

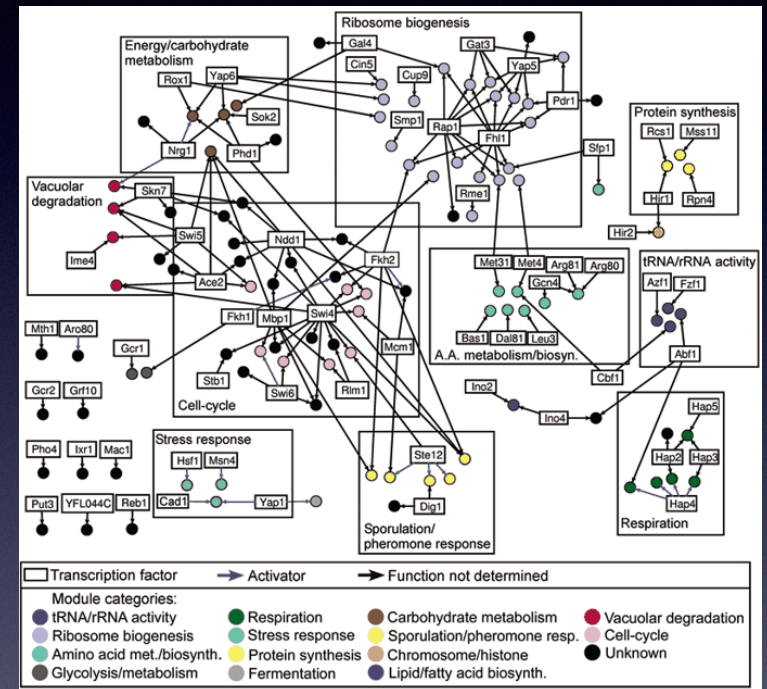
システム生物学と制御理論

～最先端の研究をケーススタディ～

柚木克之

第I段落：問題意識

- 細胞は非常に多くの部品から成る
- あるシステム(ここでは浸透圧応答系)の動態を支配する部品
- 少数
- しかし、これを見つけるのは難しい
- そもそも部品同士の相互作用関係も未解明



Bar-Joseph et al. (2003) *Nat. Biotechnol.*

第2段落：方法の概略

- 細胞の周波数応答を計測する
- 野生株と変異体で比較
- システムの中身を同定する

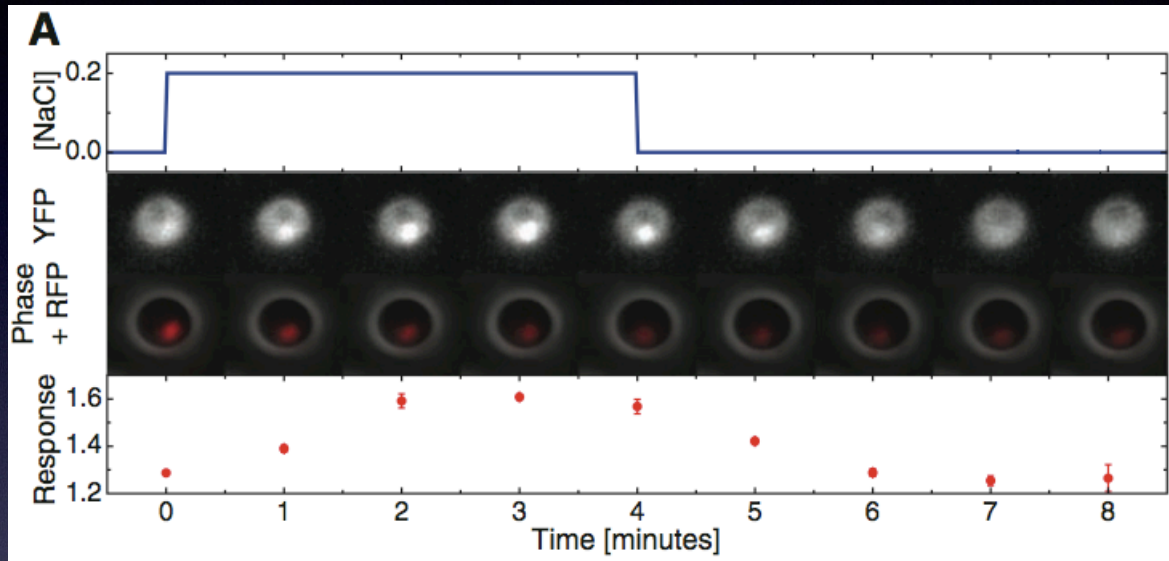
第3段落：題材を決める

- 出芽酵母(*S. cerevisiae*)
 - パン酵母。最も単純な真核生物。
- 浸透圧応答
 - 塩水にさらされても細胞が壊れないよう保つ
 - 複数のネガティブフィードバックの存在が示唆されている

第4段落：題材について詳しく

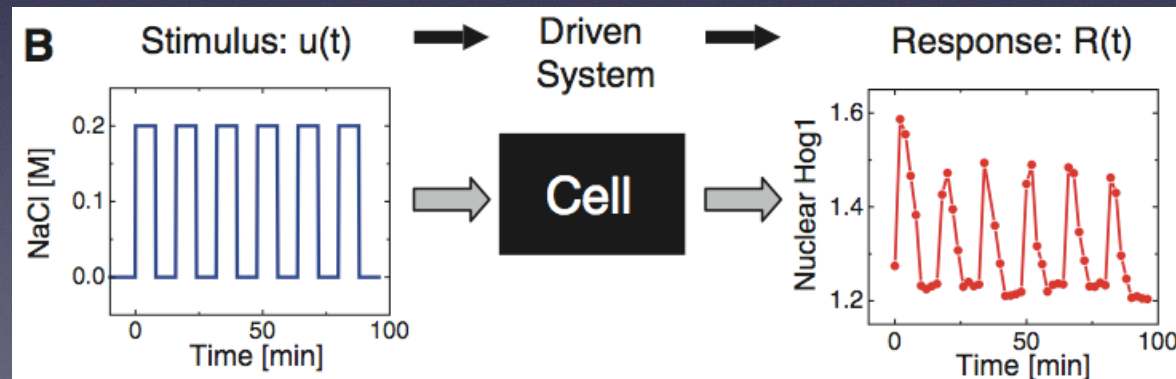
- Hog1
 - 普段は細胞質に局在するタンパク質
 - 浸透圧上昇で活性化 → 核に移行
 - YFPで標識して浸透圧の指標に
- Nrd1
 - 常に核に局在
 - RFPで標識して核マーカーとして利用

