}$$

課題1-1: シミュレーションで振動を確認しよう

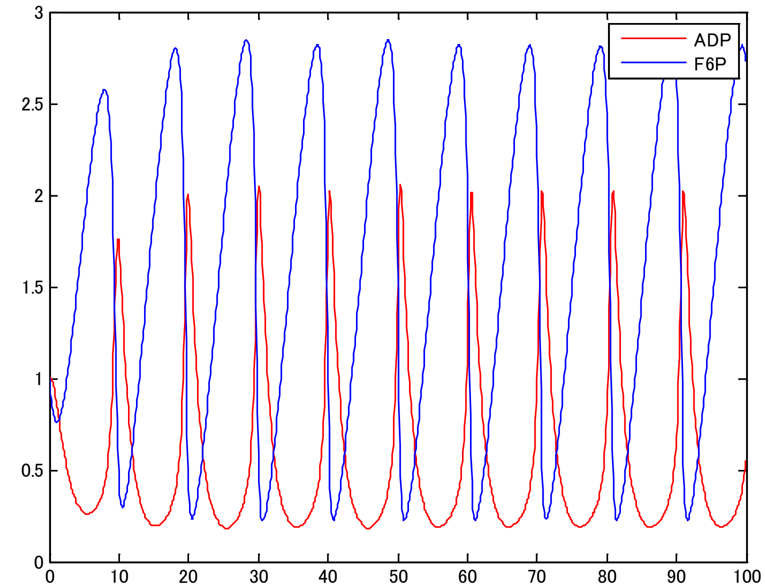
パラメータ: $a = 0.06, b = 0.6$　　横軸: 時間

初期値: $x(0) = 1, y(0) = 1$　　縦軸: 濃度

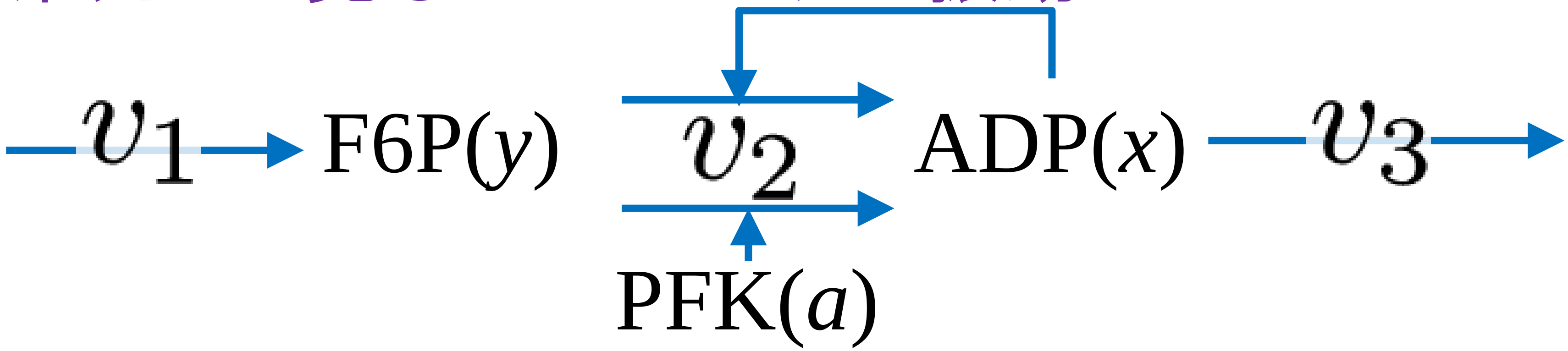
“selkov.m”をダウンロードして空欄を埋める

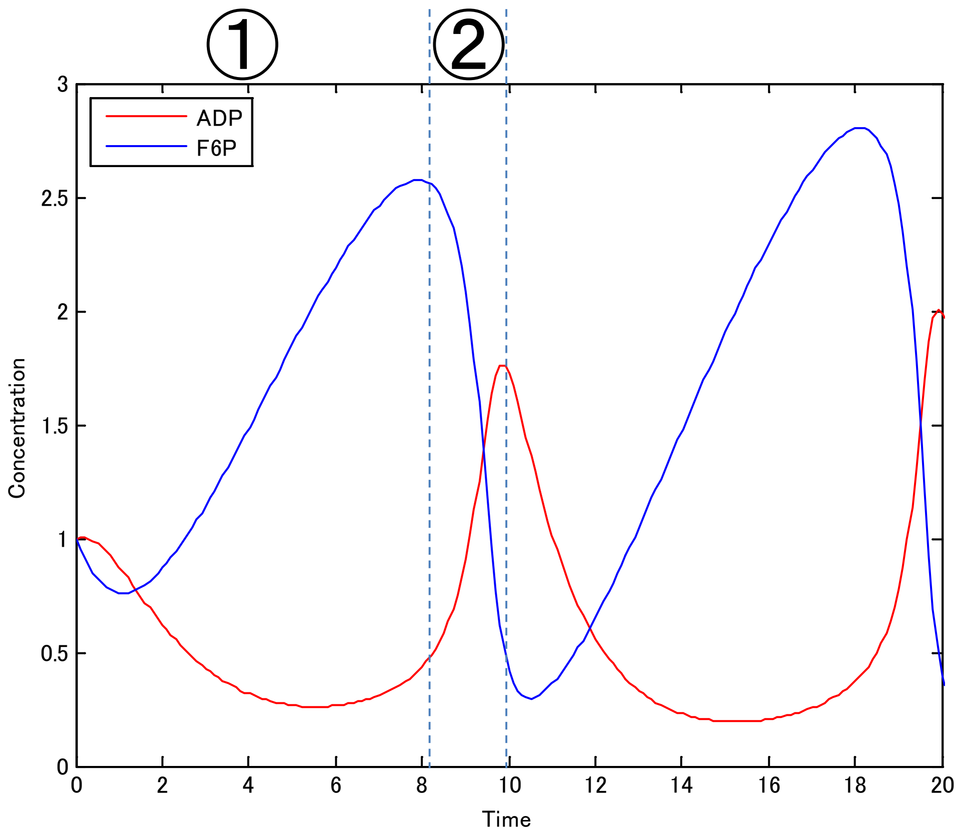
```
function selkov()
    % selkovモデル
    s0 = [1, 1]; % ADP(x)の初期値とF6P(y)の初期値
    param = [0.06, 0.6]; % パラメータ a, b
    time = 0.01:0.1:100; % シミュレーションを行う時間

    [t, time_course] = ode45(@(t, s) ODE(t, s, param), time, s0); % ODEを解く
    figure(1)
    plot(t, time_course(:,1), 'r', t, time_course(:,2), 'b'); % 横軸:時間、縦軸:濃度でplot
    legend({'ADP','F6P'});

end

function dsdt = ODE(t, s, param)
    x = s(1); % ADP
    y = s(2); % F6P
    a = param(1);
    b = param(2);
    v1 = 
    v2 = 
    v3 = 

    dsdt(1, :) =            % ADPの時間変化
    dsdt(2, :) =            % F6Pの時間変化
end
```

