

細胞内シグナル伝達系の
制御構造と反応機構が
多安定性に及ぼす影響の網羅的解析

末吉 智奈佐

平成 30 年 1 月

目次

第1章 序論	1
第2章 細胞内シグナル伝達系とその多安定性	4
2.1 酵素反応	4
2.2 細胞内シグナル伝達系	7
2.3 多安定性	11
第3章 解析方法	13
3.1 制御ネットワークによる定式化	13
3.2 解析対象制御ネットワークとパラメータ空間	18
3.3 多安定性解析	26
第4章 制御構造と反応次数が多安定性に及ぼす影響	28
4.1 一次, 二次および2段階反応機構	28
4.2 一次, 二次および一次二次混在反応機構	37
第5章 制御構造と反応飽和度が多安定性に及ぼす影響	45
5.1 単一のフィードバック制御をもつ制御ネットワーク	45
5.2 2ノードの複数のフィードバック制御をもつ制御ネットワーク	55
第6章 結論	61
付録A 複数のフィードバックをもつ3ノードの制御ネットワーク	68
付録B <i>Mathematica</i> プログラム	70
B.1 制御ネットワークの網羅的生成プログラム	70
B.1.1 単一のフィードバック制御をもつ制御ネットワーク	70
B.1.2 複数のフィードバック制御をもつ制御ネットワーク	71
B.2 微分方程式とパラメータ値の生成, 定常状態値および安定性解析プログラム	73
B.3 定常状態値から安定性解析を行うプログラム	75
B.4 2段階および二次制御反応機構のパラメータ空間を描画するプログラム	77
B.4.1 2ノードパラメータ空間の描画	77
B.4.2 3ノードパラメータ空間の描画	80
B.5 2段階および二次制御反応機構の様相生成のプログラム	82

B.6	2段階反応機構の流線プロットのプログラム	87
B.7	一次および二次混在機構の場合のバブルチャートの生成プログラム	88
B.8	距離および感度解析のプログラム	89

目次

2.1	ミカエリス・メンテン型酵素反応の $S-v$ 曲線	6
2.2	MAPK カスケード	8
2.3	MAPK ファミリー	8
2.4	典型的なダイナミクス	9
2.5	系の伝達特性	9
2.6	安定な平衡点	11
3.1	制御ネットワーク	14
3.2	MAPK カスケードの制御ネットワーク	14
3.3	サイクル反応系	15
3.4	2段階反応機構	16
3.5	出力ノードを指定する2ノードの制御ネットワーク	18
3.6	出力ノードを指定する3ノードの制御ネットワーク	19
3.7	単一のフィードバックをもつ制御ネットワーク	20
3.8	複数のフィードバックをもつ2ノードの制御ネットワーク	21
3.9	複数のフィードバックをもつ3ノードの制御ネットワークの例示	21
3.10	一次および二次反応機構が混在した単一のフィードバックをもつ2ノードの制御ネットワーク	22
3.11	一次および二次反応機構が混在した複数のフィードバックをもつ2ノードの制御ネットワーク	23
3.12	一次および二次反応機構が混在した単一のフィードバックをもつ3ノードの制御ネットワークの例示	23
3.13	一次および二次制御機構が混在した複数のフィードバックをもつ3ノードの制御ネットワークの例示	24
3.14	パラメータ K_i における安定な平衡点の集合	27
4.1	2ノードの二次反応機構と2段階反応機構の制御ネットワークの多安定性のパラメータ領域の比較	29
4.2	2ノードの二次反応機構と2段階反応機構の制御ネットワークの多安定性	30
4.3	2ノードの制御ネットワーク A と D の流線プロット	31
4.4	二次反応機構と2段階反応機構の3ノードの制御ネットワーク D の多安定性のパラメータ領域の比較	32

4.5	二次反応機構と2段階反応機構の3ノードの制御ネットワークAの多安定性のパラメータ領域の比較	33
4.6	一次および二次反応機構の制御ネットワークのフィードバック反応経路の制御数と多安定性	34
4.7	一次および二次反応機構の2ノードの互いに負の制御構造をもつ制御ネットワークで多安定性が出現するパラメータの範囲	35
4.8	一次および二次反応機構の2ノードの互いに正の制御構造をもつ制御ネットワークで多安定性が出現するパラメータの範囲	36
4.9	一次および二次反応機構の2ノードの正と負の制御構造をもつ制御ネットワークで多安定性が出現するパラメータの範囲	36
4.10	一次および二次反応機構の3ノードの制御ネットワークの多安定性	38
4.11	一次および二次反応機構が混在した制御ネットワークの総制御数と多安定性の平均出現率	38
4.12	一次および二次反応機構が混在した2ノードの制御ネットワークの多安定性	39
4.13	一次および二次反応機構が混在した2ノードの互いに負の制御をもつ制御ネットワークの多安定性の出現率と多安定性が出現するパラメータ領域	40
4.14	一次および二次反応機構が混在した2ノードの互いに正の制御をもつ制御ネットワークの多安定性の出現率と多安定性が出現するパラメータ領域	41
4.15	一次および二次反応機構が混在した2ノードの正と負の制御をもつ制御ネットワークの多安定性の出現率と多安定性が出現するパラメータ領域	42
4.16	一次および二次反応機構が混在した単一のフィードバック制御をもつ3ノードのパラメータ領域	43
4.17	一次および二次反応機構が混在した複数のフィードバック制御をもつ3ノードの制御ネットワークの多安定性	44
5.1	ミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の多安定性	46
5.2	2ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の多安定性	46
5.3	2ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の多安定なパラメータ領域	47
5.4	2ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の安定な2平衡点の距離	48
5.5	3ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の多安定性	48
5.6	3ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の多安定なパラメータ領域	49
5.7	3ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の安定な2平衡点の距離	50

5.8	4ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の多安定性	50
5.9	ミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の振動	51
5.10	3ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の振動	52
5.11	3ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の振動のパラメータ領域	52
5.12	3ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の典型的なダイナミクス	53
5.13	4ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の振動	53
5.14	ミカエリス・メンテン型反応機構の2ノードの複数のフィードバック制御の多安定性	57
5.15	ミカエリス・メンテン型反応機構の2ノードの複数のフィードバック制御の多安定性のパラメータ領域	58
5.16	ミカエリス・メンテン型反応機構の2ノードの複数のフィードバック制御の振動の流線プロット	59
A.1	複数のフィードバックをもつ3ノードの制御ネットワーク (1)	68
A.2	複数のフィードバックをもつ3ノードの制御ネットワーク (2)	69

表 目 次

3.1	解析対象とするそれぞれの制御ネットワークの総数	24
3.2	パラメータ値 K_i の組合せ総数	25
4.1	2 ノードの一次・二次制御および 2 段階反応機構の制御ネットワークの多 安定性の出現率 (%)	29
4.2	3 ノードの一次・二次制御および 2 段階反応機構の制御ネットワークの多 安定性の出現率 (%)	31
4.3	2 ノードの二次反応機構の制御ネットワークの多安定性の出現率 (%) . . .	34
5.1	多安定状態の出現に及ぼすネットワーク構造の影響	57

第1章 序論

細胞内では、その生命の維持と増殖のために特定の機能をもったタンパク質などの分子がそれぞれの役割を担い化学反応している。これを生化学反応と呼ぶ。細胞内の生化学反応は、エネルギー代謝を担う代謝系とそれを制御する細胞内シグナル伝達系に分類される。細胞内シグナル伝達系では、タンパク質にリン酸基が結合するリン酸化反応、リン酸基が解離する脱リン酸化反応などの基本反応が複雑なネットワーク状に結合し、大規模な系を構成しており、細胞分化、細胞増殖、細胞分裂、細胞死、恒常性など様々な役割を担っている。がんをはじめとする様々な疾病に関与していることが知られているため、多くの研究が進められている。これらの系の解析には、伝統的な生化学実験による方法に加え、数理モデルの構築と、コンピュータを用いたシミュレーション解析が用いられている。数理モデルによる研究手法は、生化学実験では捉えることが困難であった現象を解析し、細胞内での情報伝達の伝達特性を調べることを可能にした。しかし、生化学反応は、非線形であるため、理論的解析手法の構築が困難であり、特にシグナル伝達系はその制御対象である代謝系と比較して相互作用が複雑であるため系統的網羅的な解析手法が確立されていない。解析対象の系毎にパラメータを固定し、コンピュータを用いたシミュレーションによる解析が行われているのが現状である。

代表的な細胞内シグナル伝達系の1つにMAPK (Mitogen-activated Protein Kinase) カスケードがある。MAPK カスケードを研究対象とした多くの解析が進められており、スイッチ応答、双安定性、振動、ロバストネスなどの生きた細胞の活動に対する種々の制御特性が解明されている [1-7]。Maiらは、MAPK カスケードの特性について、フィードバックなしの構造と正と負のフィードバックの構造で解析を行っている [6]。パラメータをランダムに生成して解析を行い、過感受性 (Ultrasensitivity)、双安定性 (Bi-stability)、一時的な活性化 (Transient activation) や振動 (Oscillation) など様々な伝達特性について解析している。しかし、MAPK カスケードの全体としての制御構造の役割については解析されていない。

以上のことより、本研究では、個別の系の解析ではなく、シグナル伝達系を伝達経路の酵素のサイクル反応系をノードとし、その制御関係をアークとする制御ネットワークとして定式化することにより、系を系統的網羅的に生成・解析する方法を提案した。解析対象としたのは系の多安定性である。多安定性とは、系の状態の安定な平衡点が複数あるという性質である。安定な平衡点は、定常状態とも呼ばれ、時間に対する動的变化の収束状態であり、正常状態や機能不全などの異なる生化学的状态に対応していると考えられるため、細胞内シグナル伝達系の多安定性を解析することは生物学的に重要である。この多安定性が、どの程度普遍に出現し、どのようなパラメーターや制御構造である場合に出現し

やすいのかを解析する。また、MAPK カスケードの制御構造を含む制御ネットワーク群の中に位置づけ、その特性を分析する。さらに、多安定性の出現への、非線形性の影響と制御ネットワークのフィードバックの長さおよび構造の影響を調べる。

制御ネットワークを用いた同様のアプローチがとられている研究はいくつかある [7-15]。Kuwahara らは、制御ネットワークを用いて確率論的シミュレーションを行い、確率論的効果 (Stochastic Effects) について解析している。安定な平衡点が時間に関して、決定論的モデルと確率論的シミュレーションには、どのような制御構造をもつ場合、差異が現れるのかを解析している [12]。この研究では、双安定性についても簡単な解析を行なっている。Ma らは、パラメータ値をランダムに設定して、適応応答 (Biochemical Adaptation) に関して解析を行っている [13]。入力が一定の強さであり、出力が一度上昇したのち、もとの出力まで戻る性質について、3 ノード 16,038 個の制御ネットワークを解析している。Yao らは、3 ノードの制御ネットワークに内部フィードバックの追加および削除を行い、双安定性 (Bi-stability) に関する解析を行っている [14]。また、多安定性が細胞周期において次期になる際に用いられるスイッチのような役割を果たしていること、細胞分化の際にも細胞の運命を決定するスイッチ的な動きをすることが示唆されている。Adler らは、制御ネットワークを用いて、倍化検出 (Fold-Change Detection) を対象とし、どのような制御構造の場合、入力が倍になると、同じ反応を示す出力が検出されるのかを分析している [15]。これらの研究では、多安定性については本格的に解析されていない。

解析対象としたのは、2~4 種の酵素から構成される細胞内シグナル伝達系である。それらは、2~4 ノードの制御ネットワークによりモデル化される。制御ネットワークの各ノードは、酵素の最大活性化速度と最大不活性化速度の比とミカエリス定数をパラメータとして持つ。解析は、制御構造とこれらのパラメータ値に関して網羅的に行った。本研究で解析対象とした細胞内シグナル伝達系は、単一のフィードバック制御や複数のフィードバック制御を持つ複数のノードで構成されたすべてのバリエーションのネットワークである。まず、MAPK カスケードの単純な拡張として環状制御ネットワークの解析を行った。次に 2 ノードの内部フィードバックに制御関係を追加した制御ネットワークの解析を行った。活性型酵素と不活性型酵素がサイクルする反応系内の反応機構として、反応速度が基質と酵素の積に比例する 1 次反応機構と、基質と酵素の 2 乗に比例する 2 次反応機構、及び、典型的な酵素反応であるミカエリス・メンテン近似反応機構を仮定した。一次制御はミカエリス・メンテン型反応機構の線形領域近似に対応し、二次制御は MAPK カスケード等にみられる 2 段階活性化機構の近似と考えることができる。解析には、*Mathematica* [16] を使用した。

本論文は 6 章からなる。第 2 章では、本研究の生物学的基礎について記述する。第 2.1 節では、細胞内の酵素反応について述べる。結合反応、解離反応および結合解離反応など基本的な反応とミカエリス・メンテン型酵素反応について、および、それらの系の数理モデルの構築方法について述べる。第 2.2 節では、細胞内シグナル伝達系、および、その代表例として重要な MAPK カスケードについて記述する。第 2.3 節では、系の多安定性、および、その意義について述べる。第 3 章では、解析方法について記述する。第 3.1 節では、細胞内シグナル伝達系を制御ネットワークとして定式化する方法について説明す

る。第3.2節では、解析対象制御ネットワークと解析に必要なパラメータ設定について述べる。第3.3節では、多安定性の解析方法としてヤコビ行列を用いた安定性解析、および、本研究で用いる多安定性の出現率および感度について記述する。第4章では、制御構造と反応次数が多安定性に及ぼす影響についての解析結果を記述する。第4.1節では、一次、二次および2段階反応機構、第4.2節では、一次、二次および一次二次混在反応機構の制御ネットワークの解析結果について述べる。第5章では、制御構造と反応飽和度が多安定性に及ぼす影響についての解析結果を記述する。第5.1節では、単一のフィードバック制御をもつ制御ネットワーク、第5.2節では、複数のフィードバック制御をもつ制御ネットワークについて述べる。第6章は、以上の研究をまとめて総括としている。

第2章 細胞内シグナル伝達系とその多安定性

本章では、解析対象である酵素反応と細胞内シグナル伝達系、およびその多安定性について述べる。

2.1 酵素反応

酵素 (enzyme) とは、生化学反応において反応を触媒するタンパク質のことである [17]. 酵素が触媒として作用する生化学反応を酵素反応と呼ぶ [18, 19]. 細胞内では、特定の機能をもったタンパク質によって触媒される酵素反応が相互に複雑にネットワーク状に結合して、大規模な反応系を構成している. 酵素が特異的に反応に関与する生化学反応は、数千種類以上も存在している. 反応の原料となる物質を基質 (substrate) と呼ぶ. 酵素と基質が結合し、一時的な生成物として酵素基質複合体 (enzyme-substrate complex) を形成する. 酵素基質複合体から、基質は生成物 (product) となる. 酵素基質複合体から離れた酵素は、再び次の基質と結合する. 典型的な酵素反応であるミカエリス・メンテン型酵素反応の反応スキームを



と示すことができる. 反応スキームとは、反応系を簡略化して示したものである. E , S , C , P はそれぞれ酵素, 基質, 酵素基質複合体, 生成物を示す. a は、酵素と基質の結合反応の反応速度定数, d は酵素基質複合体から酵素と基質になる解離反応の反応速度定数, k は酵素基質複合体から生成物と酵素になる解離反応の反応速度定数である. 生化学反応の数理モデルの構築には、質量作用の法則を用いる [20]. 質量作用の法則とは、反応物質の各濃度の積が反応速度に比例するという法則のことである.

ミカエリス・メンテン型酵素反応の反応スキームに質量作用の法則を適用すると

$$v_a = aSE \quad (2.2)$$

$$v_d = dC \quad (2.3)$$

$$v_k = kC \quad (2.4)$$

となり、各反応の速度が得られる。ミカエリス・メンテン型酵素反応の反応方程式は、これらの反応速度を用いて

$$\frac{dS}{dt} = -v_a + v_d = -aSE + dC \quad (2.5)$$

$$\frac{dE}{dt} = -v_a + v_d + v_k = -aSE + (d+k)C \quad (2.6)$$

$$\frac{dC}{dt} = v_a - v_d - v_k = aSE - (d+k)C \quad (2.7)$$

$$\frac{dP}{dt} = v_k = kC \quad (2.8)$$

で表すことができる。本研究では、このミカエリス・メンテン型酵素反応を反応機構として用いる。ただし、以下に説明する近似式を使用する。酵素基質複合体は時間によって変化をしないと仮定すると

$$\frac{dC}{dt} = aSE - (d+k)C = 0 \quad (2.9)$$

となる。 $E_{tot} = E + C$ を用いて C について解くと

$$C = \frac{E_{tot}S}{K_m + S} \quad (2.10)$$

を得る。生成物の反応速度は、

$$\frac{dP}{dt} = kC = v = \frac{V_{max}S}{K_m + S} \quad (2.11)$$

となる。ここで、

$$K_m = \frac{d+k}{a} \quad (2.12)$$

$$V_{max} = kE_{tot} \quad (2.13)$$

である。

図 2.1 にミカエリス・メンテン型酵素反応の $S-v$ 曲線とそのミカエリス定数 K_m および V_{max} の関係を示す。最大反応速度 V_{max} は、大過剰の基質の存在下での反応速度である。ミカエリス・メンテン式より、基質濃度がミカエリス定数 K_m よりはるかに小さい場合、反応速度は基質濃度に比例し、基質濃度がミカエリス定数 K_m よりはるかに大きい場合、反応速度 v は基質濃度に関係なく、一定（最大反応速度 V_{max} ）となることがわかる [21]。 K_m 値は反応速度 v が $V_{max}/2$ となる基質濃度なので、基質と酵素の親和性を示す数値と考えることができる。 K_m 値が低いほど、親和性が高く、低濃度の基質でも酵素基質複合体を形成が起こりやすい。 K_m 値が高いほど、親和性が低く、酵素基質複合体の形成が起こりにくい。ミカエリス・メンテン型酵素反応では、活性調節の機能も果たす。酵素濃度の上昇が起こると、生成物の反応速度も上昇し、酵素濃度の下降が起こると、生

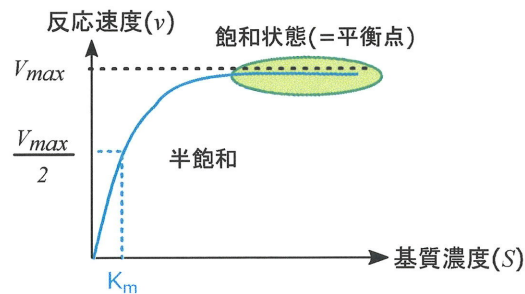


図 2.1: ミカエリス・メンテン型酵素反応の $S-v$ 曲線. 横軸は基質濃度, 縦軸は反応速度をである. 最大反応速度 V_{max} が $V_{max}/2$ となる基質濃度を半飽和と呼ぶ. この半飽和のときの基質濃度がミカエリス定数 K_m の値と一致する.