第5段落：浸透圧応答系の周波数応答



入力: NaCl濃度上昇
出力: Hog1の核移行

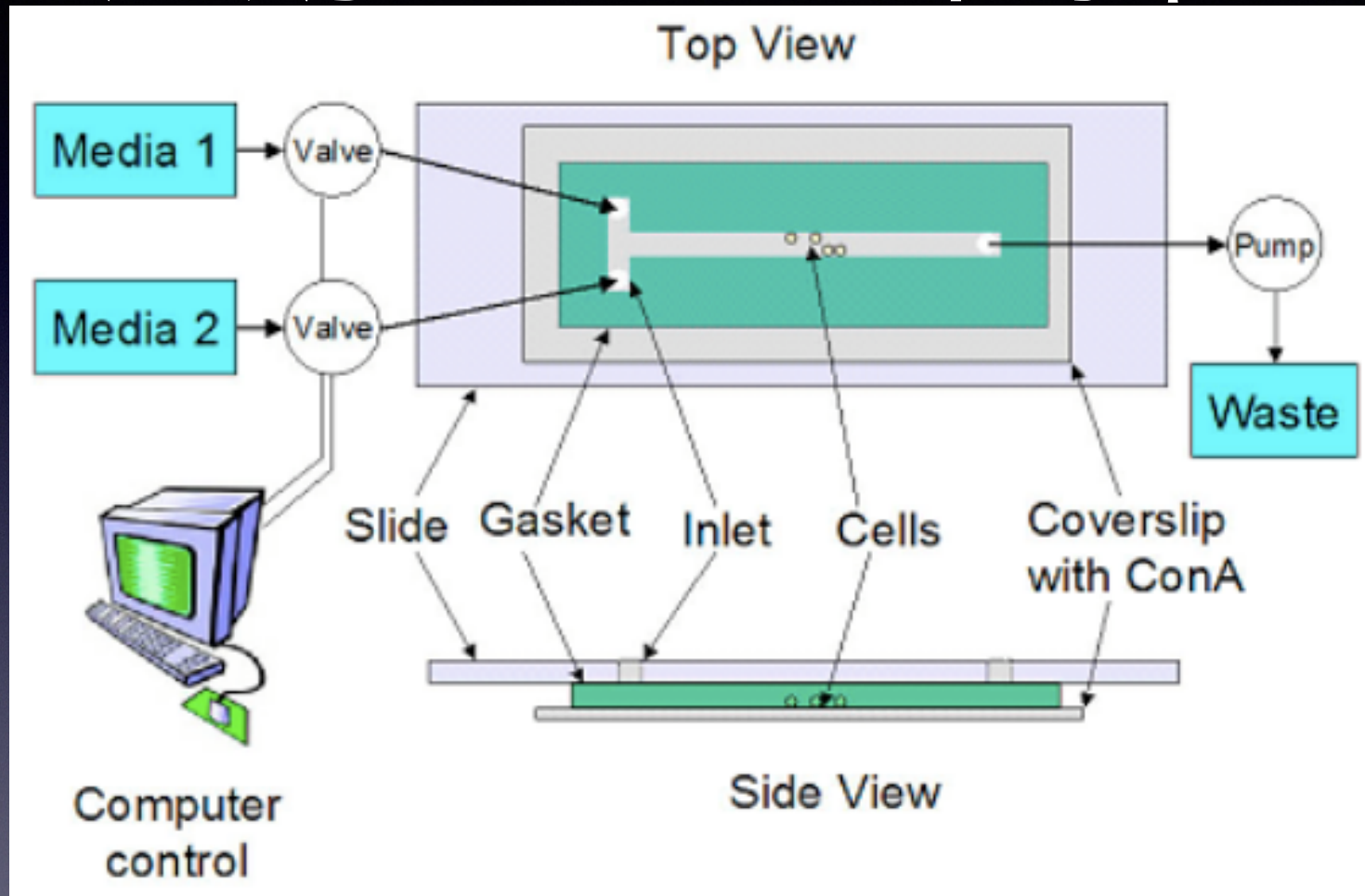
周期的に入力



Black Box

出力も周期的

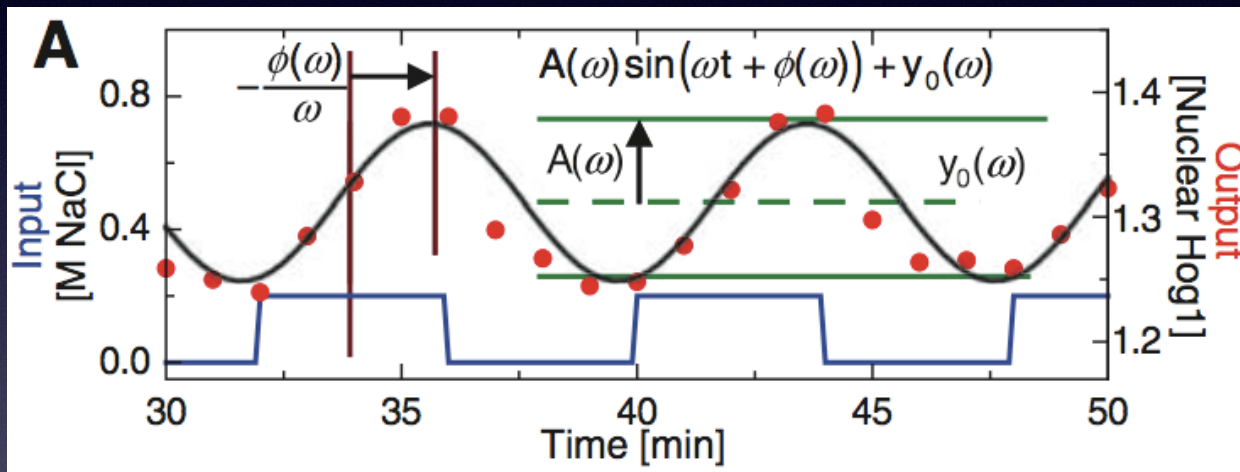
周期的入力の仕事掛け



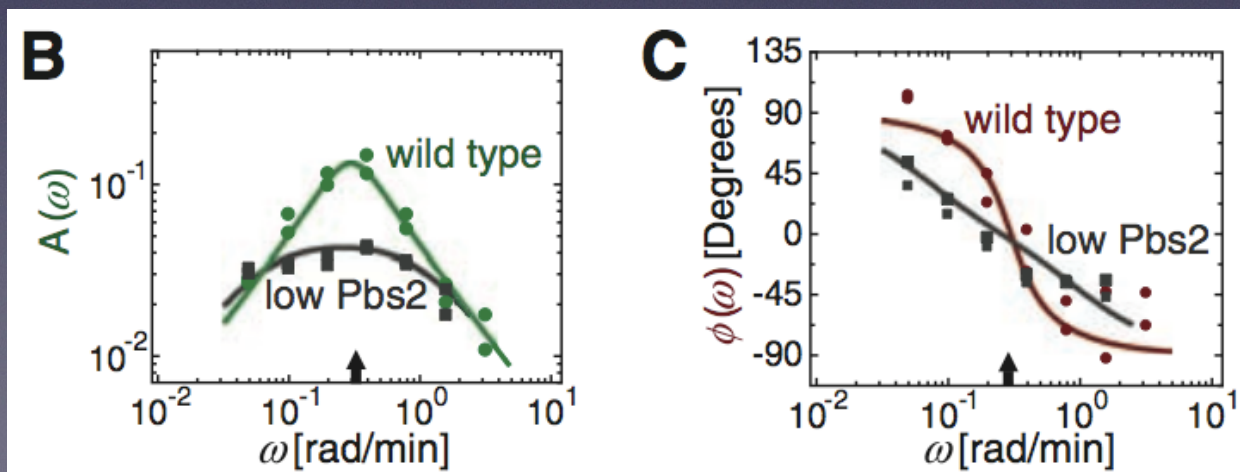
コンピュータ制御された微小流路
(supplementary material より)

