力学系(1): 双安定性とヒステリシス

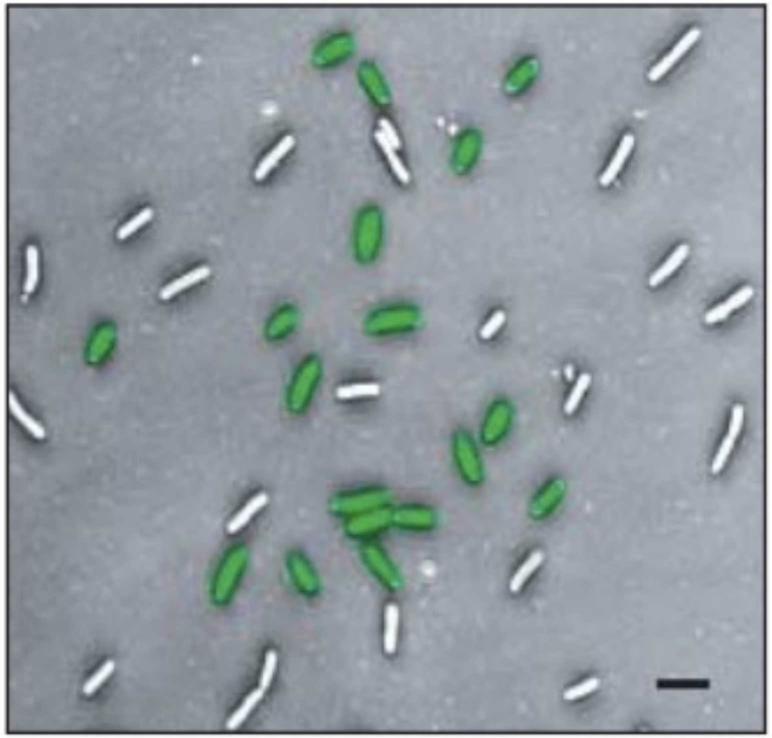
柚木克之 (YUGI, Katsuyuki)
Kuroda Lab., The University of Tokyo

実習課題：大腸菌lacオペロンの双安定性

1. 大腸菌は糖の濃度を記憶する
   - メカニズム：双安定性とヒステリシス
   - Ozbudakモデルを動かして確認する

1. ヒステリシスには次の2つが必要
   - ポジティブ・フィードバック
   - 協同効果

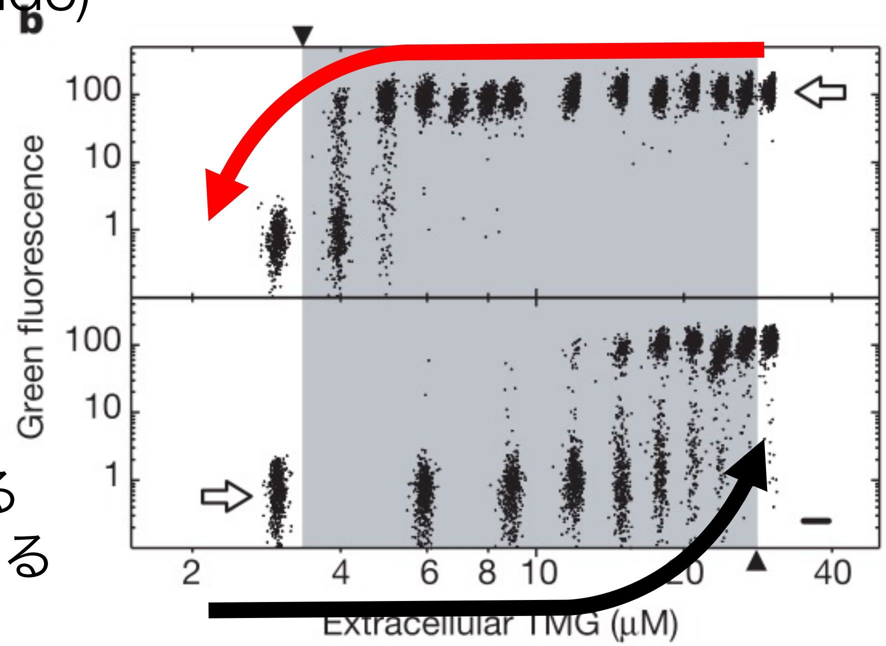
2. 上記を力学系の言葉で説明する



Ozbudak et al. (2004) Nature

大腸菌は周囲の糖の濃度を記憶する

- X軸: TMG (methyl-β-D-thiogalactopyranoside)
  - 分解できない糖（の類似体）
- Y軸: LacY タンパク質
  - 大腸菌の細胞内に TMG を取り込む
- どういう実験か？
  - 一定濃度のTMGを含む培地で大腸菌を育てる
  - 大腸菌細胞が放つ光の強さで LacY の量を測る



Ozbudak et al. (2004) Nature

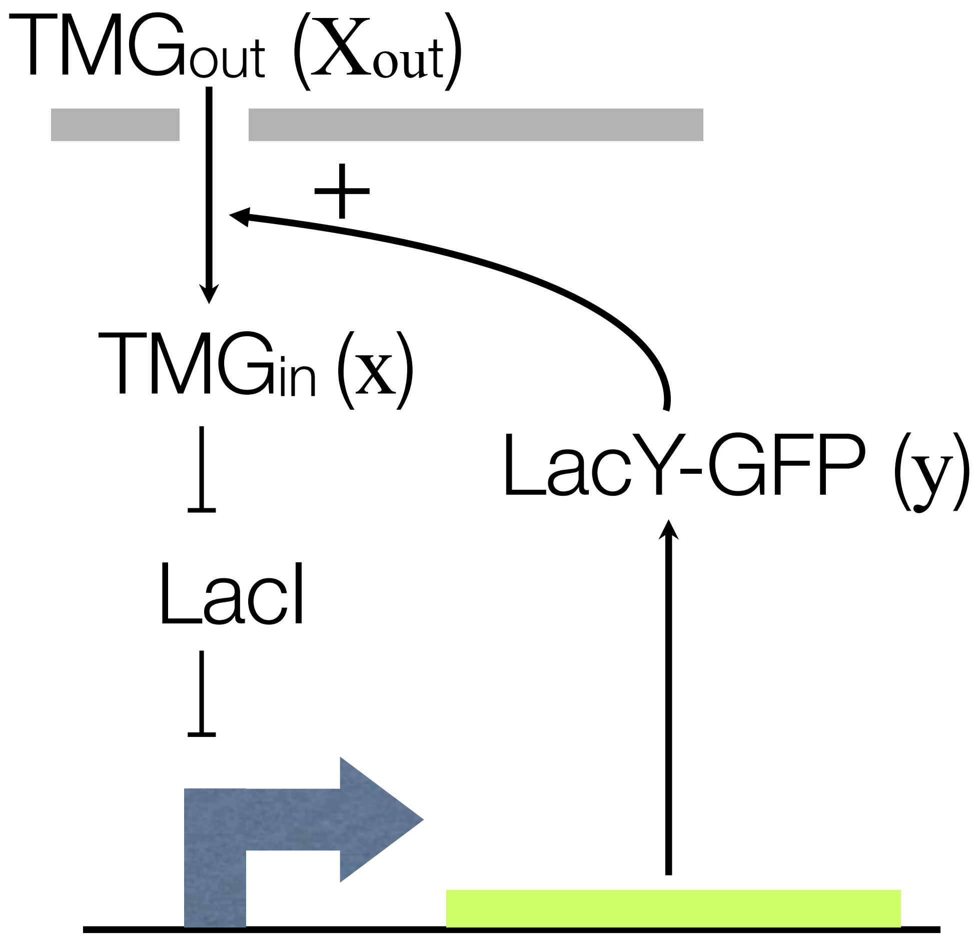
- 実験結果
  - TMG の濃度が同じでも LacY の量が異なる。大まかに2つに分かれる。（双安定）
  - TMGを徐々に増やす場合（右図下半分）と減らす場合（上半分）とでLacY の量が異なる（ヒステリシス, または履歴現象）

Ozbudakらは2変数の式で ポジティブ・フィードバックをモデル化した

Ozbudak et al. (2004) のモデル（一部簡略化）

$$
\begin{cases}
\dfrac{dx}{dt} = -x + \alpha X_{out} + \beta y \\
\dfrac{dy}{dt} = \dfrac{x^2}{\rho + x^2} - y
\end{cases}
$$

TMG は LacY によって取り込まれ、
LacIを阻害する



Ozbudakモデルの変数と定数の意味

$$\begin{cases} \dfrac{dx}{dt} = -x + \alpha X_{\mathrm{out}} + \beta y \\ \dfrac{dy}{dt} = \dfrac{x^2}{\rho + x^2} - y \end{cases}$$

変数

x: $\mathrm{TMG_{in}}$
y: LacY-GFP

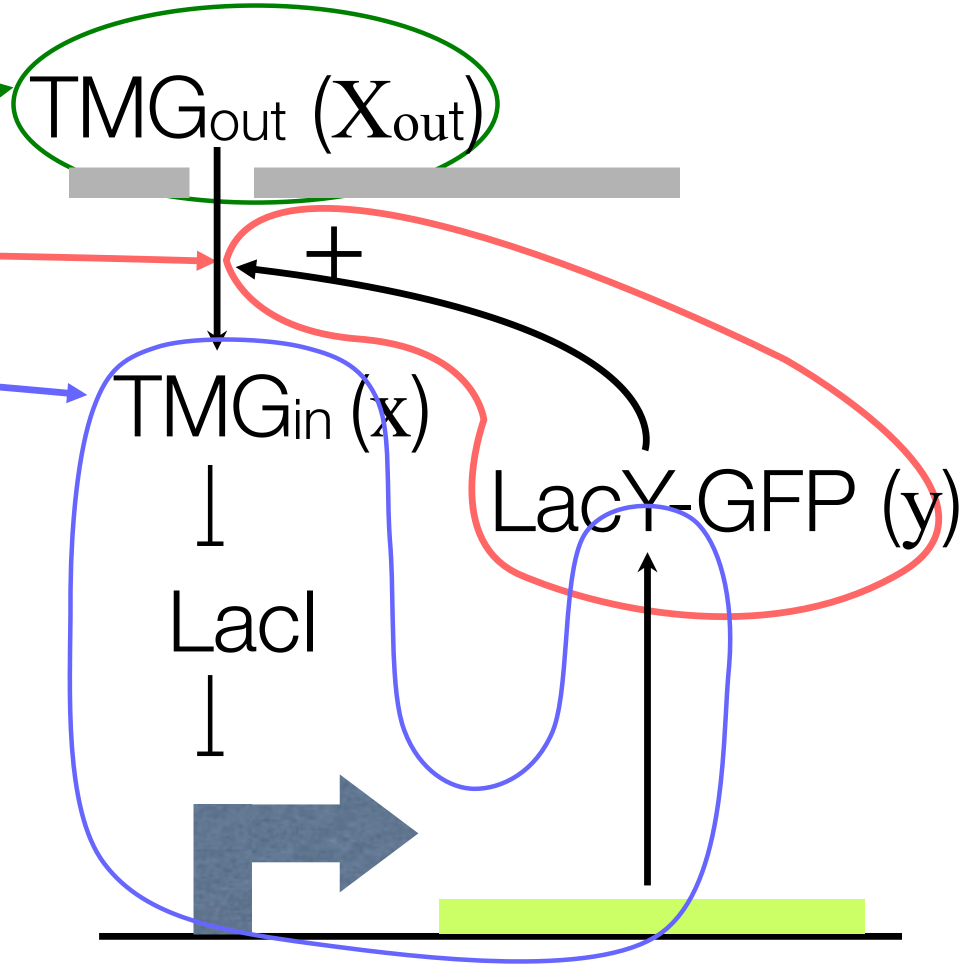
定数

α: TMG取り込み
β: LacYによるTMG取り込み
ρ: LacI による抑制の強さ

微分方程式と生化学反応系の対応

x, yの分解

$$
\begin{cases}
\dfrac{dx}{dt} = \boxed{-x} + \alpha X_{out} + \beta y \\[2ex]
\dfrac{dy}{dt} = \dfrac{x^2}{\rho + x^2} \boxed{- y}
\end{cases}
$$