シミュレーション結果



時系列から見るSel'kov モデル振動のメカニズム



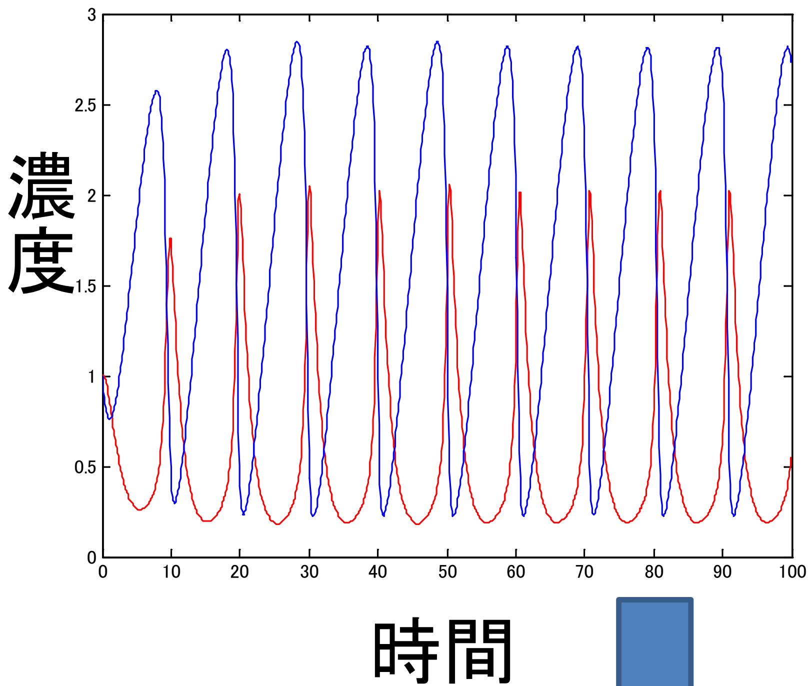


$$v_1 = b$$
$$v_2 = ay + x^2 y$$
$$v_3 = x$$

① 入力(定数)によってF6Pが溜まる。ADPは有限の値を維持。

② F6Pが大きくなるとADPが増え、F6Pが減る

x-*y*平面上で解軌道を描く



課題1-2:
さっきのファイルをいじって
相平面上での解軌道
（*x*-*y*平面上でplot）
とヌルクラインも描け

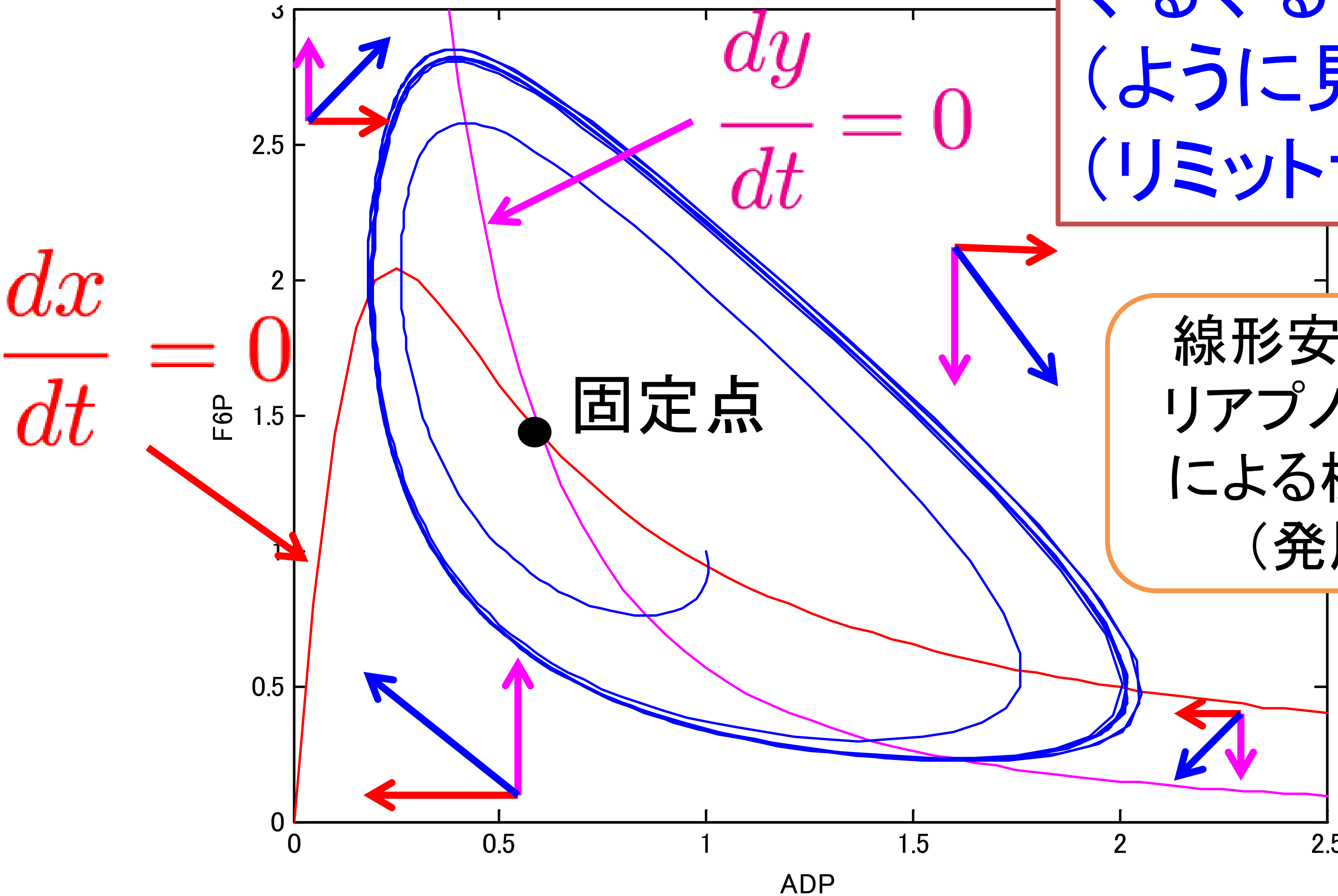
ヒント

```
plot(t, time_course(:,1));
```

は横軸:時間、縦軸:ADP濃度。
描きたいのは…

課題1-2 考察

シミュレーション結果

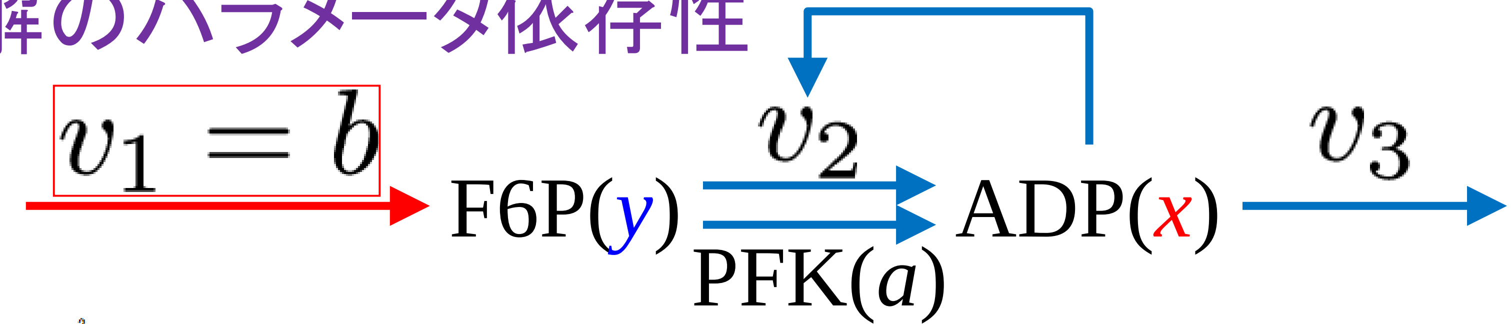


ぐるぐる回る
（ように見える）
（リミットサイクル）

線形安定性解析・
リアプノフ解析など
による検証が必要
（発展課題）

課題1-3: 入力が大きくなる or 小さくなるとどうなるか

振動解のパラメータ依存性



$b = 0.1$

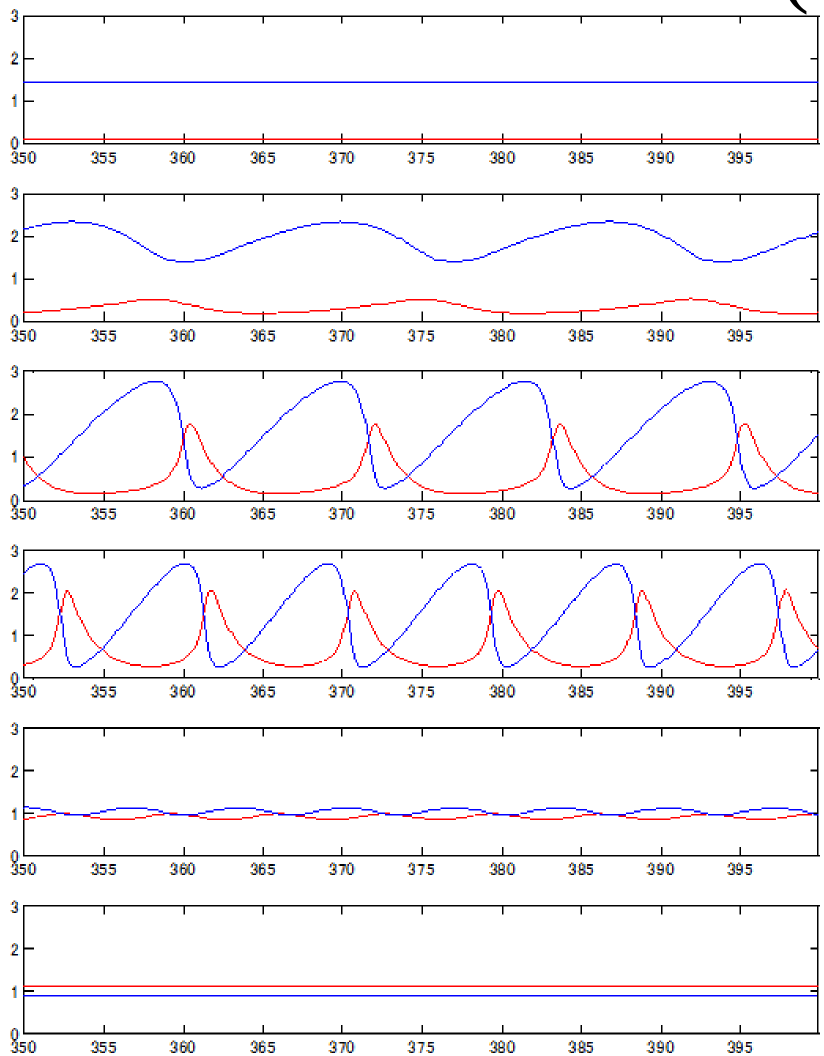
$b = 0.3$

$b = 0.5$

$b = 0.7$

$b = 0.9$

$b = 1.1$



入力の増加
⇨振幅: 増加
振動数: 増加

入力の増加
⇨振幅: 減少
振動数: 増加

ヒント: 複数のパラメータを計算する場合

for文を使う

```
function selkov()
    (略)
  [t, time_course] = ode45(@(t, s) ODE(t, s, param), time, s0);

  figure(1);
    (略)
end
```

```
function selkov_parameter_dependency() {
    (略)
  b = 0.1:0.2:1.1;
  for i = 1:numel(b);
    param(2) = b(i);
    [t, time_course] = ode45(@(t, s) ODE(t, s, param), time, s0);

    figure(1);
    hold on; subplot(numel(b), 1, i);
    plot(t, time_course(:,1), 'r', t, time_course(:,2));

      (略)
  end
end
```

```
for i = 1:n
   (※)
end
```

