

平成22年5月28日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20760274
 研究課題名（和文） 酵母のシステム生物学におけるシステム同定手法の開発
 研究課題名（英文） Development of system identification methods for systems biology in yeast
 研究代表者
 東 剛人（AZUMA TAKEHITO）
 宇都宮大学・工学研究科・准教授
 研究者番号：60308179

研究成果の概要（和文）：酵母の細胞分裂に関するタンパク質ネットワークの推定問題を定義し、その解法として最小二乗法に基づく手法を提案した。提案手法では、酵母の細胞分裂におけるタンパク質濃度波形が得られていると仮定し、これらの濃度波形を状態方程式で同定し、その係数行列から細胞分裂に関するタンパク質ネットワークを推定する。この解法の有効性を数値シミュレーションで検証し、未知のネットワークパスの存在の可能性が示唆された。さらに、感度解析手法により未知ネットワークパスの役割を示した。

研究成果の概要（英文）：Estimation problems of protein networks are defined for cell cycle in yeast and an approach to solve the problems has been proposed. In our approach, it is assumed that concentrations of proteins for cell cycle are obtained. Based on those concentrations of proteins, state space models are identified and the protein network for cell cycle is estimated. In numerical examples, the efficacy of our approach is demonstrated and the existence of unknown network paths is indicated. Moreover the roles of the estimated and unknown network paths are shown by using sensitivity analysis.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,100,000	630,000	2,730,000

研究分野：制御工学

科研費の分科・細目：電気電子工学・制御工学

キーワード：システムバイオロジー，システム同定，酵母，細胞分裂，タンパク質ネットワーク

1. 研究開始当初の背景

2002年に提唱されたシステム生物学が世界的に注目され、生物学だけに留まらず計算機工学や制御工学などの工学分野まで大きな影響を与えている。システム生物学の特徴は、生命を静的なシステムとして捉えるのではなく動的なシステムとして捉えることであり、そこから生命が環境の変化に対してロバスト性（頑健性）を有すると考える点にある。したがって、動的なシステムに対してロバスト性を陽に考慮可能なシステム制御理論はその理論体系構築に大きな貢献が可能であると期待される。しかし、システム生物学においては実験およびシミュレーションに関しては大きな研究結果が得られているが、理論に基づいた研究結果は非常に少ない。これは、分子生物学の飛躍的発展による遺伝子・タンパク質の網羅的解明が進んだが、依然として生命には未知の部分が多数存在し、生命現象を数式モデルとして記述することが困難となっていることに起因すると考えられる。

そのような理論的な研究結果が少ない状況に対して、平成17年度および18年度の科学研究補助金により、システム制御理論の一つの方法である感度解析手法に基づいた酵母の細胞分裂のロバスト性検証を行い、基本となる細胞分裂の基本構造において2つのタンパク質の存在を考慮すると、約1000倍ロバスト性が向上することを理論的に示した。ここでは質量反応方程式に基づいて動的システムを表現してロバスト性向上の結果を導いたが、他のミカエレスーメンテン手法による動的システムの表現方法でも同様なロバスト性の向上が達成されることを示した。これは癌細胞をロバストな動的システムだと考えた場合、ある特定のタンパク質の発現を抑制することにより、そのロバスト性を低下させることが可能であることを示唆しており、抗癌治療への応用が期待できる理論的な結果であると考えられる。

また、海外（ドイツ、Stuttgart大学など）での研究討論により、海外ではシステム生物学に関する大規模プロジェクトが行われており、理論的な部分では大きな成果が未だ得られていなく、理論部分の補強が最重要課題の一つとなっていることが判明した。さらに、理論においては、生命をどのように動的システムとして表現するかといったシステム同定に関する問題が現在大きな課題となっていることが判明した。そして、現在のシステム生物学においては、生物に対する実験と理論研究の間に大きなギャップが存在するため、実験を考慮した理論構築が重要であることが分かった。

2. 研究の目的

本研究では、システム生物学が扱う生命システムの対象がウイルスなどの微小生命から哺乳類まで多岐にわたることを考慮し、真核生物の中でも最小の生物である酵母に焦点を絞る。そして、酵母の生命現象の中でも癌細胞増殖に関連する細胞分裂を対象とし、そのシステム生物学におけるシステム同定手法を開発し、それを遺伝子およびタンパク質ネットワークの推定問題に応用することを目的とする。

具体的には、酵母の細胞分裂におけるシステム生物学の実験に関する知見から、生命システムに対するシステム同定理論の問題設定を行い、入出力データからその内部情報を推定するシステム同定理論を構築する。そして、構築したシステム同定理論に対して酵母の細胞分裂における実験データを適用し、未知の遺伝子・タンパク質ネットワーク構造を推定する。そして、推定されたネットワーク構造を考慮することにより、酵母における細胞分裂のロバスト性が向上することを、平成17年度および18年度の科学研究補助金により構築した感度解析手法を改良/適用し、理論的に検証する。さらに、推定された遺伝子・タンパク質ネットワーク構造の存在を実験により検証する。