演習1：まずはOzbudak modelを動かそう

演習1(python): Ozbudak modelを動かす

$$
\begin{cases}
\dfrac{dx}{dt} = -x + \alpha X_{\mathrm{out}} + \beta y \\[2ex]
\dfrac{dy}{dt} = \dfrac{x^2}{\rho + x^2} - y
\end{cases}
$$

初期値（変数）　: $x(t=0) = 0$, $y(t=0) = 0$

パラメータ（定数）: $\alpha = 0.1$, $\beta = 10$, $\rho = 25$, $X_{\mathrm{out}} = 5$

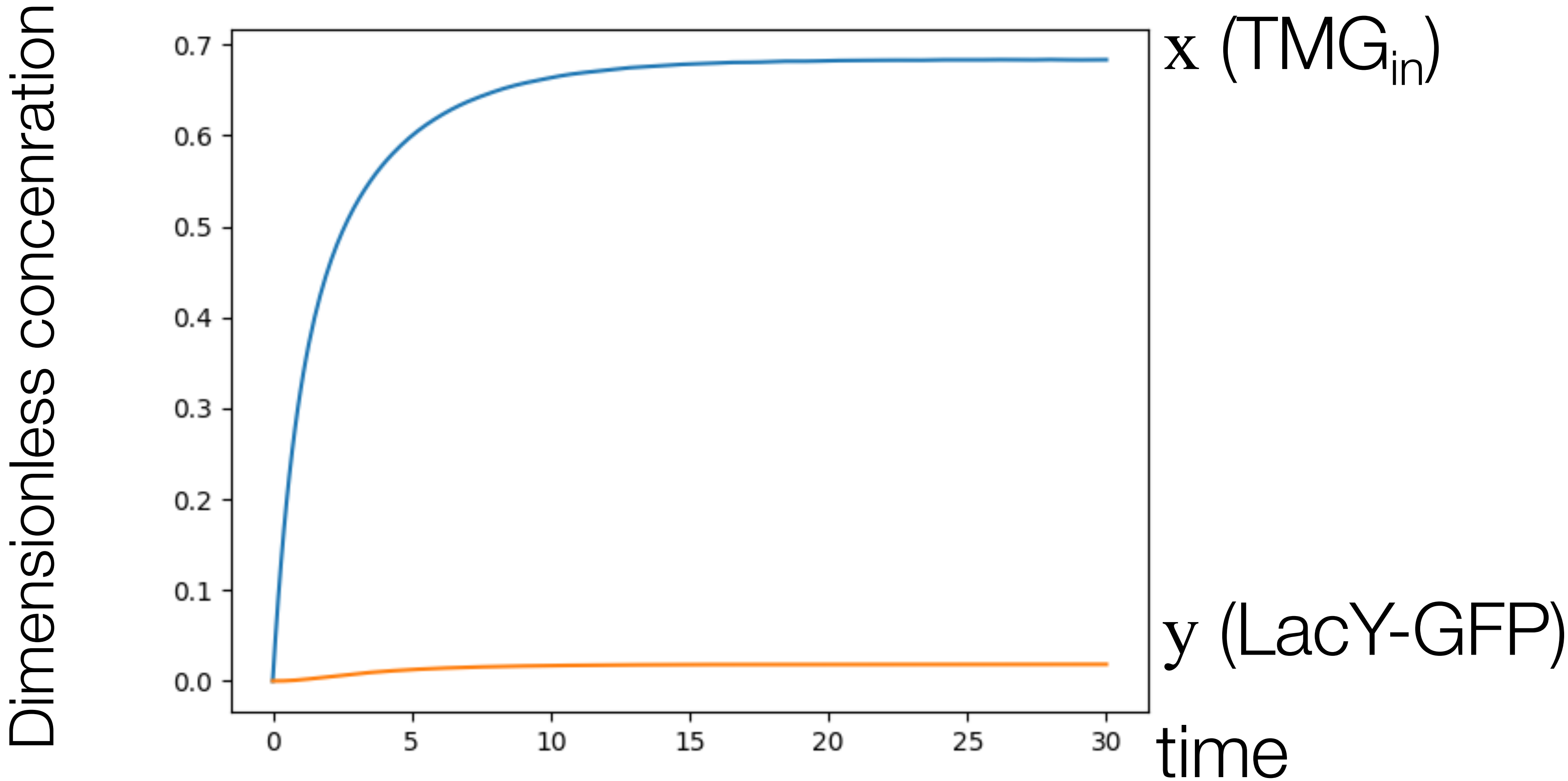
空欄を埋めなさい

コード (ozbudak.py)

```
import matplotlib.pyplot as plt
import numpy as np
from scipy.integrate import solve_ivp

def ozbudak_model( t , init , *param ):
    x = init[ 0 ]
    y = init[ 1 ]

    [ alpha , beta , rho , x_out ] = param

    dxdt = 
    dydt = 

    return [ dxdt , dydt ]
```

```
init = [ 0 , 0 ]
t_span = [ 0 , 30 ]
t_eval = np.linspace( t_span[0] , t_span[1] , 300 )

alpha = 0.1
beta = 10
rho = 25
x_out = 5
param = [ alpha , beta , rho , x_out ]

solution = solve_ivp( ozbudak_model, t_span, init ,
                      t_eval=t_eval , method='RK45',
                      args=param )

TMG = solution.y[0]
LacY = solution.y[1]

plt.plot( solution.t , TMG )
plt.plot( solution.t , LacY )
plt.show()
```