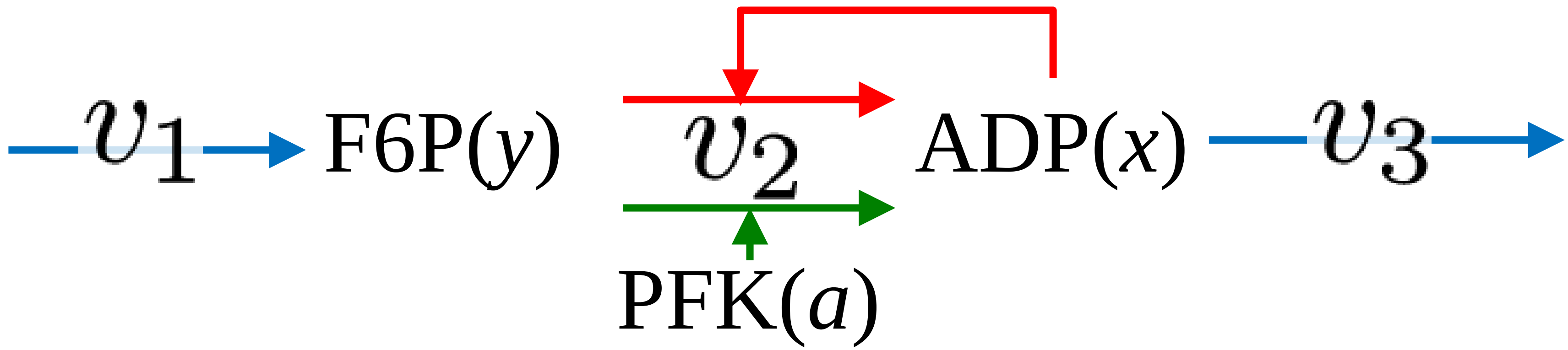
⇨ (※)をn回繰り返す

numel(配列)

⇨ 配列の要素の個数

解答例はselkov_parameter_dependency.mを参照

Sel'kovモデルの振動解に必要なパラメータとは？



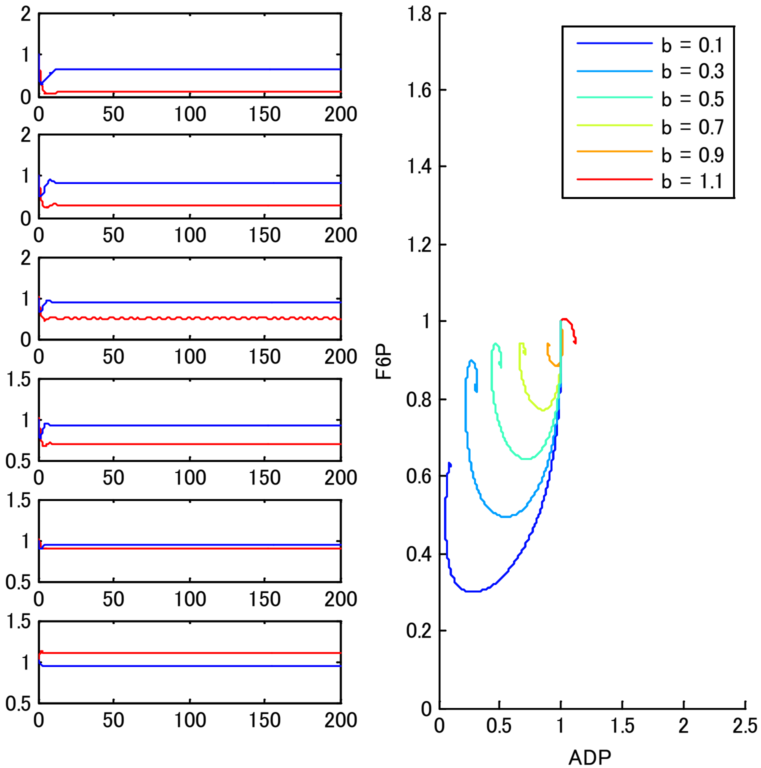
$$v_1 = b$$
$$v_2 = \boxed{ay} + x^{\boxed{2}} y$$
$$v_3 = x$$

