

双安定系の酵素反応ネットワークにおけるロバスト性の解析

宮原 秀彰 (九州産業大学 理工学部 情報科学科)

Hideaki MIYAHARA, Department of Information Science, Faculty of Science and Engineering, Kyushu Sangyo University

仲 隆 (九州産業大学 理工学部 情報科学科)

Takashi NAKA, Department of Information Science, Faculty of Science and Engineering, Kyushu Sangyo University

1 はじめに

細胞内の生化学反応系の制御機構として知られている細胞内シグナル伝達系は、近年研究が本格化している合成生物学の観点から、その設計手法が必要になってきている。先行研究では、細胞内シグナル伝達系の重要な基本構成要素であるリン酸化に代表される翻訳後修飾反応から構成される酵素反応ネットワークを対象に、集合の分割という新たな表現方法の提案と、その有効性を示すために双安定性を有する酵素反応ネットワークの探索を試みた [1]。

酵素反応ネットワークの分割表現には、探索への応用に際して、自然な形で分割修正子を導入することができる。その分割修正子をランダムに適宜適用することにより、4つの翻訳後修飾反応からなる酵素反応ネットワークを対象として、様々な双安定な酵素反応ネットワークを見つけることができた。探索アルゴリズムは、探索対象の酵素反応ネットワークの特性に特有な評価関数と、独立な探索アルゴリズム部分に分かれている。

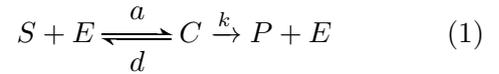
本研究では、先行研究の評価関数を改良して新たに得られた双安定な酵素反応ネットワークの反応速度定数に対するロバスト性を解析する。

2 酵素反応ネットワーク

酵素反応ネットワークとは細胞内シグナル伝達系を抽象化したものであり、網目状になっている細胞内シグナル伝達系の中の翻訳後修飾反応だけを基本構成要素としたものである。ミカエリスメンテン型酵素反応を反応機構とする翻訳後修飾反応を基本構成要素とし、その N 個から酵素反応ネットワークを構成することを考える。ただし、一つの基質に同時に複数の酵素が結合するような反応は対象としない。

ミカエリスメンテン型酵素反応は、式 (1) の反応スキームに示すように、基質 S に酵素 E が結合し一時的に酵素基質複合体 C となり、複合体上で基質が生成物 P に変化した後、生成物 P と酵素 E に分解する反応機構である。 a 、 d 、および k は反応速度定数である。また、 a_i 、 d_i 、 k_i で i 番目の翻訳後

修飾反応の反応速度定数を表す。



このような反応スキームに質量作用の法則を適用し、系の挙動を記述する微分方程式系を導出する。質量作用の法則とは、反応速度がその反応物の濃度の積に比例するというものである。上記の式 (1) では、酵素基質複合体 C が S と E に解離する反応の速度は、 C の濃度に比例する。その比例定数が反応速度定数 d で、反応速度は dC となる。 S と E から C が生成される結合反応ではその速度は aSE となる。同様に C から P が生成される速度は kC となる。従って例えば C の変化速度である微分は $aSE - (d + k)C$ と表すことができる。式 (1) から質量作用の法則により導出される微分方程式系は式 (2) のようになる。

$$\begin{aligned} \frac{dS}{dt} &= -aSE + dC \\ \frac{dE}{dt} &= -aSE + (d + k)C \\ \frac{dC}{dt} &= aSE - (d + k)C \\ \frac{dP}{dt} &= kC \end{aligned} \quad (2)$$

N 個のミカエリスメンテン型酵素反応の基質と酵素と生成物を、それぞれ、 S_i 、 E_i 、 P_i とし、その集合を M とする。すなわち、 $M = \{S_1, E_1, P_1, S_2, E_2, P_2, \dots, S_N, E_N, P_N\}$ である。集合 M の分割を一つとる。分割とは集合の互いに素な部分集合の族で、それらの和集合がもとの集合となるものである。分割の要素、すなわち、元の集合 M の一つの部分集合に属している化学種を同一視することにより、複数の翻訳後修飾反応から酵素反応ネットワークを表現する [1]。