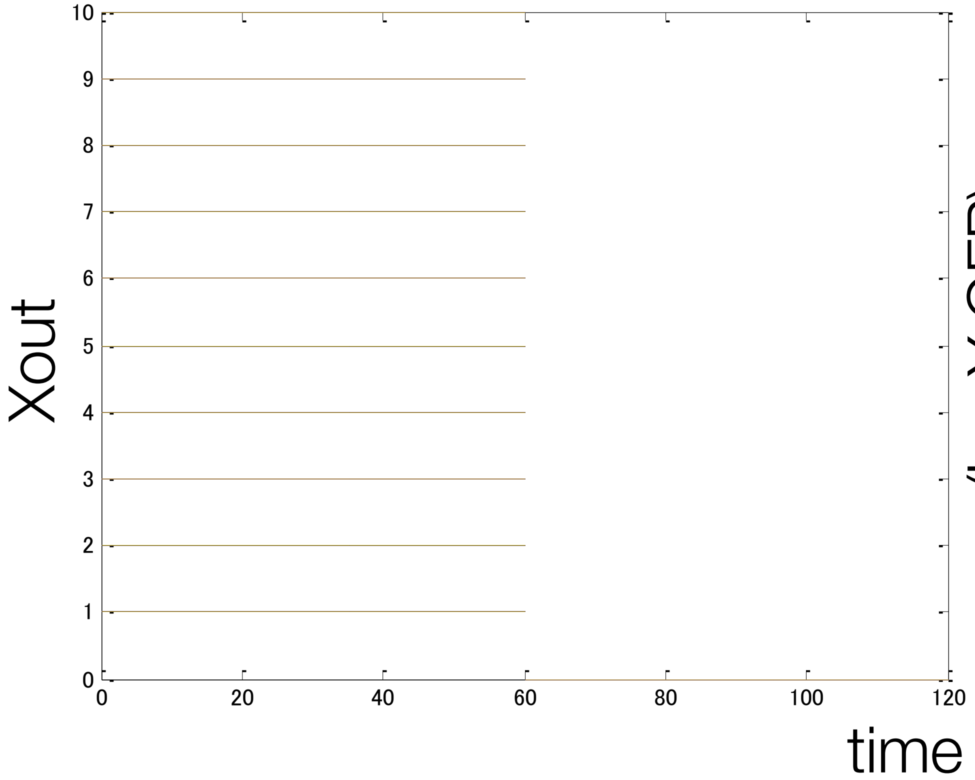
うまくいくとこうなるはず

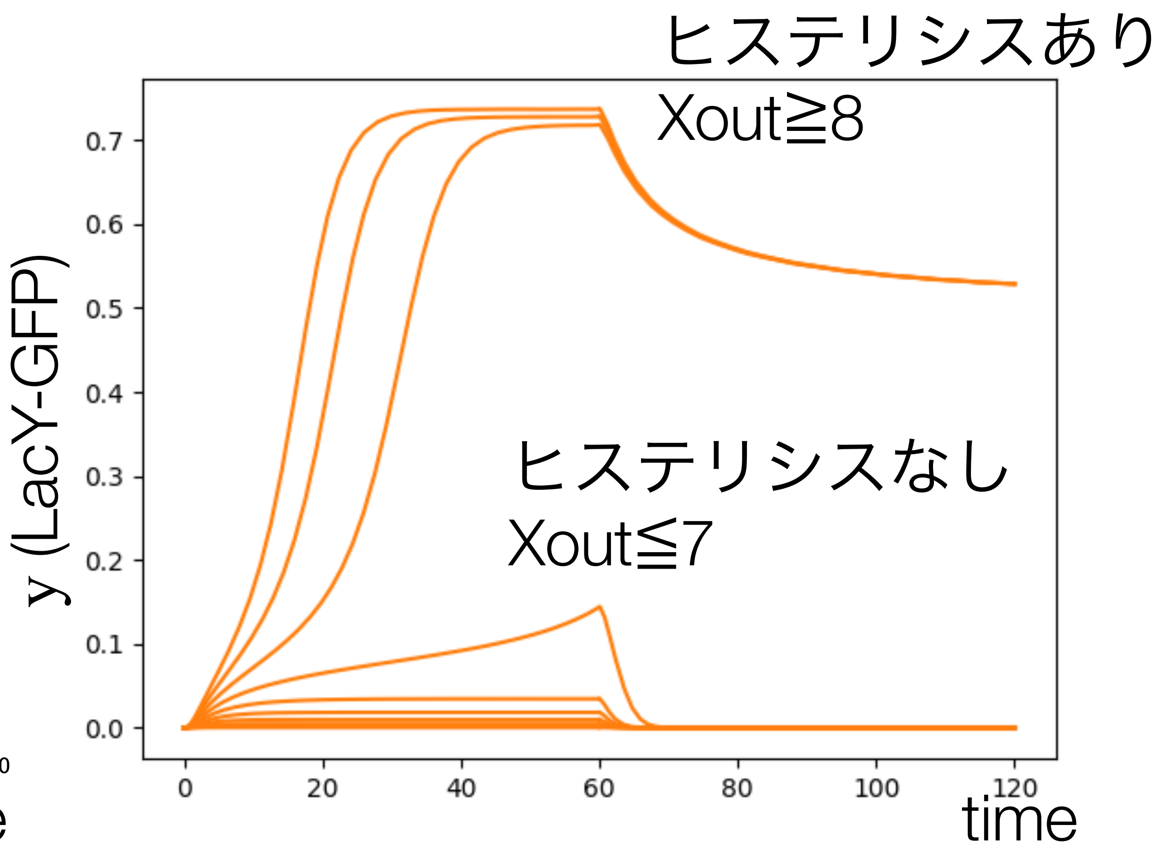


演習2：Ozbudak modelがヒステリシスを示すことを確認する

t = 60 時点で、培地のTMG (Xout) を 0 にする

Xout の初期値によって、ヒステリシスが生じない場合と生じる場合がある





演習2: 空欄を埋めなさい

```
import matplotlib.pyplot as plt
 （略）
def ozbudak_model( t , init , *param ):
 （略）

def hysteresis_timeseries():
 （略）
  solution = solve_ivp( ozbudak_model, t_span, init ,
                        method='RK45', args=param )

  t = solution.t
  TMG = solution.y[0]
  LacY = solution.y[1]

  plt.plot( t , TMG )
  plt.plot( t , LacY )

  x_init = [        ] # TMG の終端値を x_init にセット
  y_init = [        ] # LacY の終端値を y_init にセット
  init = [ x_init , y_init ]
```

```
  x_out = [        ] # TMGout の値を 0 にする
  param = [ alpha , beta , rho , x_out ]

  t_span = [ 60 , 120 ]
  solution = solve_ivp( ozbudak_model, t_span, init ,
                        method='RK45', args=param )

  t = solution.t
  TMG = solution.y[0]
  LacY = solution.y[1]

  plt.plot( t , TMG , color='tab:blue')
  plt.plot( t , LacY , color='tab:orange')
  plt.show()

hysteresis_timeseries()
```

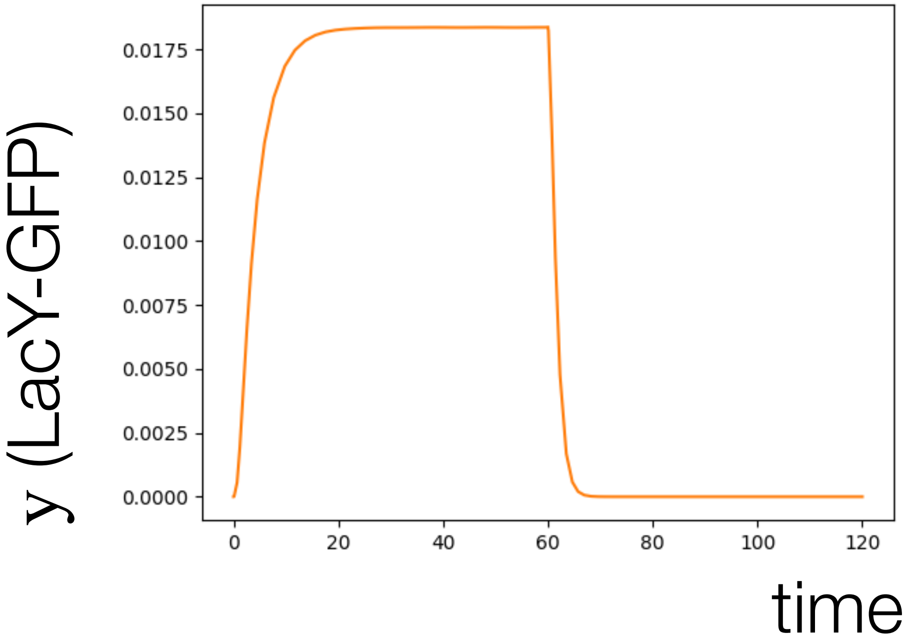
(コード: ozbudak_hysteresis_timeseries.py)