3. 研究の方法

酵母における細胞分裂の遺伝子・タンパク質ネットワークとしては、6個の遺伝子・タンパク質などから構成される基本的なネットワークから53個の遺伝子・タンパク質などから構成される若干複雑なネットワークが知られている。しかし、現在の分子生物学の研究では、細胞分裂に関係する全ての遺伝子・タンパク質ネットワークを判明するには至っていない。近年では、どのようにすれば未だ判明していない遺伝子・タンパク質ネットワークを推定することができるのかについての方法論が期待されている。そこで、本研究では、システム生物学では生命現象をシステムとして捉えることを鑑み、工学におけるシステム同定手法の考え方を、システム生物学におけるシステム同定手法に適用することを提案する。

提案するシステム同定手法および遺伝子・タンパク質ネットワーク推定問題は、以下の5ステップで構築する。

（ステップ1）工学システムに対するシステム同定手法を直接適用してシステムを同定する。

（ステップ2）得られたシステムを分子生物学の既存結果と対比することにより、遺伝子・タンパク質ネットワークの構造を推定する。

（ステップ3）推定して得られたネットワーク構造を考慮した計算機シミュレーション

を行うことにより、ロバスト性が向上していることを検証する。

(ステップ4) 感度解析手法により、理論的にロバスト性向上を検証する。

(ステップ5) 実験を通して推定して得られたネットワーク構造が酵母の細胞分裂のロバスト性に関係していることを検証する。

4. 研究成果

①

タンパク質ネットワーク推定問題を「 n 個のタンパク質の濃度波形に基づいて、 n 個のノードからなるタンパク質ネットワークを推定せよ」と定義し、最小二乗に基づく手法を提案した。提案手法の概要を以下に示す。

$$Y(k) = \Theta \Phi(k)$$

の関係式を考える。ただし、タンパク質濃度を $x(k)$ とし、

$$Y(k) = x(k+1)$$

$$\Phi(k) = x(k)$$

であり、 Θ が未知パラメータである。ここで、評価規範を

$$J(\Theta) = \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N (Y(k) - \Theta \Phi(k))^2$$

とすると、評価規範を最小にする未知パラメータは

$$\hat{\Theta} = \left(\sum_{k=1}^N Y(k) \Phi(k)^T \right) \left(\sum_{k=1}^N \Phi(k) \Phi(k)^T \right)^{-1} \quad (2)$$

として与えられる。関係式は

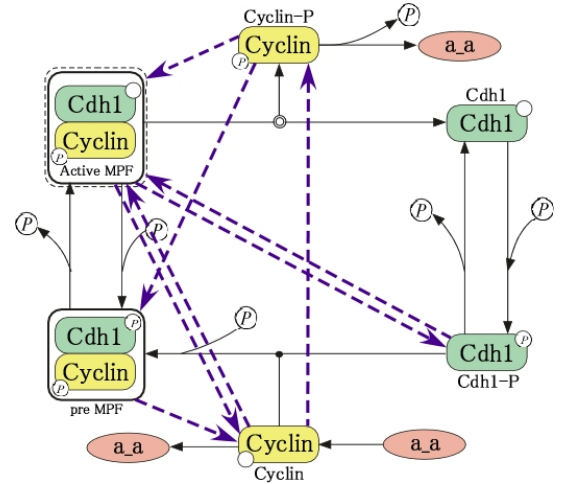
$$x(k+1) = A_{cell} x(k)$$

として記述されるので、係数行列

$$A_{cell} = \begin{bmatrix} a_{11} & a_{12} & \cdots & a_{1n} \\ a_{21} & a_{22} & \cdots & a_{2n} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ a_{n1} & a_{n2} & \cdots & a_{nn} \end{bmatrix}$$

を各タンパク質間の結合強度を表すと考えるとそのタンパク質ネットワークが推定できる。

② 6次元細胞分裂システムを考え、6つのタンパク質濃度波形が得られていると仮定すると、①の提案手法を用いて図1のようなタンパク質ネットワークが推定された。図1において、黒実線は既存のタンパク質ネットワークパスを表し、紫点線が新たに推定されたタンパク質ネットワークパスを表している。この結果からはタンパク質ネットワークパスの存在の可能性が示唆されるだけで、その役割を理論的に検証することが重要であり、未知ネットワークの役割が明確になること



で実際の実験などへの指針となる。

図1 推定されたタンパク質ネットワーク波形 (6次元細胞分裂システム)

