

# Michaelis-Menten 法に基づく真核生物におけるセルサイクルのロバスト性に関する一考察

○松室隼人 滑川徹(金沢大学) 東剛人(宇都宮大学)

A Consideration about Robustness of Eucayote Cell Cycle  
based on the Michaelis-Menten Method

○ H. Matsumuro, T. Namerikawa (Kanazawa University) T. Azuma(Utsunomiya University)

This paper discusses robustness of eucayote cell cycle based on the Michaelis-Menten method and results of robustness analysis for two models are compared. In this paper, a simple chemical response is used for eucayote cell cycle. For this chemical response, one model is derived from the Michaelis-Menten method and another model comes from the mass equations method. The purpose of this paper is to understand whether same results of robustness analysis are obtained by using two mathematical model, which are derived from one chemical response.

## 1 はじめに

システムバイオロジーとは、生命をシステムレベルで理解することを目的とした研究領域である<sup>10)</sup>。近年、分子生物学の進展によって複数の遺伝子、タンパク質が複雑形を形成することが明らかになってきている。したがって、複雑形をシステムとして捉えることが重要であり、システムバイオロジーが生命の本質的な理解に貢献することが可能であると期待される。

システムバイオロジーの分野の中に、セルサイクル(細胞周期)のダイナミクスに関する研究がある。セルサイクルの研究は、細胞の活動の基幹的部分に関わる重要なテーマである。本稿では、セルサイクルの細胞分裂に重点をおいたモデルについて述べる。

セルサイクルの細胞分裂に関するタンパク質ネットワークモデルは、さまざまな手法で導出されている<sup>1) 2) 3) 4) 5)</sup>。これらの文献のモデルは、実験結果から導出されたものであり、セルサイクルに関するタンパク質の時間変化に対する濃度周期波形が得られている。それぞれのセルサイクルモデルは、定量的には正しくないが、ロバスト性などの定性的な解析を行った結果を比較、検証する必要がある。

そこで、本稿では、Michaelis-Menten 法に基づいた真核生物のセルサイクルモデルを導出し、ロバスト性の検証、Mass Equations 手法<sup>9)</sup>との比較を行う。第2節では、Mass Equations と Michaelis-Menten 法の2つの手法を用いた、Cdc25 と Wee1 を考慮しないモデルを導出する。第3節では、感度解析手法について述べ、Michaelis-Menten 法に基づいた Cdc25 と Wee1 を考慮するモデルを導出する。最後に、第4節では、Cdc25, Wee1 を考慮しない場合とする場合の比較を行い、セルサイクルモデルのロバスト性を検証する。

## 2 真核生物におけるセルサイクルと数式モデル

### 2.1 セルサイクルにおける化学反応と数式モデル

真核生物のセルサイクルの発生は、Cdk1 タンパク質と Cyclin タンパク質の働きによって制御されている。Fig. 1 に Cdk1 と Cyclin のタンパク質反応回路図を示す。Cyclin がアミノ酸によって生成され、Cdk1 との複合体を形成し、preMPF となる。preMPF は脱リン酸化されることによって、activeMPF となる。activeMPF がある程度の量に達すると、細胞分裂が起こる。分裂後、activeMPF は、Cdc2 と Cyclin に再び分解される。Cyclin タンパク質はアミノ酸に分解される。この流れの繰り返しによって、セルサイクルが発生する。