ADPによるF6Pの生成において
F6Pの次数（協調性）が変わる
or/and
PFKによる基礎生成が変わる
（*a*の値を変える）

どうなるか確認せよ
（課題1-4）
入力依存性も調べよ
（課題1-5）

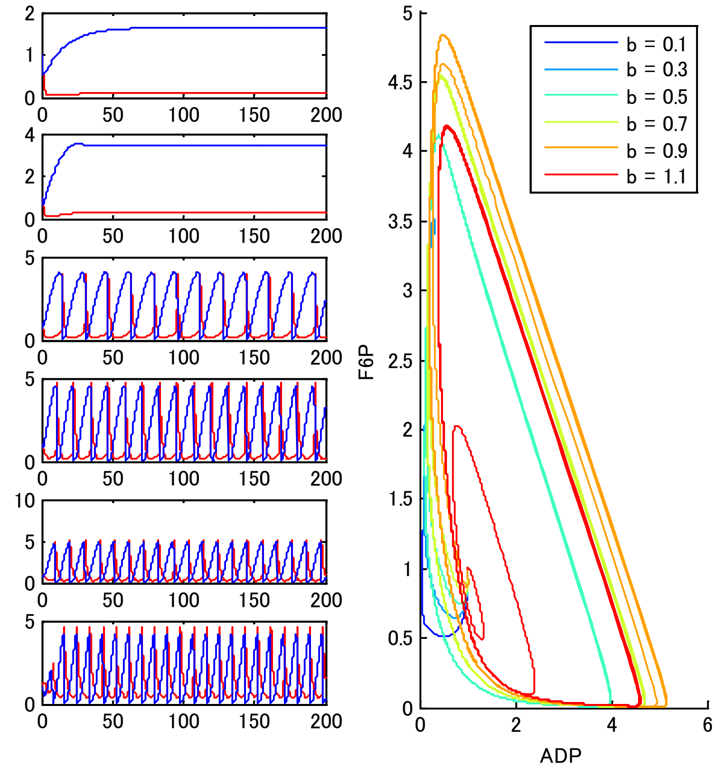
ADPによるF6Pの生成におけるF6Pの次数（協調性）

xの次数が1のとき



振動しない

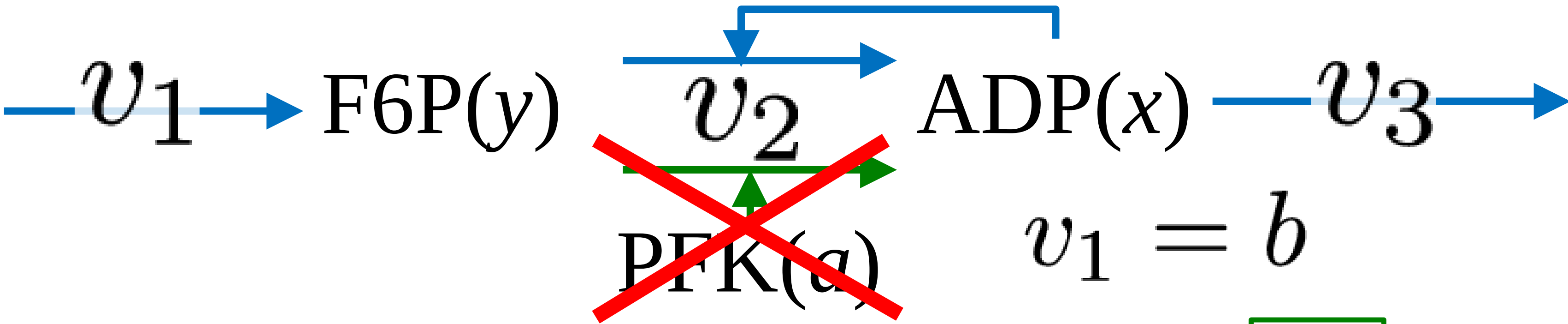
xの次数が3のとき



振動する

Sel'kovモデルの振動には
ポジティブフィードバックの協調性が必要なようだ

PFKによる基礎生成は必要か？



$$v_1 = b$$

$$v_2 = \cancel{ay} + x^2 y$$

$$v_3 = x$$

$$(x, y) = (b, \frac{1}{b})$$

が唯一の固定点だが…

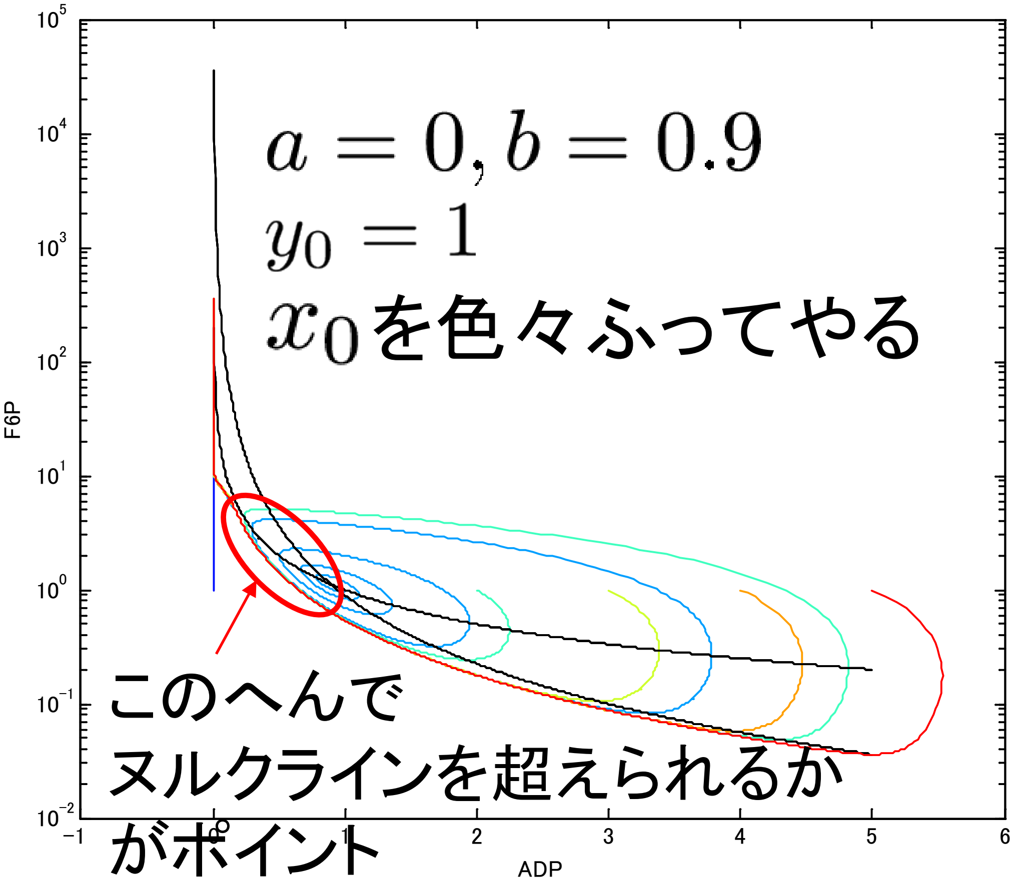
xが小さくなりすぎると、

$v_2 = v_3 = 0$となり、

yが増加し続ける

こともある（初期値依存）

振動は起こらない

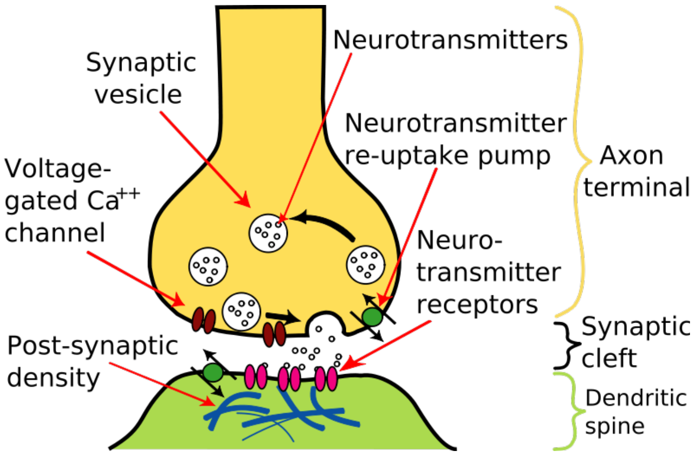


生体内での振動現象2

神経発火の（簡略化）モデル（*FitzHugh-Nagumo model*）

FitzHugh, Biophys. J (1961)
Nagumo *et al.*, Proc. IRE (1962)

（Hodgkin-Huxleyと同様の振る舞いを示す2変数モデル）



イカの神経軸索を用いた神経発火

⇨ Hodgkin-Huxleyモデル
（4変数、複雑）

⇕ 数学的に上手く再現

FitzHugh-Nagumoモデル

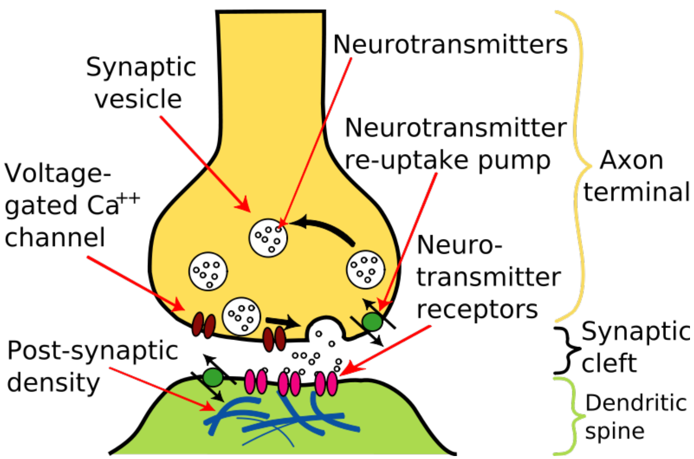
⇨ van der Pol方程式をベース
（2変数、簡単）

生体内での振動現象2

神経発火の(簡略化)モデル(*FitzHugh-Nagumo model*)

FitzHugh, Biophys. J (1961)
Nagumo *et al.*, Proc. IRE (1962)

(Hodgkin-Huxleyと同様の振る舞いを示す2変数モデル)



$$
\begin{cases}
\dfrac{dv}{dt} = v - \dfrac{v^3}{3} - w + \underline{Input} \\
\underline{\tau}\dfrac{dw}{dt} = v - a - bw
\end{cases}
$$

v : 膜電位、w: 不活性化変数
(簡略化によって集約)