③②の結果を踏まえ、感度解析手法によりそのロバストネスを検証し、その役割を明確にした。まず、図1に対して以下の微分方程式

$$\frac{dC_2(t)}{dt} = k_6 M(t) - k_8 P C_2(t) + k_9 C_p(t)$$

$$\frac{dC_p(t)}{dt} = -k_3 C_p(t) Y(t) + k_8 C_2(t) - k_9 P C_p(t)$$

$$\frac{b_1 C_p(t) M(t)}{J_1 + C_p(t)}$$

$$\frac{dp_M(t)}{dt} = k_3 C_p(t) Y(t) - p_M(t) F(M(t)) + k_5 P M(t)$$

$$\frac{-b_2 p_M(t) Y_p(t)}{J_2 + p_M(t)}$$

$$\frac{dM(t)}{dt} = -\frac{b_3 M(t) C_p(t)}{J_3 + M(t)} p_M(t) F(M(t)) - k_5 P M(t)$$

$$-k_6 M(t) + \frac{b_4 M(t) Y(t)}{J_4 + M(t)} + \frac{b_5 M(t) Y_p(t)}{J_5 + M(t)}$$

$$\frac{dY(t)}{dt} = k_1 a_a - k_2 Y(t) - k_3 C_p(t) Y(t)$$

$$+ \frac{b_6 Y(t) p_M(t)}{J_6 + Y(t)} + \frac{b_7 Y(t) M(t)}{J_7 + Y(t)}$$

$$\frac{dY_p(t)}{dt} = k_6 M(t) - k_7 Y_p(t) + \frac{b_8 Y_p(t) Y(t)}{J_8 + Y_p(t)}$$

$$F(M(t)) = k_4' + k_4 \frac{M^2(t)}{C T^2}$$

を新たに導出した。

上記微分方程式に対して感度解析手法を適用することにより、以下の2点が判明した。

(3-1) 紫実線 8 本の中から 1 本を選び、感度解析を行った結果、図 1 において $Y(t)$ から $M(t)$ へのネットワークパスを考慮した場合ロバストネスが低下 (感度が向上、図 2 を参照) し、それ以外はロバストネスへの影響がないことが判明した。

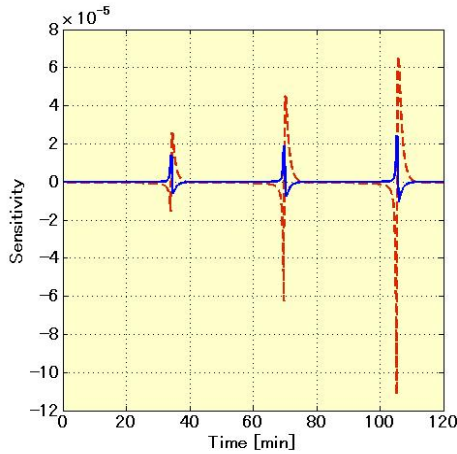


図 2 k_3 に対する $M(t)$ の感度 (赤実線がネットワークパスを考慮した結果, 青実線は考慮しない結果)

また、初期値を変更した場合の数値計算結果からもこの結果の妥当性が検証された。以下の表において $Y(t)$ の項に着目すると、 $Y(t)$ から $M(t)$ へのネットワークパスを考慮しない場合初期値を 1.5 倍まで増加させることが可能であるが、このネットワークを考慮した場合には 5 倍までに低下している。この数値実験は、実際の分子生物学の実験における細胞内の遺伝子コピー数を増加させ、細胞内にあるタンパク質を過剰発現させる実験と対応付けることが可能である。

Table 1: Upper bounds of gene copy numbers

Name of Proteins	Variable in models	Upper bound in model 1	Upper bound in model 2
Cdh1	$C_2(t)$	18	18
Cdh1-P	$C_p(t)$	17	17
pre MPF	$p_M(t)$	4	4
active MPF	$M(t)$	4	4
Cln1	$Y(t)$	15	5
Cln1-P	$Y_p(t)$	∞	∞

したがって、このネットワークパスを薬品投与などにより細胞内に作り出すことにより細胞分裂のロバストネスが低下し、癌細胞などの場合その増殖が抑制され癌の進行を遅らせることが可能であることが示唆されている。

(2) 紫実線 8 本の中から 2 本を選び、感度解析を行った結果、図 1 において $Y(t)$ から $M(t)$ および $p_M(t)$ への 2 本のネットワークパスを考慮した場合ロバストネスが向上 (感度が低下、図 3 を参照) し、それ以外はロバ