図 1 に、先行研究の評価関数を改良して新たに得られた 4 つの翻訳後修飾反応から構成される双安定な酵素反応ネットワークを示す。基本構成要素である翻訳後修飾反応には連番を付けている。 i 番目の翻訳後修飾反応の基質、酵素、生成物は、それぞれ、 S_i 、 E_i 、 P_i と表記している。同一視する化学種が基質 S_i と生成物 P_i の場合は、同一視している化

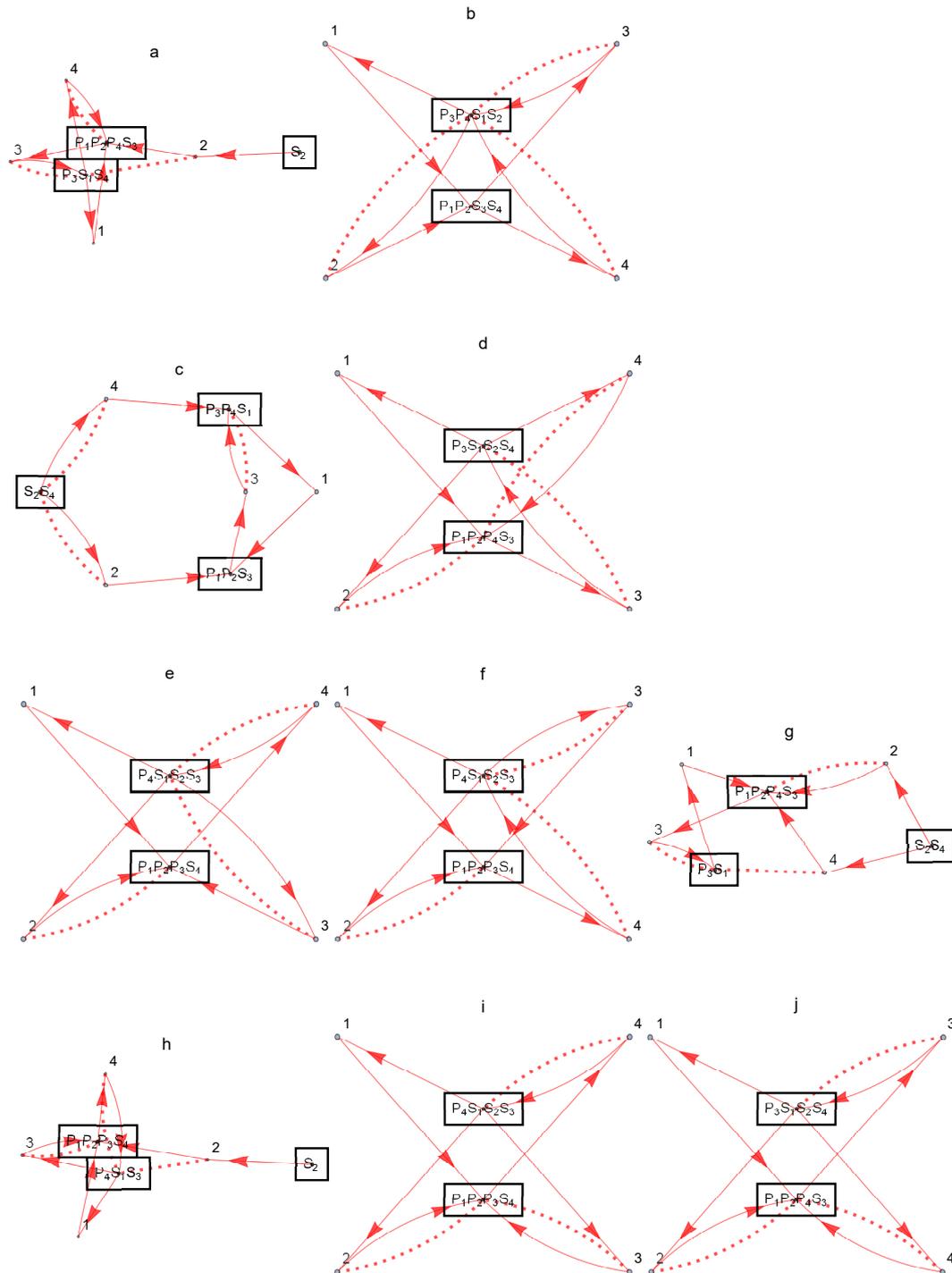


図 1 解析対象酵素反応ネットワーク

学種名を四角形の中に列挙している。酵素 E_i は赤の矢印の間にある小さな円で表し、酵素と同一視する化学種がある場合はその化学種と点線で結んでいる。小さな円を酵素基質複合体を表していると考えると直感的に分かりやすい。これらの酵素反応ネットワークの発見時の双安定性評価値と分割表現を表 1 に、反応速度定数値を表 2 に、それぞれ示す。入力化学種以外の酵素の総濃度は全て 1 としている。これらの値は代表的でよく研究されている細胞

内シグナル伝達系である MAPK カスケードを構成する酵素の値を参考に設定している [1]。単位系は $\mu\text{M}\cdot\text{sec}$ 系である。

3 双安定系とロバスト性

双安定系とは、与えられたパラメータ値に対し、ある一定の入力化学種の初期濃度を境目に定常状態値が 2 つある系である [1]。定常状態とは安定点の

表 1 解析対象酵素反応ネットワークの双安定性評価値と分割表現

NetID	評価値	分割表現
a	0.98	$\{\{e_1\}, \{e_4, s_3, p_1, p_4, p_2\}, \{s_2\}, \{p_3, e_3, s_4, s_1, e_2\}\}$