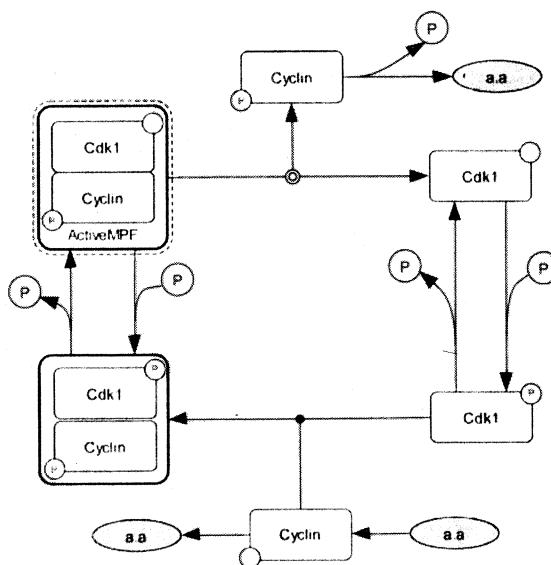


Fig. 1: Cdc2 と Cyclin のタンパク質反応回路図

次に、反応回路図から微分方程式 (以下、セルサイクルモデルと呼ぶ) を導出する。タンパク質濃度について、Cdk1 タンパク質の濃度を  $C_k$  (mol/l), リン酸化された Cdk1 タンパク質の濃度を  $C_p$  (mol/l), preMPF タンパク質の濃度を  $p_M$  (mol/l), activeMPF タンパク質の濃度を  $M$  (mol/l), Cyclin タンパク質の濃度を  $Y$  (mol/l), リン酸化された Cyclin タンパク質の濃度を  $Y_p$  (mol/l) とする。このとき、微分方程式は以下のように表される。

$$\frac{dC_k(t)}{dt} = k_6 M - k_8 C_k + k_9 C_p \quad (1)$$

$$\frac{dC_p(t)}{dt} = -k_3 C_p Y + k_8 C_k - k_9 C_p \quad (2)$$

$$\frac{dp_M(t)}{dt} = k_3 C_p Y - F(p_M, M) + k_5 M \quad (3)$$

$$\frac{dM(t)}{dt} = F(p_M, M) - k_5 M - k_6 M \quad (4)$$

$$\frac{dY(t)}{dt} = v_1 - k_2 Y - k_3 C_p Y \quad (5)$$

$$\frac{dY_p(t)}{dt} = k_6 M - k_7 Y_p \quad (6)$$

ただし、 $v_1, k_i$  ( $i = 2, \dots, 9$ ) は定数パラメータを表している。また、Cdk1 タンパク質の量は、反応の課程で変化しないため、総量は一定値  $C_T$  となり以下の等式が成り立つ。

$$C_T = C_k + C_p + p_M + M \quad (7)$$

$F(p_M, M)$  については、activeMPF が activeMPF 自身の量を制御する形を取っており、次節の Mass Equations と Michaelis-Menten 法の 2 つの方法で表現する。さらに次節では、パラメータ値、初期値を決定し、タンパク質濃度の時間変化グラフを導出する。

## 2.2 Mass Equations における数式モデル

Mass Equations を用いたセルサイクルモデル<sup>1)</sup> では、 $F(p_M, M)$  は次のように表されている。

$$F(p_M, M) = p_M \left( k'_4 + k_4 \frac{M^2}{C_T^2} \right) \quad (8)$$

式 (1)~(6) の方程式から、タンパク質濃度の時間変化グラフを MATLAB の SIMULINK によって導出する。パラメータ値、初期値は文献<sup>1)</sup> の値を用いる。 $M(t)$  の時間変化グラフを Fig. 2 に示す。このグラフから  $M(t)$  は周期的なグラフとなっており、極大値のときに細胞分裂が起こると考えられる。

## 2.3 Michaelis-Menten 法における数式モデル

Michaelis-Menten 法は、実験結果によって導出された式である。Michaelis-Menten 法を用いたときのセルサイクルモデルの  $F(p_M, M)$  は、次のように表すことができる。