ストネスへの影響がないことが判明した。

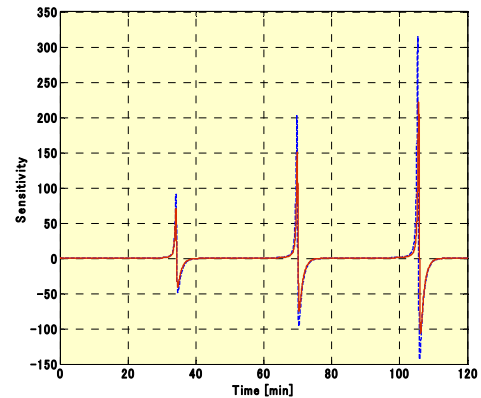


図 3 k_4 に対する $M(t)$ の感度 (赤実線がネットワークパスを考慮した結果, 青実線は考慮しない結果)

同様に、初期値を変更した場合の数値計算結果からもこの結果の妥当性が検証された。以下の表において $p_M(t)$, $M(t)$ の項に着目すると、 $Y_p(t)$ から $M(t)$ および $p_M(t)$ への 2 本のネットワークパスを考慮しない場合初期値を 4 倍までそれぞれ増加させることが可能であるが、これら 2 本のネットワークを考慮した場合には 6 倍および 5 倍までに向上している。

Table 2: Upper bounds of gene copy numbers

Name of Proteins	Variable in models	Upper bound in model 1	Upper bound in model 3
Cdh1	$C_2(t)$	18	18
Cdh1-P	$C_p(t)$	17	17
pre MPF	$p_M(t)$	4	6
active MPF	$M(t)$	4	5
Cln1	$Y(t)$	15	15
Cln1-P	$Y_p(t)$	∞	∞

したがって、このネットワークは細胞内に存在することが示唆され、分子生物学の知見に基づくと、Wee1 と Cdc25 タンパク質がこのネットワークパスを構成する一因になっていると予想される。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 6 件)

- ① Takehito Azuma, Masashi Uchida, A Design of Gain-scheduled Congestion Controllers using State Predictive Observers, 2008, Vol.1, 208-219
- ② Takehito Azuma, Hirohisa Kato, Shuichi Adachi, An Experimental Result of System Identification over Networks using Delta-Sigma Transformation, Proceedings of the 3rd International Conference on Sensing Technology,

- CDROM収録, 2008
- ③ Noriko Takahashi, Takehito Azuma, Shuichi Adachi, An Estimation of Protein Networks in Yeast based on Least-squares Method, roceedings of ICROS-SICE, International Joint Conference 2009, 196-199
 - ④ Takehito Azuma, Masachika Kurata, Noriko Takahashi, Shuichi Adachi, An Approach to Estimation of Protein Networks for Cell Cycle Based on Least-squares Method, Proceedings of the 4th International Conference on Sensing Technology, 2010 (採択決定)
 - ⑤ Takehito Azuma, Masachika Kurata, Noriko Takahashi, Shuichi Adachi, Estimation and Robustness Analysis of Protein Networks for 6-dimensional Cell Cycle Systems, Proceedings of 2010 IEEE Multi-conference on Systems and Control, 2010 (採択決定)
 - ⑥ Noriko Takahashi, Takehito Azuma, Shuichi Adachi, An Approach to Estimation of Protein Networks for Cell Cycle Based on Least-Squares Method Using Periodic Signals, Proceedings of the 19th International Symposium on Mathematical Theory of Networks and Systems, 2010 (採択決定)

[学会発表] (計6件)

- ① 倉田 真考, 榎戸 聡, 東 剛人, 足立 修一, 酵母のセルサイクルに関するタンパク質ネットワークの推定とロバストネス解析, 計測自動制御学会 第37回制御理論シンポジウム, 2008
- ② 篠崎 隆宏, 東 剛人, 結合定数と速度定数に着目したインターロックフィードバックモデルの感度解析, 第51回自動制御連合講演会, 2008
- ③ 軽部 達也, 東 剛人, 熱ショック反応を応用した移動アルゴリズム, 第51回自動制御連合講演会, 2008
- ④ 高橋 知子, 東 剛人, 足立 修一, 周期信号に対する時変システム同定法に基づく酵母の細胞分裂ネットワークの推定, 計測自動制御学会 第9回制御部門大会, 2009
- ⑤ 東 剛人, 細胞分裂におけるタンパク質ネットワーク推定とロバストネス解析, 計測自動制御学会 システム・情報部門学術講演会, 2009
- ⑥ 東 剛人, 6次元セルサイクルシステムに対するタンパク質ネットワーク推定とロバストネス解析, 計測自動制御学会 第10回制御部門大会, 2010

6. 研究組織

(1) 研究代表者

東 剛人 (AZUMA TAKEHITO)

宇都宮大学・工学研究科・准教授

研究者番号: 60308179