第5段落つづき

フーリエ解析により Bode plotを描いた

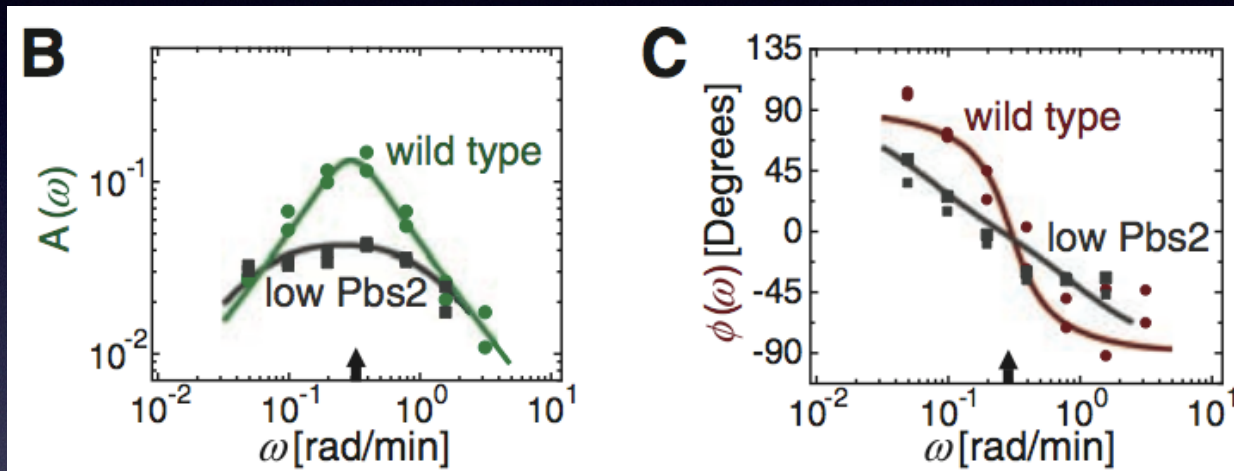


出力波形を
周波数応答の式に
あてはめる



振幅 $A(\omega)$ と位相 $\phi(\omega)$
が求められる

第6段落：2次のLTIモデル



Bode線図を眺めて
みる



2次遅れの特徴

- 2次遅れ＝系をバネの方程式で表せる
- $\text{NaCl} \rightarrow \text{HogI}$ の入出力関係はバネの方程式で書けるらしい

Bode plotからモデルを推定

- モデルの変数

- u 入力: NaCl濃度 (細胞外の浸透圧)
- y 出力: 核移行したHog1の蛍光強度

- 2次遅れ=系をバネの方程式で表せる

$$\ddot{y} + (p_1 + p_2)\dot{y} + (p_1 p_2)y = A_0 \dot{u}$$

演習

- NaClとHogIの入出力関係を表す下の方程式をもとに、この系の周波数伝達関数を求めなさい。

$$\ddot{y} + (p_1 + p_2)\dot{y} + (p_1 p_2)y = A_0 \dot{u}$$

ここからは教科書通り

$$\ddot{y} + (p_1 + p_2)\dot{y} + (p_1 p_2)y = A_0 \dot{u}$$



フーリエ変換

$$(p_1 + i\omega)(p_2 + i\omega)Y(\omega) = A_0(i\omega)U(\omega)$$

$$G(\omega) = \frac{iA_0\omega}{(p_1 + i\omega)(p_2 + i\omega)}$$