b	0.99	$\{\{e_1\}, \{p_3, p_4, e_4, s_1, e_3, e_2, s_2\}, \{s_4, p_2, s_3, p_1\}\}$
c	0.96	$\{\{e_1\}, \{p_2, p_1, s_3\}, \{s_4, s_2, e_2, e_4\}, \{p_3, e_3, s_1, p_4\}\}$
d	0.99	$\{\{e_1\}, \{e_2, p_4, p_1, p_2, e_4, s_3\}, \{e_3, s_1, s_2, p_3, s_4\}\}$
e	0.99	$\{\{e_1\}, \{p_1, p_3, p_2, e_2, s_4\}, \{s_1, s_3, e_3, s_2, p_4, e_4\}\}$
f	0.97	$\{\{e_1\}, \{e_4, p_4, s_1, s_3, s_2, e_3\}, \{p_2, e_2, s_4, p_1, p_3\}\}$
g	0.97	$\{\{e_1\}, \{p_1, s_3, p_2, e_2, p_4\}, \{s_1, e_4, e_3, p_3\}, \{s_4, s_2\}\}$
h	1.00	$\{\{e_1\}, \{e_3, p_3, p_2, s_4, p_1\}, \{s_2\}, \{s_1, s_3, e_4, p_4, e_2\}\}$
i	0.98	$\{\{e_1\}, \{e_2, p_3, e_3, p_2, p_1, s_4\}, \{p_4, e_4, s_3, s_2, s_1\}\}$
j	0.98	$\{\{e_1\}, \{s_1, s_2, e_3, p_3, s_4\}, \{e_2, p_2, p_1, p_4, s_3, e_4\}\}$