成物の反応速度も下降する. 飽和とは, 酵素 E と基質 S が最大限まで結合していることである. 酵素 E が基質 S によって飽和していない状態では, 生成物の反応速度 v は, 次の基質 S の 1 次式として, 表すことができる.

$$v = kSE \quad (2.14)$$

これを本研究では, 一次反応機構と呼ぶ. 生成物の反応速度 v が基質 S と酵素 E の 2 乗に比例するとした次式

$$v = kSE^2 \quad (2.15)$$

は, 次節で述べる MAPK カスケードに見られる 2 段階反応機構の近似式と考えることができる. 本研究ではこれを二次反応機構と呼ぶ.

2.2 細胞内シグナル伝達系

細胞内の生化学反応は、細胞内でエネルギーの代謝の調節などを担う代謝系と、それを制御するシグナル伝達系から構成されている。細胞内のタンパク質の機能を調節する仕組みとして、リン酸化 (phosphorylation) と脱リン酸化 (dephosphorylation) が細胞内ではよくみられる [1]。リン酸化反応と脱リン酸化反応は、シグナル伝達系に広く存在し、様々な種で保存されてきた重要な調節機構である。リン酸化と脱リン酸化の反応が起こることで、酵素構造の変化が生じる。シグナル伝達系は、遺伝子発現の調節を担っていることが多く、プロテインキナーゼが転写因子をリン酸化することで転写因子の活性を制御することが知られている。

図 2.2 に典型的なシグナル伝達系である MAPK カスケードを示す [22]。リガンドと受容体が結合し、LR (ligand-receptor) という複合体を作り、それらが L2R2 として示される分子 2 個が重合してできた化合物である二量体を生成する。細胞膜内で生成された二量体が細胞質に入るとタンパク質とリン酸が結合した PR (protein-ligand) という物質になり、shc (SH and collagen) とリン酸と結合した shcp (SH and collagen protein) のサイクル反応系の酵素となり働く。G タンパク質の一種である GS (G protein stimulate) は shcp と結合反応することにより、shcGS となる。不活性な Ras が GDP (Guanosine diphosphate) と結合している状態を示した RasGDP は、shcpGS が酵素となり作用することで E1(RasGDP) になる。MAPKKK や MAPKK, MAPK はタンパク質であり、E1 が作用することで、活性化した MAPKKK は、MAPKK の 2 つのセリン残基をリン酸化し、MAPKK-PP として活性化する。MAPKK-PP は、MAPK のスレオニン残基とチロシン残基残基の 2 つの残基をリン酸化し、MAPK-PP として活性化する。MAPK カスケードには、活性型と不活性型の 2 つの状態を循環するサイクル反応系が複数含まれている。MAPKK が MAPKK-P になり、MAPKK-P が MAPKK-PP になる二重リン酸化と MAPK が MAPK-P になり、MAPK-P が MAPK-PP になる二重リン酸化されている部分を本研究では、2 段階反応と呼ぶ。

代表的な MAPK として、図 2.3 に MAPK ファミリーを示す [19]。ERK (extracellular signal-regulated kinase), JNK (c-Junamino-terminal kinase), p38 が挙げられる。ERK は、EGF などの細胞増殖因子の刺激により活性化される。JNK と p38 は物理化学的ストレスなどによって活性化される。MAPKKK の Mos, Raf1, BRaf グループは、MAPKK の MKK1/MEK1, MKK2/MEK2 グループに伝達される。活性型 RAF1 は、MEK1 と MEK2 をリン酸化して活性化し、これが次々と ERK1 と ERK2 をリン酸化し活性化する。細胞分裂周期、アポトーシス、細胞分化などに関与する遺伝子の発現調節において重要な役割を担う。MAPKKK の Tpl2 は、MKK1/MEK1 と MKK2/MEK2, MEK5, MKK4/SEK1, MKK3 と MKK6 に伝達することができ、いずれをも活性化できる癌遺伝子である。MEKK3 は、MEK5 と MKK4/SEK1 に伝達することができる。MAPKKK の MEKK1, MEKK2, MEKK3 グループは、MAPKK の MKK4/SEK1 に伝達される。MAPKKK の ASK1, DLK, TAK1, MLK2, MLK3 グループは、MAPKK の MKK4/SEK1, MKK3 と MKK6 のグループに伝達される。MAPKK の MKK1/MEK1, MKK2/MEK2

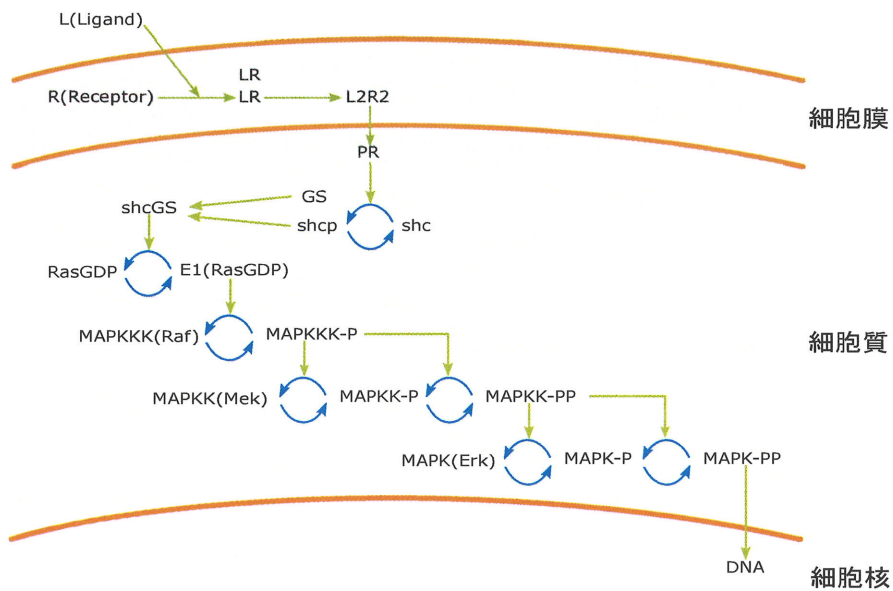


図 2.2: MAPK カスケード. MAPK (Mitogen-activated Protein Kinase) カスケードは、細胞膜から細胞核の中に向かってシグナルを伝達するシグナル伝達系である. 細胞分化, 細胞分裂, 細胞死, 恒常性などの細胞運命を決定するために重要な役割をしており, 様々なシグナル伝達系に共通して存在している.

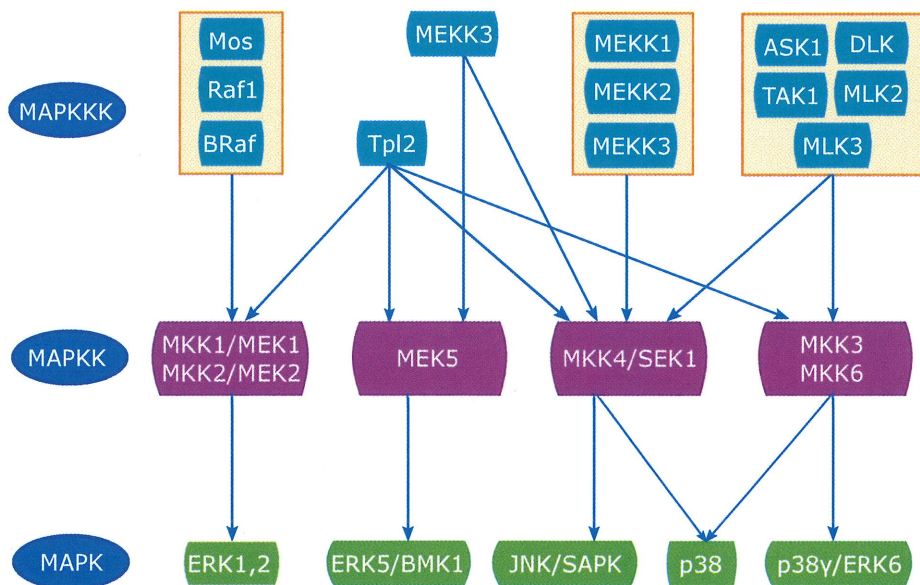


図 2.3: MAPK ファミリー. MAPK スーパーファミリーの伝達経路である. 典型的な MAPK と構造的に高い相同性があり, 類似した活性化機構をもつキナーゼ群を MAPK スーパーファミリーと総称する.

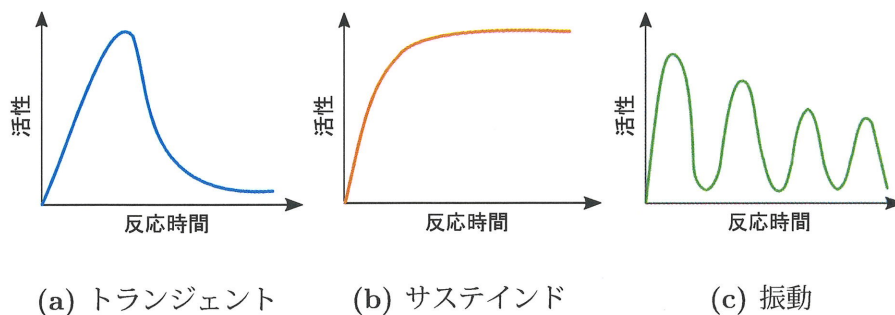


図 2.4: 典型的なダイナミクス. 各グラフの横軸は反応時間, 縦軸は酵素の活性タンパク質の濃度である. 入力刺激に対して引き起こされる系内の活性化したタンパク質の濃度の時間変化をダイナミクスと呼ぶ.

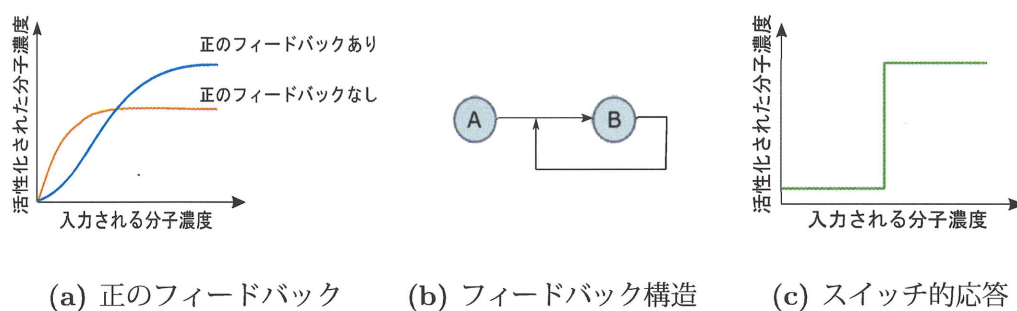


図 2.5: 系の伝達特性. 系をグラフで表現したものである. (a) の横軸は入力される分子濃度, 縦軸は活性化された分子濃度を示している. (b) の構造を持つ場合, 正のフィードバック制御の有無により濃度変化が異なる. また, (c) は, 横軸は入力される分子濃度, 縦軸は活性化された分子濃度を示しているグラフである.

グループは, MAPK の ERK1 と ERK2 のグループに伝達される. MAPKK の MEK5 は, MAPK の ERK5/BMK1 のグループに伝達される. MAPKK の MKK4/SEK1 は, MAPK の JNK/SAPK のグループもしくは p38 に伝達される. MAPKK の MKK3/MKK6 は, MAPK の p38 もしくは p38 γ /ERK6 に伝達される. MAPKKK は, MEKK2 と MEKK3, MAPKK は MEK5 であり, ストレスや EGF 刺激などによって活性化されると RSK (ribosomal S6 kinase) などの基質をリン酸化し, ERK1/2 同様に細胞増殖シグナルを活性化する.

MAPK カスケードは, そのフィードバック構造やパラメータ値に応じて様々な伝達特性を示す [22]. 図 2.4 は, 典型的なダイナミクスを示したものである. 典型的なダイナミクスの例として, トランジェントな応答, サステインドな応答, 振動する応答などがある. 振動は, 時間に対して活性化タンパク質濃度が増減を繰り返す特性を示す. 一度上昇した活性化タンパク質の濃度が, 時間に対して持続する特性をサステインドな応答, 活性化タンパク質の濃度上昇が一過性の応答をトランジェントな応答と呼ぶ. 図 2.5 に系の伝達特性を示す. 図 2.5 (a) は正のフィードバックの有無による違いを示しており, 図 2.5

(b) に示すように、タンパク質 A からタンパク質 B に伝達されるような反応がある場合、B から A に伝達されるようなフィードバック反応があると、分子濃度は、上のグラフの正のフィードバックありのような挙動をする [23]。B から A に伝達されるようなフィードバック反応がないと、分子濃度は、上のグラフの正のフィードバックなしのような挙動をする。負のフィードバック構造は、トランジェントや振動のダイナミクスを引き起こすことがある。正のフィードバックは、サステインドのダイナミクスを生じることがあり、スイッチ的な伝達特性を示す。また、図 2.5 (c) のように、定常状態がスイッチ的に変化するような状態であり、定常状態が 2 点存在するような特性を双安定と呼ぶ。

2.3 多安定性

生化学反応系に安定な平衡点が1点ある場合を単安定、複数点ある場合を多安定であると呼ぶ。平衡点には、安定な平衡点と不安定な平衡点があり、安定な平衡点を定常状態と呼ぶ。不安定な平衡点は反応速度や初期濃度をわずかに変更すると同じ状態に戻ることはない点であり、安定な平衡点は、多少の揺らぎに応じることがなく元の状態に戻ることができる点のことである。図2.6に系のダイナミクスと安定な平衡点の関係を示す。赤い3点が初期濃度である。それらの濃度変化は、オレンジ色の線、緑色の線、青色の線である。緑色の線は、不安定な平衡点であるため、オレンジ色の線もしくは青色の線の安定な平衡点に引き寄せられていく。多安定な系は、離散的な状態間のロバストな遷移を可能にする。安定な平衡点は系のダイナミックな時間変化の目標値となるため、系の解析に重要である。

本研究では、多安定性を次のように定義する。式(2.8)と式(2.9)に示している各微分方程式と同様に、系内の各タンパク質の濃度を $C = \{C_1, C_2, \dots, C_n\}$ 、反応速度定数などのパラメータを $p = \{p_1, p_2, \dots, p_m\}$ とし、タンパク質 C_i の反応方程式を

$$\frac{dC_i}{dt} = F_i(C | p) \quad (2.16)$$

と表す。ここで、パラメータ p の値を p^* として $\frac{dC_i}{dt} = 0$ を C について解くと、 C^* が求まる。すなわち、

$$F_i(C^* | p^*) = 0 \quad (i = 1, \dots, n) \quad (2.17)$$

である。式(2.16)の $p = p^*$ および $C = C^*$ におけるヤコビ行列は

$$J_F(C^* | p^*) = \left. \frac{\partial F}{\partial C} \right|_{C=C^*} \quad (2.18)$$

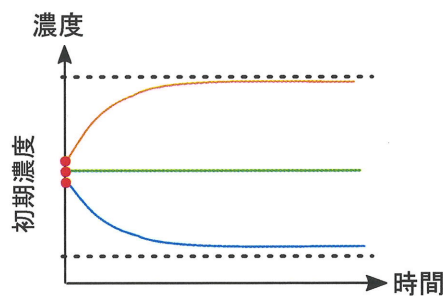


図 2.6: 安定な平衡点。反応時間に対して濃度がどのように変化するかを示す。横軸を時間、縦軸を濃度としている。赤い3点が初期濃度である。濃度変化は、オレンジ色の線、緑色の線、青色の線である。緑色の線は、不安定な平衡点であるため、オレンジ色の線もしくは青色の線の安定な平衡点に引き寄せられていく。

となる. その固有値 λ_k が全て負のとき, C^* は p^* での安定な平衡点であるとし, ある p^* に対して安定な平衡点 C^* が複数ある場合を, 本研究では系は p^* で多安定であると定義する.

第3章 解析方法

本章では、本研究で提案している解析手法として制御ネットワークによる定式化、解析対象制御ネットワーク、パラメータ空間と、そして多安定性解析について述べる。

3.1 制御ネットワークによる定式化

制御ネットワークでは、酵素は活性型と不活性型の2つの状態を循環するサイクル反応系がノードとなる [24-37]. 活性型酵素を P_i , 不活性型酵素を U_i で表した制御ネットワークの例を図 3.1 に示す. 酵素の活性化と不活性化は、それぞれ、他のノードにある活性型酵素により触媒される反応である. ノード A の活性型酵素がノード B の酵素の活性化を触媒する場合は、ノード A がノード B を正に制御し、不活性化を触媒する場合は、負に制御していると呼ぶ.

酵素の活性化および不活性化の反応機構は、単純な質量作用の法則に従うものとミカエリス・メンテン型近似式に従うものと仮定する. 反応速度が基質濃度と酵素濃度の n 乗の積に比例する場合を n 次反応機構と呼ぶ. また、 n 次反応機構のノードへの制御を n 次制御と呼ぶ. 制御ネットワークは、正の n 次制御では n , 負の n 次制御では、 $-n$ を要素とする隣接行列で表現できる. これを制御行列と呼ぶ. ノード j がノード i を n_{ij} 次制御しているとするとき制御行列は $N = (n_{ij})$ となる. MAPK カスケードでは、MAPKK が 1 回リン酸化をされることで、MAPKK-P となる. MAPKK-P が 1 回リン酸化されることで、MAPKK-PP となる. つまり、MAPKK が 2 回リン酸化（二重リン酸化）されると MAPKK-PP になる. MAPK も同様の過程で MAPK-PP になる. そのため、MAPK カスケードの 3 段目と 4 段目の二重リン酸化される過程は、制御機構を二次制御とすることで近似表現することが可能となる. 図 3.2 は、本研究で用いる MAPK カスケードの制御ネットワークの表現をいくつかの段階に分けて示したものである. その制御行列は

$$N = (n_{ij}) = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 & -1 \\ 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 2 & 0 \end{pmatrix} \quad (3.1)$$

のようになる.