出力例

- Xout の初期値を２通り試してみる

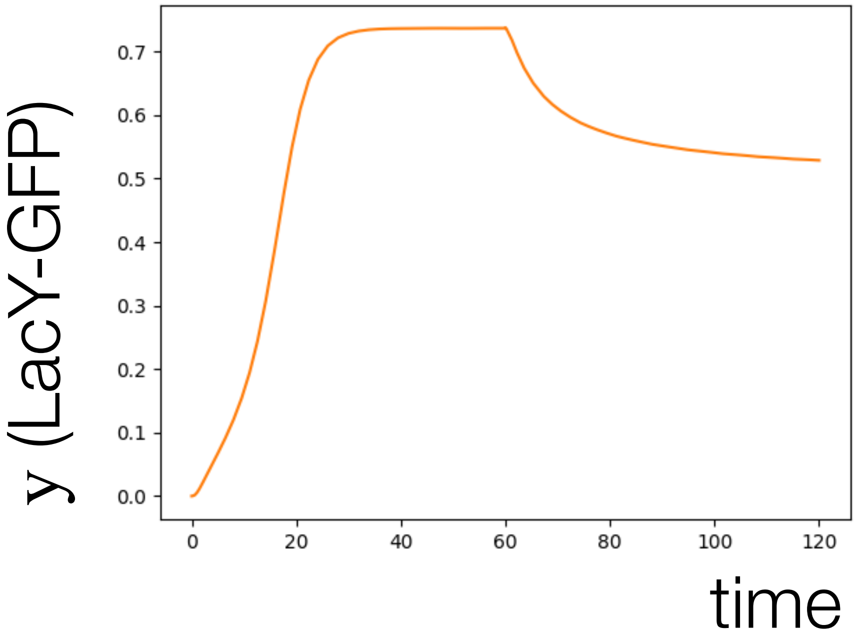
ヒステリシスなし

Xout (t=0) = 5



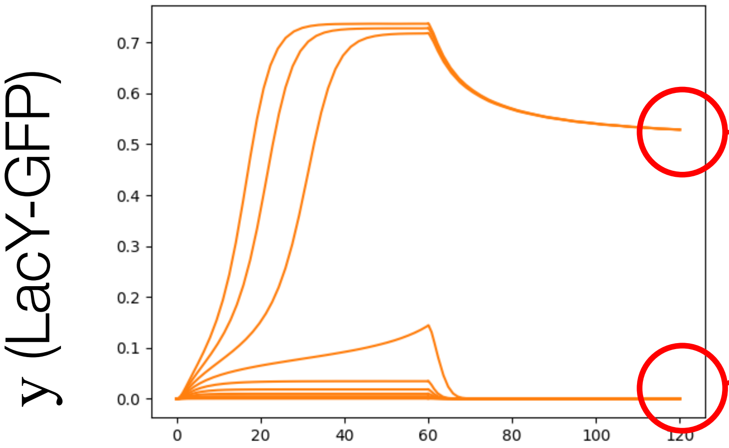
ヒステリシスあり

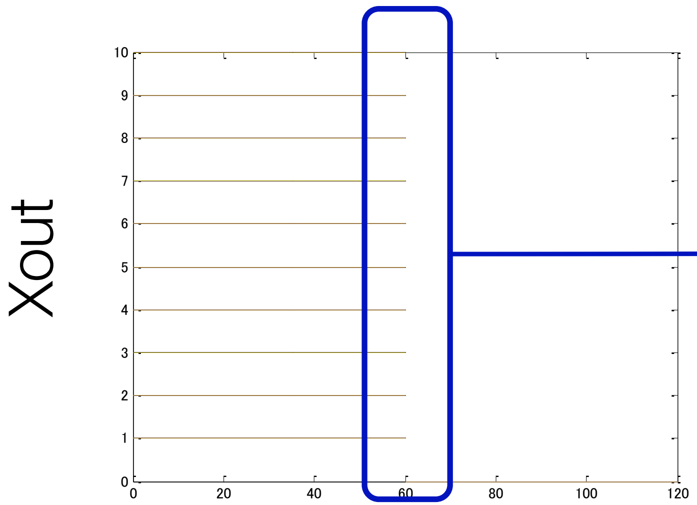
Xout (t=0) = 10

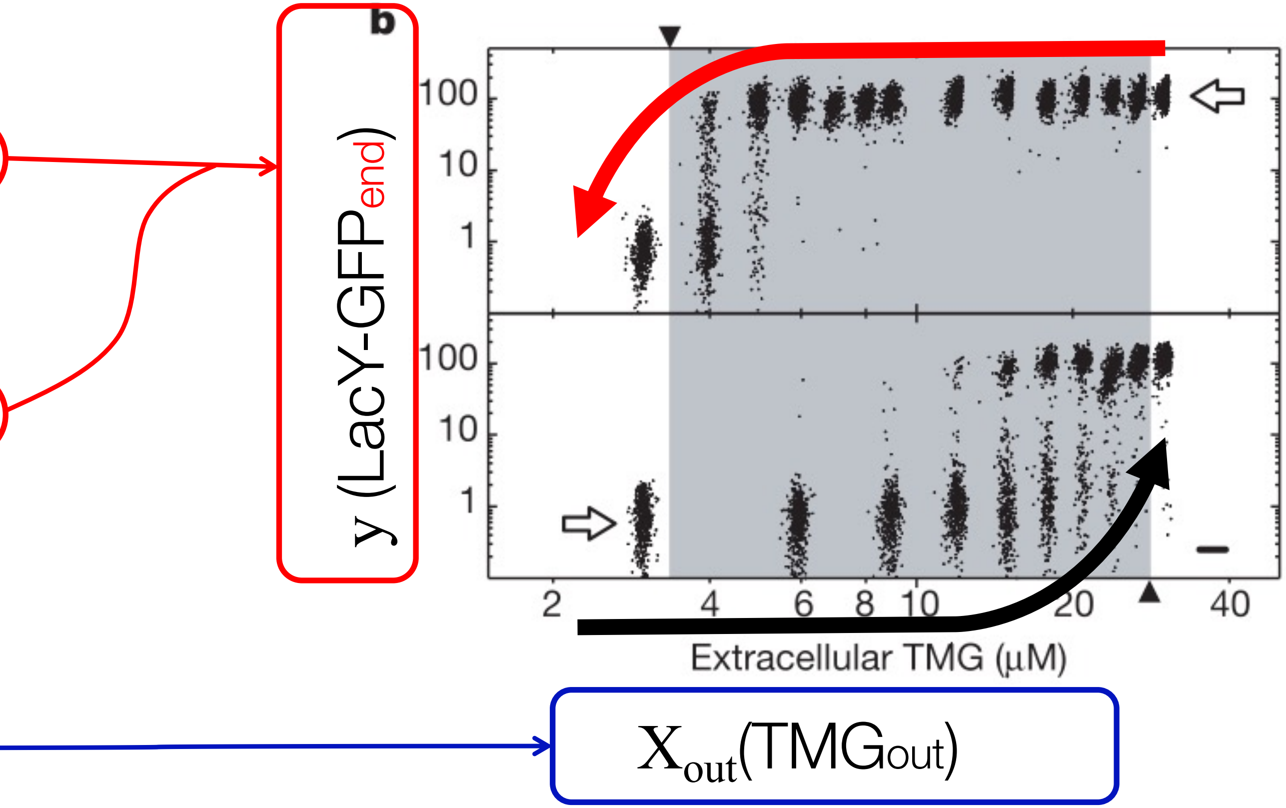


演習3：ヒステリシスが起きるTMGの濃度を可視化する

時系列を dose response curve に描き直す







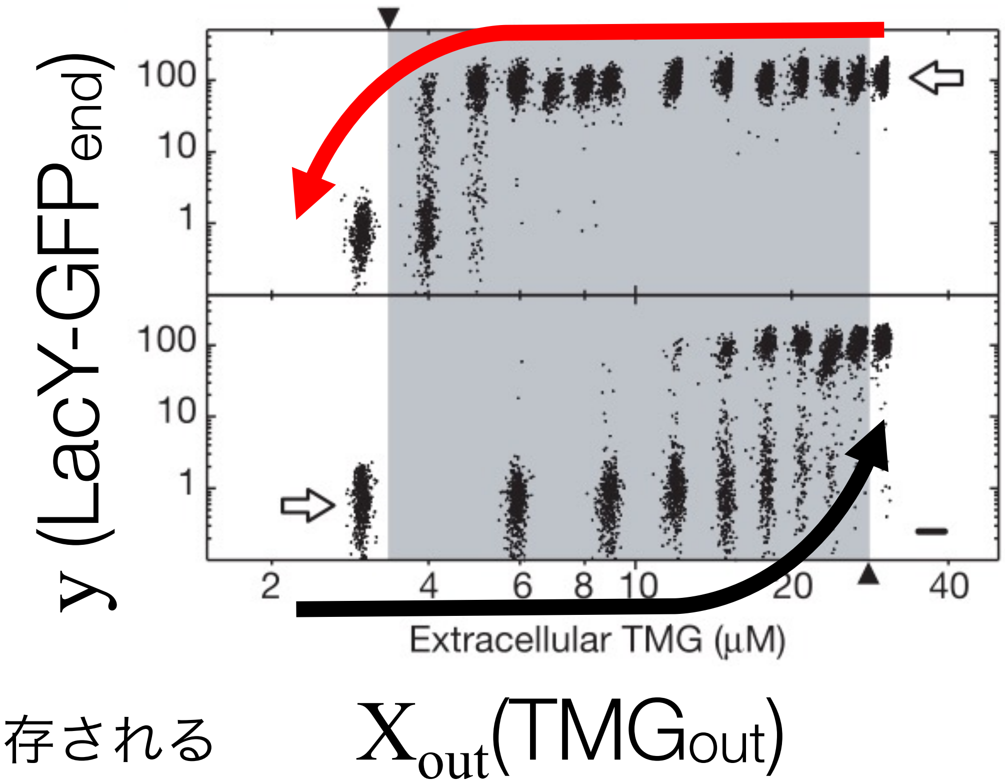
X軸: TMG_{out} と

Y軸: LacY-GFPの最終値をプロット

演習3(python): ヒステリシスのシミュレーション

右図の実験に相当するシミュレーションを行いなさい

- 右図下段は次のような実験
    1. TMG = Xout μM で培養
    2. 集菌
    3. TMG = (Xout + ΔXout) μM で培養
- 以後この繰り返し
- 集菌の際、xはリセットされるが、yは保存される



Ozbudak et al. (2004) Nature

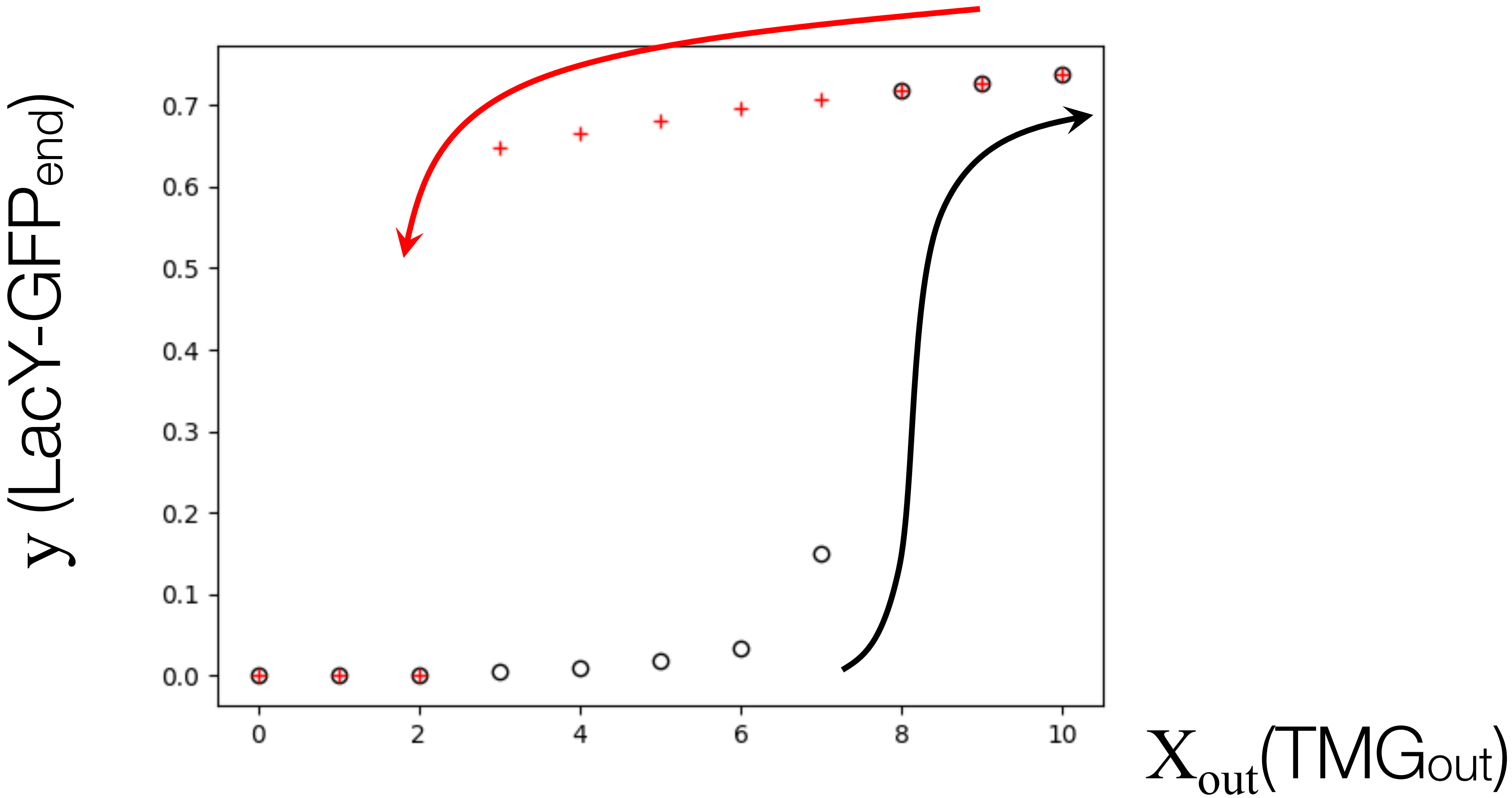
空欄を埋めなさい

```
def ozbudak_dose_response( x_out , y_init , marker ):
    init = [ 0 , y_init ]
    t_span = [ 0 , 60 ]

    alpha = 0.1
    beta = 10
    rho = 25

    param = [ alpha , beta , rho , x_out ]
    solution = solve_ivp( ozbudak_model, t_span, init ,
                                method='RK45', args=param )

    LacY = solution.y[1]
    y_end = [ ]      # LacYの時系列の最終値

    plt.plot( x_out , y_end , marker , fillstyle='none')

    return [ ]       # y_end を次のシミュレー
                     # ションの初期値にしたい
```

```
## Main routine

y_init = 0
for x_out in range(11): #このfor文は Fig.2b 下段に相当
    y_init = ozbudak_dose_response( x_out , y_init , 'ko' )

for x_out in reversed( range(11) ):
    [                                        ]
    #このfor文には Fig.2b 上段に相当する内容を書く
    #プロットする際、点は赤の十字('r+')とする。

plt.show()
```

(コード: ozbudak_dose_response.py)