課題2-1: シミュレーションで振動を確認しよう

パラメータ: $a = 0, b = 0, Input = 0, \tau = 10$

初期値: $x(0) = 1, y(0) = 0$

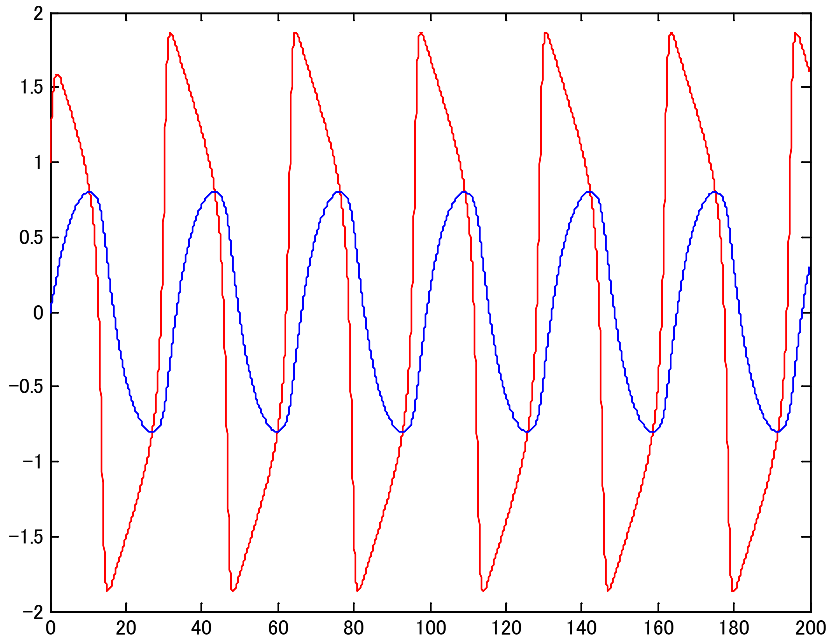
“fitzhugh_nagumo.m”をダウンロードして空欄を埋める

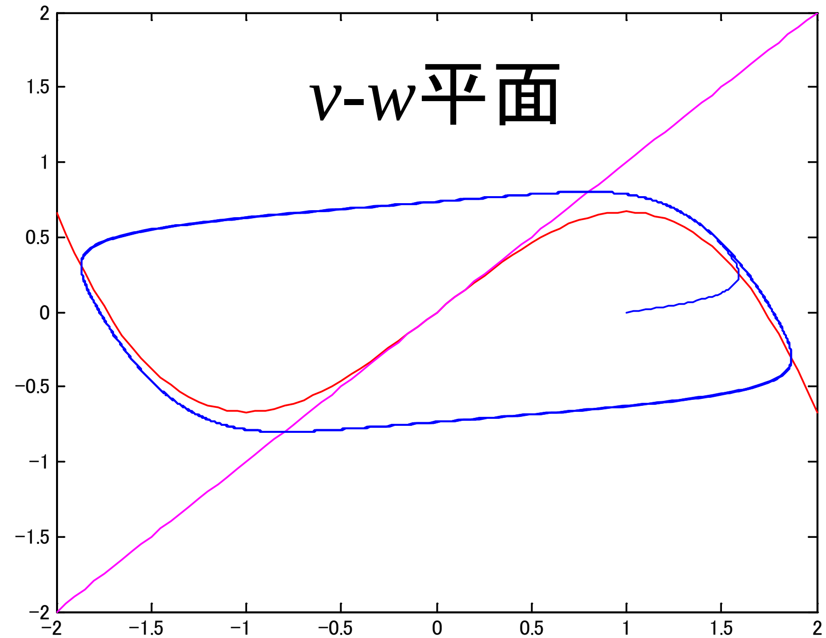
```
function fitzhugh_nagumo()
    % FitzHugh-Nagumoモデル
    % ODEを数値的に解く
    s0 = [1, 0]; % 膜電位(v)の初期値と不活性化変数(w)の初期値
    param = [0.0 , 1, 0, 10]; % パラメータ a, b, I, tau
     (略)
    figure(1);
    plot(                                        );
    figure(2);
    plot(                                        );
     (略)
end
```

```
function dsdt = ODE(t, s, param)
    v = s(1); % 膜電位
    w = s(2); % 不活性化変数
    a = param(1);
    b = param(2);
    Input = param(3);
    tau = param(4);

    dsdt(1, :) =                          
    dsdt(2, :) =                          
end
```

```
function plot_nullcline(param)
    a = param(1);
    b = param(2);
    Input = param(3);
    tau = param(4);

    v = -2:0.05:2;
    w1 =                 
    w2 =                 
    plot(v, w1, 'r', v, w2, 'm');
end
```

課題2-1 シミュレーション結果





振動する！

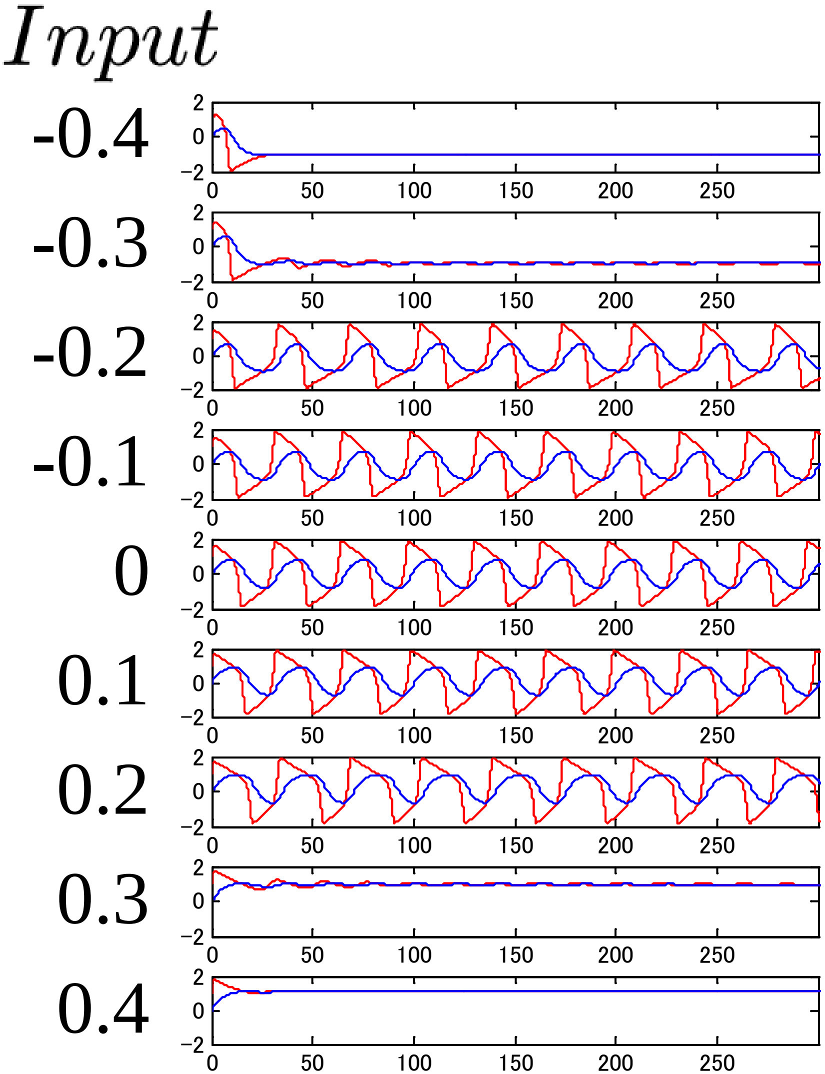
周期解を持つ！

解答例（課題 2-1）

```
function dsdt = ODE(t, s, param)
  （略）
   dsdt(1, :) = v - v.^3./3 - w + I;
   dsdt(2, :) = 1 ./ tau .* (v - a - b .* w);
end
```

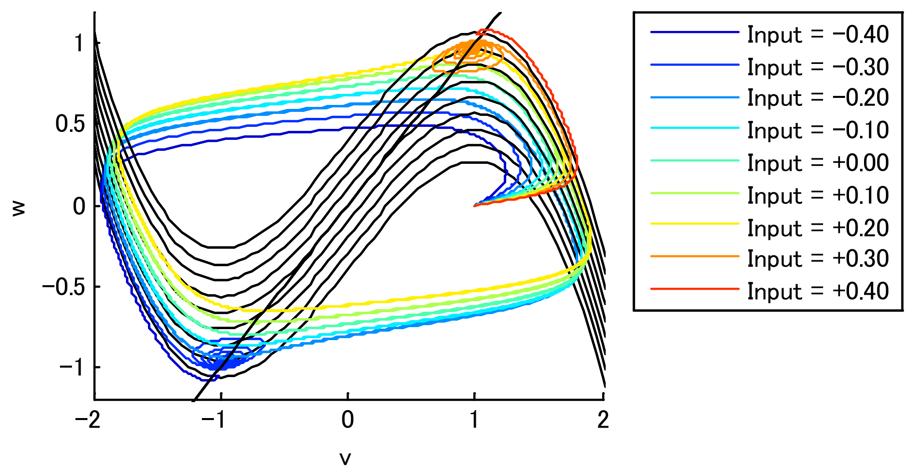
```
function plot_nullcline(param)
  （略）
   w1 = v - v.^3./3 + I;
   w2 = 1./b .* (v - a);
   plot(v, w1, 'r', v, w2, 'm');
end
```