周波数応答を求める

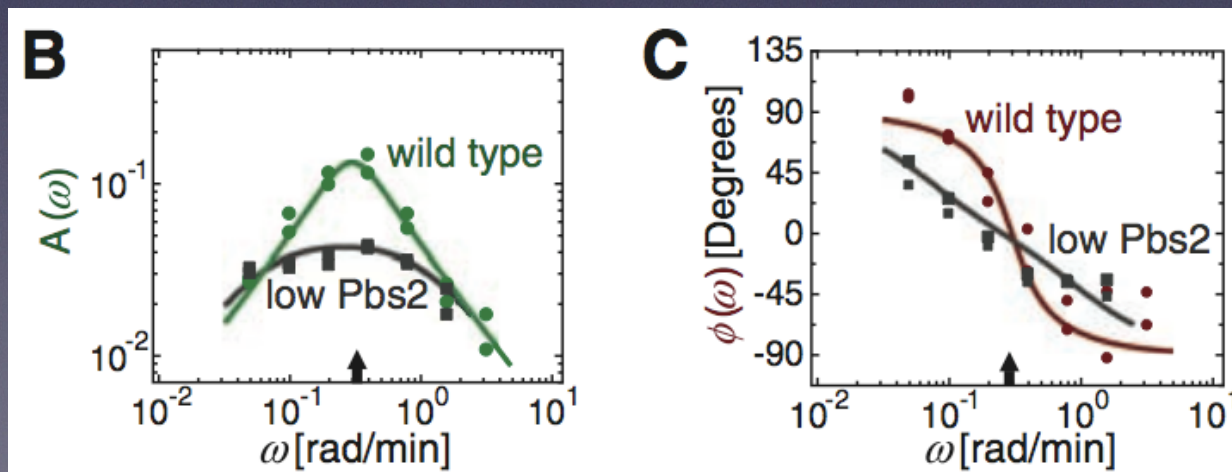
$$\begin{cases} A(\omega) &= |G(\omega)| \\ \phi(\omega) &= \arg[G(\omega)] \end{cases}$$

周波数応答の式を Bode plotにfitting

$$G(\omega) = \frac{iA_0\omega}{(p_1 + i\omega)(p_2 + i\omega)}$$

$$\begin{cases} A(\omega) &= |G(\omega)| \\ \phi(\omega) &= \arg[G(\omega)] \end{cases}$$

この式が下のグラフに
合うように p_1, p_2 を
決定する



求まった微分方程式を1階化

$$\ddot{y} + (p_1 + p_2)\dot{y} + (p_1 p_2)y = A_0 \dot{u}$$



$$\begin{cases} \dot{y} &= (A_0 u - x) - \gamma y \\ \dot{x} &= \alpha(A_0 u - x) + \beta y \end{cases}$$

※ x が何を表しているかは後で考える

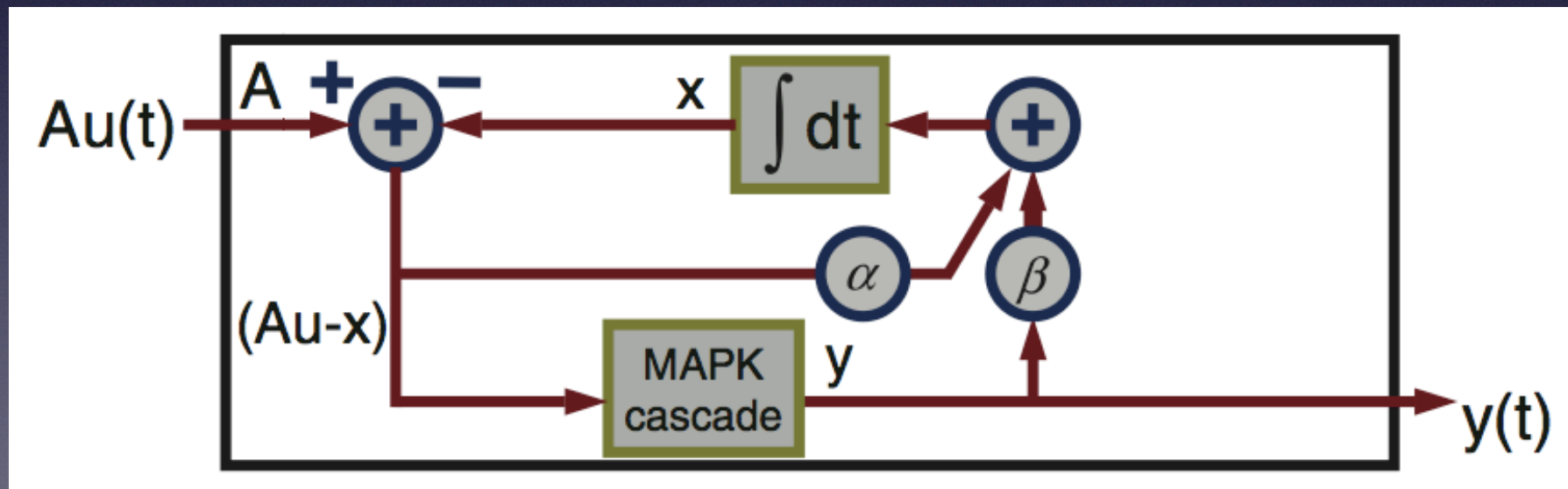
- パラメータが定数の線形微分方程式

第7段落: 出てきたモデル

$$\begin{cases} \dot{y} &= (A_0 u - x) - \gamma y \\ \dot{x} &= \alpha(A_0 u - x) + \beta y \end{cases}$$