◯はTMG徐々に増加、＋はTMG減少

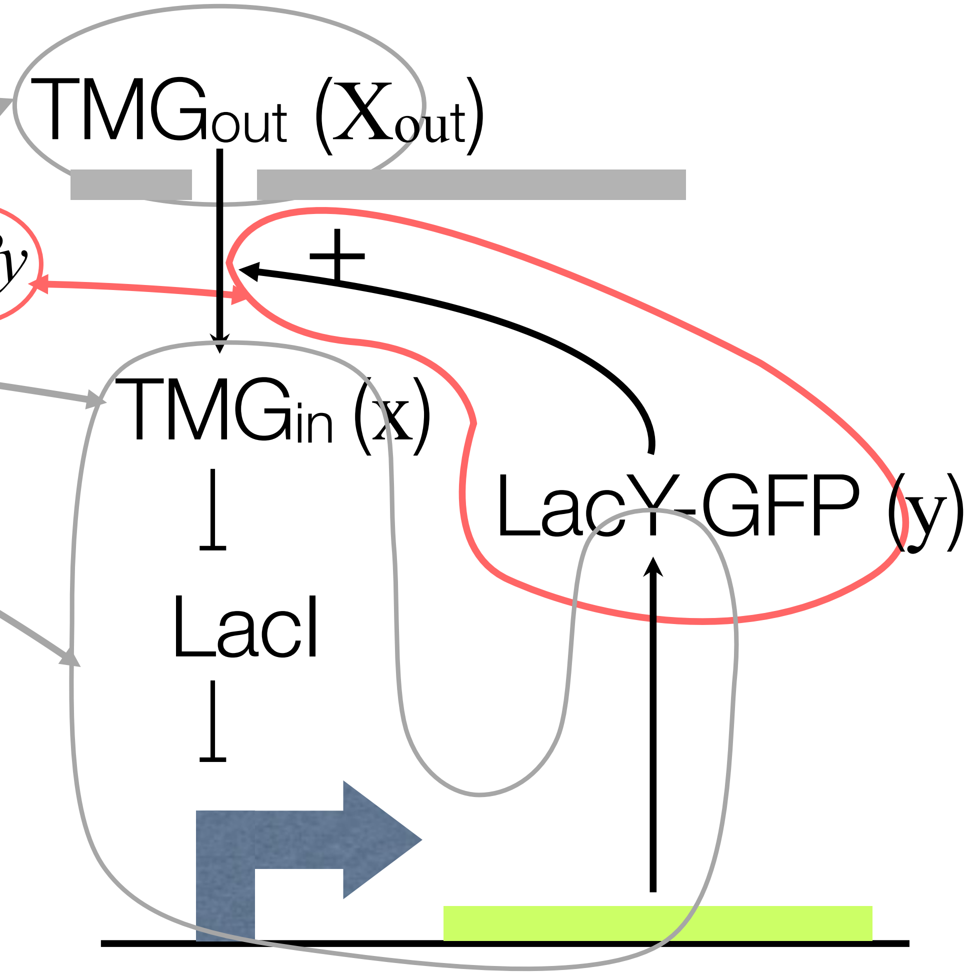


演習4：ポジティブ・フィードバックを切るとヒステリシスは起きなくなる

ポジティブ・フィードバックを遮断する

x, yの分解

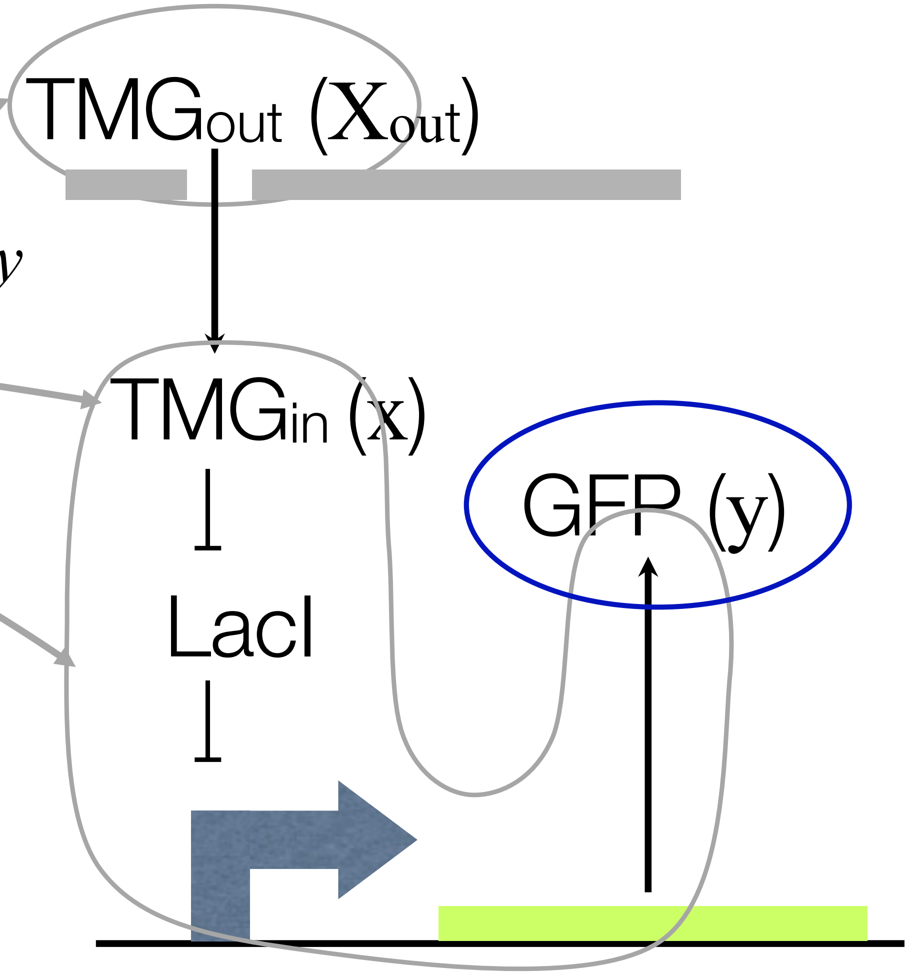
$$
\begin{cases}
\dfrac{dx}{dt} = -x + \alpha X_{out} + \beta y \\
\dfrac{dy}{dt} = \dfrac{x^2}{\rho + x^2} - y
\end{cases}
$$



ポジティブ・フィードバックを遮断する

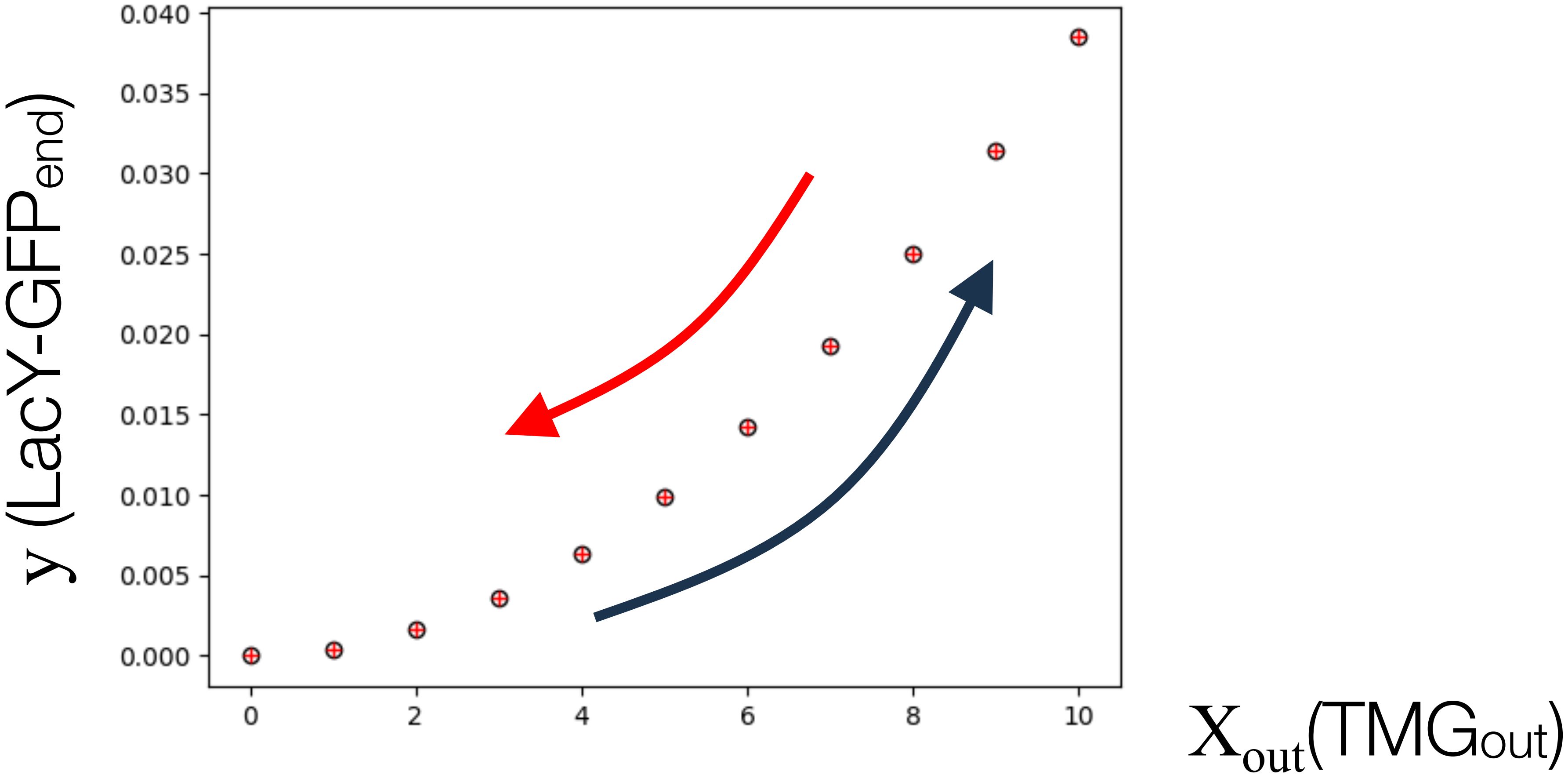
x, yの分解

$$
\begin{cases}
\dfrac{dx}{dt} = \boxed{-x} + \alpha X_{out} + \beta y \\[2ex]
\dfrac{dy}{dt} = \dfrac{x^2}{\rho + x^2} \boxed{-y}
\end{cases}
$$



ポジティブ・フィードバックを遮断すると ヒステリシスを示さなくなる

- Xout増加、減少のどちらの場合も同じカーブを描く



演習4：Ozbudak モデルを改変して ポジティブ・フィードバックの遮断を表現する

1. どの項をどのように改変すれば LacY によるポジティブ・フィードバックを遮断できるか示しなさい。

2. 「1」をシミュレーションし、グラフで示しなさい。

$$\begin{cases} \dfrac{dx}{dt} &= -x + \alpha X_{\mathrm{out}} + \beta y \\ \dfrac{dy}{dt} &= \dfrac{x^2}{\rho + x^2} - y \end{cases}$$