図 3.3 にサイクル反応系を示す. 各ノード、すなわちサイクル反応系は、活性化・不活性化の反応速度定数や酵素の総濃度などのパラメータを持つ. しかし、定常状態のみを問

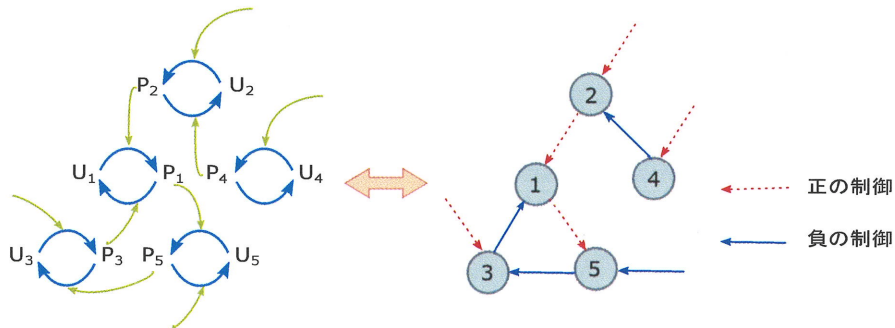


図 3.1: 制御ネットワーク. 左図は, 5つのサイクル反応系から構成されているネットワークを示しており, 右図は, 左のネットワークを制御ネットワークとして表現している. 赤い矢印は正の制御, 青い矢印は負の制御を表し, P_2 が P_1 を正に制御し, P_3 が P_1 を負に制御している. P_4 が P_2 を負に制御し, P_4 が他のノードから正の制御を受けている. P_1 が P_5 を正に制御し, P_5 が P_3 を負に制御, P_5 が他のノードから負の制御, P_3 が他のノードから正の制御を受けている.

題にする場合, 総濃度で正規化することにより, それらのパラメータは活性化と不活性化の最大反応速度の比という1つのパラメータに集約される. 活性化と不活性化の両方を同じ n 次制御反応機構とするとサイクル反応系の動態は,

$$\frac{dU_i}{dt} = -(a_i P_j)^n U_i + (d_i P_k)^n P_i \tag{3.2}$$

$$\frac{dP_i}{dt} = (a_i P_j)^n U_i - (d_i P_k)^n P_i$$

の微分方程式系で表される [29–31]. ここで, P_i, P_j, P_k は, 酵素 P_i, P_j, P_k の濃度である. 酵素 P_i, P_j, P_k の総濃度をそれぞれ T_i, T_j, T_k で表し, 相対濃度をそれぞれ $R_i = \frac{P_i}{T_i}$,

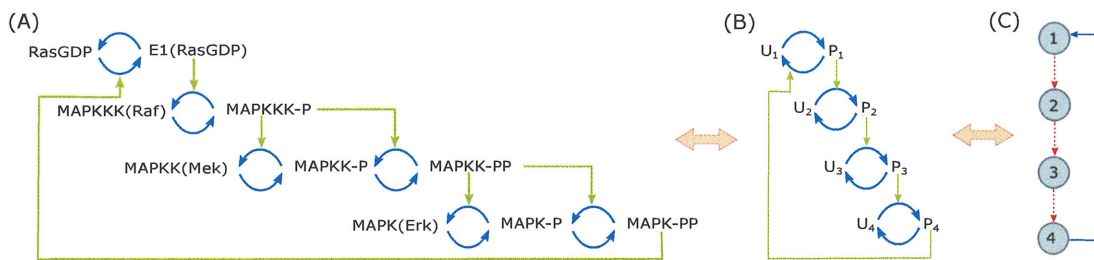


図 3.2: MAPK カスケードの制御ネットワーク. (A) は, 代表的なシグナル伝達系である MAPK カスケードの反応過程を示した反応スキームである. MAPK カスケードは, 複数のサイクル反応系から構成されており, MAPK-PP からのフィードバック制御をもつ構造となっている. (B) は, MAPK カスケードを簡略化した表現である. (C) は, 本研究で用いる MAPK カスケードの制御ネットワーク表現である.

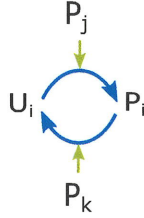


図 3.3: サイクル反応系. 制御ネットワークのノードとなるサイクル反応系の反応スキームである. P_i は当該ノードの活性型の酵素, U_i は不活性型の酵素を示す. P_j は, U_i を活性化する酵素である. P_k は, P_i を不活性化する酵素である.

$R_j = \frac{P_j}{T_j}$, $R_k = \frac{P_k}{T_k}$ とすると, $0 \leq R_i \leq 1$, $0 \leq R_j \leq 1$, $0 \leq R_k \leq 1$ であり, 相対濃度に関する微分方程式系

$$\frac{1}{a_i^n T_j^n} \cdot \frac{dR_i}{dt} = R_j^n (1 - R_i) - K_i^n R_k^n R_i \quad (3.3)$$

が得られる. ここで, $T_i = P_i + U_i$ を用いた. K_i は

$$K_i = \frac{d_i \cdot T_k}{a_i \cdot T_j} \quad (3.4)$$

で, 制御ネットワークの各ノードの持つパラメータであり, 活性化と不活性化の最大反応速度の比である. 式 (3.3) において平衡状態を仮定し, $\frac{dR_i}{dt} = 0$ として R_i について解き, R_i , R_j , R_k の逆数を, それぞれを Q_i , Q_j , Q_k とするとノード間の平衡点の関係は

$$Q_i = 1 + \left(K_i \cdot \frac{Q_j}{Q_k} \right)^n \quad (3.5)$$

となる. ここで, 正の制御がない場合は, $R_j = 1$ つまり $P_j = T_j$, 負の制御がない場合は, $R_k = 1$ つまり $P_k = T_k$ とする. 式 (3.5) を Q_i について解くことにより系の平衡点を求めることができる.

図 3.4 に 2 段階反応機構のサイクル反応系を示す. U_i と P_i は, それぞれ, 不活性型酵素と活性型酵素を表し, C_i は, 中間型であり不活性と仮定している. それぞれの反応は一次の質量作用の法則に従うとし, 活性化と不活性化の反応速度定数は全て, a_i と d_i としている. 系の動態は,

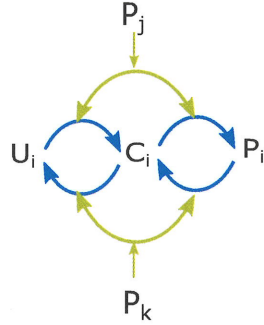


図 3.4: 2 段階反応機構. 2 段階反応機構の反応スキームである. U_i と P_i は, それぞれ, 不活性型酵素と活性型酵素を表し, C_i は, 中間型であり不活性と仮定している.

$$\begin{aligned}\frac{dU_i}{dt} &= -a_i P_j U_i + d_i P_k C_i \\ \frac{dC_i}{dt} &= a_i P_j U_i - a_i P_j C_i + d_i P_k P_i - d_i P_k P_i \\ \frac{dP_i}{dt} &= a_i P_j C_i - d_i P_k P_i\end{aligned}\quad (3.6)$$

の微分方程式系で記述される [28]. 式 (3.5) の n 次制御サイクル反応の場合と同様に, 活性型酵素 P_i の相対濃度の逆数を Q_i , 活性化を触媒する酵素 P_j と不活性化を触媒する酵素 P_k の相対濃度の逆数を, それぞれを Q_j, Q_k とすると, ノード間の平衡点の関係は

$$Q_i = 1 + K \cdot \frac{Q_j}{Q_k} + K^2 \cdot \left(\frac{Q_j}{Q_k}\right)^2 \quad (3.7)$$

と表される. 式 (3.16) を Q_i について解くことにより系の平衡点を求めることができる.

また, 図 3.3 のサイクル反応系に反応機構として, ミカエリス・メンテン型反応機構を仮定すると反応方程式は

$$\frac{dP_i}{dt} = \frac{a_i P_j U_i}{M_j + U_i} - \frac{d_i P_k P_i}{M_k + P_i} \quad (3.8)$$

となる. T_i は, ノード i における酵素 P_i の総濃度で, $T_i = U_i + P_i$ である. R_i は, 相対濃度であり, L_i と L_k は, 正規化されたミカエリス定数である. すなわち

$$R_i = \frac{P_i}{T_i}, L_i = \frac{M_j}{T_i}, L_k = \frac{M_k}{T_i} \quad (3.9)$$

となる. ミカエリス・メンテン型酵素反応の系の相対濃度に関する微分方程式系は,

$$\frac{T_i}{a_i T_j} \cdot \frac{dR_i}{dt} = \frac{R_j(1 - R_i)}{L_j + 1 - R_i} - \frac{K_i R_k R_i}{L_k + R_i} \quad (3.10)$$

となる. K_i は, 式 (3.4) で定義した最大活性化速度と最大不活性化速度の比である [24, 25, 32–37].

3.2 解析対象制御ネットワークとパラメータ空間

本研究では、一次および二次反応機構，2段階反応機構，ミカエリス・メンテン型反応機構の4つの反応機構をもつサイクル反応系から構成される制御ネットワークについて解析を行った。

2段階反応機構の解析対象の制御ネットワークには，Kuwaharaらの制御ネットワークを参考に次の4つの制約条件を仮定した [12]。

1. ノード1を出力ノードとする。
2. 各ノードは他の一つのノードを制御する。
3. 各ノードは他のノードから高々1つの負の制御と1つの正の制御を受ける。
4. フィードバック制御はノード1からの一つのみとする。

2段階反応機構の解析対象となる2ノードの制御ネットワークを図3.5，3ノードの制御ネットワークを図3.6に示す。赤い矢印は，正の制御，青い矢印は，負の制御を示す。

まず，ミカエリス・メンテン型反応機構の解析対象制御ネットワークの制約条件は，環状に順次制御する構造とし，出力ノードを設定しない制御ネットワークとした。環状に順次制御する制御構造をもつ制御ネットワークを単一のフィードバックをもつ制御ネットワークと呼ぶ。図3.7は，単一のフィードバックをもつ制御ネットワークである。例えば，2ノードは図3.7のA～Cの制御ネットワークの3個，3ノードはD～Gの4個，4ノードはH～Mの6個が解析対象となる。図3.7に示すA～Cの2ノードの制御ネットワークAは，互いに正のフィードバック制御をもち，ネットワークCは，互いに負のフィードバック制御を備えている。ネットワークBは，ノード1がノード2から正にフィードバック制御を受け，ノード2がノード1から負にフィードバック制御を受けている。

次に，複数のフィードバックをもつ制御ネットワークを解析した。ただし，解析対象とした制御ネットワークには，次の2つの制約条件を仮定した。

1. 単一のフィードバックをもつ制御ネットワークの環状の内部にフィードバックを追加する。
2. ただし，一つのノードは一つの負の制御と正の制御を受ける。

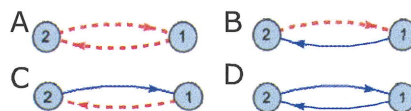


図 3.5: 出力ノードを指定する2ノードの制御ネットワーク. ネットワークAは，ノード1とノード2が互いに正のフィードバック制御をもち，ネットワークDは，互いに負のフィードバック制御を備えている。

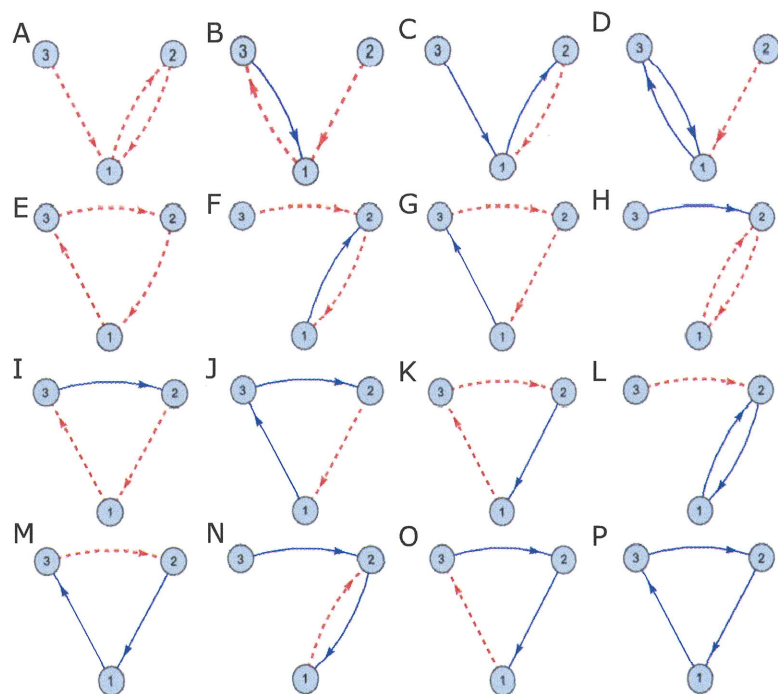


図 3.6: 出力ノードを指定する 3 ノードの制御ネットワーク. 3 ノードの制御ネットワークの総数は 21 個, そのうちフィードバック制御のあるものは 16 個である. 制御ネットワーク A は, ノード 1 がノード 2 を正に制御, ノード 2 がノード 1 を正に制御, ノード 3 がノード 1 を正に制御している.

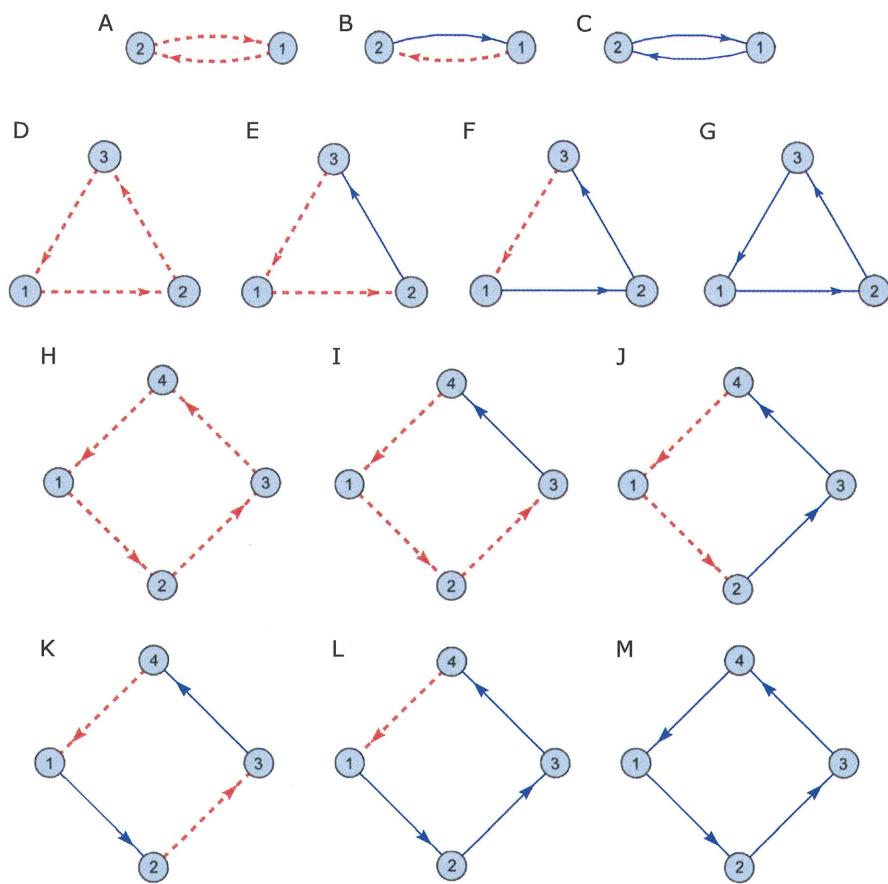


図 3.7: 単一のフィードバックをもつ制御ネットワーク. 2ノードはA~Cの制御ネットワークの3個, 3ノードはD~Gの4個, 4ノードはH~Mの6個が解析対象である.

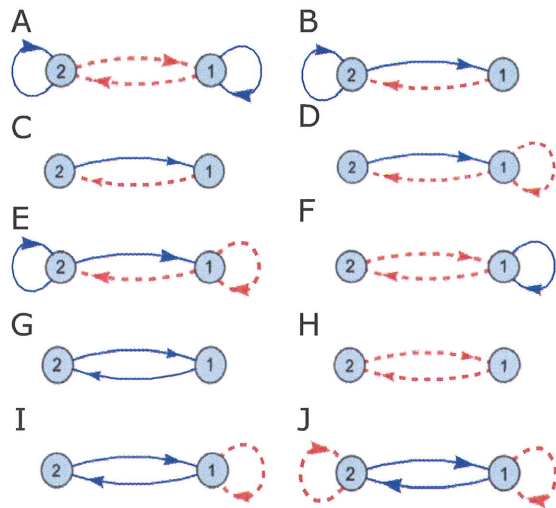


図 3.8: 複数のフィードバックをもつ2ノードの制御ネットワーク. 2ノードの複数のフィードバックをもつものは10種類である.

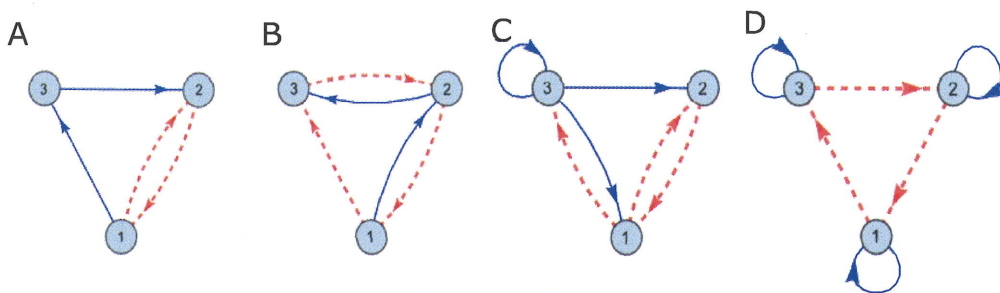


図 3.9: 複数のフィードバックをもつ3ノードの制御ネットワークの例示. 3ノードの複数のフィードバック制御の制御ネットワークは74個あるが, 4個を例示している. 74個すべての制御ネットワークは, 付録Aに示す.