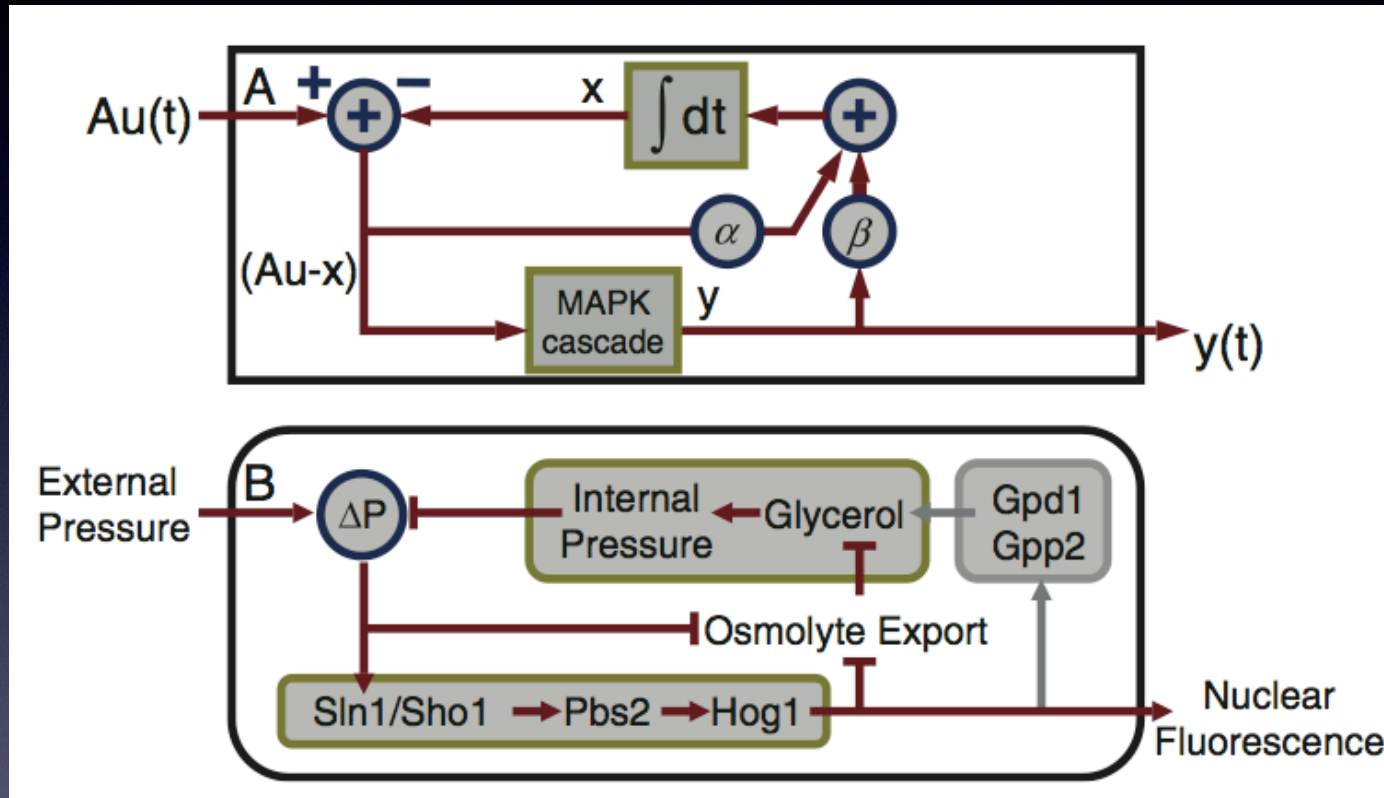


対応するブロック線図



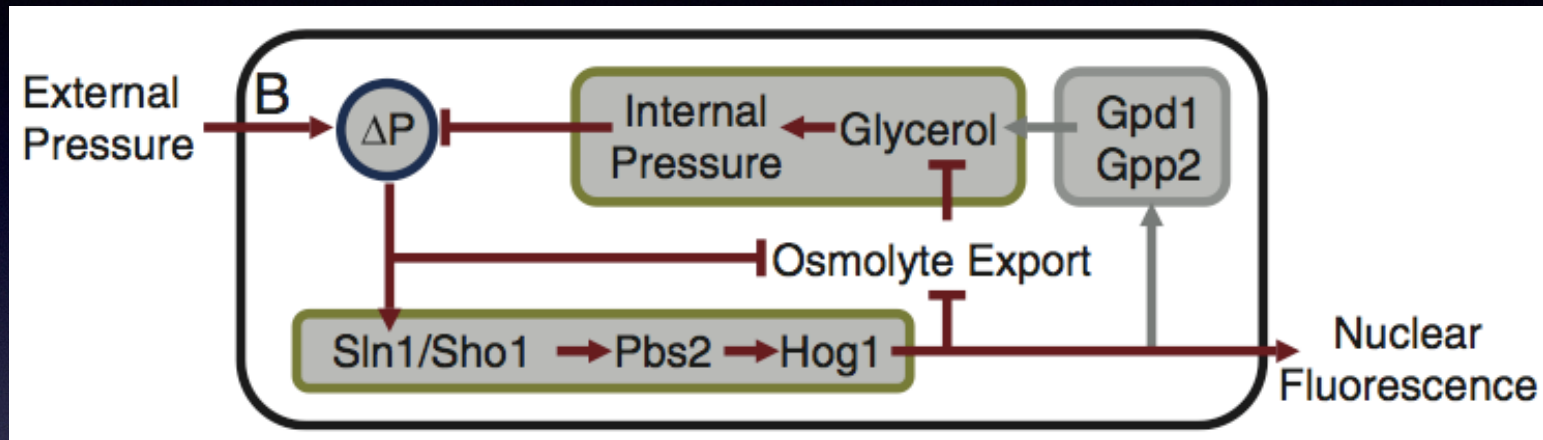
(Au-x)を小さくしようとするフィードバックが2つ