$$F(p_M, M) = V_4 \frac{M}{K_4 + M} \frac{p_M}{J_4 + p_M} \quad (9)$$

しかし、Michaelis-Menten 法を用いた場合は、セルサイクルモデルのタンパク質濃度の周期解は得られなかった。

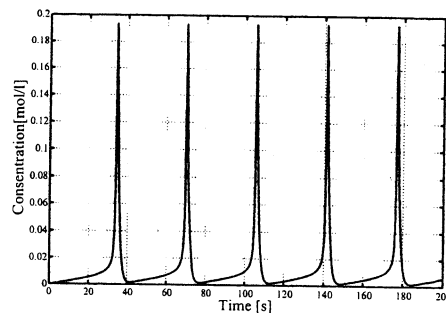


Fig. 2:  $M(t)$  の時間変化グラフ

## 3 Michaelis-Menten 法を用いたセルサイクルモデルのロバスト性解析

### 3.1 感度解析手法によるロバスト性解析

はじめに感度解析手法を用いたロバスト性解析法について述べる。周期的な解を持つタンパク質ネットワークモデルについて、タンパク質濃度ベクトルを  $s(t, p)$ , 反応速度ベクトルを  $v(s, p)$ , パラメータベクトルを  $p$ , 周期を  $T(p)$  とする。このとき、微分方程式は、次のように書ける。

$$\frac{d}{dt} s(t, p) = N v(s(t, p), p) \quad (10)$$

ただし、 $N$  は係数行列である。このとき、感度関数なるものを次のように定義する。<sup>7)</sup>

$$R^s(t) = \left. \frac{\partial s(t, p)}{\partial p} \right|_{p=p_0} \quad (11)$$

ただし、 $p_0$  はノミナルパラメータを示す。 $s(t, p)$  は、タンパク質濃度をパラメータ微分したものであるが、数式として導出することができない。よって、式 (10) をパラメータ微分して得られる次の方程式によって感度関数を導出する。

$$\frac{d}{dt} R^s(t) = N \left( \frac{\partial v(s, p_0)}{\partial s} R^s(t) + \frac{\partial v(s, p_0)}{\partial p} \right) \quad (12)$$

しかし、感度関数は、フーリエ級数解析の結果から、時間が経つにつれて増加するものであることが示されている<sup>7)</sup>。したがって、感度関数を用いて解析することは困難である。そこで、周期感度  $R^T$  (定数) を次式で定義する。周期感度は、パラメータ変化に対する周期のかわりやすさを表している。

$$R^T = \left. \frac{\partial T(p)}{\partial p} \right|_{p=p_0} \quad (13)$$

周期感度は、感度関数と同様に数式として導出できない。よって、周期感度を導出する時は、以下の方程式を用いる<sup>8)</sup>。

$$R_j^T = - \frac{\int_{t_1}^{t_1+T} R_{ij}^s(t) dt - \int_{t_2}^{t_2+T} R_{ij}^s(t) dt}{s_i(t_1) - s_i(t_2)} \quad (14)$$

ただし、 $i, j$  は、 $R^s(t)$  の  $(i, j)$  要素、 $t_1, t_2$  は  $t_1 < t_2$  となる任意の時刻である。感度関数は、式 (12) を用いて導出する。周期感度を用いることによってパラメータ変化に対するロバスト性の検証を行うことができる。

### 3.2 Cdc25, Wee1 タンパク質を考慮した数式モデル

前節のシミュレーションにおいて、セルサイクルモデルに Michaelis-Menten 法を用いた場合は、周期解が得られなかった。そこで、本節では、Cdc25, Wee1 タンパク質を考慮したモデルを導出する。Cdc25, Wee1 を考慮した反応回路図を Fig. 3 に示す。Cdc25, Wee1 とともに、activeMPF の反応に関わっていることが図から読み取ることができる。Cdc25 タンパク質の濃度を  $C_{25}$  (mol/l), リン酸化された Cdc25 タンパク質の濃度を  $C_{25p}$  (mol/l), Wee1 タンパク質の濃度を  $W_e$  (mol/l), リン酸化された Wee1 タンパク質の濃度を  $W_{ep}$  (mol/l) とする。

