

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 6月 6日現在

機関番号：12201

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23760382

研究課題名（和文） 細胞内ゆらぎを考慮した細胞周期におけるタンパク質ネットワーク  
推定法

研究課題名（英文） An estimation method of protein networks for fluctuation cell cycle

## 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）：本研究では、周期信号に対する最小二乗法に基づいた、細胞周期に関連する6次元タンパク質ネットワークの推定法を提案し、その有効性を数値シミュレーションで検証した。さらに、ゆらぎを含む6次元タンパク質ネットワークの推定問題に取り組んだ。そして、推定されたタンパク質ネットワークのロバストネスを周期感度解析手法で確認した。

研究成果の概要（英文）：This research proposes an approach to estimate 6-dimensional protein networks for cell cycle based on the least-squares method and demonstrates the efficacy on computer simulation. Moreover estimation problems for fluctuation cell cycle are experimented on computer simulation. Robustness of estimated 6-dimensional protein networks is verified by using periodic sensitivity analysis.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	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，システム制御，細胞周期，タンパク質ネットワーク

## 1. 研究開始当初の背景

（1）2002年に提唱されたシステム生物学が世界的に注目され、生物学や分子生物学だけにとど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ネス（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ネス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及びシミュレーションに関しては多数の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發展による遺伝子・タンパク質の網

羅的解明が進展したが、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。

（2）システムバイオロジー研究に関する理論的な研究結果が少ない状況に対して、申請者は、システム制御理論の一手法である感度解析手法に基づいた酵母における細胞周期のロバストネス解析を行い、6個のタンパク質群から構成される細胞周期の基本タンパク質ネットワーク構造においてさらに2つのタンパク質の存在を考慮することで、ロバストネスが約1000倍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ネス向上の結果を導いたが、他のミカエリス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ネスの向上が達成される

ことを示した。

(3) 申請者は、タンパク質濃度波形から細胞周期に関連するタンパク質ネットワークが推定可能であればシステム生物学の理論研究結果が実験研究の指針を示唆できると着想し、未知タンパク質や未知ネットワーク構造の予測手法として、システム同定理論の一手法である最小二乗法に基づいた細胞周期のタンパク質ネットワーク推定手法を提案した。さらに、提案手法を用いて推定されたタンパク質ネットワークに対する非線形微分方程式を導出し、ロバストネスを指標とした解析により推定されたタンパク質ネットワークの役割を明確にし、ロバストネスに影響を与えるネットワーク構造の推定に成功した。提案手法では理想的な条件を想定し、細胞内ゆらぎを含まないタンパク質濃度波形（確定的な挙動）が入手可能という条件を仮定しているが、実際の細胞内におけるタンパク質濃度は内在的なゆらぎと外在的なゆらぎの双方を有している。したがって、これらのゆらぎを細胞内での確率的な挙動と捉え、確定的な挙動と確率的な挙動の両方を考慮したタンパク質ネットワーク推定手法の確立はシステム生物学での実験への適用を考えた場合必要不可欠となる。

## 2. 研究の目的

(1) 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ィ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細胞増殖に関連する細胞周期を対象とし、システム同定理論における最小二乗法の手法に基づいて、周期的なタンパク濃度波形からタンパク質間の結合を表現するタンパク質ネットワークを推定する手法を提案する。

(2) 計算機シミュレーションで生成したゆらぎを含むタンパク質濃度波形群や実際の実験で得られるタンパク質濃度波形に対して提案手法を適用し、細胞周期のタンパク質ネットワークを推定する。

(3) 推定されたタンパク質ネットワークには既存の実験結果において未知のタンパク質や未知のネットワーク構造が含まれることが予想されることを鑑み、化学反応式に基づいて推定されたタンパク質ネットワークを非線形微分方程式で表現し、感度解析手法を用いることでそのロバストネスを検証し、提案手法の有効性を確認する。

## 3. 研究の方法

(1) 既提案の最小二乗法では大量のデータを用いてタンパク質ネットワークを推定するが、細胞周期の周期性に着目した新しい最

小二乗法に基づいたタンパク質ネットワークの推定を行う。

(2) 細胞内ゆらぎを含むタンパク質濃度波形に対して、最小二乗法に基づくタンパク質ネットワークの推定を行う。(a)細胞内ゆらぎを考慮した確率シミュレーションを実施し、シミュレーション環境を構築する。具体的には、細胞周期に関連する6個のタンパク質で構成されるタンパク質ネットワークを化学マスター方程式で記述し、Gillespie法を用いて確率シミュレーションを行う。(b)(a)で得られた細胞内ゆらぎを含む6個のタンパク質濃度波形に対して、最小二乗法に基づくタンパク質ネットワーク推定法を適用し、細胞周期におけるタンパク質ネットワークを推定する。