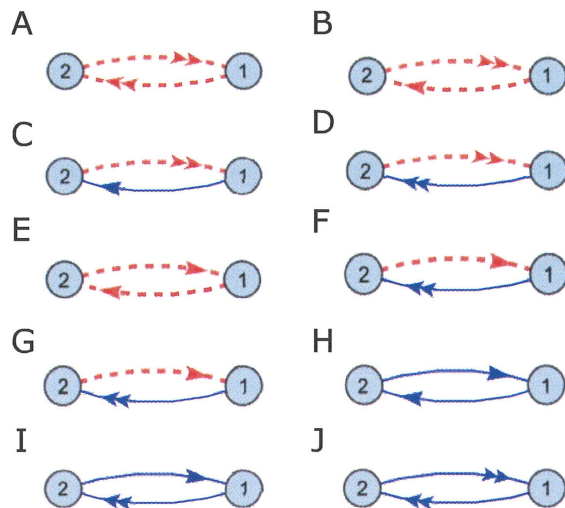


図 3.10: 一次および二次反応機構が混在した単一のフィードバックをもつ 2 ノードの制御ネットワーク. 解析対象となる 2 ノードの一次および二次反応機構の混在した単一のフィードバック制御の制御ネットワークは, A~J の制御ネットワークである. 矢印が 1 個付いている制御ネットワークは, 一次反応機構を示している. 矢印が 2 個付いている制御ネットワークは, 二次反応機構を示している.

複数のフィードバックをもつ制御ネットワークは, 2 ノードは図 3.8 の A~J の制御ネットワーク, 3 ノードは図 3.9 である. 複数のフィードバックをもつ 3 ノードの制御ネットワークは, 付録 A に示す. 例えば, 図 3.8 に示す 2 ノードの制御ネットワーク A は, ノード 1 がノード 2 を正に制御し, 負の自己フィードバックを持ち, ノード 2 がノード 1 を正に制御し, 負の自己フィードバックを持っている.

一次および二次反応機構が混在した単一のフィードバックをもつ制御ネットワークを解析対象とする場合の 2 ノードの制御ネットワークを図 3.10 に示す. 図 3.11 は, 一次および二次反応機構が混在した複数のフィードバックをもつ制御ネットワークを解析対象とする場合の 2 ノードの制御ネットワークの例示である. 複数のフィードバックをもつ制御ネットワークは 36 個ある. 例えば, 制御ネットワーク A は, ノード 1 はノード 2 から正の一次制御, ノード 2 はノード 1 から正の二次制御を受ける. ノード 1 は自身を負に一次制御, ノード 2 は自身を負に二次制御している. 図 3.12 は, 一次および二次反応機構が混在した単一のフィードバックをもつ制御ネットワークを解析対象とする場合の 3 ノードの制御ネットワークの例示である. 例えば, 制御ネットワーク A は, ノード 1 はノード 2 から正の一次制御, ノード 3 はノード 1 から負の二次制御, ノード 2 はノード 3 から負の一次制御を受ける. 図 3.13 は, 一次および二次制御機構が混在した複数のフィードバックをもつ制御ネットワークを解析対象とする場合の 3 ノードの制御ネットワークの例示である.

解析対象とするそれぞれの制御ネットワークの総数を表 3.1 に示す. ただし, *で示している 2 段階反応とその他の反応機構の解析対象となる制御ネットワークは, 制約条件が

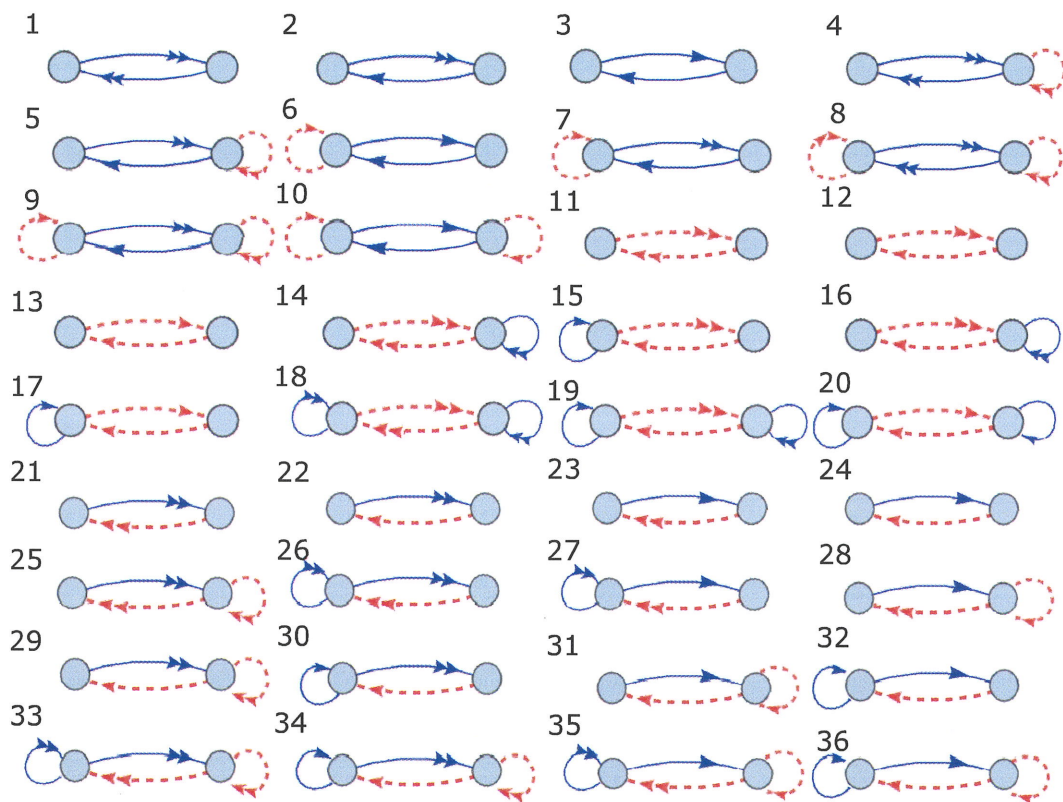


図 3.11: 一次および二次反応機構が混在した複数のフィードバックをもつ2ノードの制御ネットワーク. 複数のフィードバック制御の制御ネットワークは36個ある.

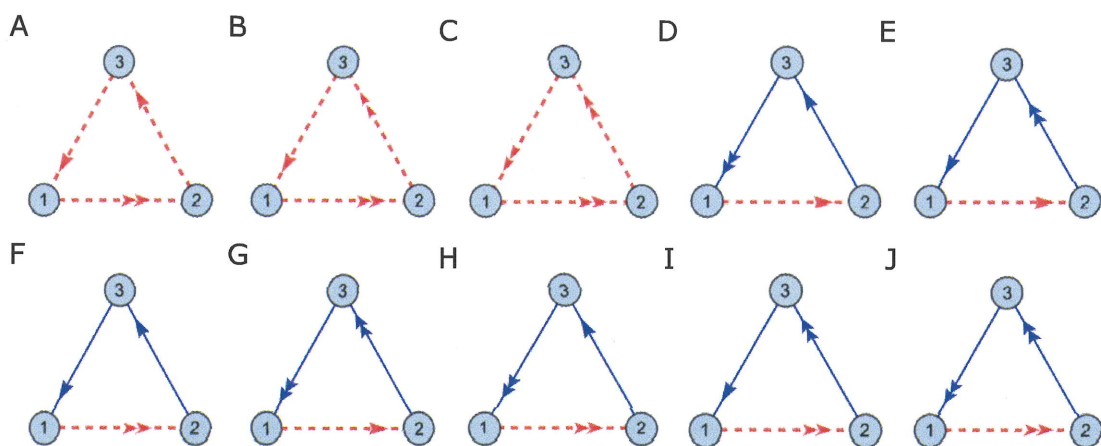


図 3.12: 一次および二次反応機構が混在した単一のフィードバックをもつ3ノードの制御ネットワークの例示. 解析対象となる3ノードの一次および二次反応機構が混在した単一のフィードバックをもつ制御ネットワークは全部で24個あるが, 10個を例示している.

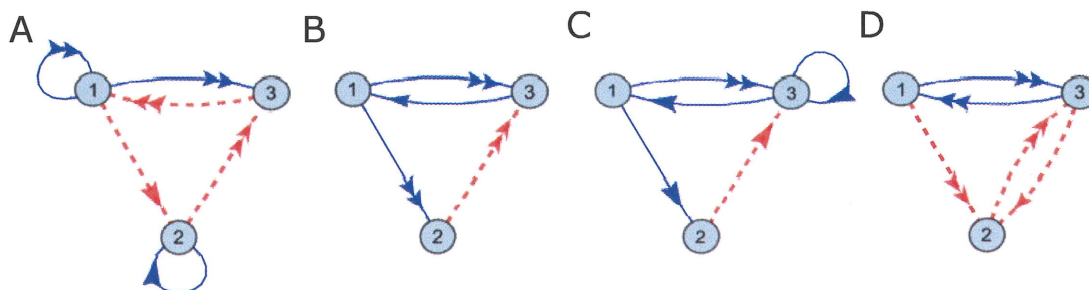


図 3.13: 一次および二次制御機構が混在した複数のフィードバックをもつ3ノードの制御ネットワークの例示. 複数のフィードバック制御の制御ネットワークは572個あるが, 4個を例示している.

表 3.1: 解析対象とするそれぞれの制御ネットワークの総数. 2段階反応機構の解析対象となる制御ネットワークは, 2ノードの単一のフィードバック制御をもつ場合は4種, 3ノードの単一のフィードバック制御をもつ場合は16種である. 例えば, ミカエリス・メンテン型反応機構と一次および二次反応機構のみから構成される制御ネットワークは, 2ノードの単一のフィードバックをもつ場合は3種, 複数のフィードバックをもつ場合は10種となる. *で示している2段階反応とその他の反応機構の解析対象となる制御ネットワークは, 制約条件が異なるため, 解析対象となる制御ネットワークの総数が異なる.

	2ノード		3ノード		4ノード	
	単一	複数	単一	複数	単一	複数
2段階反応機構*	4	-	16	-	-	-
一次および二次制御のみの反応機構 ミカエリス・メンテン型反応機構	3	10	4	74	6	-
一次と二次制御反応機構の混在	10	36	24	572	-	-

表 3.2: パラメータ値 K_i の組合せ総数. 第 1 行は, 2^{-5} から 2^5 の各ノードに独立する 11 個の値とした場合で, 第 2 行は, 2^{-10} から 2^{10} の各ノードに独立する 21 個の値とした場合である.

	2 ノード	3 ノード	4 ノード
$2^{-5} \sim 2^5$	121(=11 ²)	1,331(=11 ³)	14,641(=11 ⁴)
$2^{-10} \sim 2^{10}$	441(=21 ²)	9,261(=21 ³)	194,481(=21 ⁴)

異なるため, 解析対象となる制御ネットワークの総数が異なる.

本解析は, 他の研究に記載されている MAPK カスケードの反応について想定される値を含むように, 適切な範囲でパラメータを変化させて行った [38–42]. 正規化されたミカエリス定数の値は計算コストを削減するために各ノード共通であると仮定した. ミカエリス定数 L の値は, $2^{-5}, 2^{-4}, 2^{-3}, \dots, 2^3, 2^4, 2^5$ (11 個の異なる値) である. K_i は, ノードごとに独立した値に設定される.

解析に用いるパラメータ値 K_i の組合せ総数を表 3.2 に示す. 2 ノードは, 2^{-10} から 2^{10} の 21 個の値の範囲の総数 $21^2 (= 441)$ もしくは 2^{-5} から 2^5 の 11 個の値の範囲の総数 $11^2 (= 121)$ で解析した. 3 ノードは, 2^{-10} から 2^{10} の 21 の値の範囲の総数 $21^3 (= 9,261)$ もしくは 2^{-5} から 2^5 の 11 個の値の範囲の総数 $11^3 (= 1,331)$ で解析した.

3.3 多安定性解析

本研究は，細胞内シグナル伝達系を制御ネットワークとして定式化し，その多安定性の出現を解析した [43]．また，多安定性を定量化するために距離と感度を用いた．本節では，多安定性とその出現率および距離と感度について述べる．

本研究で行った安定性解析の手順は以下のとおりである．

1. 解析対象の制御ネットワークを全て生成する．
2. それぞれのネットワークに対応する微分方程式を生成する．
3. ミカエリス定数の値およびパラメータの値を設定し微分方程式の右辺を 0 として連立代数方程式を解き，系の平衡点を求める．
4. 微分方程式の右辺からヤコビ行列を求める．
5. ヤコビ行列から固有値を求める．
6. 全ての固有値が負の場合，安定な平衡点となり，安定な平衡点が 2 個以上ある場合を多安定であるとする．

安定性解析を行うために記述したプログラムコードは付録としている．以下に解析の手順を例と共に示す．手順 1 では，制御行列を網羅的に生成する．互いに正の制御をする 2 ノードの単一のフィードバック制御ネットワークを用いると，制御行列は以下のように記述できる．

$$N = (n_{ij}) = \begin{pmatrix} 0 & 1 \\ 1 & 0 \end{pmatrix} \quad (3.11)$$

手順 2 は，正規化した微分方程式を求める．正規化したミカエリス定数 L は同じ値を用いる．例えば， $L_j = L_k = L = 2^{-3}$ とし， $K_1 = 2^{-1}$ ， $K_2 = 2^{-1}$ とすると，正規化した微分方程式は

$$\begin{aligned} F_1(R_1, R_2) &= \frac{T_1}{a_1 T_2} \cdot \frac{dR_1}{dt} = \frac{R_2(1 - R_1)}{2^{-3} + 1 - R_1} - \frac{2^{-1} R_1}{2^{-3} + R_1} \\ F_2(R_1, R_2) &= \frac{T_2}{a_2 T_1} \cdot \frac{dR_2}{dt} = \frac{R_1(1 - R_2)}{2^{-3} + 1 - R_2} - \frac{2^{-1} R_2}{2^{-3} + R_2} \end{aligned} \quad (3.12)$$

となる．手順 3 は，微分方程式の右辺を 0 として連立代数方程式を解き，系の平衡点を求める．例えば，手順 2 で示した微分方程式を解くと， $(R_1, R_2) = (0, 0)$ ， $(0.5, 0.5)$ ， $(0.875, 0.875)$ となる．手順 4 では次式のように，式 (3.12) のヤコビ行列を求める．

$$J(F, R) \equiv \frac{\partial(F_1, F_2)}{\partial(R_1, R_2)} \equiv \begin{bmatrix} \frac{\partial F_1}{\partial R_1} & \frac{\partial F_1}{\partial R_2} \\ \frac{\partial F_2}{\partial R_1} & \frac{\partial F_2}{\partial R_2} \end{bmatrix} \quad (3.13)$$

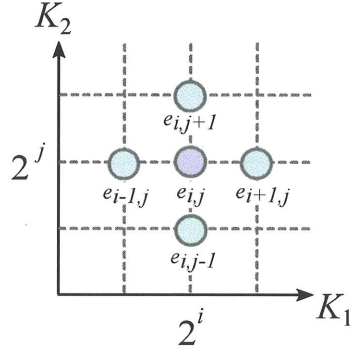


図 3.14: パラメータ K_i おける安定な平衡点の集合. 横軸はノード 1 のパラメータ K_1 , 縦軸はノード 2 のパラメータ K_2 である. $e_{i,j}$ は, $K_1 = 2^i$, $K_2 = 2^j$ での平衡点の集合である.

手順 5 は, 系の平衡点でのヤコビ行列の固有値を求める. 手順 6 で, 固有値 λ の実部が全て負である条件を満たす安定な平衡点を求める. 安定な平衡点が 2 個以上ある場合を多安定であるとする. ミカエリス定数 $L_j = L_k = L = 2^{-3}$, $K_1 = 2^{-1}$, $K_2 = 2^{-1}$ の場合, 安定な平衡点は $(R_1, R_2) = (0, 0)$, $(0.875, 0.875)$, 不安定な平衡点は $(R_1, R_2) = (0.5, 0.5)$ となる.

本研究は, 多安定性の出現率を次式のように定義する.

$$\text{多安定性の出現率 (\%)} = \frac{\text{多安定になったパラメータ } K_i \text{ の組み合わせ数}}{\text{パラメータ } K_i \text{ の組み合わせ数}} \times 100 \quad (3.14)$$

全制御ネットワークで出現率が算出されたのち, それぞれの出現率の全平均を求めたものを平均出現率と呼ぶ. 多安定の出現に対するパラメータの影響を定量化するためにパラメータ K_i についての感度を用いた. $A = \{a_1, \dots, a_m\}$ と $B = \{b_1, \dots, b_n\}$ を安定な平衡点の集合とする. その距離を

$$\begin{aligned} d(A, b_j) &= \min_i \|a_i - b_j\| \\ D(A, B) &= \max(\max_j d(A, b_j), \max_j d(B, a_j)) \end{aligned} \quad (3.15)$$

と定義する. a_i, b_j は安定な平衡点の空間の座標である. 安定な平衡点は活性化タンパク質の相対濃度の組であるため, 0 以上 1 以下である. したがって, 距離 D および感度 S の最大値は 2 ノードの場合は $\sqrt{2}$ となる. 最小値は 0 である. この距離 D を用いて, パラメータ K_i に対する感度を

$$S(i, j) = \frac{D(e_{i,j}, e_{i+1,j}) + D(e_{i,j}, e_{i-1,j}) + D(e_{i,j}, e_{i,j+1}) + D(e_{i,j}, e_{i,j-1})}{4} \quad (3.16)$$

と定義する. ここで $e_{i,j}$ は, 図 3.14 示すように $K_1 = 2^i$ と $K_2 = 2^j$ での安定な平衡点の集合である.

第4章 制御構造と反応次数が多安定性に及ぼす影響

本章では、細胞内シグナル伝達系の制御構造と反応次数が多安定性に及ぼす影響の解析結果について述べる。

4.1 一次、二次および2段階反応機構

2ノードと3ノードの制御ネットワークについて網羅的に解析した [27, 28]. 全てノードの反応機構は同一とし、一次反応機構、二次反応機構、2段階反応機構を用いた. 解析対象となる制御ネットワークは、2ノードは、図3.5、3ノードは図3.6である. 各ノードの活性化と不活性化の最大反応速度比 K_i のパラメータの値は独立に $2^{-10}, 2^{-9}, \dots, 2^9, 2^{10}$ までの21通りの値の範囲、つまり2ノード、3ノードについてそれぞれ $21^2 (= 441)$ 、 $21^3 (= 9,261)$ の組合せに対して解析した. 2段階反応の解析に用いたプログラムは、付録A.5である.