演習5：協同性がなくなると ヒステリシスは起きなくなる

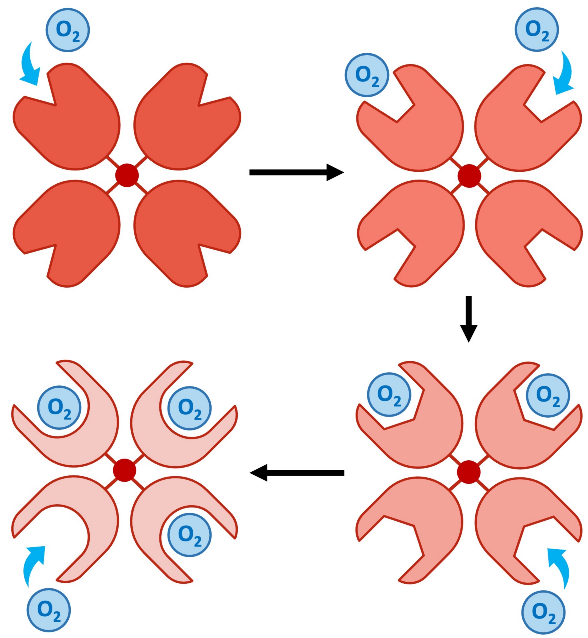
協同性(cooperativity)とは

正の協同性
- 基質が結合するごとに、他のサブユニットが基質に結合しやすくなること
- ヘモグロビンは1個目の酸素が結合すると、2個目の酸素が結合しやすくなる

Hill 式
- 基質が既に結合しているポケットの割合を示す
- 例：酸素が既に結合しているヘモグロビンの割合

$$\theta = \frac{[L]^n}{K_d + [L]^n}$$

Hill 係数
- 上の式の n を Hill 係数と呼ぶ
- n > 1 なら正の協同性

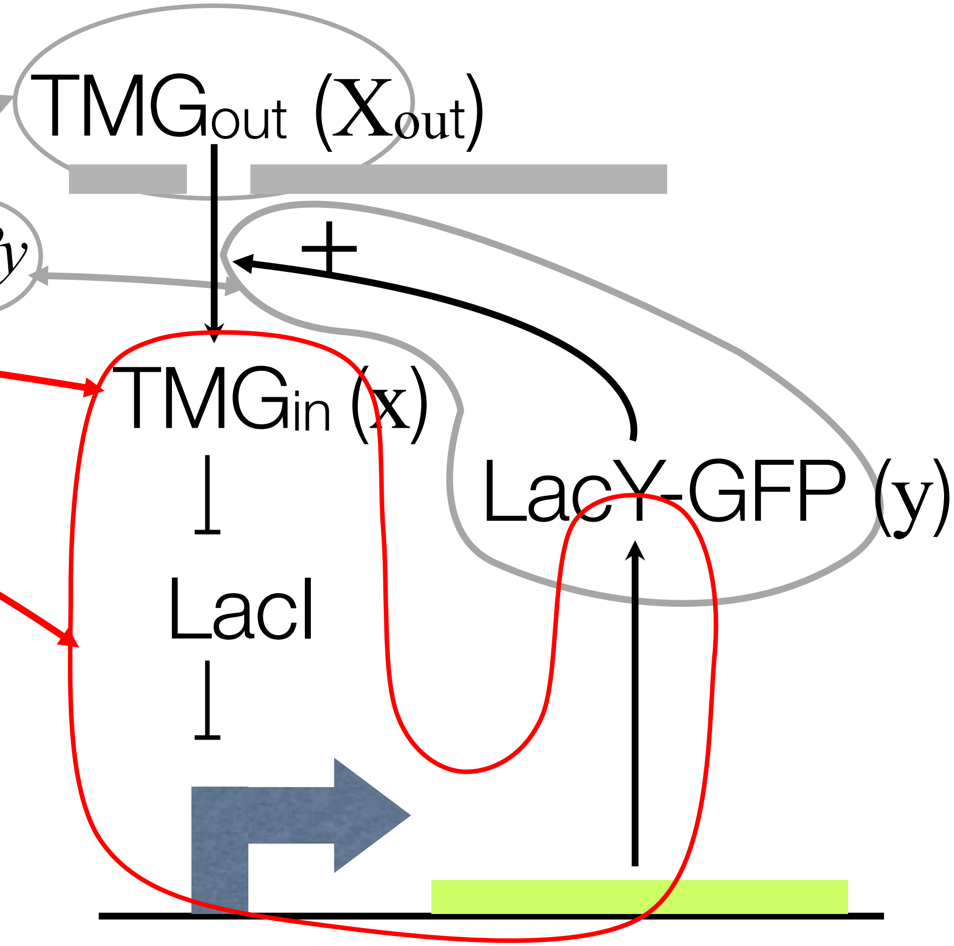


https://ib.bioninja.com.au/haemoglobin/

協同性がない ⇔ Hill係数が1

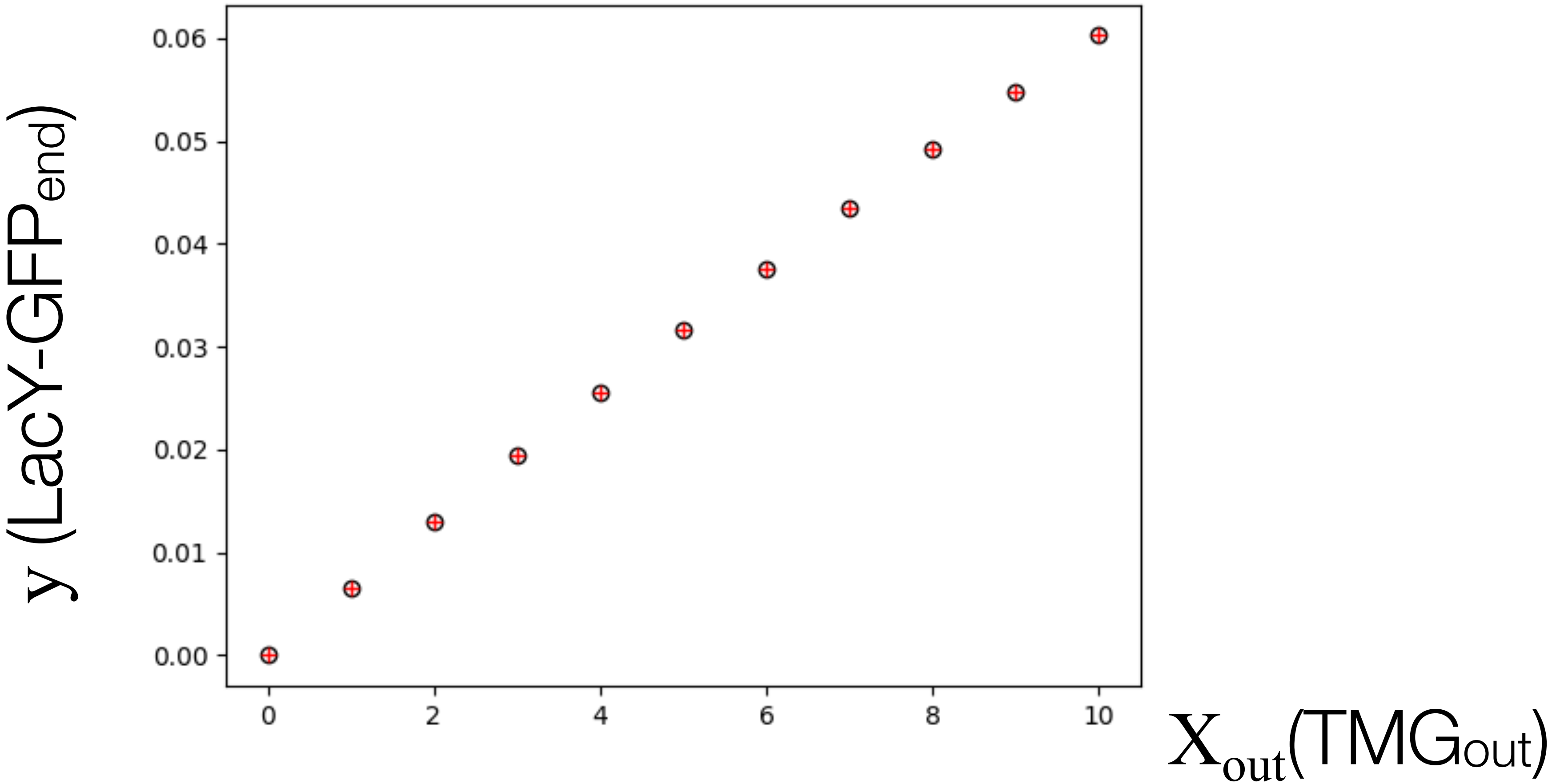
x, yの分解

$$
\begin{cases}
\dfrac{dx}{dt} = -x + \alpha X_{out} + \beta y \\
\dfrac{dy}{dt} = \dfrac{x^2}{\rho + x^2} - y
\end{cases}
$$



Hill係数を1にしてみると

ポジティブ・フィードバックあり、Hill係数=1



演習5: Hill係数とヒステリシスの関係を調べる

1. Hill 係数を 1 にしたモデルでシミュレーションし、グラフを示しなさい。

2. Hill 係数を 1〜5 程度の値にしてシミュレーションし、何が起きるか確かめなさい。

結論：ヒステリシスには次の2つが必要である

1. ポジティブ・フィードバック

2. 協同性

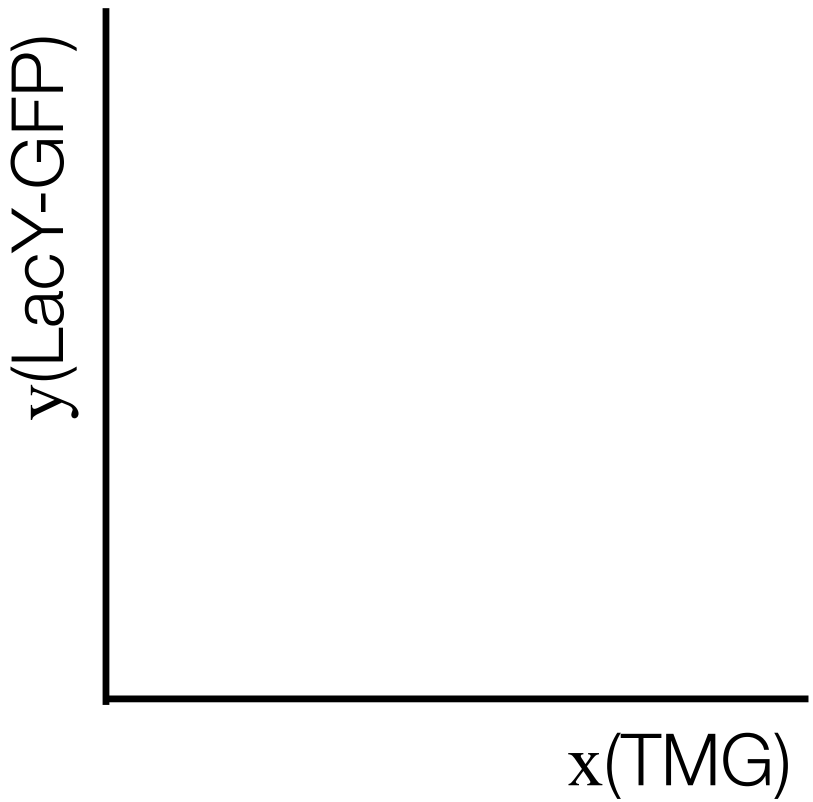
なぜヒステリシスが起きるのか？

- ポジティブ・フィードバック、協同性が必要な理由を知りたい

- 力学系の七つ道具を使って説明できる（今回は2つ
  1. 相平面
  2. ヌルクライン
  3. 固定点
  4. ベクトル場
  5. ヤコビ行列
  6. 固有値による安定性解析
  7. 分岐図