(3) 推定されたタンパク質ネットワークに対して化学反応式を適用し、非線形微分方程式を導出する。新たに周期感度を定義し、周期感度に基づいたロバストネス解析を実施する。特に、未知タンパク質を含むネットワーク構造を考慮することで、細胞周期のロバストネスが向上するといった結果が得られた場合、その未知タンパク質が実際の細胞内に存在する可能性が高く、既存の分子生物学の知見との比較により、実験指針が明確にされることになる。

## 4. 研究成果

(1) 周期信号における線形回帰式

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

を考え、その最小二乗推定値

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

に対して、

$$\hat{\Theta}_1 = \left( \sum_{k=1}^N Y(k) \Phi^T(k) \right) \left( \sum_{k=1}^N \Phi(k) \Phi^T(k) \right)^{-1} = \hat{\Theta}$$

が成立ことを証明した。この結果は、1周期分のデータを用いた最小二乗推定値が全データを用了最小二乗推定値に等しいことを示しており、周期信号に対する最小二乗推定では1周期分のデータだけを用いればよく、多量のデータを用いる必要がないことを意味している。細胞周期のような周期的な生命現象の実験では1周期分のデータで推定可能であるので、実験コストの削減に寄与する結果である。この結果は計算機実験で確認され、図1にその1例を示す。そして、提案手法を6個のタンパク質ネットワークの推定問題に適用し、真核生物の細胞周期における6次元タンパク質ネットワークを推定した。なお、細胞周期に関連するタンパク質としては Cdk1, Cyclin タンパク質、リン酸化された Cdk1, Cyclin タンパク質およびその複合体 preMPF, ActiveMPF を考えた。図2に

推定されたタンパク質ネットワークを示す。

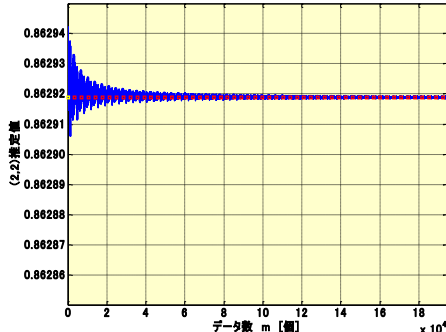


図1 提案手法による推定結果例

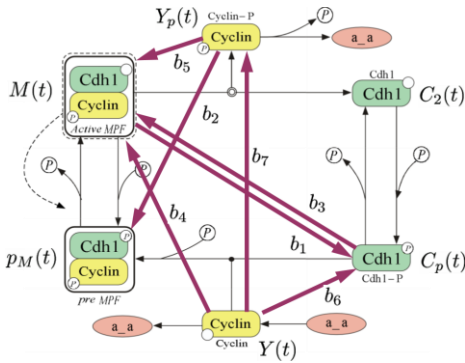


図2 推定された6次元タンパク質ネットワーク

(2) Gillespie法を用いて、(1)で考察した6個のタンパク質で構成されるタンパク質ネットワークを化学マスター方程式の解を計算した。図3にその結果を示す。

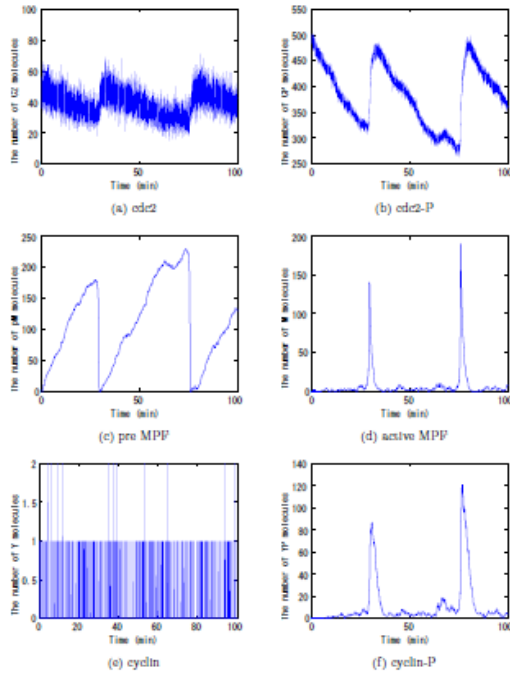


図3 ゆらぎを含むタンパク質波形

このゆらぎを含むタンパク質波形に対して、最小二乗法および部分空間同定法に基づき、6次元タンパク質ネットワークの推定を行った。その結果、図2と同様のタンパク質ネットワークが推定された。ここでは、推定で用いる閾値の設定が試行錯誤的になり、理論的な裏付けのある設定法が必要であることがわかった。