表4.1に2ノードの制御ネットワークでの多安定性の出現率を示す. 二次反応機構での出現率は、制御ネットワークA、制御ネットワークDにおいて28.1%、6.3%となるが、2段階反応機構での出現率は、制御ネットワークA、制御ネットワークDにおいて21.5%、4.3%となる. 制御ネットワークBおよび制御ネットワークCでは出現しなかった. 二次反応機構の場合も2段階反応機構の場合も、制御ネットワークAおよびDで双安定性が出現することが分かる.

図4.1に2ノードの二次反応機構と2段階反応機構の多安定性のパラメータ領域の比較を示す. どちらの場合でも多安定性が出現しているパラメータ位置は、○の部分と×の部分が重なり合っている. 二次制御において双安定性が出現するパラメータ値は、2段階反応で多安定性が出現するパラメータ値を包含していることが分かる. 制御ネットワークAにおいて、二次反応機構では、多安定性が出現するパラメータは、124箇所存在するのに対して、2段階反応機構では、95箇所となり、19箇所において出現しなくなっている. 制御ネットワークAの場合、小さな値の範囲 ($K_i \leq 2^{-5}$) に集中して存在している. 制御ネットワークDでは、二次反応機構では、双安定性が出現するパラメータは、28箇所存在するのに対して、2段階反応機構で多安定性が出現するのは、19箇所となり、9箇所において出現しなくなっている. 制御ネットワークDの場合、大きな値の空間 ($K_i \geq 2^5$) に集中して存在している. また、パラメータ空間では、制御ネットワークAでは、双安定性が出現するパラメータ値は、2個とも負の値、ネットワークDでは、2個とも正の値

表 4.1: 2 ノードの一次・二次制御および 2 段階反応機構の制御ネットワークの多安定性の出現率 (%)。2 ノードの一次および二次反応機構と 2 段階反応機構の多安定性の出現率を示す。括弧内の数字は双安定の場合の出現率 (%) である。互いに正または負の構造をもつ場合、多安定性が出現する。

制御ネットワーク	一次反応機構	二次反応機構	2 段階反応機構
A	0(0)	28.1(28.1)	21.5(21.5)
B	0(0)	0(0)	0(0)
C	0(0)	0(0)	0(0)
D	0(0)	6.3(0)	4.3(0.2)

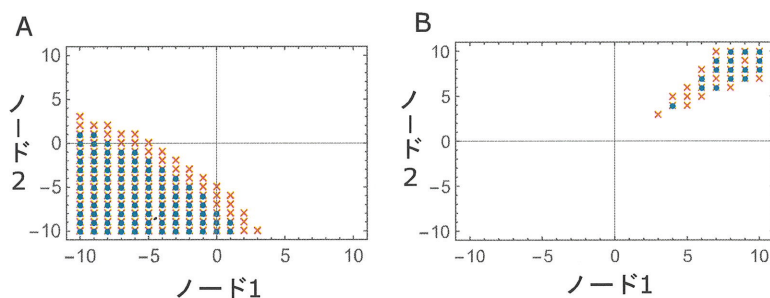


図 4.1: 2 ノードの二次反応機構と 2 段階反応機構の制御ネットワークの多安定性のパラメータ領域の比較。横軸は、ノード 1 のパラメータの値 K_1 、縦軸は、ノード 2 のパラメータ値 K_2 である。パラメータの値は全て底 2 の対数目盛としている。二次反応機構で双安定性が出現したパラメータ位置を \times で、2 段階反応の場合を \circ で示す。A は、図 3.5 の 2 ノードの制御ネットワーク A、B は、図 3.5 の制御ネットワーク D において多安定性の出現したパラメータの位置を示したものである。多安定性の出現したパラメータ空間を描く場合は、付録 A.4.2 のプログラムを用いた。

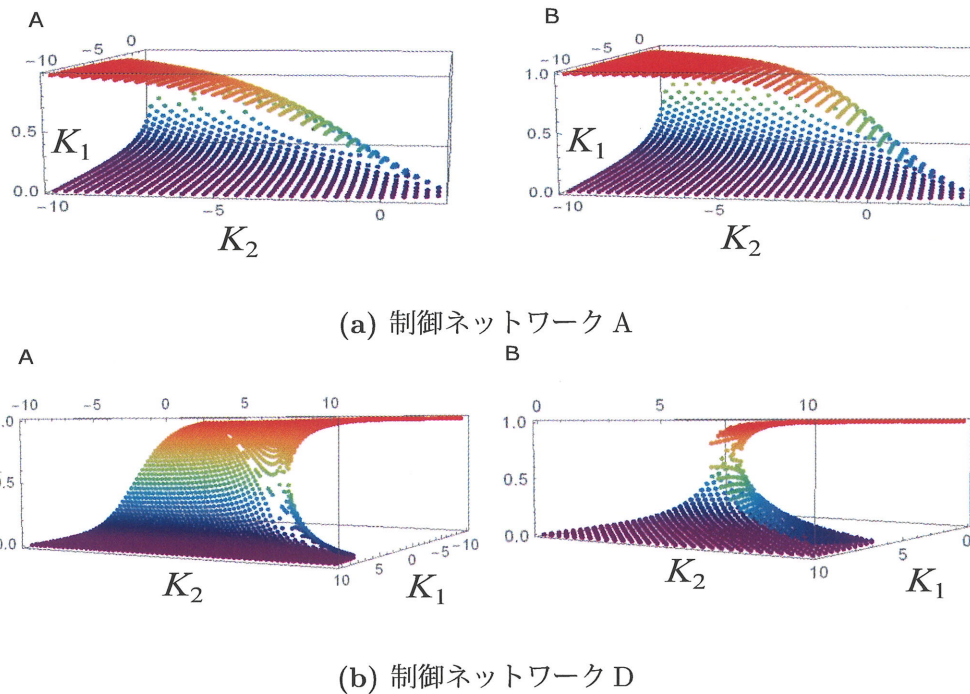


図 4.2: 2 ノードの二次反応機構と 2 段階反応機構の制御ネットワークの多安定性. (a) は, 図 3.5 の 2 ノードの制御ネットワーク A に関するパラメータ領域とその様相であり, (b) は, 図 3.5 の 2 ノードの制御ネットワーク D に関するパラメータ領域とその様相である. 各グラフ A は, 二次反応機構, 各グラフ B は, 2 段階反応機構の様相にそれぞれ対応している. x 軸は, ノード 1 のパラメータ値 K_1 , y 軸は, ノード 2 のパラメータ値 K_2 , z 軸は, ノード 1 の活性化酵素の相対濃度である.

を取る部分に集中していることがわかる. 以上の結果から, 互いの制御が最も活性化するパラメータ領域において多安定性が多く出現していることがわかった. 互いに正もしくは互いに負の反応機構の多安定性出現に関する性質はよく似ているが, 二次反応機構の方がそのパラメータ領域がわずかに広いことが示された.

図 4.2 は, 2 ノードのパラメータ領域とその様相である. 各グラフ A は, 二次反応機構, 各グラフ B は, 2 段階反応機構の様相にそれぞれ対応している. 多安定性の様相は, 制御ネットワーク A は反応機構にあまり影響を受けないが, 制御ネットワーク D は影響を受けていることが分かる.

図 4.3 より, 2 ノードの制御ネットワークの場合でも, 安定な平衡点は端の 2 点であり, 真ん中にある 1 点は不安定な平衡点であることがわかる. 2 つのノードの活性化酵素の値が 2 つの安定点に引き寄せられる状態を見ることができる.

双安定性の出現率を表 4.2 より, 3 ノードの制御ネットワークの 2 段階反応において制御ネットワーク A, D, E, H, J, L, M および O で双安定性が出現した. 制御ネットワーク A および H において, 二次反応機構では, 双安定性が出現するパラメータは, 4,304 箇所存在するのに対して, 2 段階反応機構では, 3,863 箇所となり, 441 箇所において出現

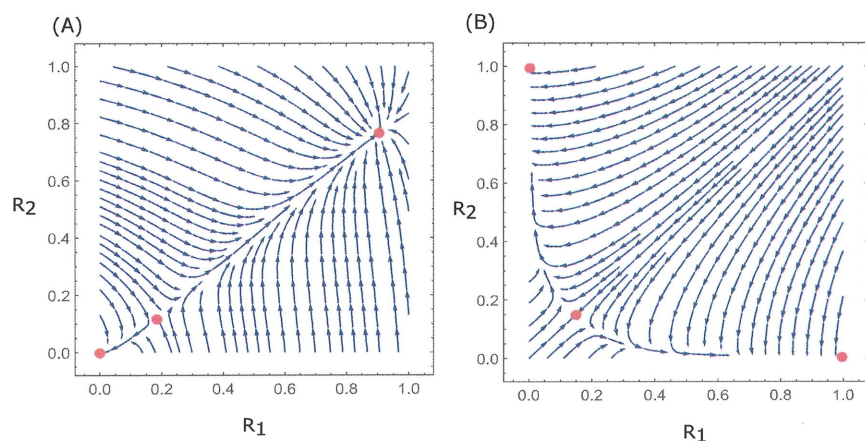


図 4.3: 2 ノードの制御ネットワーク A と D の流線プロット. 図 3.5 の 2 ノードの制御ネットワーク A (A) および制御ネットワーク D (B) のパラメータ値におけるベクトル場の局所的方向を示す流線プロットである. (A) の制御ネットワーク A のパラメータ値は, $(K_1, K_2) = (2^{-2}, 2^{-1})$ であり, (B) の制御ネットワーク D のパラメータ値は, $(K_1, K_2) = (2^4, 2^4)$ としている. 流線プロットを描くために作成したプログラムは, 付録 A.6 に示す.

表 4.2: 3 ノードの一次・二次制御および 2 段階反応機構の制御ネットワークの多安定性の出現率 (%). 図 3.6 の 3 ノードの制御ネットワークでの, 双安定性の出現率である. 括弧内の数字は双安定の場合の出現率 (%) である.

制御ネットワーク	一次反応機構	二次反応機構	2 段階反応機構
A	0(0)	44.5(44.5)	40.0(40.0)
D	0(0)	7.0(0)	4.6(0)
E	0(0)	19.2(19.2)	13.7(13.7)
H	0(0)	44.5(44.5)	40.0(40.0)
J	0(0)	4.0(0)	2.5(0)
L	0(0)	7.0(0)	4.6(0)
M	0(0)	4.0(0)	2.5(0)
O	0(0)	4.0(0)	2.5(0)

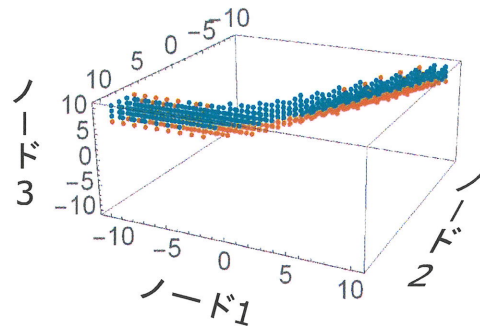


図 4.4: 二次反応機構と 2 段階反応機構の 3 ノードの制御ネットワーク D の多安定性のパラメータ領域の比較. 図 3.6 の 3 ノードのネットワーク D において双安定性の出現したパラメータの位置を図示したものである. 縦軸は, ノード 1 のパラメータの値, 横軸は, ノード 2 のパラメータ値である. パラメータの値は全て底 2 の対数目盛としている.

しなくなっている. 制御ネットワーク E において, 二次反応機構は, 双安定性が出現するパラメータが, 1856 箇所存在するのに対して, 2 段階反応機構では, 1,327 箇所となり, 529 箇所において出現しなくなっている. 制御ネットワーク J, M および O において, 二次反応機構では, 双安定性が出現するパラメータは, 386 箇所存在するのに対して, 2 段階反応機構では, 242 箇所となり, 144 箇所において出現しなくなっている. 制御ネットワーク D および L において, 二次制御反応機構では, 双安定性が出現するパラメータは, 681 箇所存在するのに対して, 2 段階反応機構では, 451 箇所となり, 230 箇所において出現しなくなっている. 3 ノードの二次反応機構で双安定性を示したパラメータは, 2 段階反応機構でも双安定性を示した. 二次反応機構における双安定性の出現率は, 制御ネットワーク A, 制御ネットワーク H において 46.5 % となる. 制御ネットワーク D, 制御ネットワーク L において 7.4 % となる. 制御ネットワーク E は, 20.0 % となる. 制御ネットワーク J, 制御ネットワーク M および制御ネットワーク O において 4.2 % となる. その他の 8 個の制御ネットワークは, 双安定性は出現しなかった. しかし, 2 段階反応機構における双安定性の出現率は, 制御ネットワーク A, 制御ネットワーク H において 41.7 % となる. 制御ネットワーク D, 制御ネットワーク L において 4.9 % となる. 制御ネットワーク E は, 14.3 % となる. 制御ネットワーク J, 制御ネットワーク M および制御ネットワーク O において 2.6 % となる. その他の 8 個の制御ネットワークは, 双安定性は出現しなかった. また, 3 ノードでは, 2 ノードのネットワーク A および D の構造を含む制御ネットワークにおいて双安定性が示されることがわかった.

図 4.4 より, 二次制御で双安定性が出現したパラメータ位置を橙色の○で, 2 段階反応の場合を緑色の○で示す. 解析に用いたプログラムは, 付録 A.4.2 である.

図 4.5 に 3 ノードの制御ネットワーク A の二次反応機構と 2 段階反応機構の多安定性のパラメータエリアの比較を示す. 制御ネットワーク A に関して同様のグラフを図 4.5 の結果から, 3 ノードでも 2 つの反応機構の双安定性出現に関する性質は, よく似ているが, 二次制御の方がそのパラメータ範囲がわずかに広いことが示された. また, 制御ネットワー

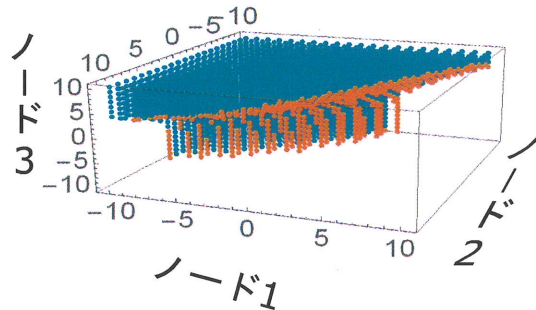
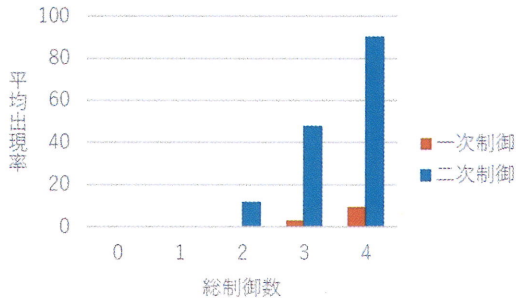


図 4.5: 二次反応機構と 2 段階反応機構の 3 ノードの制御ネットワーク A の多安定性のパラメータ領域の比較. 図 3.6 の 3 ノードのネットワーク A において双安定性の出現したパラメータの位置を図示したものである. 縦軸は, ノード 1 のパラメータの値, 横軸は, ノード 2 のパラメータ値である. パラメータの値は全て底 2 の対数目盛としている.

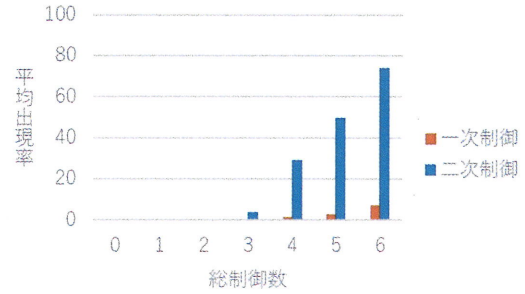
ク A は, 2 ノードで多安定性が出現した互いに正の構造を含んでおり, 制御ネットワーク D は, 2 ノードで多安定性が出現した互いに負の構造を部分的に含むことがわかった.

以上の解析結果より, 2 ノードでは, 2 段階反応機構は, 二次反応機構より双安定性を示すパラメータの範囲が減少していることがわかった. これらのパラメータの値に関して, 二次制御反応機構で双安定性が出現している部分は, 2 段階反応機構で双安定性が出現している部分を包含していることもわかった. 3 ノードでは, 双安定性が出現した制御ネットワークは, 双安定性を示した 2 ノードネットワークを部分ネットワークとして含むことが示された. それらの制御ネットワークも, 2 ノード同様にパラメータの値に関して, 二次反応機構で双安定性が出現している部分は, 2 段階反応機構で双安定性が出現している部分を包含していることが示された. 2 ノードと 3 ノードの一次および二次反応機構をもつ制御ネットワークについて網羅的に解析した [29]. ただし, 制約条件が異なるため 2 段階反応機構の解析対象制御ネットワークとは異なる. 2 ノードは図 3.8 の制御ネットワーク A~J, 3 ノードは図 3.9 の一次と二次のみの制御を受けるため, 2 ノードは合計 20 個, 3 ノードでは, 178 個の制御ネットワークが解析対象となる. 各ノードのパラメータの値を 2 ノードは独立に 2^{-10} から 2^{10} の 21 個の値の範囲, つまり $21^2 (= 441)$, 3 ノードは独立に 2^{-5} から 2^5 の 11 個の値の範囲, つまり $11^3 (= 1331)$ の組合せに対して解析した.

図 4.6 に一次および二次反応機構のフィードバック反応経路の制御数と多安定性について示す. 一次制御のみの構造をもつ場合, 二次制御のみの構造をもつ場合 2 つの出現率をグラフで示している. ノード数に関係なく, 総制御数が増加すると多安定性の出現率が増加することが示された. 表 4.3 に 2 ノードの一次および二次反応機構の多安定性の出現率を示す. 二次反応機構の出現率は, ネットワーク A において 100 %, ネットワーク D において 87.8 % となるが, ネットワーク B およびネットワーク C は, 双安定性は出現しなかった. 2 ノードの一次反応機構の場合は, 図 3.8 の J と I で多安定性がみられ, それぞれのパラメータ値に関する出現率は 27.2 % と 10.4 % であった. 二次制御の場合は, B と C 以外で多安定性が出現した. 制御ネットワーク A, D, E, F, G, H, I および J の各パラメータ値に関する出現率は, 100 %, 87.8 %, 69.8 %, 42.0 %, 6.3 %, 28.3 %, 70.0



(a) 2ノードの解析結果



(b) 3ノードの解析結果

図 4.6: 一次および二次反応機構の制御ネットワークのフィードバック反応経路の制御数と多安定性. 図 3.8 と図 3.9 の制御ネットワークで解析した. (a) は 2 ノード, (b) は 3 ノードの総制御数と多安定性の平均出現率を示したグラフである. 横軸は正と負の制御の総数である総制御数, 縦軸は平均出現率である.