表 2 解析対象酵素反応ネットワークの反応速度定数値

NetID	a_1	d_1	k_1	a_2	d_2	k_2	a_3	d_3	k_3	a_4	d_4	k_4
a	32	$\frac{1}{32}$	1	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{16}$	16	16	$\frac{1}{2}$	1	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{32}$	$\frac{1}{2}$
b	8	$\frac{1}{32}$	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{16}$	32	$\frac{1}{32}$	32	8	$\frac{1}{32}$	2	$\frac{1}{32}$	$\frac{1}{16}$
c	2	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{8}$	4	$\frac{1}{32}$	$\frac{1}{32}$	2	16	4	16	4	$\frac{1}{32}$
d	16	$\frac{1}{32}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{32}$	8	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{2}$	2	$\frac{1}{32}$
e	32	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{8}$	2	4	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{8}$	8	4	32	1	$\frac{1}{4}$
f	32	1	$\frac{1}{8}$	16	32	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{32}$	1	$\frac{1}{4}$	1	$\frac{1}{4}$	32
g	32	2	$\frac{1}{32}$	$\frac{1}{2}$	4	1	2	16	16	$\frac{1}{32}$	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{16}$
h	32	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{8}$	32	$\frac{1}{8}$	32	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{32}$	8	8	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{4}$
i	16	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{4}$	16	$\frac{1}{8}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{32}$	4	1	$\frac{1}{16}$	8
j	8	$\frac{1}{16}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{16}$	8	32	8	16	4	$\frac{1}{32}$	$\frac{1}{8}$	1

ことであり、細胞が安定な状態にあることを意味する。図 2 は典型的な双安定系のダイナミクスを示したものである。入力刺激に対して引き起こされる系内の活性化したタンパク質の濃度の時間変化をダイナミクスと呼ぶ。図 2 の横軸は反応時間、縦軸は出力化学種酵素の活性タンパク質の濃度である。図 2 のオレンジ線は入力化学種の初期濃度によって変化する。初期濃度の分配割合を変化させることで多様な図 2 を得ることができる。これらから横軸を入力化学種の総濃度、縦軸を出力化学種の定常状態値とする図 3 を得ることができる。ここでの入力化学種の総濃度は、 E_1 の他に C_1 も含まれる。

双安定系を同定する方法はいくつかある。図 4 はある種のモンテカルロ法で、特定のパラメータの値を変化させ、それぞれのパラメータ値に対して複数の初期状態から系の定常状態値を求める。図 4 では、単安定の定常状態値を青丸で、双安定の定常状態値を赤丸で表示している。これは、先行研究で用いた方法で、入力化学種を E_1 、出力化学種を P_2 とし、入力化学種総濃度を $2^{-5}, 2^{-4.5}, \dots, 2^5$ の 21 点で評価している [1]。

図 5 は、この方法を改良した逐次定常状態追

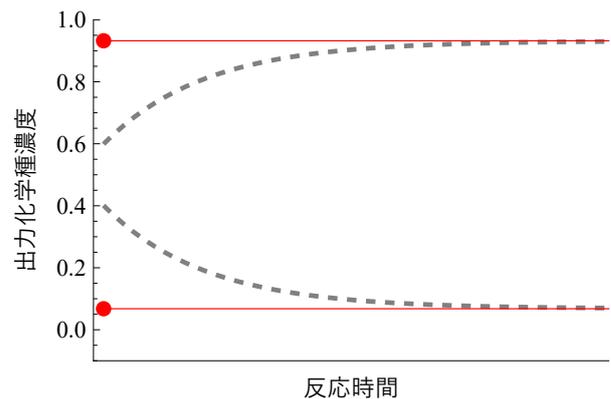


図 2 典型的な双安定系のダイナミクス

跡法である。左の灰色の点から出発し、前の状態を初期状態として逐次定常状態を求めていく。青の点に沿って進み、右上に到達したら赤丸のように逆方向に進む。本研究で解析対象とする酵素反応ネットワークはこの逐次定常状態追跡法と次に示す評価関数により探索したものである。先行研究と同様、入力化学種を E_1 、出力化学種を P_2