(3) 推定された6次元タンパク質ネットワークに対して、感度解析手法によるロバストネス解析を行った。感度方程式のシミュレ-

TABLE 1  
PERIODIC SENSITIVITIES OF THE ORIGINAL MODEL FOR  $M$

Parameters	Periodic sensitivities	Parameters	Periodic sensitivities
$k_1$	$-9.38e^0$	$k_5$	$5.27e^{-3}$
$k_2$	$9.94e^4$	$k_6$	$1.15e^4$
$k_3$	$-5.30e^{-2}$	$k_7$	0.00
$k_4$	$-3.93e^1$	$k_8$	$-9.71e^{-5}$
$k'_4$	$-1.19e^0$	$k_9$	$9.72e^{-4}$

シオン結果の1例を図4に示す。また、パラメータの周期感度を図5に示す。

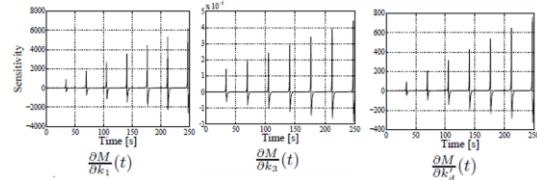


図4 感度方程式の応答

図5 周期感度結果

図5から推定されたタンパク質ネットワークのロバストネスは非常に低いことがわかった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計4件)

- (1) Takehito Azuma, Robustness Analysis of 10-dimensional Cell Cycle Systems based on Periodic Sensitivity, Proceedings of the 6th International Conference on Sensing Technology, 査読(有), Vol. 1, pp. 506-511, 2012, IEEE Catalog Number: CFP1218E-CDR, ISBN 978-1-4673-2245-4
- (2) Takehito Azuma, Mayumi Ito, Shuichi Adachi, An approach to estimating protein networks of cell cycle based on least-squares methods for periodic signals, Proceeding of 2011 Fifth International Conference on Sensing Technology, 査読(有), Vol. 1, pp. 484-489, 2011, IEEE Catalog Number: CFP1118E-CDR, ISBN 978-1-4577-0166-5
- (3) Noriko Takahashi, Takehito Azuma, Mayumi Ito, Shuichi Adachi, Estimation of Protein Networks Based on Least-squares Method for Pseudo Periodic Signals, Proceedings of the 13th IASTED International Conference on

Intelligent Systems and Control, 査読(有), Vol. 1, pp. 48-54, 2011, ISBN 978-0-88986-889-2

- (4) Takehito Azuma, Noriko Takahashi, Mayumi Ito, Shuichi Adachi, A Least-squares Method for Periodic Signals of Cell Cycle to Estimate Protein Networks, Proceedings of the 8th Asian Control Conference, 査読(有), pp. 482-487, 2011, ISBN 978-89-956056-4-6

[学会発表] (計5件)

- ① Takehito Azuma, Robustness Analysis of 10-dimensional Cell Cycle Systems based on Periodic Sensitivity, The 6th International Conference on Sensing Technology, Dec. 18th, 2012, Kolkata(India)
- ② Takehito Azuma, Mayumi Ito, Shuichi Adachi, An approach to estimating protein networks of cell cycle based on least-squares methods for periodic Signals, The fifth International Conference on Sensing Technology, Dec. 1st, 2011, Palmerston North(New Zealand)
- ③ 伊藤まゆ美, 東 剛人, 足立修一, セルサイクルにおける Cdc20 の結合を考慮したタンパク質ネットワークのロバストネス解析, 第40回制御理論シンポジウム, 2011年9月26日, 大阪
- ④ Noriko Takahashi, Takehito Azuma, Mayumi Ito, Shuichi Adachi, Estimation of Protein Networks Based on Least-squares Method for Pseudo Periodic Signals, The 13th IASTED International Conference on Intelligent Systems and Control July 11, 2011, Cambridge(United Kingdom)
- ⑤ Takehito Azuma, Noriko Takahashi, Mayumi Ito, Shuichi Adachi, A Least-squares Method for Periodic Signals of Cell Cycle to Estimate Protein Networks, The 8th Asian Control Conference, May 15, 2011, Kaohsiung(Taiwan)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

[その他]

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