表 4.3: 2 ノードの二次反応機構の制御ネットワークの多安定性の出現率 (%). パラメータを $2^{-10} \sim 2^{10}$ とした場合の図 3.8 の 2 ノード制御ネットワークにおける多安定性の出現数を表に示す. 解が 2 つまたは 3 つ得られた場合に多安定性が出現したとみなしている. 括弧内の数字は一次反応機構の同じ制御ネットワークでの出現率である.

制御ネットワーク	出現率	制御ネットワーク	出現率
A	100.0(0)	B	0(0)
C	0(0)	D	87.8(0)
E	69.8(0)	F	42.0(0)
G	6.8(0)	H	28.3(0)
I	70.0(10.4)	J	100.0(27.2)

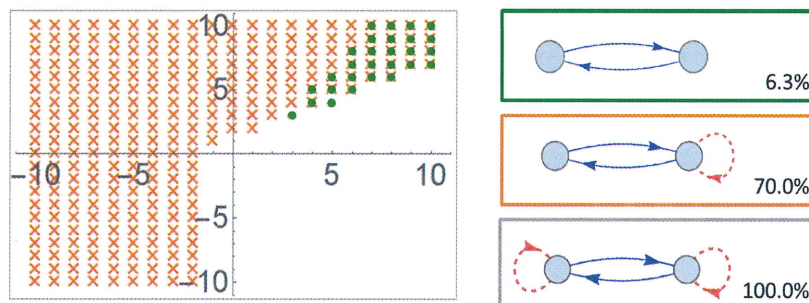


図 4.7: 一次および二次反応機構の 2 ノードの互いに負の制御構造をもつ制御ネットワークで多安定性が出現するパラメータの範囲. 図 3.8 の G, I, J である. G が緑色の●, I がオレンジ色の×で示している. J は出現率が 100% であるため表示していない. 縦軸は, ノード 1 のパラメータの値, 横軸は, ノード 2 のパラメータ値である. パラメータの値は全て底 2 の対数目盛としている.

%および 100% である.

次に, ネットワークの構造を 3 種類に分類してパラメータ領域を解析した. 互いに負の構造をもつネットワークのパラメータ領域を図 4.7 に示す. 2 個の制御では, 大きい値の範囲 ($K_i \geq 2^3$) で集中して存在, 3 個の制御では, 第 4 象限以外の範囲で存在, 4 個の制御では全ての範囲 ($2^{-10} \leq K_i \leq 2^{10}$) で存在することがわかった.

図 4.8 より, 2 個の制御では, 2 個の制御では小さい値の範囲 ($K_i \leq 0$) で集中して存在, 3 個の制御では第 1 象限以外の範囲で存在, 4 個の制御では全ての範囲 ($2^{-10} \leq K_i \leq 2^{10}$) で存在することがわかった.

図 4.9 では, 一つの正および負の制御では正の制御数が出現に影響することがわかった.

3 ノードのフィードバック制御を含む制御ネットワーク, 一次制御のみ 74 個, 二次制御のみ 74 個を対象に解析した結果を図 4.10 に示す. 図 4.10 の結果より, 全て一次制御で多安定性を示す制御ネットワークは, 74 個のうち 16 個, 全て二次制御で多安定性を示す制御ネットワークは, 74 個のうち 56 個であった. 56 個の中 16 個では出現率 100% であることもわかった. このグラフより, 右上に進む程, バブルチャートが大きくなっていることがわかる. つまり, 一次制御も二次制御ともに総制御の増加は, 平均出現率の増加に関係していることがわかった. 特に, 制御数が増加するほど, バブルチャートが大きくなっているため, 多安定性の出現には正の制御数が影響することもわかった.

本節では, 2 ノードと 3 ノードの一次および二次反応機構をもつ制御ネットワークについて網羅的に解析した. 2 ノードの一次反応機構でも, 複数のフィードバックを含む場合には双安定性が出現した. 3 ノードでは, 二次反応機構の場合, 複数のフィードバック制御をもつ制御ネットワークでは, 単一のフィードバック制御ネットワークより多安定性が多く出現することが判明した. 特に正の制御数は出現率の増加に影響することもわかった.

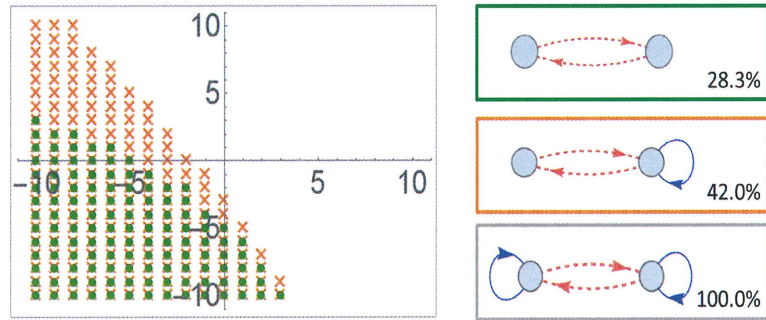


図 4.8: 一次および二次反応機構の 2 ノードの互いに正の制御構造をもつ制御ネットワークで多安定性が出現するパラメータの範囲. 図 3.8 の H, F, A である. H が緑色の●, F がオレンジ色の×で示している. A は出現率が 100 % であるため表示していない. 縦軸は, ノード 1 のパラメータの値, 横軸は, ノード 2 のパラメータ値である. パラメータの値は全て底 2 の対数目盛としている.

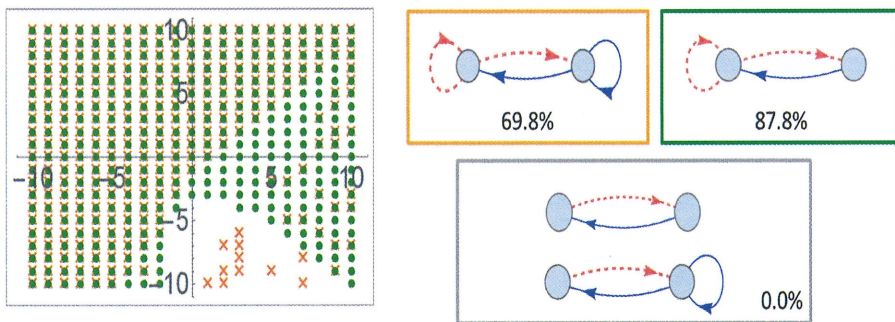


図 4.9: 一次および二次反応機構の 2 ノードの正と負の制御構造をもつ制御ネットワークで多安定性が出現するパラメータの範囲. 図 3.8 の E, B, C, B である. E が緑色の●, B がオレンジ色の×で示している. C, B は出現率が 0 % であるため表示していない. 縦軸は, ノード 1 のパラメータの値, 横軸は, ノード 2 のパラメータ値である. パラメータの値は全て底 2 の対数目盛としている.

4.2 一次, 二次および一次二次混在反応機構

2ノードと3ノードの一次および二次制御の混在反応機構をもつ制御ネットワークについて網羅的に解析した [30,31]. ただし, 各ノードへの制御は正と負ひとつずつで次数が同じ制御ネットワークを解析対象とした. そのため解析対象となる制御ネットワークは, 2ノードでは, 図3.8の制御ネットワークA~Jの制御に一次と二次の可能性があるので, 図3.10の制御ネットワークを含む図3.11に示すような36個の制御ネットワークである. 各ノードのパラメータの値を2ノードは独立に 2^{-10} から 2^{10} の21個の値の範囲, つまり $21^2 (= 441)$ の組合せに対して解析した. 3ノードでは, 図3.9の制御ネットワークの制御に一次と二次の可能性があるので, 図3.12の制御ネットワークを含む図3.13に示すような572個の制御ネットワークを解析した. 各ノードのパラメータの値は, 独立に 2^{-10} から 2^{10} の21個の値の範囲の $21^3 (= 9,261)$ の組合せを解析した [30].

図4.11より, 2ノードおよび3ノードでは, ノード数に関係なく, 総制御数が増加すると多安定性の出現率が増加することが示された.

図4.12は, 一次および二次反応機構が混在した2ノードの制御ネットワークの多安定性を示す. 2ノードでは, 36個のうち20個で多安定性が出現し, 20個の中5個では出現率100%であった. 図4.12から, 制御の総数が増加すると出現率は増加し, 一次制御より二次制御のほうが出現率に強い影響を与えることが示された.

加えて, ネットワークの構造を3種類に分類してパラメータ領域を解析した. 互いに負の構造をもつネットワークのパラメータ領域を図4.13に示す. 互いに一次制御をする構造の多安定性が最も低く, 全て二次制御の構造で, 正の自己フィードバックと互いに負の制御をもつ場合の多安定性が最も高いことがわかった. 単一の構造をもつ2ノードの制御ネットワークでは, 一次および二次制御が混在した制御ネットワークが最も高い双安定性の出現率を持つことが分かった. また, 正の制御ネットワークでは, 1より小さいパラメータ値をノード1, ノード2で一つ以上含む場合, 双安定性が出現しやすいことが分かった. 負の制御ネットワークでは, 1より大きいパラメータ値をノード1, ノード2で含む場合, 双安定性が出現しやすいことが分かった. これらの結果より, 総制御数と反応次数の増加が多安定性に影響していることが判明した.

互いに正の構造をもつネットワークのパラメータ領域を図4.14に示す. 互いに一次制御をする構造の多安定性が最も低く, 負の自己フィードバックと互いに負の制御をもつ場合の多安定性が最も高い. これらの結果より, 総制御数と互いに制御し合う反応次数の比率が多安定性に影響していることがわかった.

1つの正と負の構造をもつネットワークのパラメータ領域を図4.15に示す. 総制御数と互いに制御し合う反応次数の比率が多安定性に影響していることがわかった.

次に, 解析対象である一次および二次反応機構が混在した単一のフィードバック制御をもつ3ノードの制御ネットワークの解析を行った [31]. 表3.1より対象となる制御ネットワークは, 全部24個であり, 多く多安定性が示された制御ネットワークを図3.12に示す. 全て正の制御を受け且つ二次制御を一つ以上含む場合, 2個の負の制御と1個の正の二次制御を含む構成の場合のみに双安定性が見られた. 最も多く双安定性が見られたのは全て

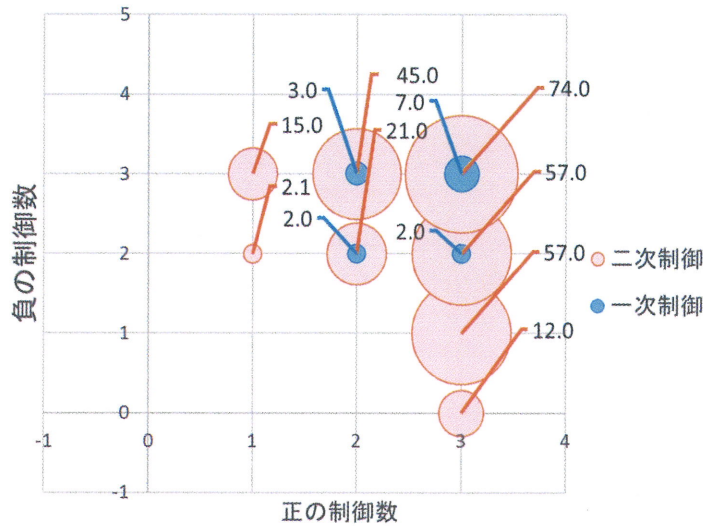


図 4.10: 一次および二次反応機構の3ノードの制御ネットワークの多安定性. 図 3.9 の制御ネットワークを解析した. 横軸は正の制御数, 縦軸は負の制御数である. ネットワーク毎に正の制御数と, 負の制御数を数え, ピンク色のバブルチャートは全て二次制御の構造をもつ制御ネットワーク, 水色のバブルチャートは全て一次制御の構造をもつ制御ネットワークの平均出現率を示している.



(a) 2ノードの解析結果

(b) 3ノードの解析結果

図 4.11: 一次および二次反応機構が混在した制御ネットワークの総制御数と多安定性の平均出現率. (a) は2ノード, (b) は3ノードの総制御数と多安定性の平均出現率を示したグラフである. 図 3.11 と図 3.13 の制御ネットワークを解析した. 横軸は正と負の制御の総数である総制御数, 縦軸は平均出現率である. 青色のグラフは一次制御のみの構造をもつ場合, オレンジ色のグラフは一次および二次制御が混在している構造をもつ場合, 緑色のグラフは二次制御のみの構造をもつ場合, 黄色のグラフは全体の制御の場合の4つの出現率をグラフで示している. 解析に用いたプログラムは, 付録の A.7 である.

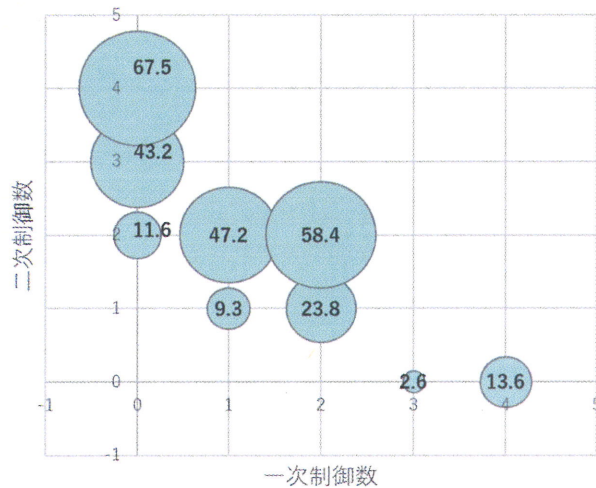


図 4.12: 一次および二次反応機構が混在した 2 ノードの制御ネットワークの多安定性. 図 3.11 を解析対象とした. 反応次数に対する多安定性の出現率を示す. 横軸は一次制御の総数で縦軸は二次制御の総数である. 制御ネットワークを, それが含む次数毎の制御数で分類し, 分類毎の出現率の平均値を円の大きさで示している.

が正に制御し, 二次制御を一つと一次制御を二つもつ制御ネットワーク A である. 2 番目に多く双安定性が見られたのは全てが正に制御し, 二次制御二つと一次制御一つもつ制御ネットワーク B である. 最も双安定性の出現が少なかったのが負の二次制御と負と正の一次制御一つずつもつ制御ネットワーク I である. また, 反応次数が混在している場合の負の制御 1 個および負の制御のみで構成されている制御ネットワーク A から J 以外は, 双安定性が見られなかった.

図 4.16 (a) ~ 図 4.16 (c) は, 全てが正に制御するネットワークとパラメータ領域であり, K_1, K_2, K_3 が 1 より小さい範囲に多く双安定性が出現していることが分かり, K_1, K_2, K_3 が増えていくのに対し, 双安定性の出現が減っていることが分かる. 全てのノードのパラメータ値 K_i が 1 より大きい時, 双安定性が出現しないことが共通して分かる. 図 4.16 (d) ~ 図 4.16 (f) は, 二次制御を 1 つ持つ 3 ノードの制御ネットワークとパラメータ領域であり, K_2, K_3 のパラメータ値が 1 より大きい範囲でのみ双安定性が出現していることが共通して分かる. 図 4.16 (g) ~ 図 4.16 (I) は, 二次制御を 2 つ持つ 3 ノードのネットワークとパラメータ領域であり, K_2, K_3 が 1 より大きい時, 双安定性が出現していることが共通して分かる. また, 図 4.16 (a) ~ 図 4.16 (c) より多く出現していることが分かる. 図 4.16 (j) は, 全て二次制御の 3 ノードのネットワークとパラメータ領域であり, K_2, K_3 が 1 より大きい時かつ K_1 のパラメータ値が 1 より小さい時, 双安定性が出現していることが分かる.

3 ノードでは, 全て正の制御を受け且つ二次制御を 1 個以上含む場合, 2 個の負の制御と 1 個の正の制御が二次制御 1 個以上含む構成の場合のみに双安定性が見られた. 全てが正に制御するネットワークでは, 全てのノードのパラメータ値が 1 より小さい時, 双安

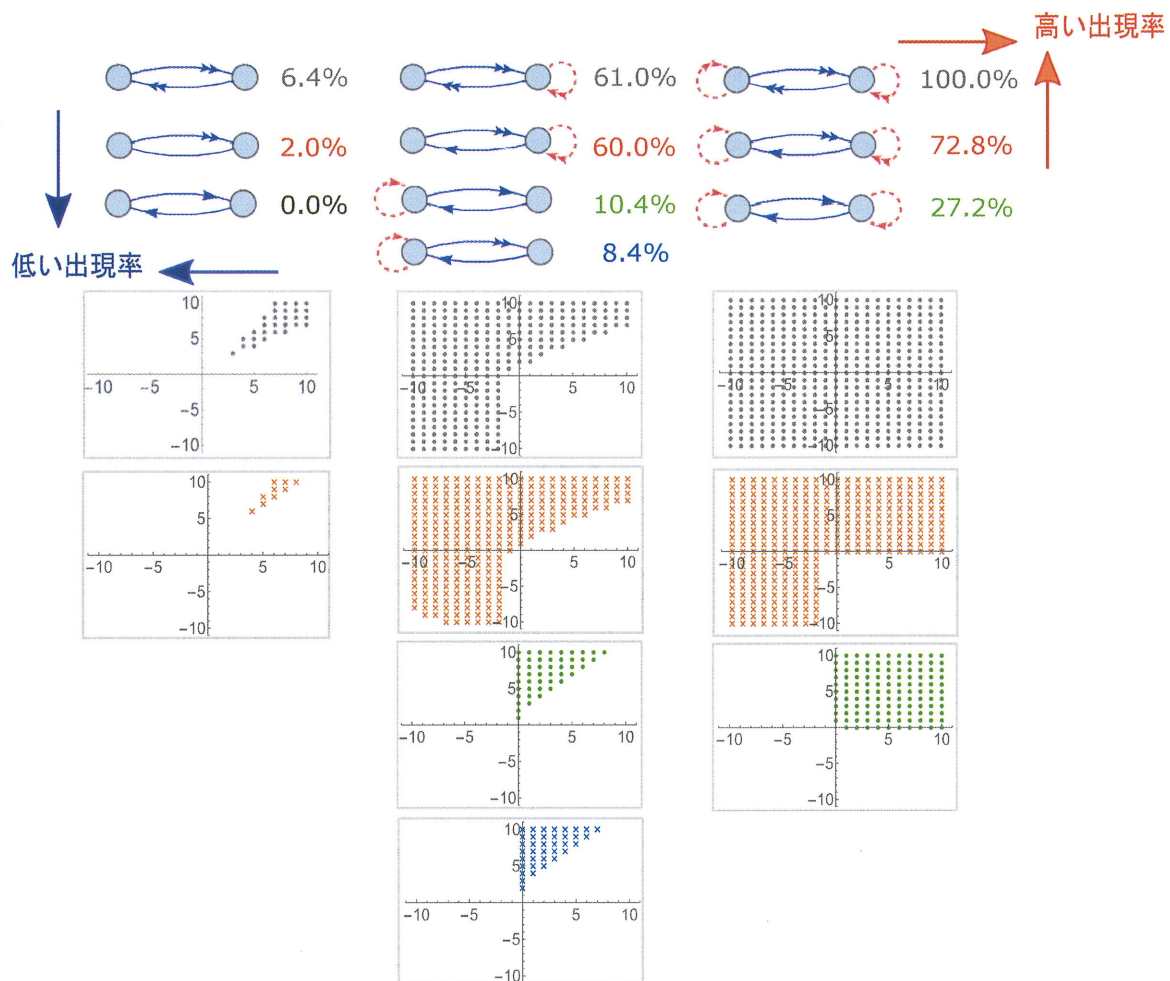


図 4.13: 一次および二次反応機構が混在した 2 ノードの互いに負の制御をもつ制御ネットワークの多安定性の出現率と多安定性が出現するパラメータ領域. 図 3.11 の 36 個の制御ネットワークのうち, 1~10 までの 10 個である. 上図のそれぞれの制御ネットワークの図の右の数値が多安定性の出現率である. また, 上図は制御構造により分類して配置している. 制御数が多いほど, また, 二次制御が多いほど出現率が高くなっている. 下図は出現率が 0.0% でないそれぞれの制御ネットワークで多安定性が出現したパラメータ領域を示す. それぞれ上図の位置と対応している. また, 出現率の数値の色と図のポイントの色を同じにしている.