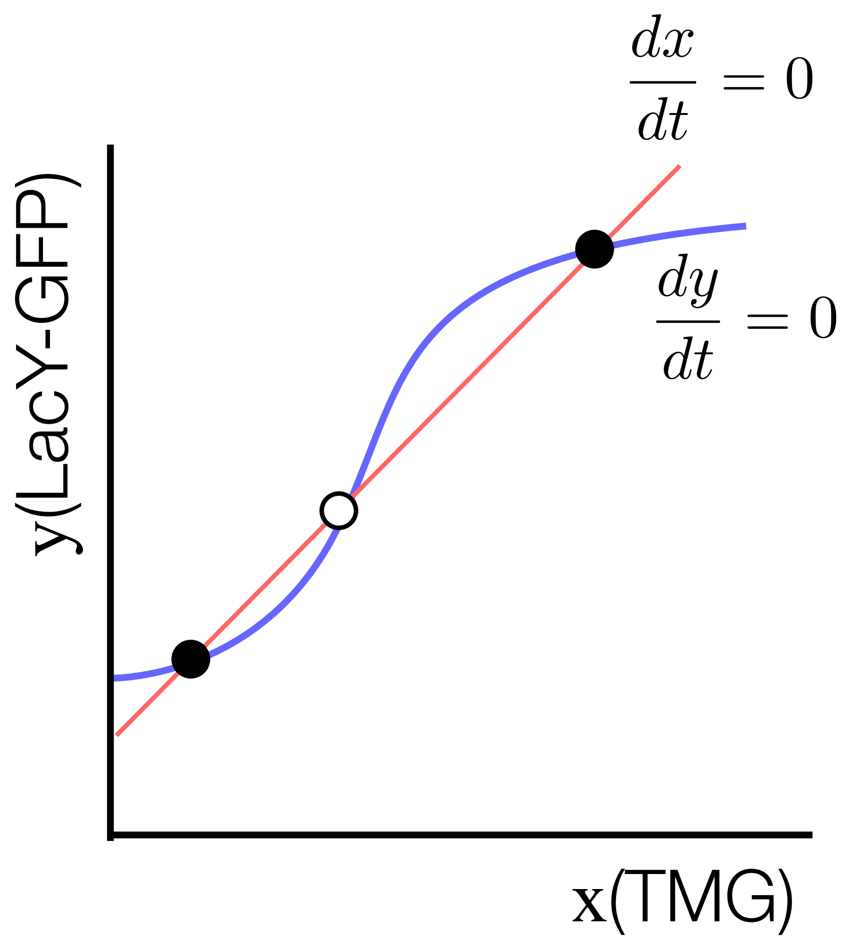
道具その１：相平面

- 時間変化する2変数を縦軸・横軸にとった平面
- ここでは x(TMG)-y(LacY-GFP) 平面のこと



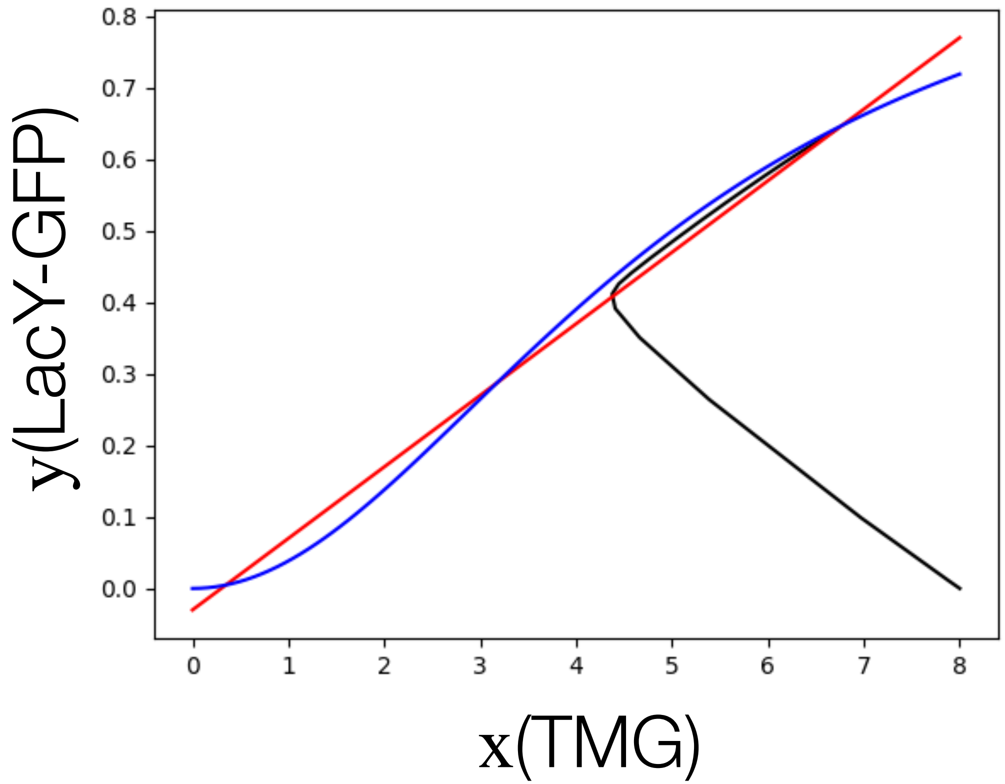
道具その２：ヌルクライン

- $\dfrac{dx}{dt} = 0$, $\dfrac{dy}{dt} = 0$ となる点の集まりからなる曲線
- ヌルクラインの交点は「固定点」と呼ばれる



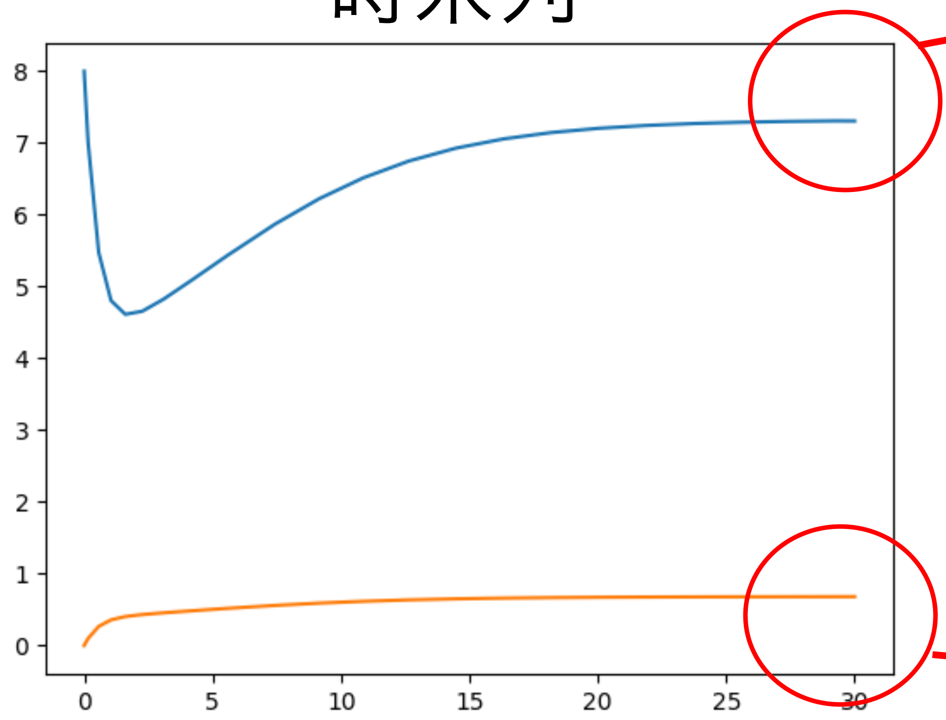
固定点は定常状態のことである

- ヌルクラインの交点3つ
  - すなわち「固定点」
  - TMG, LacY-GFPともに変化しないので定常状態
- 解の軌跡（右図では黒線）が固定点に到達してそこにとどまる

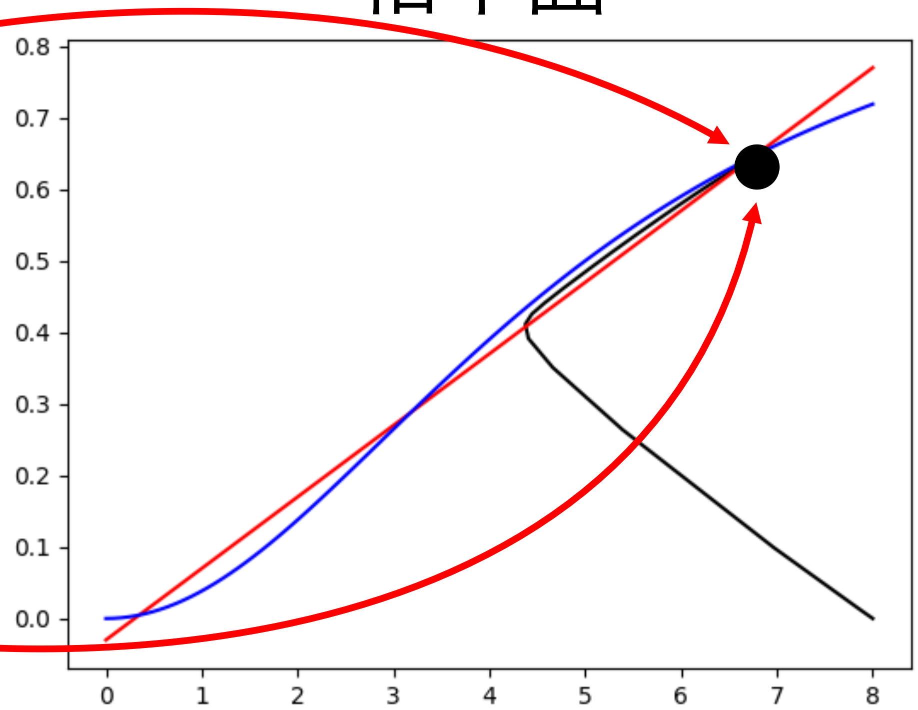


固定点は定常状態のことである

時系列



相平面



時系列が定常状態（変化なし）に達したら、
それは相平面上では解の軌跡が固定点に到達したことに対応する

演習6: 相平面とヌルクライン

1. Ozbudakモデルの解の軌跡を相平面に描きなさい(python)
   – 解の軌跡 = 時間が経つにつれて点(x , y)が2次元平面上でどのように動くか

2. ヌルクラインの式を紙と鉛筆で求め、pythonでグラフ化しなさい

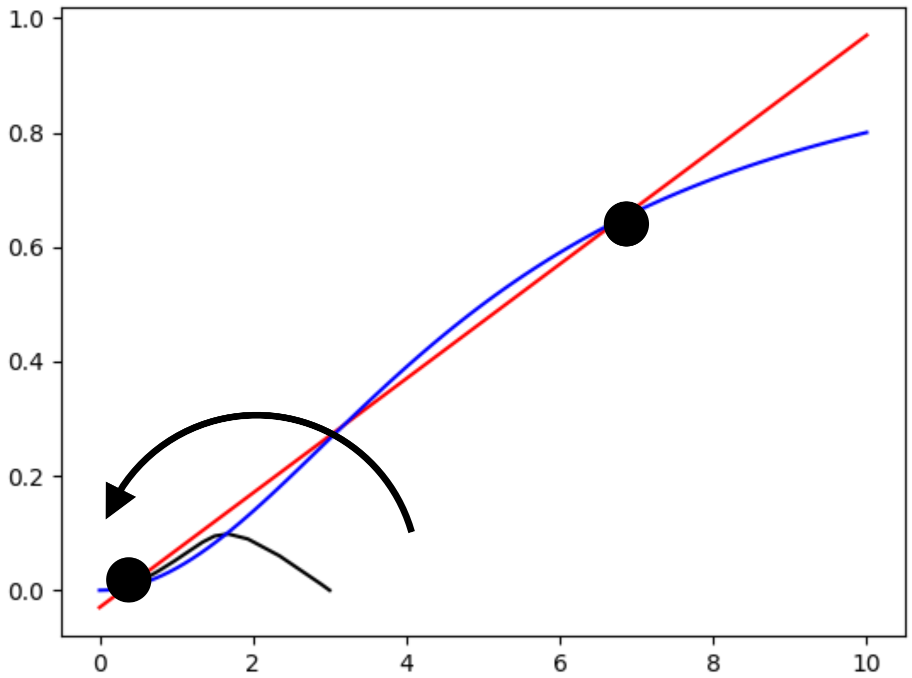
空欄を埋めなさい

```
（略）
x_out = # ヒステリシスを起こす値と起こさない値を試すこと
param = [ alpha , beta , rho , x_out ]
solution = solve_ivp( ozbudak_model, t_span, init , method='RK45', args=param )

TMG = solution.y[0]
LacY = solution.y[1]

plt.plot(          , ‘k-’)  # 解の軌跡を描く

x = np.linspace( 0, 10, 100 ) # 0から10まで100等分した数列のベクトル

x_null = ( x - alpha * x_out ) / beta   # dx/dt = 0 のヌルクライン
y_null =                                # dy/dt = 0 のヌルクライン

plt.plot( x , x_null , ‘r-’) # dx/dt = 0 のヌルクラインを描画 (rはred)
plt.plot( x , y_null , ‘b-’) # dy/dt = 0 のヌルクラインを描画 (bはblue)
plt.show()
```

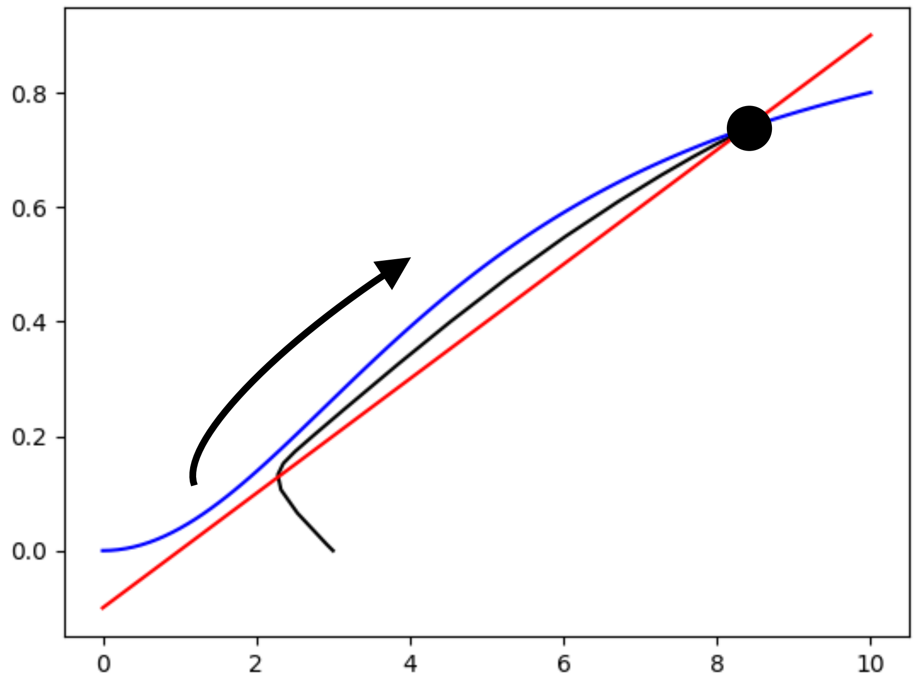
(コード: ozbudak_phaseplane.py)