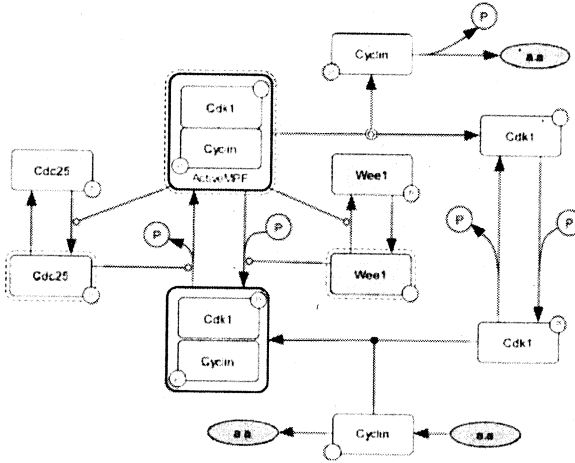


Fig. 3: Cdc25, Wee1 を考慮したセルサイクル反応回路図

このとき、モデルは、次の 10 本の方程式で表される。

$$\frac{dC_2(t)}{dt} = k_{10}M - k_{12}C_2 + k_{13}C_p \quad (15)$$

$$\frac{dC_p(t)}{dt} = -k_3C_pY + k_{12}C_2 - k_{13}C_p \quad (16)$$

$$\frac{dp_M(t)}{dt} = k_3C_pY - F_4(p_M, C_{25p}) + F_5(M, W_e) \quad (17)$$

$$\frac{dM(t)}{dt} = F_4(p_M, C_{25p}) - F_5(M, W_e) - k_{10}M \quad (18)$$

$$\frac{dY(t)}{dt} = v_1 - k_2Y - k_3C_pY \quad (19)$$

$$\frac{dY_p(t)}{dt} = k_{10}M - k_{11}Y_p \quad (20)$$

$$\frac{dC_{25}(t)}{dt} = -F_6(M, C_{25}) + F_8(C_{25p}) \quad (21)$$

$$\frac{dC_{25p}(t)}{dt} = F_6(M, C_{25}) - F_8(C_{25p}) \quad (22)$$

$$\frac{dW_e(t)}{dt} = F_7(M, W_e) - F_9(W_{ep}) \quad (23)$$

$$\frac{dW_{ep}(t)}{dt} = -F_7(M, W_e) + F_9(W_{ep}) \quad (24)$$

さらに、 $F_4(p_M, C_{25p})$ ,  $F_5(M, W_e)$ ,  $F_6(M, C_{25})$ ,  $F_7(M, W_e)$ ,  $F_8(C_{25p})$ ,  $F_9(W_{ep})$  は、Michaelis-Menten 法の表現方法を用いて次式のように表す。

$$F_4(p_M, C_{25p}) = V_4 \frac{C_{25p}}{K_4 + C_{25p}} \frac{p_M}{J_4 + p_M} \quad (25)$$

$$F_5(M, W_e) = V_5 \frac{W_e}{K_5 + W_e} \frac{M}{J_5 + M} \quad (26)$$

$$F_6(M, C_{25}) = V_6 \frac{M}{K_6 + M} \frac{C_{25}}{J_6 + C_{25}} \quad (27)$$

$$F_7(M, W_e) = V_7 \frac{M}{K_7 + M} \frac{W_e}{J_7 + W_e} \quad (28)$$

$$F_8(C_{25p}) = V_8 \frac{M}{K_8 + C_{25p}} \quad (29)$$

$$F_9(W_{ep}) = V_9 \frac{W_{ep}}{K_9 + W_{ep}} \quad (30)$$

## 4 シミュレーション

### 4.1 Michaelis-Menten 法の Cdc25, Wee1 を考慮したシミュレーション

本節では、はじめに前節のセルサイクルモデルにおけるタンパク質濃度の周期解、感度関数、周期感度を導出する。

シミュレーション時のパラメータ値を Table. 1 に示す。

Table. 1: シミュレーション時のパラメータ

パラメータ	値	パラメータ	値
$v_1$	0.015	$V_9$	10
$k_2$	0	$K_4$	0.5
$k_3$	200	$K_5$	0.5
$k_{10}$	1	$K_6$	0.075
$k_{11}$	0.6	$K_7$	0.5
$k_{12}$	1000	$J_4$	0.5
$k_{13}$	500	$J_5$	0.5
$V_4$	3	$J_6$	0.5
$V_5$	3	$J_7$	0.5
$V_6$	0.55	$J_8$	0.075
$V_7$	0.1	$J_9$	0.5
$V_8$	0.2		