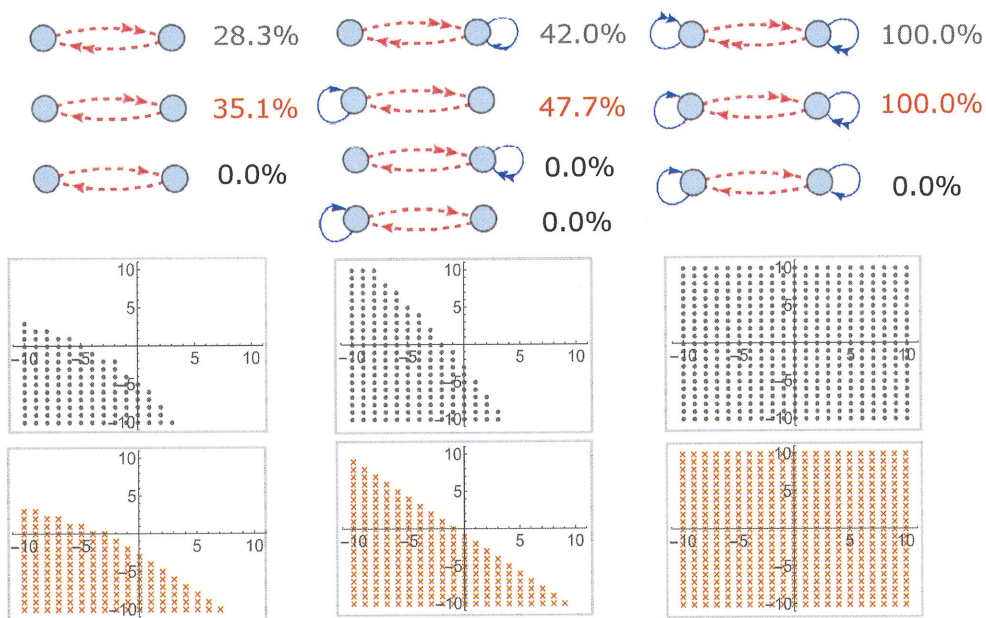


図 4.14: 一次および二次反応機構が混在した 2 ノードの互いに正の制御をもつ制御ネットワークの多安定性の出現率と多安定性が出現するパラメータ領域. 図 3.11 の 36 個の制御ネットワークのうち, 11~20 までの 10 個である. 上図のそれぞれの制御ネットワークの図の右の数値が多安定性の出現率である. また, 上図は制御構造により分類して配置している. 制御数が多いほど, また, 二次制御が多いほど出現率が高くなる傾向が読み取れる. 下図は出現率が 0.0 % でないそれぞれの制御ネットワークで多安定性が出現したパラメータ領域を示す. それぞれ上図の位置と対応している. また, 出現率の数値の色と図のポイントの色を同じにしている.

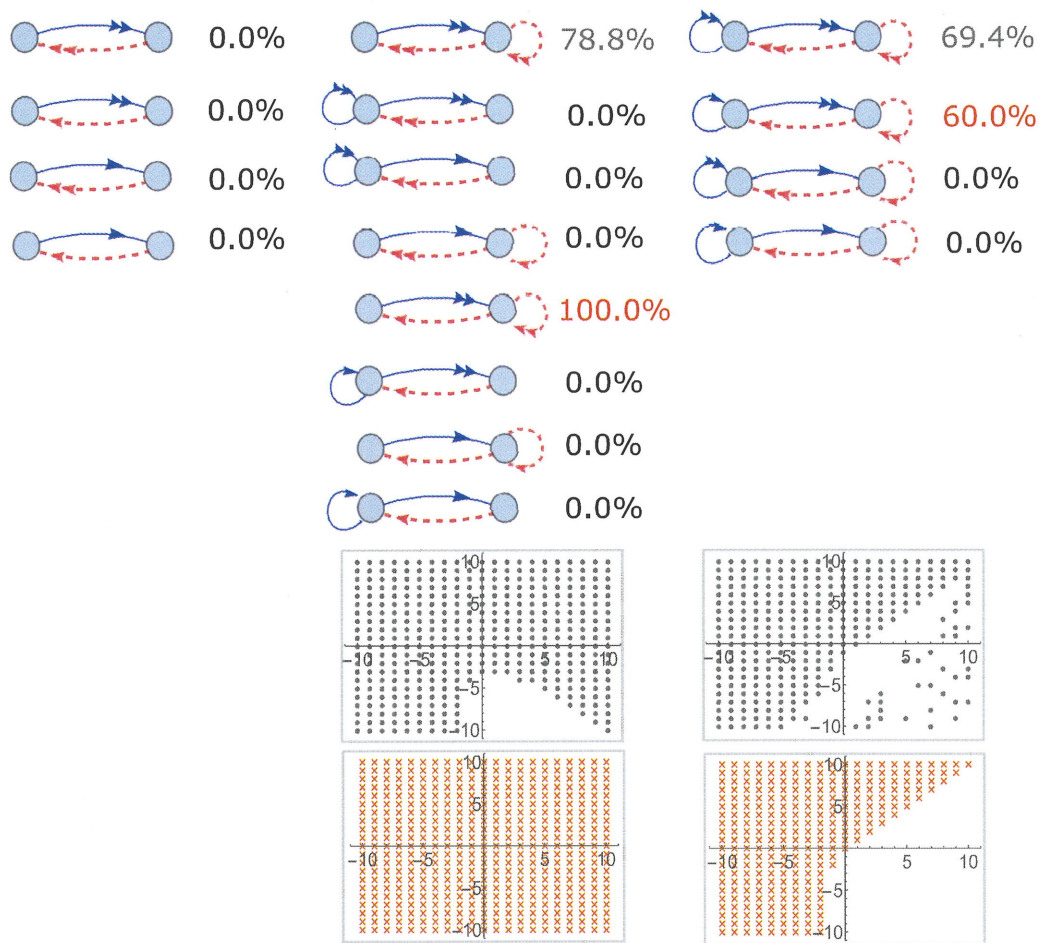
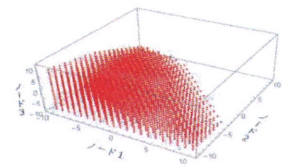
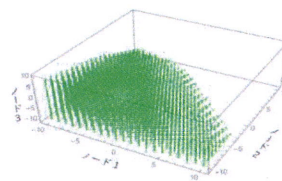


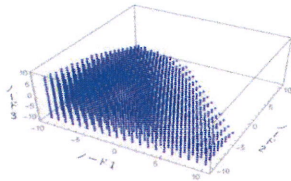
図 4.15: 一次および二次反応機構が混在した 2 ノードの正と負の制御をもつ制御ネットワークの多安定性の出現率と多安定性が出現するパラメータ領域. 図 3.11 の 36 個の制御ネットワークのうち, 21~36 までの 16 個である. 上図のそれぞれの制御ネットワークの図の右の数値が多安定性の出現率である. また, 上図は制御構造により分類して配置している. 制御数が多いほど, また, 二次制御が多いほど出現率が高くなる傾向が読み取れる. 下図は出現率が 0.0% でないそれぞれの制御ネットワークで多安定性が出現したパラメータ領域を示す. それぞれ上図の位置と対応している. また, 出現率の数値の色と図のポイントの色を同じにしている.



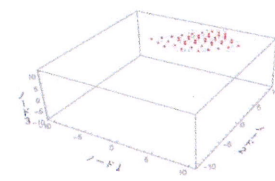
(a) 制御ネットワーク A



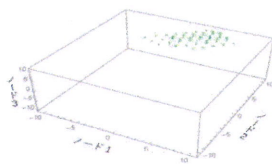
(b) 制御ネットワーク B



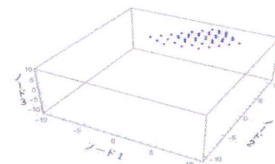
(c) 制御ネットワーク C



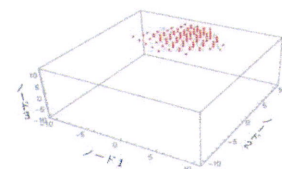
(d) 制御ネットワーク D



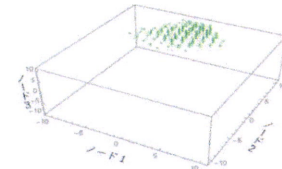
(e) 制御ネットワーク E



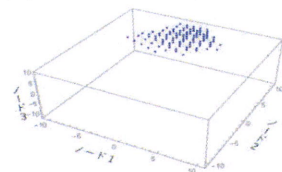
(f) 制御ネットワーク F



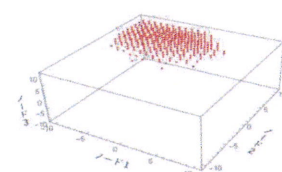
(g) 制御ネットワーク G



(h) 制御ネットワーク H



(i) 制御ネットワーク I



(j) 制御ネットワーク J

図 4.16: 一次および二次反応機構が混在した単一のフィードバック制御をもつ3ノードのパラメータ領域. 双安定性が現れた3ノードの制御ネットワーク A~J までのパラメータ領域を示している. 横軸はノード1のパラメータ値 K_1 の2の対数, 縦軸は, ノード2のパラメータ値 K_2 の2の対数, 高さの軸はノード3のパラメータ値 K_3 の2の対数を表している.

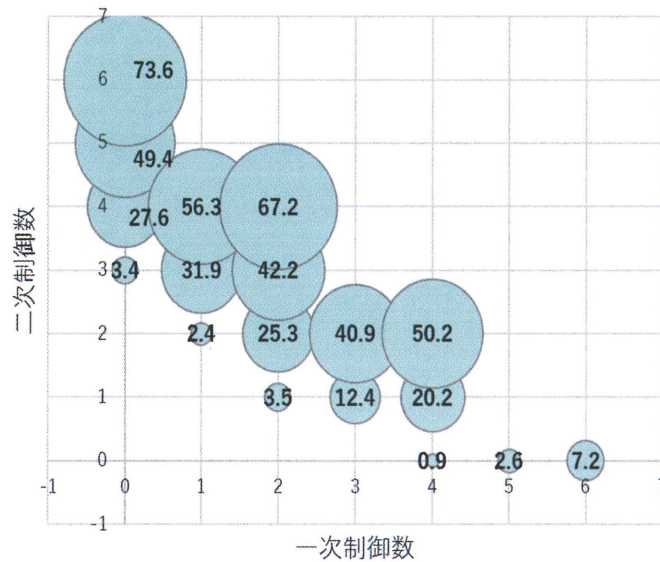


図 4.17: 一次および二次反応機構が混在した複数のフィードバック制御をもつ3ノードの制御ネットワークの多安定性. 反応次数に対する多安定性の出現率を示す. 横軸は一次制御の総数で縦軸は二次制御の総数である. 制御ネットワークを, それが含まれる次数毎の制御数で分類し, 分類毎の出現率の平均値を円の大きさに示している.

定性が出現し, ノードのパラメータ値が増えるにつれ双安定性の出現が減ることが分かった. 二次反応機構を1個持つ3ノードのネットワークと二次反応機構を二つ持つ3ノードのネットワークでは, 同じ位置に双安定性が出現したが, 出現数が低いと言える. 全て二次制御の3ノードのネットワークはノードの二つのパラメータ値が1より大きい時, 双安定性が出現しやすいことが分かった.

3ノードでは, 図3.13に示すような572の制御ネットワークが解析対象となる. 複数のフィードバック制御機構をもつ3ノードでは, 3ノードは独立に 2^{-5} から 2^5 の11個の値の範囲, つまり $11^3 (= 1331)$ の組合せに対して解析した [30]. 解析対象の572個の制御ネットワークのうち346個で多安定性が出現し, 346個の中94個では出現率100%であった. 図4.17から, 制御の総数が増加すると出現率は増加し, 一次制御より二次制御のほうが出現率に強い影響を与えることが示された. この結果は, 全て一次制御にした場合と全て二次制御とした場合に二次制御において多安定性が増加したという報告と整合性がある [29].

本節では, 2ノードと3ノードの一次および二次反応機構が混在した複数のフィードバック制御をもつ制御ネットワークについて網羅的に解析した. 制御の総数は出現率と正の相関があり, 制御次数が高次であると出現率に強い影響を与えることが示された.

第5章 制御構造と反応飽和度が多安定性に及ぼす影響

本章では、細胞内シグナル伝達系の2ノードを対象とした制御構造と反応飽和度が多安定性に及ぼす影響の解析結果について述べる。

5.1 単一のフィードバック制御をもつ制御ネットワーク

2ノード~4ノードの単一のフィードバック制御をもつ制御ネットワークについて網羅的に解析した [32,33]. ただし、各ノードへの制御は、正と負の一つずつとなる制御ネットワークである。解析対象となる制御ネットワークは、図3.7に示す。各ノードのパラメータの値を独立に $2^{-5}, 2^{-4}, \dots, 2^4, 2^5$ の11個の値の範囲、つまり、2ノードは $11^2 (= 121)$ 、3ノードは $11^3 (= 1,331)$ 、4ノードは $11^4 (= 14,641)$ の組合せに対して解析した。正規化ミカエリス定数は全てのノードで同じ値とし、 $2^{-5}, 2^{-4}, \dots, 2^4, 2^5$ の11個の値の範囲で動かした。

図5.1にミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の多安定性を示す。このグラフから、2ノードの平均出現率は、3ノードより高く、3ノードの平均出現率は、4ノードより高いことがわかった。つまり、フィードバック制御を受ける距離が遠いと多安定性の出現は減少することがわかった。また、ミカエリス定数 L の減少により非線形性が高くなるため多安定性の出現率は高くなることも解析より判明した。

図5.2に2ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の多安定性を示す。このグラフから、制御ネットワークの構造によらず、ミカエリス定数 L の減少により非線形性が高くなるため多安定性の出現率は高くなることがわかる。互いに正および負の制御する構造では、多安定性が出現し、ネットワークAでは最高約25.6%、Cでは最高約19.0%の多安定性が出現することがわかった。ネットワークCよりネットワークAの出現率が高いことから、正の制御は負の制御より多安定性の出現に影響があることがわかった。

図5.3に2ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の多安定なパラメータ空間を示す。このグラフより、互いに正の構造をもつネットワークAでは、 K_i の値が2つとも小さい領域、つまり活性化が不活性化より高くなる領域で多安定性が出現していることがわかる。また、互いに負の構造をもつネットワークCでは、 K_i の値が2つとも大きい領域、つまり活性化が不活性化より低くなる領域で多安定性が出現

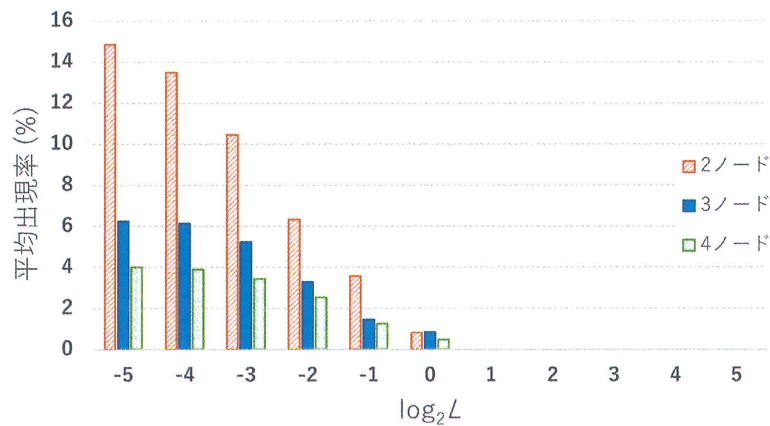


図 5.1: ミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の多安定性. 各ノードのミカエリス定数 L における平均出現率を示したグラフである. 横軸は, ミカエリス定数 L の底 2 とし, 縦軸は平均出現率である. 2 ノードはオレンジ色, 3 ノードは青色, 4 ノードは緑色のグラフである.