解答出力例 (黒線が解軌跡)

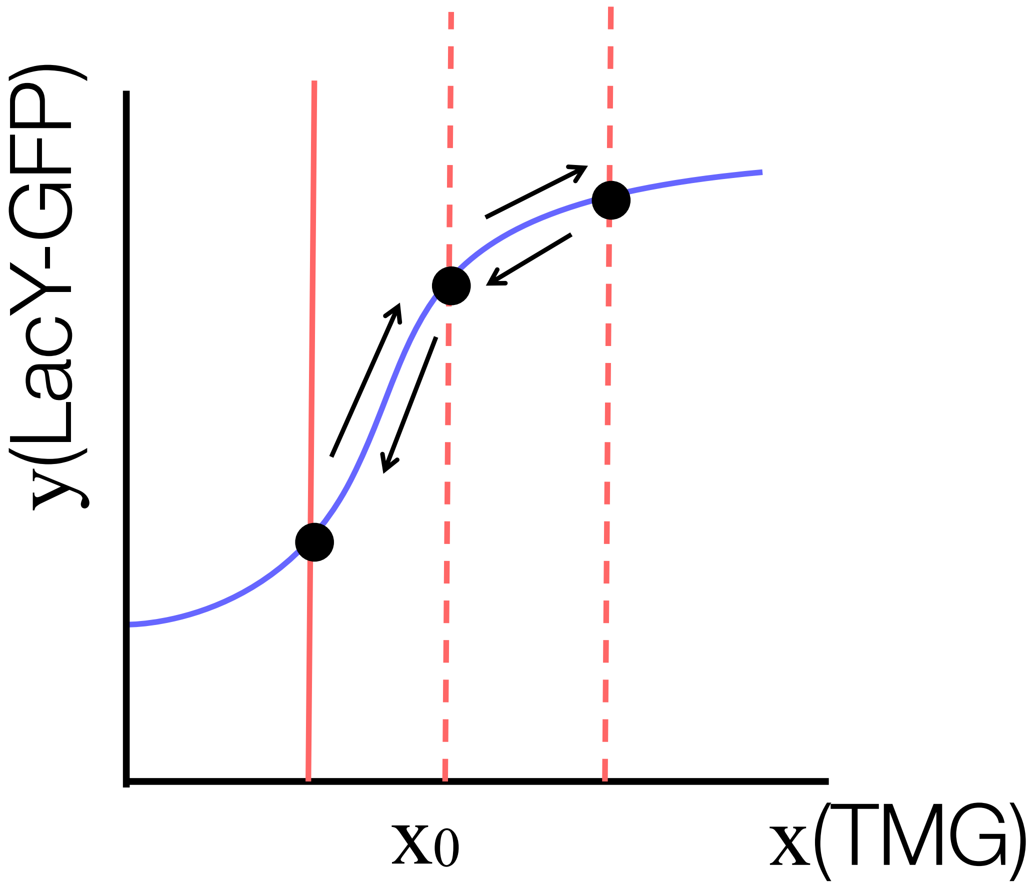
ヒステリシスなし

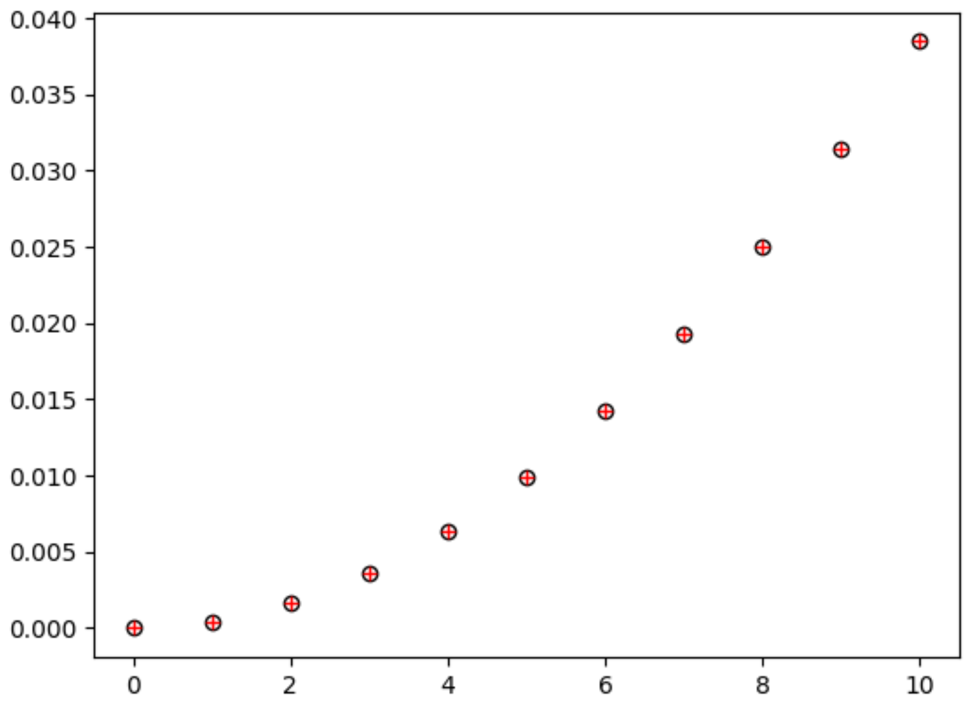


ヒステリシスあり

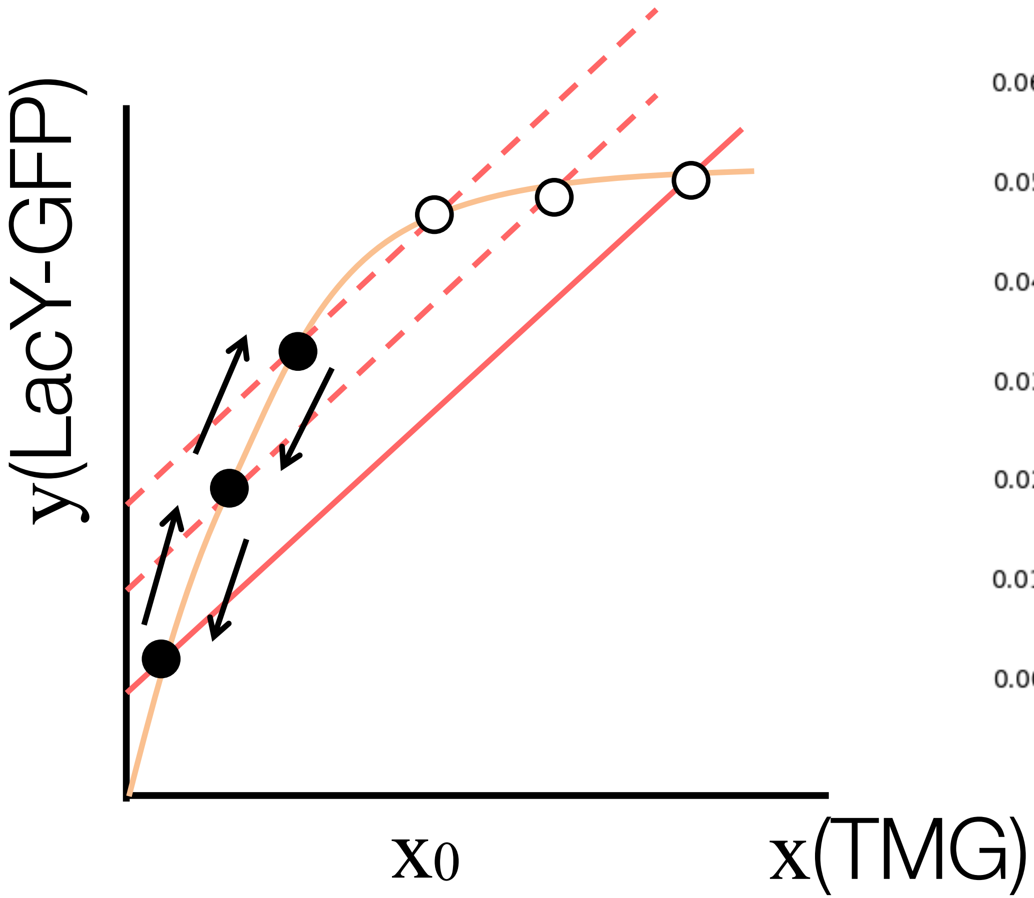


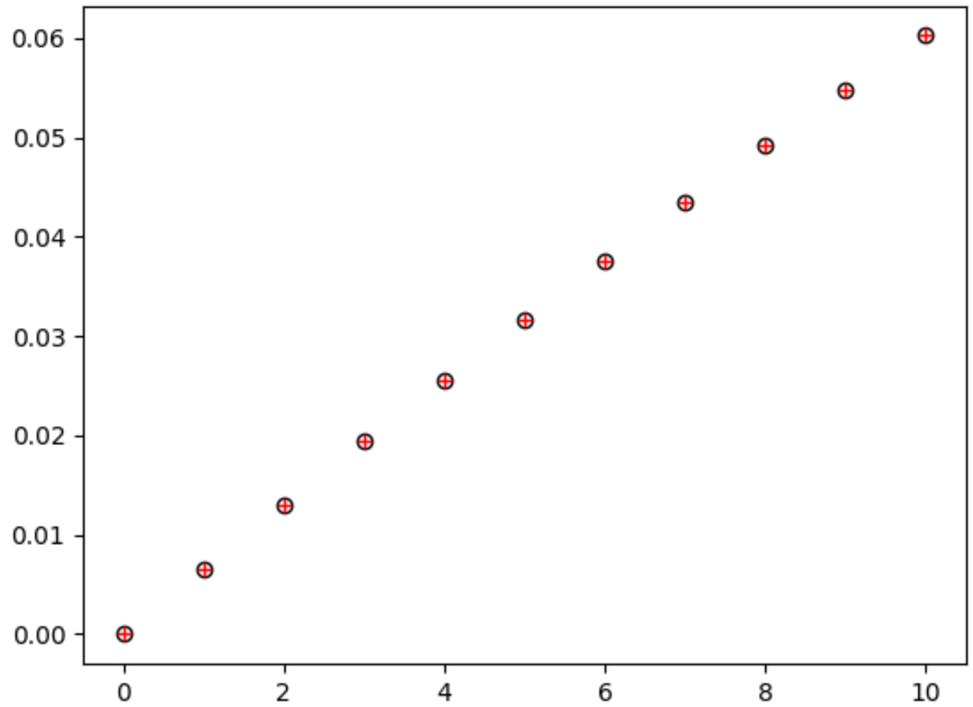
ポジティブ・フィードバックなし





協同性なし





まとめ

1. Ozbudakモデルはヒステリシスを再現する
   - 大腸菌は糖の濃度を記憶する

2. ヒステリシスには次の2つの要素が必要である
   - ポジティブ・フィードバック
   - 協同性

3. ヒステリシスが起きる理由は力学系の言葉で説明できる