FitzHugh-Nagumoモデルのパラメータ依存性



Sel'kovモデルの場合を参考にしつつ
自力で作ってみる！

振動する場合、
振幅はほぼ一定

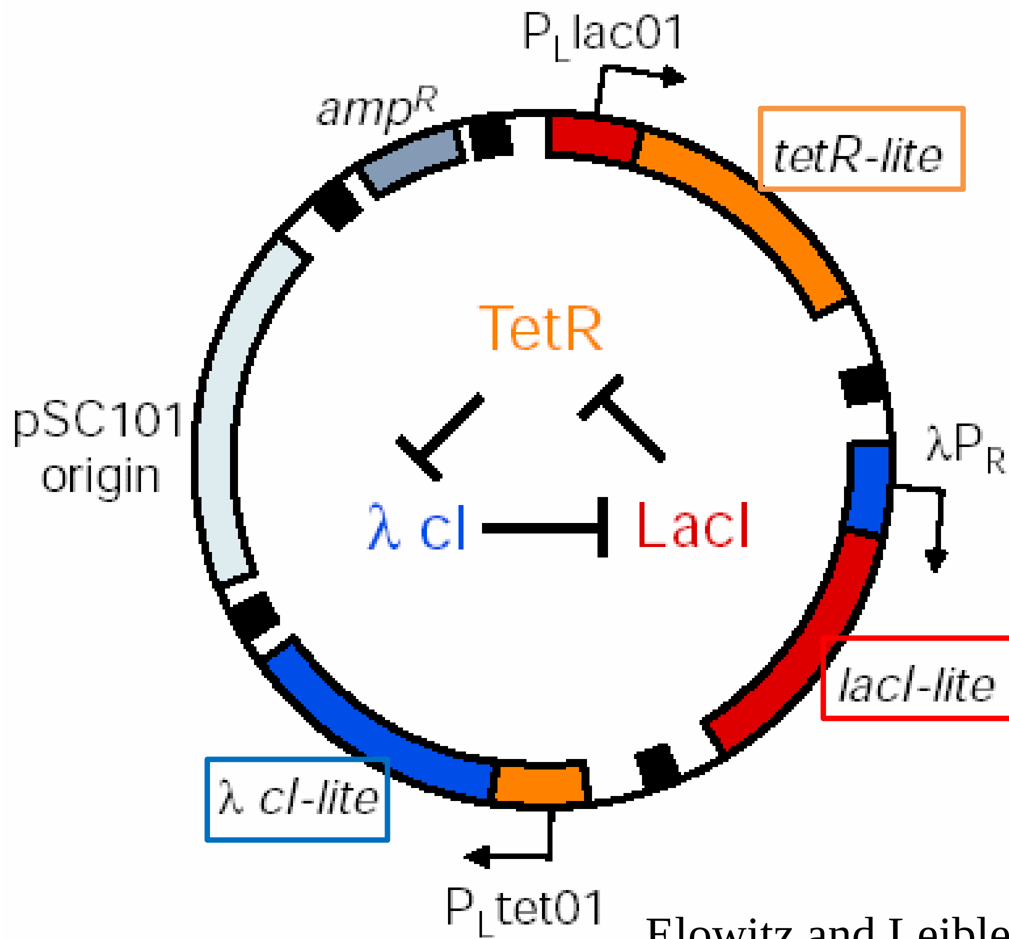


どうしても自力で出来ない場合は、
解答例（fitzhugh_nagumo_parameter_dependency.m）を参照

生体内での振動現象3

例3. リプレッシレーター (*Repressilator*)

※ 天然にはない組み合わせ、人工的に合成



3種のタンパク質が
各々異なるタンパク質の
プロモーター領域に結合・
発現を抑制

Elowitz and Leibler (2000) *Nature*

生体内での振動現象3

例3. リプレッシレーター (*Repressilator*)

mRNAの時間変化

プロモーター領域に結合したInhibitorによる発現の阻害

$$\begin{cases} \dfrac{dm_i}{dt} = -m_i + \dfrac{\alpha}{1+p_j^n} + \alpha_0 \\ \dfrac{dp_i}{dt} = \beta(m_i - p_i) \end{cases}$$

分解（mRNAに比例）

mRNAの基礎発現

Proteinの時間変化

分解（タンパク質量に比例）

各パラメータは無次元化してある

翻訳（mRNAに比例）

$$(i,j) = (TetR, LacI), (LacI, \lambda cI), (\lambda cI, TetR)$$

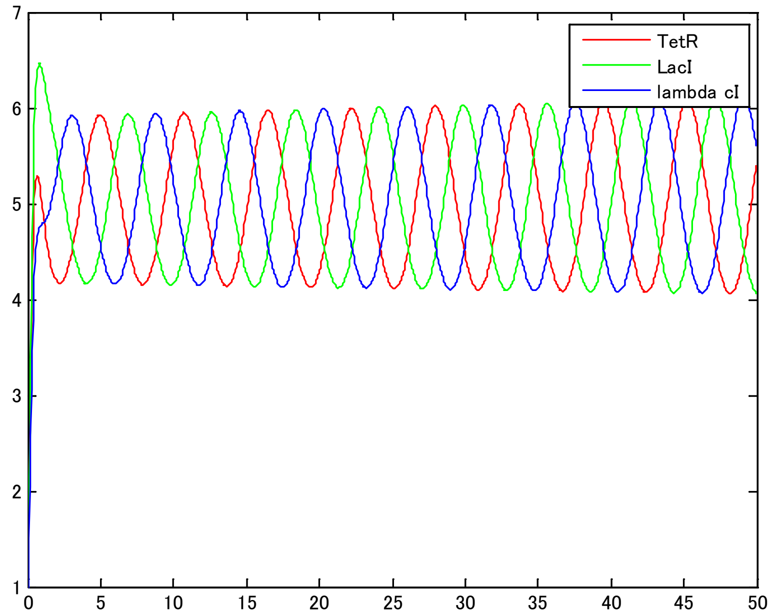
$$\alpha = 100, \alpha_0 = 1, \beta_1 = \beta_2 = \beta = 5, n = 2$$

課題3-1 “repressilator.m”をダウンロードして空欄を埋める

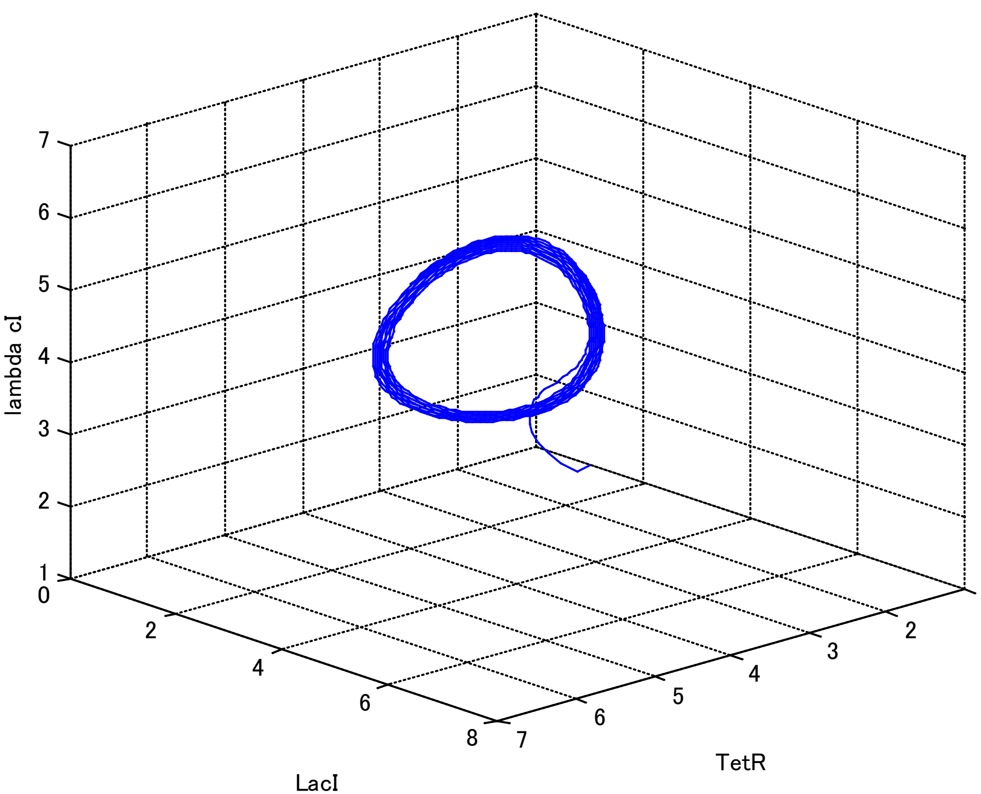
```
function repressilator()
    % Repressilatorモデル
    % ODEを数値的に解く
     (略)
    figure(1);
    plot(                                        );
        % 横軸:時間、縦軸:変数でプロット（3種類のタンパク質について）
    figure(2);
    plot3(                                  );
        % 横軸:TetR、縦軸:LacI、高さ軸: λcI
end

function dsdt = ODE(t, s, param)
     (略)
    dsdt(1, :) =                  % tetR-lite
    dsdt(2, :) =                  % lacI-lite
    dsdt(3, :) =                  % λcI-lite
    dsdt(4, :) =                  % TetR
    dsdt(5, :) =                  % LacI
    dsdt(6, :) =                  % λcI
end
```

3次元のプロット:
plot3([xの配列], [yの配列], [zの配列], 色)