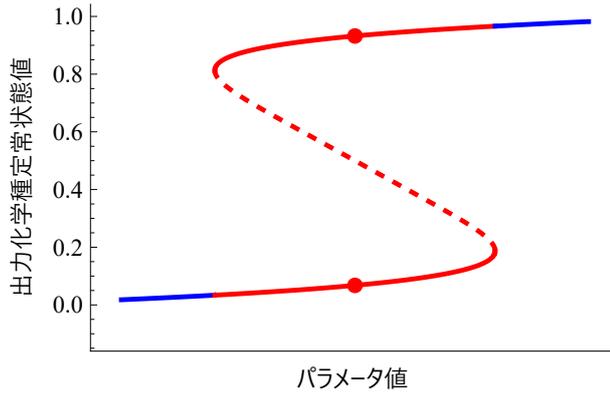


図3 定常状態を表すグラフ

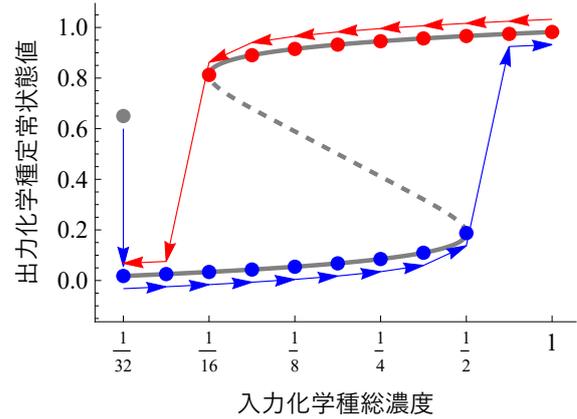


図5 逐次定常状態追跡法

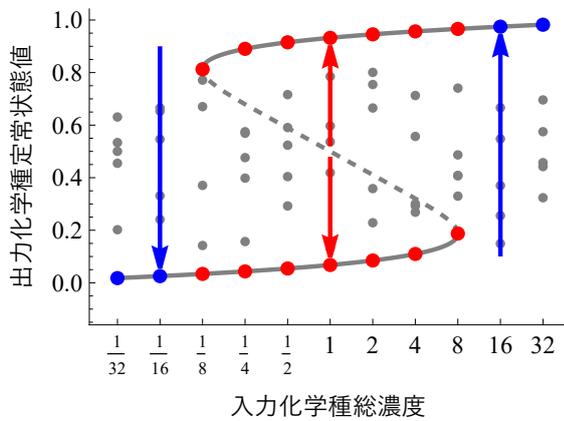
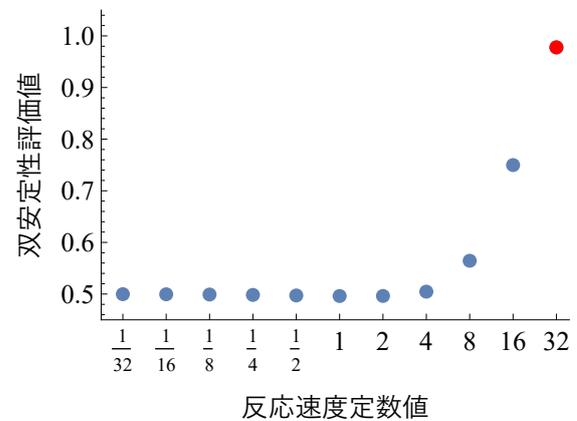
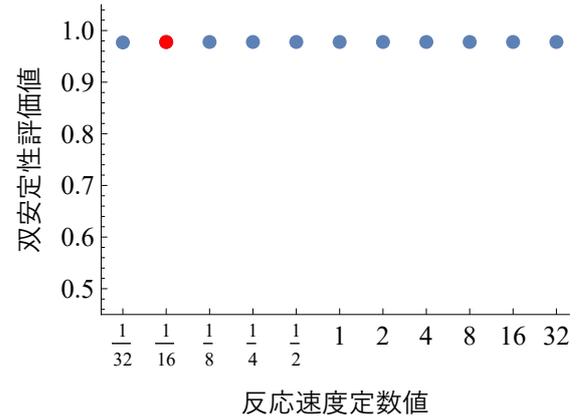