初期値は、 $C_p(0) = 1$ ,  $p_M(0) = 0$ ,  $M(0) = 0$ ,  $Y_0(0) = 0$ ,  $Y_p(0) = 0$ ,  $C_{25}(0) = 0.9$ ,  $C_{25p}(0) = 0.1$ ,  $W_e(0) = 0.9$ ,  $W_{ep}(0) = 0.1$  とする。  $M(t)$  の時間変化グラフを Fig. 4 に示す。このグラフから、セルサイクルモデルに対する周期解が得られていることが分かる。

次に周期感度を導出する。周期感度を計算する時の感度関数の初期値はすべて 0 とする。式 (14) のパラメータ値を、 $t_1 = 438.7$ ,  $t_2 = 460$  とし、 $T = 67.8$  とする。計算した結果を Table. 2 に示す。

また、Fig. 5 に  $\frac{\partial M(t)}{\partial V_4}$  の感度関数のグラフを示す。このグラフは、時間が経つとともに極大値が増加していることが分かる。

### 4.2 考察

本稿では、Michaelis-Menten 法を用いて、Cdc25, Wee1 を考慮する場合としない場合のセルサイクルモデルの導出を行った。考慮しない場合は、周期的な解を導出することができなかった。セルサイクルの発生は、Cyclin と Cdk1 の 2 つのタンパク質によって制御されているため、本来ならば周期的な解が導出されるはずである。一方、考慮する場合は、周期的な解が導出されてい

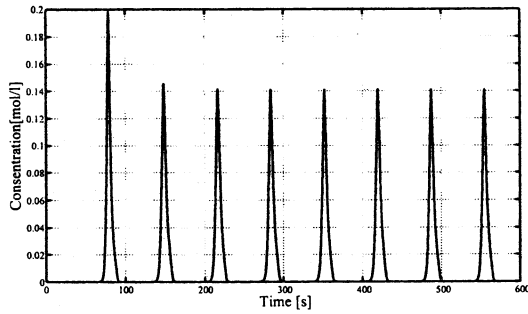


Fig. 4:  $M(t)$  の時間変化グラフ

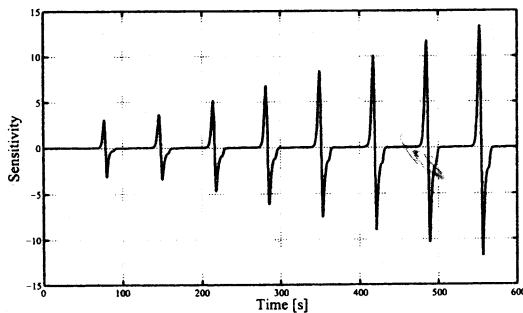


Fig. 5:  $\frac{\partial M(t)}{\partial V_4}$  の時間変化グラフ

る。周期解の見つけやすさの観点から、Michaelis-Menten 法を用いた場合は、Cdc25, Wee1 タンパク質を考慮するとロバスト性が向上されると予想できる。Mass Equations を用いた場合でも、ロバスト性が向上される<sup>9)</sup>。よって、モデルの式の表現方法に関係なく、セルサイクルにおける Cdc25, Wee1 はロバスト性を向上させる働きをもつと考えられる。