推定されたシステム



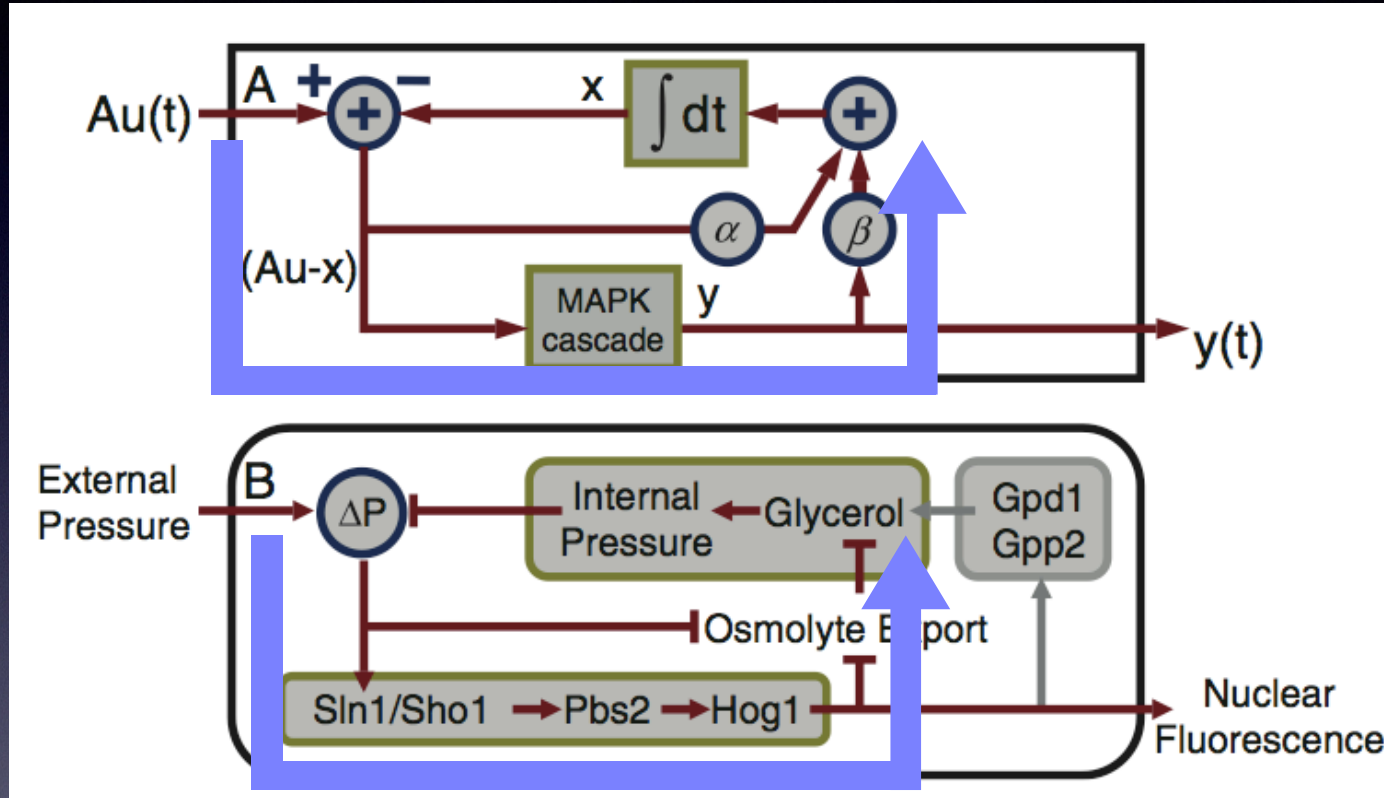
- 上の図: 周波数応答から推定したシステム
- 下の図: 上の図を生物学的に解釈したもの