図4 モンテカルロ法

図6 ネットワーク a の a_1 の評価関数グラフ

としているが、入力化学種総濃度は計算コストを下げる目的で、 $2^{-5}, 2^{-4}, \dots, 2^0$ の6点で評価している。図の青丸にそって得られた出力化学種定常状態値をパラメータ値の小さい方から並べた値を $V_U = (U_1, \dots, U_6)$ 、赤丸にそって得られた出力化学種定常状態値をパラメータ値の小さい方から並べた値を $V_D = (D_1, \dots, D_6)$ とすると、 $T_U = (0, 0, 0, 0, 1, 1)$ 、 $T_D = (0, 0, 1, 1, 1, 1)$ との2乗誤差、すなわち、 $(\|V_U - T_U\|^2 + \|V_D - T_D\|^2)/12$ を双安定性評価値としている。

ロバスト性とは一般に擾乱によって変化することを阻止する内的な性質のことで、ダメージや変性、機能損失を最小限にとどめながら機能することができるとき、そのシステムや生物、デザインはロバストであるといえる。本研究においては系の双安定性が反応速度定数などのパラメータ値の変更に影響を受けにくいことをいう。本研究においての例をあげると、図6のようなグラフは、1つの酵素反応ネットワーク中の反応速度定数 a_1 の値を徐々に増加させたとき、出力化学種の濃度に対する定常状態値を表す各グラフの評価値が大きく変化するので、ロバストでないと言える。逆に図7では、1つの酵素反応ネットワーク中の反応速度定数 a_2 の値を徐々に増加させたとき評価値が変化しないのでロバストで

図7 ネットワーク a の a_2 の評価関数グラフ

あると言える。これらの図で赤丸は、この酵素反応ネットワークが見つかった時の反応速度定数の値である。

系の双安定性に関するロバスト性を定量的に評価する目的で、特定の酵素反応ネットワークの特定のパラメータに対するロバスト量をそのパラメータ値を変化させた時の双安定性評価値の最大値と最小値

表3 各酵素反応ネットワークの各反応速度定数に関するロバスト量

NetID	a_1	d_1	k_1	a_2	d_2	k_2	a_3	d_3	k_3	a_4	d_4	k_4
a	0.48	0.48	0.25	0.0	0.0	0.0	0.69	0.68	0.7	0.7	0.0	0.1
b	0.49	0.49	0.38	0.09	0.09	0.09	0.08	0.48	0.49	0.48	0.33	0.25
c	0.47	0.47	0.29	0.19	0.19	0.0	0.47	0.46	0.47	0.0	0.09	0.09
d	0.5	0.5	0.36	0.5	0.08	0.08	0.49	0.5	0.33	0.17	0.08	0.08
e	0.5	0.5	0.38	0.08	0.09	0.17	0.14	0.01	0.01	0.49	0.44	0.5
f	0.48	0.48	0.47	0.16	0.47	0.47	0.42	0.03	0.03	0.48	0.25	0.47
g	0.47	0.47	0.47	0.0	0.0	0.0	0.47	0.17	0.47	0.0	0.0	0.0
h	0.5	0.5	0.39	0.0	0.0	0.0	0.61	0.0	0.0	0.5	0.5	0.33
i	0.48	0.48	0.48	0.33	0.25	0.18	0.48	0.18	0.24	0.48	0.48	0.48
j	0.49	0.49	0.36	0.48	0.0	0.0	0.48	0.46	0.48	0.48	0.0	0.0