課題3-1 シミュレーション結果



3種類のタンパク質が
位相差を伴って発現！

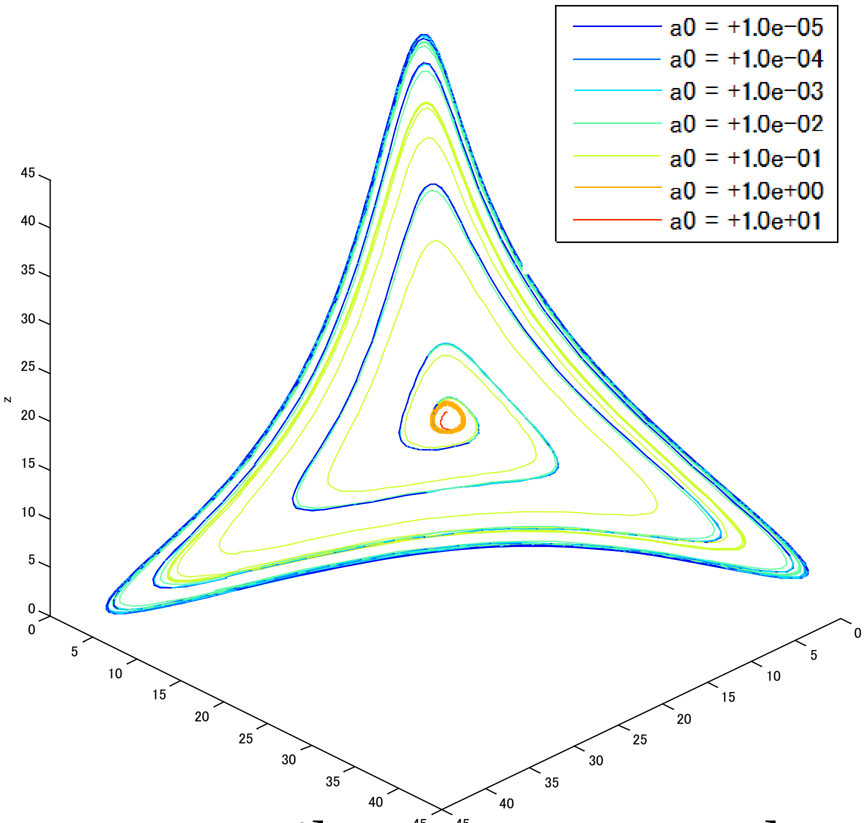


課題3-2: Repressilatorのパラメータ依存性

$$\frac{dm_i}{dt} = -m_i + \frac{\alpha}{1+p_j^n} + \boxed{\alpha_0}$$

mRNAの基礎発現

$$\frac{dp_i}{dt} = \beta(m_i - p_i)$$



α_0

10^{-5}

10^{-4}

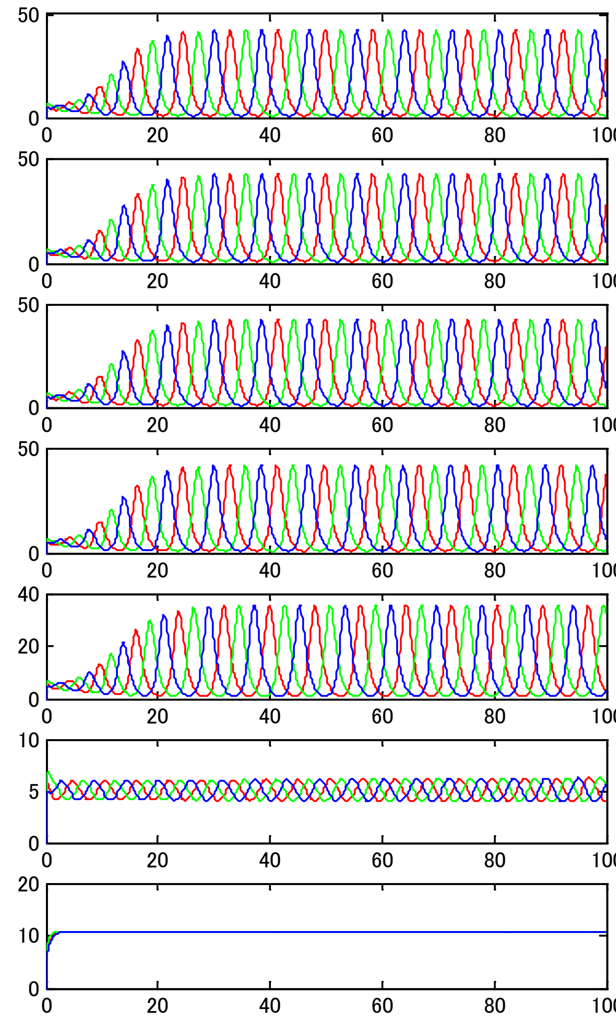
10^{-3}

10^{-2}

10^{-1}

1

10



repressilator_paramater_dependency.m

課題3-3: Repressilatorのパラメータ依存性

$$\frac{dm_i}{dt} = -m_i + \frac{\alpha}{1 + p_j^n} + \alpha_0$$

$$\frac{dp_i}{dt} = \beta(m_i - p_i)$$

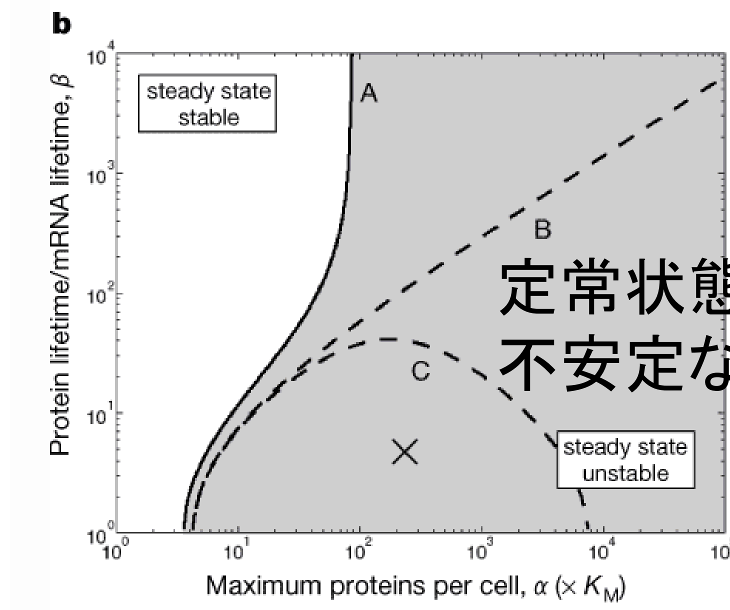
他にもパラメータ依存性を調べよ

- プロモータの強さ: α
- Inhibitorの協調性: n
- mRNAの翻訳速度及びタンパク質の分解速度: β
（mRNAとタンパク質の分解速度の比）

Repressilatorの合成のために

パラメータ依存性を調べた研究

- mRNAの基礎発現: α_0
- プロモータの強さ: α
- mRNAの翻訳速度及び
  タンパク質の分解速度: β



定常状態が
不安定な領域

振動が起こる条件は、
A. 基礎発現(α_0)が低く、プロモータ(α)が強い
B. mRNAとタンパク質の分解速度のバランス(β)が取れている

モデルを元に、振動を起こすために論文で行われたことは・・・
A. 抑制時と比べ、300～5000倍発現するプロモータを使用
B. プロテアーゼの認識部位を末端につけ、タンパク質の分解を促進

Elowitz M. B., Leibler S. “A synthetic oscillatory network of transcriptional regulators” Nature. (2000)

今日のまとめ

- MATLABを用いて、Sel'kovモデル・Repressilotorモデルのシミュレーションを行い、振動（周期解を持つこと）を確認した。
- 振動の性質のパラメータ依存性を確認した。

- *Q*. 周期解を持つことを示すには、どのようにすれば良いか？

  A. ベクトル場、固有値、線形安定性解析、極座標変換、リアプノフ解析などなど（発展問題）

この後の発展問題は、
Sel’kovモデルとFitzHugh-Nagumoモデルの
線形安定性解析に関する問題です。

これまで、固有値や固有ベクトルを求めたことはあっても、
固有値や固有ベクトルの意味・意義がよく分からない…
という人は、
http://kurodalab.bi.s.u-tokyo.ac.jp/class/Summer/2013/Day6/linear_stability_analysis.pdf
で、簡単に線形安定性解析についてまとめてあるので、
一度見ておいてください。

発展課題１（次のページ以降に解法のヒントあり）

Sel'kovモデルについて、

(1) ベクトル場を描け

(2) 固定点を求めよ

(3) ヤコビ行列を求めよ

(4) 固有値を求め、固定点の安定性を調べよ。

(5) パラメータの組(a,b)を変化させて、解軌道がどのように変化するか調べよ。
（横軸: a、縦軸bとして、固定点の安定性を示せ。
　ヒント: 固有値の実部と虚部は何を示しているのか）

(7) 各パラメータや初期値を変化させて、解軌道をシミュレーションし、振動解が現れる場合における、振動数-振幅間の関係を調べよ（パラメータを変化させて、横軸: 振動数・縦軸: 振幅でプロット）。また、(6)との対応を議論せよ。

ヒント: 発展課題 -ベクトル場-

ベクトル場は、

```
quiver([ベクトルの始点x],
       [ベクトルの始点y],
       [ベクトルのx軸方向の長さ],
       [ベクトルのy軸方向の長さ]);
```