システムの詳細を吟味



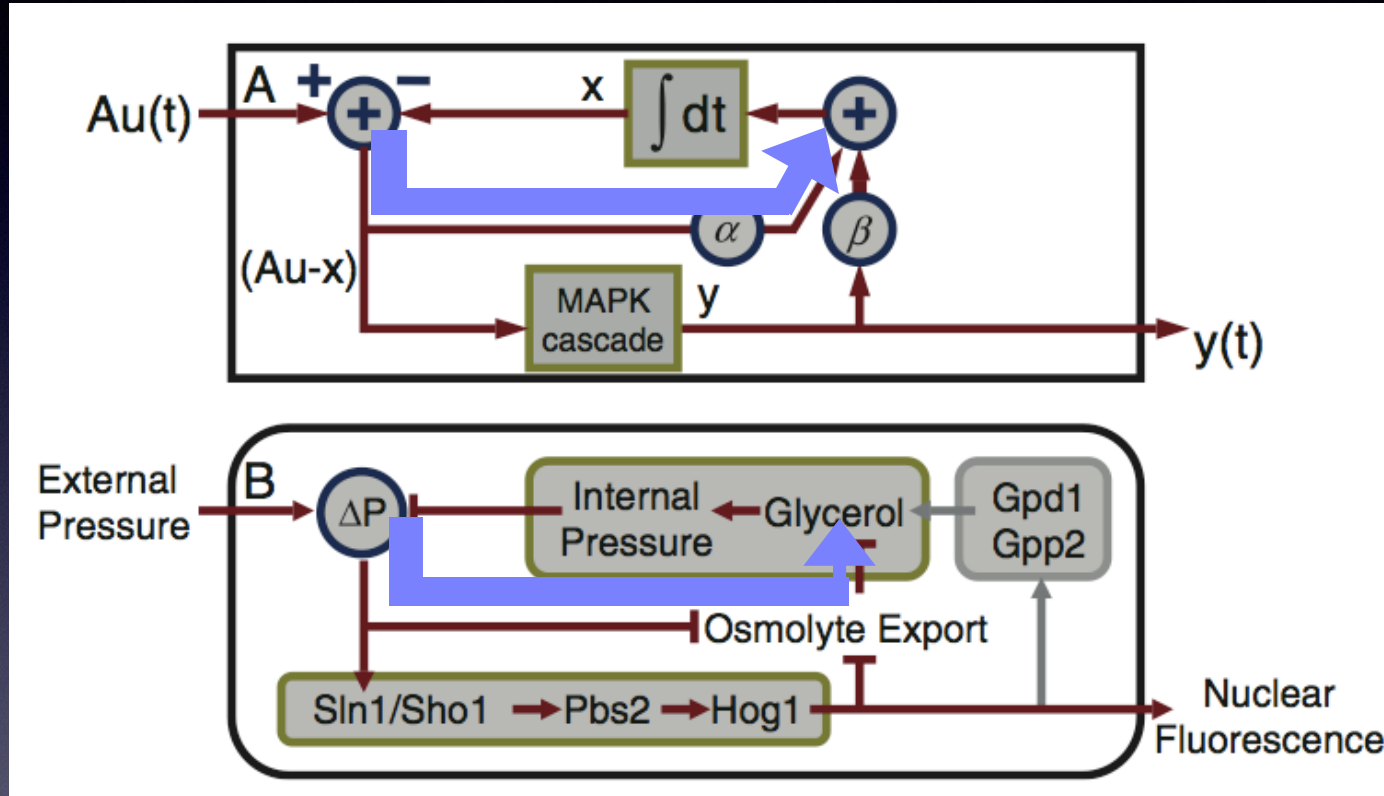
- x は細胞内の浸透圧物質濃度に相当
- フィードバックループが3つ存在

フィードバックループその 1



- Hog1 依存的グリセロール生産

フィードバックループその2

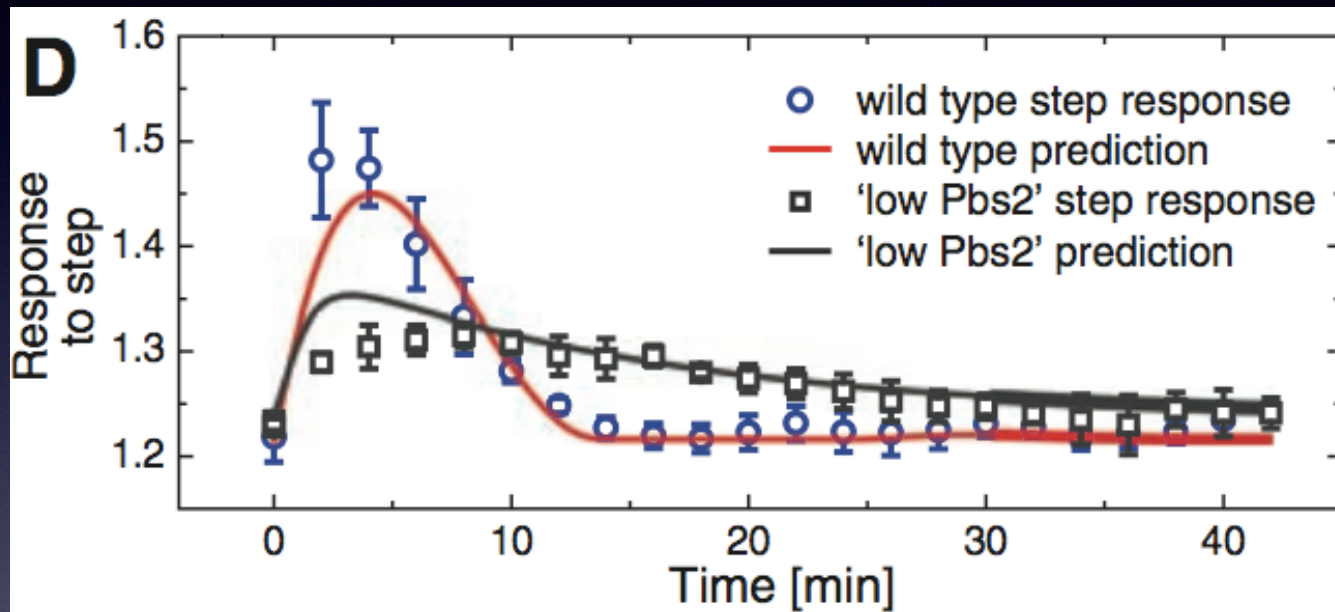


- Hog1 「非」 依存的グリセロール生産

第8段落: ここで変異株登場

- Pbs2
 - Hog1をリン酸化する酵素
- Pbs2の発現量が少ない株
 - Hog1依存型glycerol生産がほぼゼロ
 - 依存型 vs. 非依存型 のどちらが支配的か？