の差として定義する。ロバスト量が小さいほど、系はロバストであることになる。本研究では、このパラメータとして反応速度定数を考える。例えば、酵素反応ネットワーク a の反応速度定数 a_1 に対するロバスト量は、図 6 における双安定性評価値の最大値と最小値の差であり、その値は 0.48 である。同様に、酵素反応ネットワーク a の反応速度定数 a_2 に対するロバスト量は、図 7 における双安定性評価値の最大値と最小値の差であり、その値は 0.0 である。さらに本研究では、ロバスト量が 0.1 以下の場合に、その酵素反応ネットワークはその反応速度定数に関してロバストであると定義する。

4 解析結果

解析対象とした a~j の 10 個の酵素反応ネットワークに対して、各反応速度定数に関するロバスト量を表 3 に示す。ロバスト量が 0.1 以下、すなわち、ロバストな場合を赤字にしている。解析には、Mathematica v13.0 を用いた [2]。

表 3 から、ロバスト量は酵素反応ネットワークと反応速度定数によりかなり異なる値を示していることが分かる。ロバスト量の最小値は 0.0、すなわち、双安定性にその反応速度定数の値は全く影響していないケースがかなり多くみられる。最大値は 0.7 で酵素反応ネットワーク a の反応速度定数 k_3 と a_4 のケースである。酵素反応ネットワークレベルでは、j が特徴的で、ロバストな反応速度定数がない。

解析対象の酵素反応ネットワークは 4 つの翻訳後修飾反応から構成されており、特に E_1 が入力化学種で P_2 が出力化学種である。この観点からみると入力化学種の反応速度定数にはロバストなものがないことが分かる。すなわち、双安定性に関して、反応速度定数の値がかなり影響することを意味する。対して、出力化学種にはかなりの数のロバストな反応速度定数があることが分かる。中間の 2 つの翻訳後修飾反応の反応速度定数はそれらの中間的な性質がみられる。

反応速度定数 a 、 d 、 k の別という観点からみると、ロバストな反応速度定数は d 、 k に比較して a が少ないことが分かる。

5 おわりに

本研究では、先行研究の評価関数を改良して新たに得られた双安定な 10 個の酵素反応ネットワークの反応速度定数に対するロバスト性を解析した。その結果、ネットワーク構造の影響が大きい、構造に依存しない共通にみられる特徴も明らかになった。酵素反応ネットワークを構成する 4 つの翻訳後修飾反応に関して、入力側から出力側になるにつれ、ロバストになること、また、翻訳後修飾反応内の 3 つの反応速度定数に関しても a より d と k がロバストであることである。

双安定性などの特定の特性をもつ酵素反応ネットワークを探索する際に障害となるのは、その探索空間がきわめて大きいことである。本研究で対象としている酵素反応ネットワークは 4 つの翻訳後修飾反応のそれぞれが 3 つの反応速度定数をパラメータとして持つため、パラメータ空間は 12 次元となる。さらにこれに酵素の総濃度がパラメータとして付加される。例えば、それぞれのパラメータ値を 10 個の離散値とした場合、パラメータ空間の大きさは 10^{12} 以上となり計算コストが問題になる。本研究で得られた結果は、ロバストな反応速度定数については疎な離散値にすることにより、このパラメータ空間を小さくするのに用いることができる可能性がある。

本論文は、2023 年度の宮原の卒業論文に、対象とした酵素反応ネットワークの探索方法を付加して、まとめたものである [3]。

参考文献

- [1] Naka T. The partition representation of enzymatic reaction networks and its application

for searching bi-stable reaction systems. PLoS One. 2022;17:e0263111.

- [2] Wolfram Research, I. (2021). Mathematica. In (Version13.0)
- [3] 宮原秀彰 (2023). 双安定系の酵素反応ネットワークにおけるロバスト性の解析. 九州産業大学情報科学科 2023 年度卒業論文