で描ける。
例えば、
点(0,0)と(2,1)をそれぞれ始点とした
ベクトル(※)(5,4)と(-2,-3)を描きたい場合は、

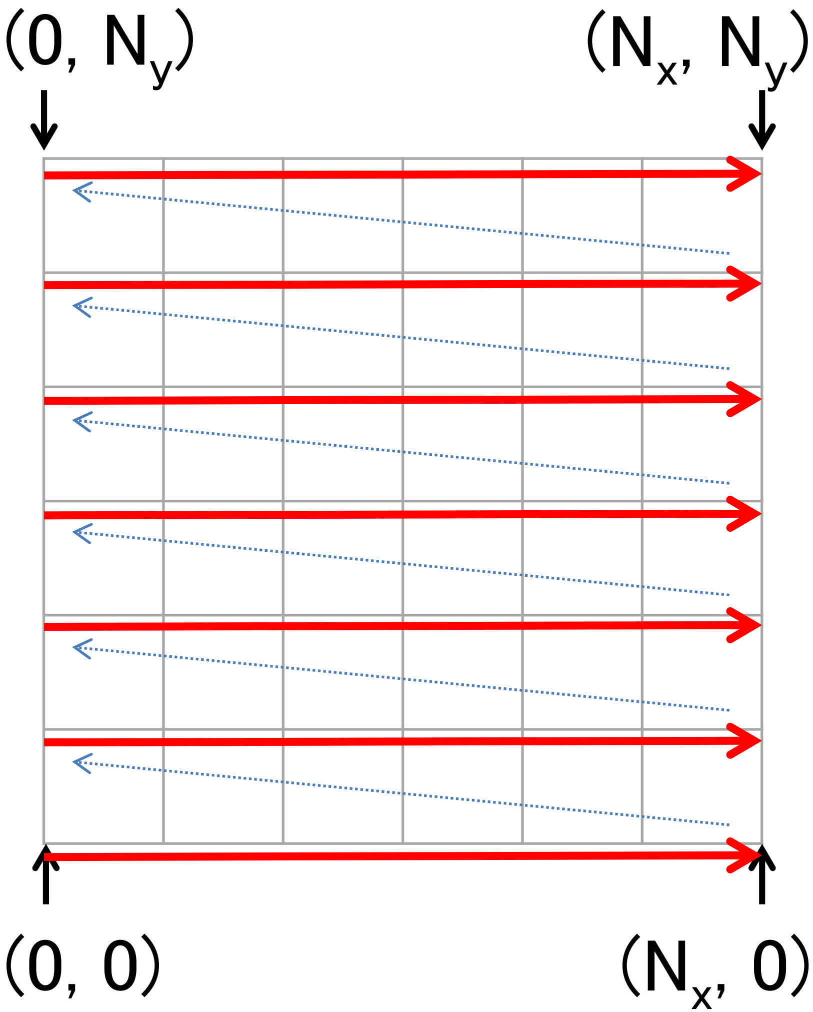
```
quiver([0,2], [0,1], [5,-2], [4,-3]);
```

とすればよい。

※ 実際には、一番長いベクトルの長さが $\sqrt{2}$ になるように規格化されてしまう。

ヒント: 発展課題 -ベクトル場-

ベクトルの始点の決め方



[X,Y]=meshgrid(0:Nx, 0:Ny)

meshgrid(0:4, 0:5)

X =

0	1	2	3	4
0	1	2	3	4
0	1	2	3	4
0	1	2	3	4
0	1	2	3	4
0	1	2	3	4

Y =

0	0	0	0	0
1	1	1	1	1
2	2	2	2	2
3	3	3	3	3
4	4	4	4	4
5	5	5	5	5

X, Yを使って、
変化ベクトルを求める

```
DX= … ;
DY= … ;
quiver(X, Y, DX, DY);
```

ヒント: 発展課題 -固定点-

固定点とは、連立方程式

$$\begin{cases} dx/dt=0 \\ dy/dt=0 \end{cases}$$

を満たす点である。

連立方程式を解くには、

```
syms x y;
```

で変数x, yを文字として認識させた後

```
S = solve('式1', '式2', 'x', 'y');
```

とすれば、Sに解が代入される。

得られた解は、

```
[S.x; S.y]
```

とすれば確認できる。

例:

```
syms x y;
S = solve('x + y = 1', '2*x - y = 4', 'x','y');
```

ヒント: 発展課題 -ヤコビ行列-

ヤコビ行列とは、連立微分方程式

$$\left\{\begin{array}{rcl} \dot{x}_1 & = & f_1(x_1, \cdots, x_n) \\ & \vdots & \\ \dot{x}_n & = & f_n(x_1, \cdots, x_n) \end{array}\right.$$

について

$$J = \left\{\begin{array}{ccc} \dfrac{\partial f_1}{\partial x_1} & \cdots & \dfrac{\partial f_1}{\partial x_n} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \dfrac{\partial f_n}{\partial x_1} & \cdots & \dfrac{\partial f_n}{\partial x_n} \end{array}\right.$$

となる行列のこと

ヒント: 発展課題 -ヤコビ行列-

ヤコビ行列をMATLABを用いて求めるには、
シンボル化された変数（x1, ⋯ xn）と
関数 f = f(x1, ⋯ xn)
に対して、微分を行う関数diffを用いる。

例1:

```
syms x y;
f = x^2 + y^3;
dfdx = diff(f, x);
```

例2:

```
syms x y;
f = x^2 + y^3; g = x^4*y
J = [diff(f, x), diff(f, y); diff(g, x), diff(g, y)];
```

※ セミコロン

ヒント: 発展課題 -固有値と固有ベクトル-

MATLABで固有値・固有ベクトルを求めるには、
関数eigを用いる。

例1:
```
[V,D] = eig(A);
```

V: 行列。各列が各固有ベクトルに対応
D: 行列。対角成分に固有値。
固有ベクトルの列番号と対応

例2:
```
d = eig(A);
```

d: 固有値のベクトル

発展課題 2

FitzHugh-Nagumoモデルについて、

(1) ベクトル場を描け

(2) 固定点を求めよ

(3) ヤコビ行列を求めよ

(4) 固有値を求め、固定点の安定性を調べよ。

(5) パラメータの I を変化させて、固定点及び固定点の安定性がどのように変化するか調べよ。
（例: 横軸: I、縦軸: 固定点の x 座標、色:安定性）

(6) 別のパラメータについても、(5)と同様に調べよ。

(7) 各パラメータや初期値を変化させて、解軌道をシミュレーションし、振動解が現れる場合における、振動数-振幅間の関係を調べよ（パラメータを変化させて、横軸: 振動数・縦軸: 振幅でプロット）。また、(6)との対応を議論せよ。

発展課題 3

Repressilatorモデルについて、

今回の実習では、各パラメータは、分子の種類に依存しないことを仮定していた。

そこで、ある分子種だけパラメータを変化させた場合、解軌道はどのように変わるか？

例: $\alpha_0 = 1$ ⇨ $\alpha_0^{\text{tetR-lite}} = 5$

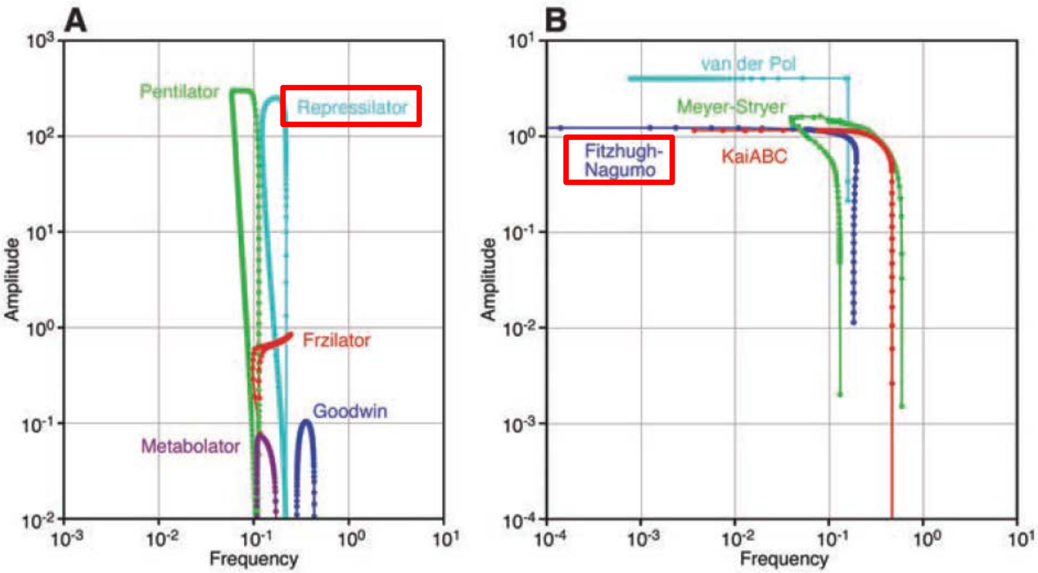
$$\alpha_0^{\text{lacI-lite}} = 1$$

$$\alpha_0^{\lambda\ \text{cI-lite}} = 1$$

発展課題 5: 振動解の振幅・振動数

Tsai *et al*., Science (2008)を読んで
（http://stke.sciencemag.org/cgi/content/abstract/sci;321/5885/126
モデルの詳細はSupporting Online Materialにある）
様々な系のシミュレーションをせよ。
また、振動解の振幅・振動数の関係（本論文Fig.3、下図）を調べよ。

論文で用いられている式にいくつか誤りがあるので、memo_and_correction.pdfを参照



変化させるパラメータ例

Repressilator: 1種類だけタンパク質分解速度を変化
→ 振幅が大きく変化

FitzHugh-Nagumo: 不活性化変数の緩和時間
→ 振動数が大きく変化