次に、Mass Equations と Michaelis-Menten 法の 2 つの表現方法について、Cdc25, Wee1 を考慮する場合の比較を行う。本稿の周期感度の結果 (Table. 2) から、感度が高いパラメータは、 $v_1$ ,  $V_6$ ,  $V_8$  である。 $v_1$  は、Cyclin の発生、 $V_6$  は、Active MPF の量の増加に関するパラメータである。<sup>9)</sup>でも同様に、Cyclin の発生、active MPF の量の増加に関するパラメータの感度の値が高くなっている。実際、これらのパラメータが周期の決定に大きく関わっていると考えられる。一方、 $V_8$  は、Cdc25 の減少に関するパラメータであるが、<sup>9)</sup>では、それほど相対的にそれほど高くない値である。Cdc25 の減少という点で違いが見られた。

## 5 おわりに

本稿では、Michaelis-Menten 法に基づいた真核生物のセルサイクルモデルを導出、ロバスト性の検証、Mass Equations 手法<sup>9)</sup>との比較を行った。Michaelis-Menten 法においても、Cdc25, Wee1 を考慮する場合の方がロバスト性が高くなると考えられる。また、周期感度の相対的なバランスは、Mass Equations を用いている文献<sup>9)</sup>とほとんど同じ結果となった。

Table. 2:  $M$  に対する周期感度

パラメータ	周期感度	パラメータ	周期感度
$v_1$	$-3.85e^3$	$V_8$	$1.10e^2$
$k_2$	$5.71e^{-1}$	$V_9$	$-3.10e^{-1}$
$k_3$	$-9.74e^{-5}$	$k_{10}$	0
$V_4$	$-4.54e^1$	$k_{11}$	$2.93e^1$
$V_5$	$3.50e^1$	$k_{12}$	$-6.50e^{-6}$
$V_6$	$-2.10e^2$	$k_{13}$	$1.30e^{-5}$
$V_7$	$4.70e^{-3}$		

## 参考文献

- 1) J. J. Tyson, "Modeling the cell division cycle: cdc2 and cyclin interaction," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 88, pp. 7328-7332, 1991.
- 2) A. Goldbeter, "A minimal cascade model for the mitotic oscillator involving cyclin and cdc2 kinase" *Proc. of Natl. Acad. Sci. USA* 88, pp. 9107-9111, 1991.
- 3) J. J. Tyson, B. Novak, "Regulation of eukaryotic cycle: molecular antagonism hysteresis and irreversible transitions" *J. theor. Biol.*, 210, 249-263, 2001.
- 4) Z. Qu, W. R. MacLellan, J. N. Weiss, "Dynamics of the cell cycle: checkpoints, sizers and timers", *Biophys. J.*, 85, 3600-3611, 2003.
- 5) J. Srividhya, M. S. Gopinathan, "A simple time delay model for eukaryotic cell cycle", *J. theor. Biol.*, In Press, Corrected Proof, Available online 13 February 2006.
- 6) P. H. O'Farrell, "Triggering the all-or-nothing switch into mitosis," *TRENDS in Cell Biology*, Vol.11, No.12, December 2001.
- 7) B. Ingalls, "Autonomously Oscillating Biochemical Systems: Parametric Sensitivity of Extrema and Period," *IEE Systems Biology*, pp. 62-70, 2004.
- 8) R. Larter, "Sensitivity analysis of autonomous oscillators: Separation of secular terms and determination of structural stability," *J. phys. Chem.*, Vol. 87, pp. 3114-3121, 1983.
- 9) T. Azuma, H. Moriya, H. Matsumuro and H. Kitano, "A Robustness Analysis of Eukaryotic Cell Cycle concerning Cdc25 and Wee1 Proteins," *proc. of 2006 IEEE Conference on Control Applications*, Technical University of Munich, Munich, Germany, October 4 - 6, 2006. (to appear)
- 10) H. Kitano, Systems Biology: a Brief Overview, *Science*, vol. 295, no. 5560, pp. 1662-1664, 2002.