WTと変異株の比較

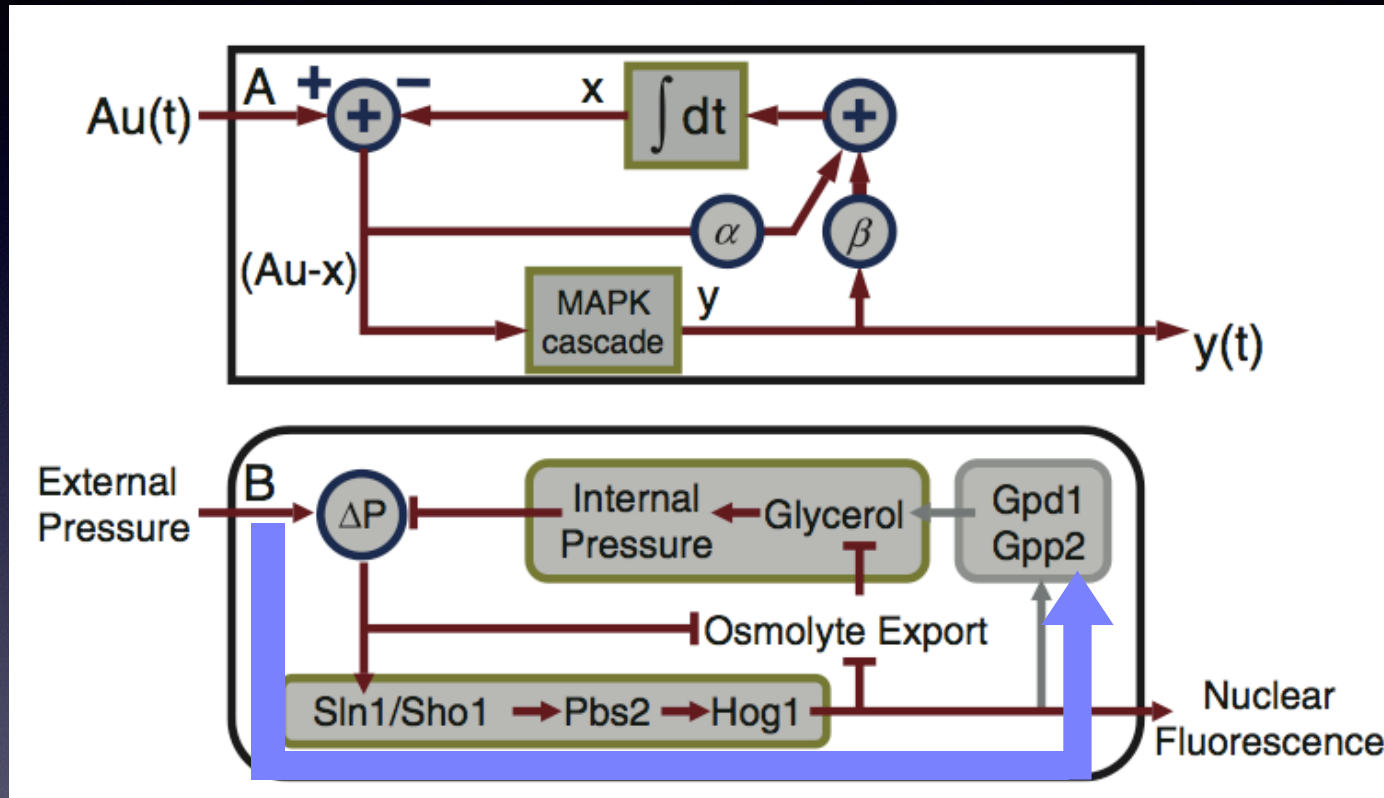


- 変異株の応答は遅いうえに小さい
- 結論：迅速な応答はHogI依存系が支配

第9段落: 既知のことから

- HogI非依存系 (応答まで2分程度)
 - 膜タンパク質FpsIがglycerol排出速度を落とす
- 遺伝子発現を伴う系 (応答まで30分程度)
 - 活性型HogIがGpdI, Gpp2の発現を誘導
 - とともにglycerol生産に関与するタンパク質

フィードバックループその3



- 遺伝子発現による系
- 数理モデルには含まれていない??

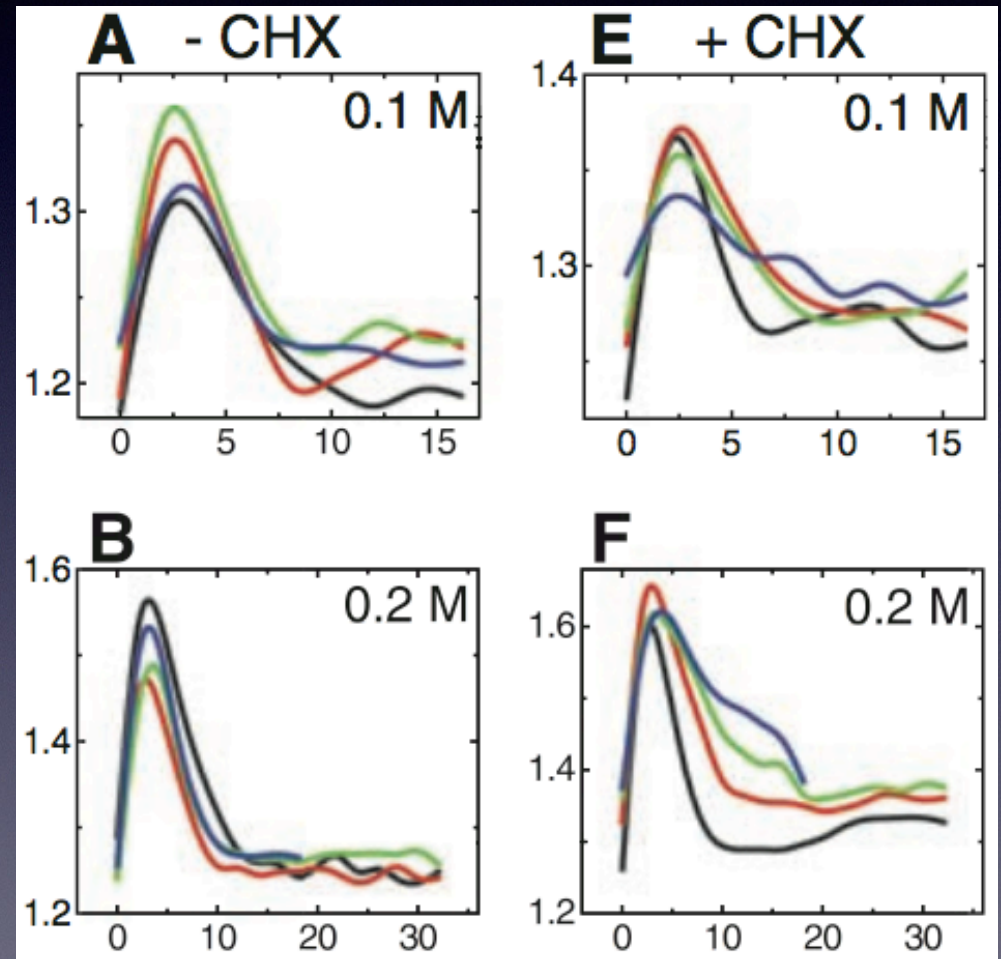
第10・11段落:

3つのフィードバックの役割

- 今回の実験では15分程度で応答
 - Hog1依存系／非依存系が支配
 - 30分かかる遺伝子発現の寄与はほぼゼロ
- 遺伝子発現を伴う系
 - より大きな浸透圧刺激に耐える応答を支配

遺伝子発現の寄与

- 左列は遺伝子発現あり
- 右列はタンパク質発現をcycloheximideで阻害
- 遺伝子発現あり
- 30分近辺の浸透圧が落ち着いている



縦軸はHog1の核局在率

3つのフィードバックの役割

- 速い応答 (数分～15分)
 - 速いHog1依存経路とglycerol輸送系が支配的
 - 遺伝子発現を介するnegative feedbackは関与しない
- 遅い応答 (30分)
 - 遺伝子発現を介する系の影響が大きい

第12段落: まとめ

- 周波数応答を用いてシステムを同定
- 制御理論はネットワークの推定に有望である

使った制御理論

- 周波数応答
- 伝達関数
- Bode線図
- ブロック線図
- 1 階化