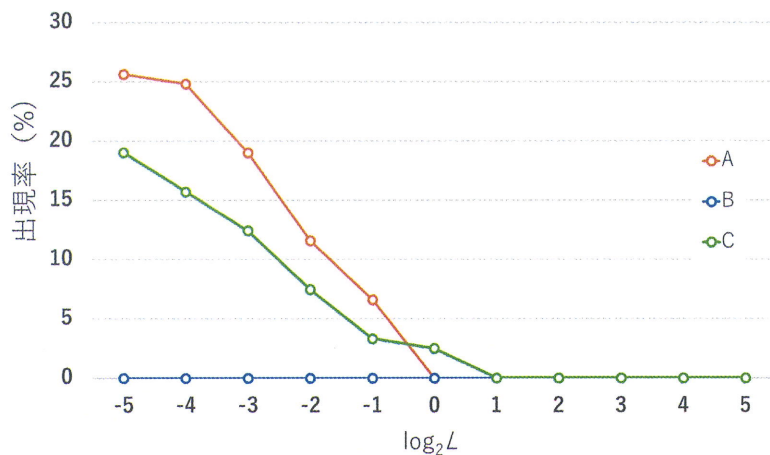


図 5.2: 2 ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の多安定性. 2 ノードのミカエリス定数 L における出現率を示したグラフである. 横軸はミカエリス定数 L , 縦軸は制御ネットワーク毎の出現率を示している. グラフに示す A~C は図 3.7 の制御ネットワーク A~C に対応している.

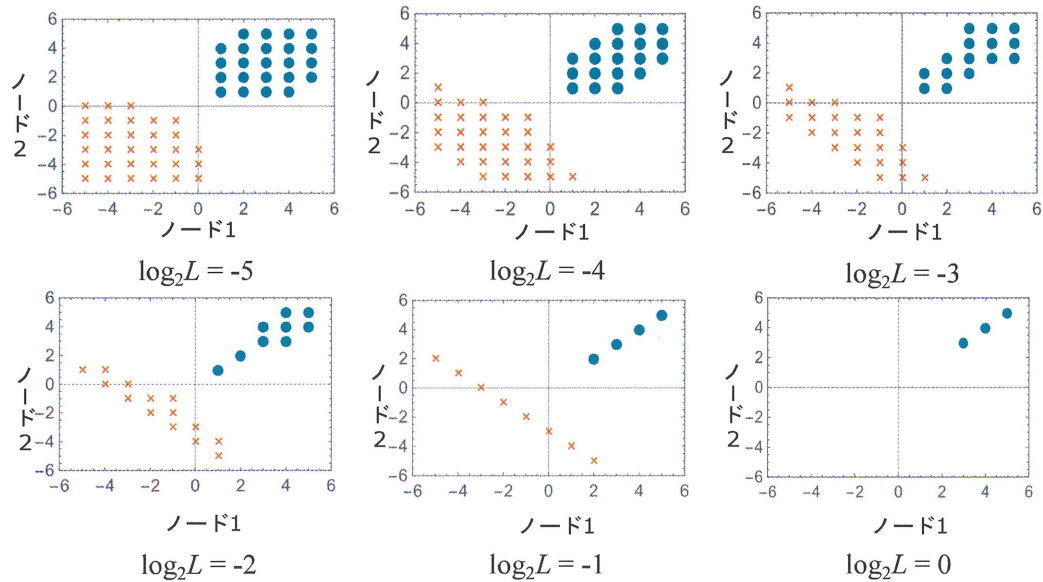


図 5.3: 2 ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の多安定なパラメータ領域. 2 ノードのミカエリス定数 L における多安定性が出現したパラメータ領域である. 横軸は, K_1 , 縦軸は K_2 で底を 2 とする対数で表現している. オレンジ色の \times と緑の \circ は, ネットワーク A とネットワーク C で多安定性が出現しているパラメータ領域である.

していることがわかる. ネットワーク C は, ミカエリス定数 L の小さい領域で多安定性が出現しているパラメータは, ミカエリス定数 L の大きい領域で多安定性が出現しているパラメータを包含している.

図 5.4 に 2 ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の安定な 2 平衡点の距離を示す. このグラフより, ミカエリス定数毎に, 2 つの安定な平衡点は値が近くなっていることがわかる.

図 5.5 に 3 ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の多安定性を示す. このグラフから, 制御ネットワークの構造によらず, ミカエリス定数 L の減少により非線形性が高くなるため多安定性の出現率は高くなることがわかる. 全て正の制御をする構造が最も多くの多安定性が出現し, ネットワーク D では最高約 15.4 %, F では最高約 10.4 % の多安定性が出現することがわかった. ネットワーク F よりネットワーク D の出現率が高いことより, 正の制御は負の制御より多安定性の出現に影響があることがわかった.

図 5.6 に 3 ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の多安定なパラメータ領域を示す. この結果より, 互いに正の構造をもつネットワーク D では, K_i の値が 3 つとも小さい領域, つまり活性化が不活性化より高くなる領域で多安定性が出現していることがわかる. また, 1 つの正と 2 つの負の構造をもつネットワーク F では, 正に制御しているときは, K_i の値が小さい領域, つまり活性化が不活性化より高

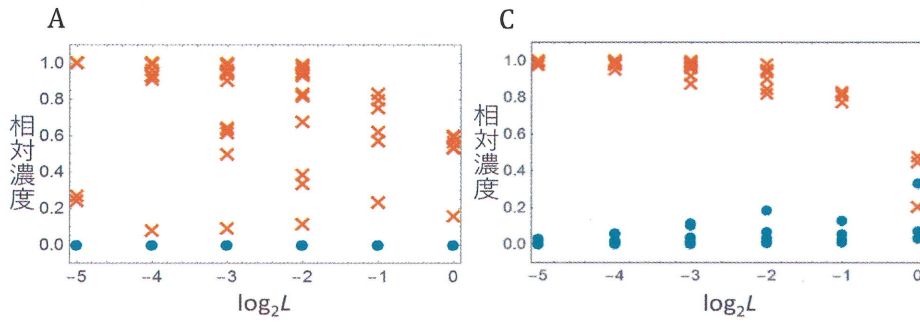


図 5.4: 2 ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の安定な 2 平衡点の距離。ネットワーク毎に安定な平衡点の値の組を示している。横軸は、ミカエリス定数の底を 2 とする対数、縦軸は、相対濃度である。オレンジ色の×と青の○は安定な平衡点の組である。

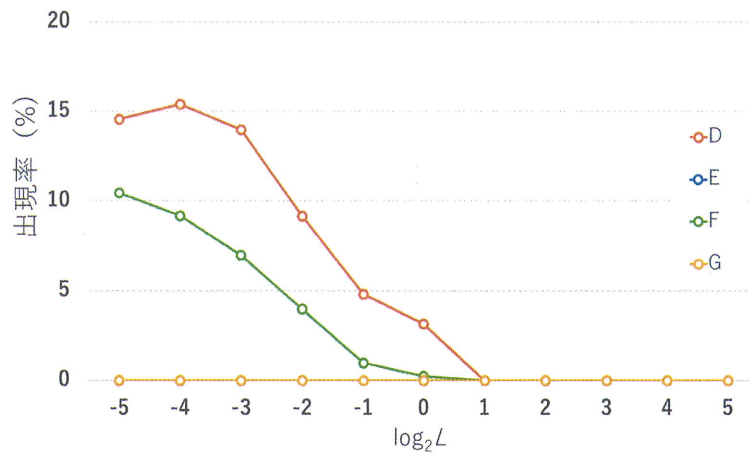


図 5.5: 3 ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の多安定性。3 ノードのミカエリス定数 L における出現率を示したグラフである。横軸はミカエリス定数 L 、縦軸は制御ネットワーク毎の出現率を示している。グラフに示す D~G は図 3.7 の D~G の制御ネットワークに対応している。

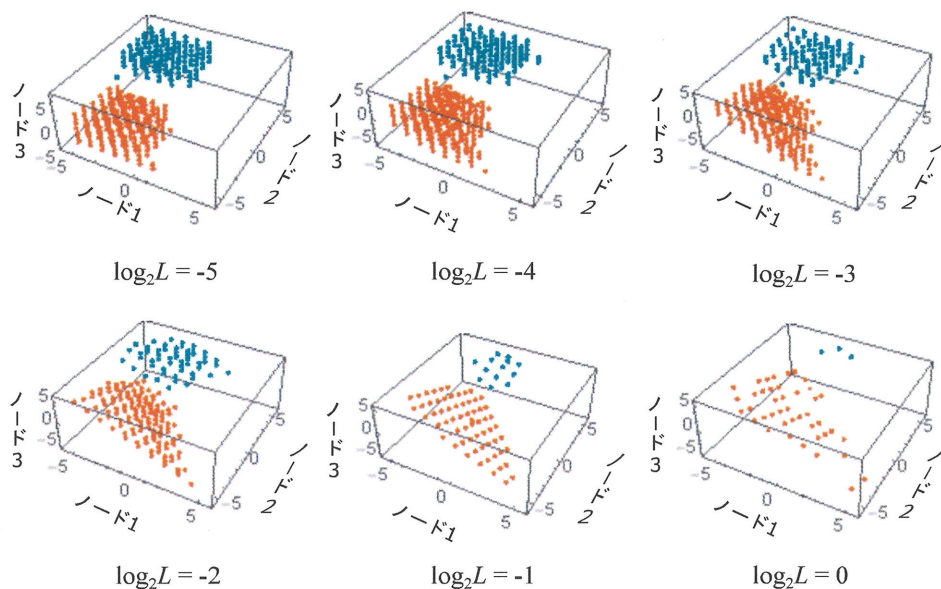


図 5.6: 3 ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の多安定なパラメータ領域. 3 ノードのミカエリス定数 L における多安定性が出現したパラメータ領域である. 横軸は, K_1 , 縦軸は K_2 , 高さは K_3 で底を 2 とする対数で表現している. オレンジ色の \times と緑の \circ は, ネットワーク D とネットワーク F で多安定性が出現しているパラメータ領域である.

くなる領域で, 負に制御しているときは, K_i の値が大きい領域, つまり活性化が不活性化より低くなる領域で多安定性が出現していることがわかる. ネットワーク F は, ミカエリス定数 L の小さい領域で多安定性が出現しているパラメータは, ミカエリス定数 L の大きい領域で多安定性が出現しているパラメータを包含している.

図 5.7 に 3 ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の安定な 2 平衡点の距離を示す. この結果より, 2 ノード同様にミカエリス定数毎に, 2 つの安定な平衡点は値が近くなっていることがわかる.

図 5.8 に 4 ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の多安定性を示す. このグラフから, ネットワーク H を除いて, 制御ネットワークの構造によらず, ミカエリス定数 L の減少により非線形性が高くなるため多安定性の出現率は高くなることわかる. 全て正の制御をする構造が最も多くの多安定性が出現し, ネットワーク H では最高約 10.0 %, J では最高約 5.8 %, K では最高約 5.5 %, M では最高約 4.6 % の多安定性が出現することがわかった. ネットワーク M よりネットワーク H の出現率が高いことより, 正の制御は負の制御より多安定性の出現に影響があることがわかった.

図 5.9 にミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の振動を示す. このグラフから, 3 ノードの平均振動率は, 4 ノードより高いことがわかった. つまり, フィードバック制御を受ける距離が遠いと振動の出現は減少することがわかった. また, ミカエリス定数 L の減少により非線形性が高くなるため振動の出現率は高くなることも

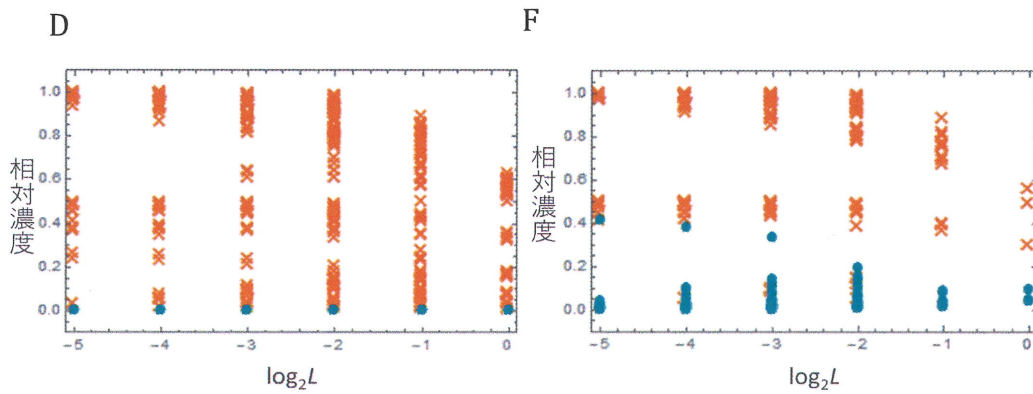


図 5.7: 3 ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の安定な 2 平衡点の距離。ネットワーク毎に安定な平衡点の値の組を示している。横軸は、ミカエリス定数の底を 2 とする対数、縦軸は、相対濃度である。オレンジ色の×と青の○は安定な平衡点の組である。

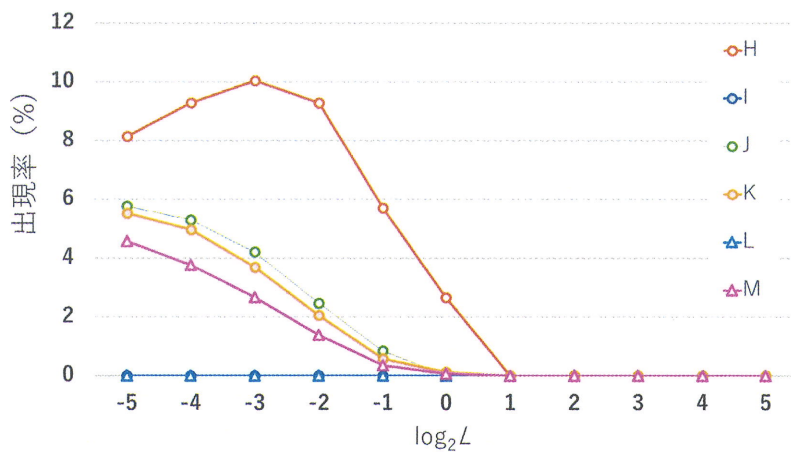


図 5.8: 4 ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の多安定性。4 ノードのミカエリス定数 L における出現率を示したグラフである。横軸はミカエリス定数 L 、縦軸は制御ネットワーク毎の出現率を示している。グラフに示す H~M は図 3.7 の制御ネットワーク H~M に対応している。

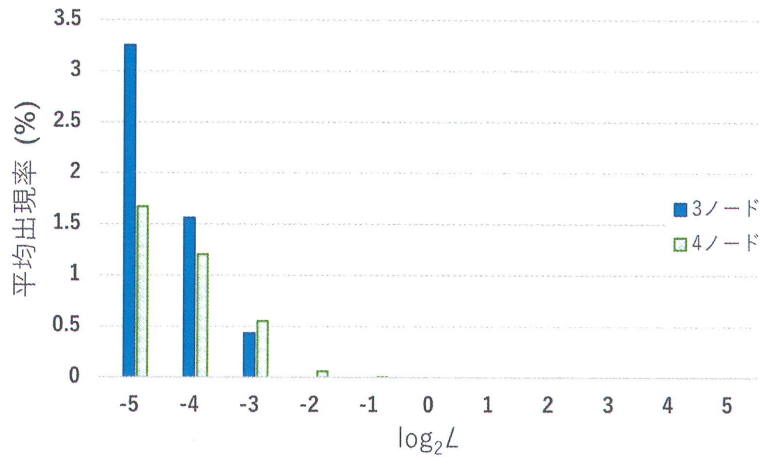


図 5.9: ミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の振動. 各ノードのミカエリス定数 L における平均振動率を示したグラフである. 横軸は, ミカエリス定数 L の底 2 とし, 縦軸は平均振動率である. 2 ノードはオレンジ色, 3 ノードは青色, 4 ノードは緑色のグラフである.

解析を行うことで判明した.

図 5.10 に 3 ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の振動を示す. 図 5.10 のグラフから, 制御ネットワークの構造に依存せず, ミカエリス定数 L の減少により非線形性が高くなるため振動の出現率は高くなることがわかる. 2つの正と1つの負の構造が最も多くの振動が出現し, ネットワーク E では最高約 7.8 %, G では最高約 5.2 % の多安定性が出現することがわかった.

図 5.11 に [3 ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の振動のパラメータ領域を示す. 図 5.11 より, 2つの正と1つの負の構造をもつネットワーク E では, 正に制御しているときは, K_i の値が小さい領域, つまり活性化が不活性化より高くなる領域で, 負に制御しているときは, K_i の値が大きい領域, つまり活性化が不活性化より低くなる領域で多安定性が出現していることがわかる. また, 互いに負の構造をもつネットワーク G では, K_i の値が3つとも大きい領域, つまり活性化が不活性化より低くなる領域で振動が出現していることがわかる. ネットワーク G は, ミカエリス定数 L の小さい領域で振動が出現しているパラメータは, ミカエリス定数 L の大きい領域で振動が出現しているパラメータを包含している.

図 5.12 の解析の結果より振動が起きたミカエリス定数 L と 3つの K_i から求めたグラフである.

図 5.13 に 4 ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の振動を示す. このグラフから, 制御ネットワークの構造に依存せず, ミカエリス定数 L の減少により非線形性が高くなるため振動の出現率は高くなることがわかる. 1つの正と3つの負の構造が最も多くの振動が出現し, ネットワーク I では最高約 4.4 %, L では最高約 5.6 % の振動が出現することがわかった.

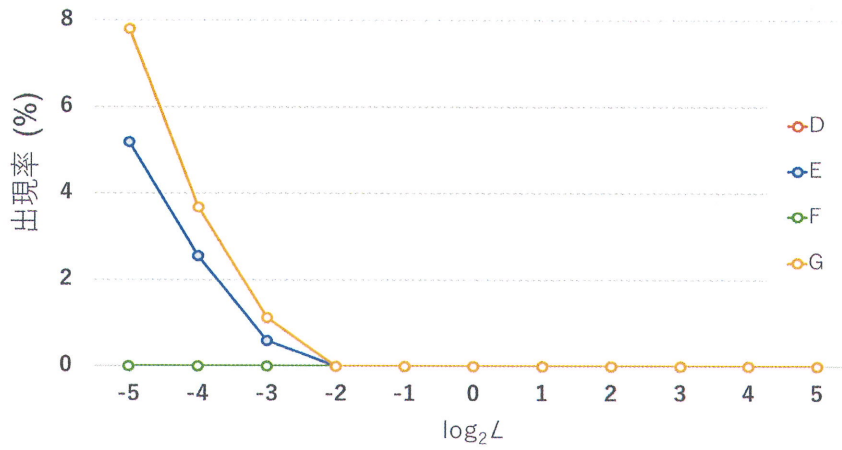


図 5.10: 3 ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の振動. 3 ノードのミカエリス定数 L における振動率を示したグラフである. 横軸はミカエリス定数 L , 縦軸は制御ネットワーク毎の出現率を示している. グラフに示す D~G は図 3.7 の制御ネットワーク D~G に対応している.

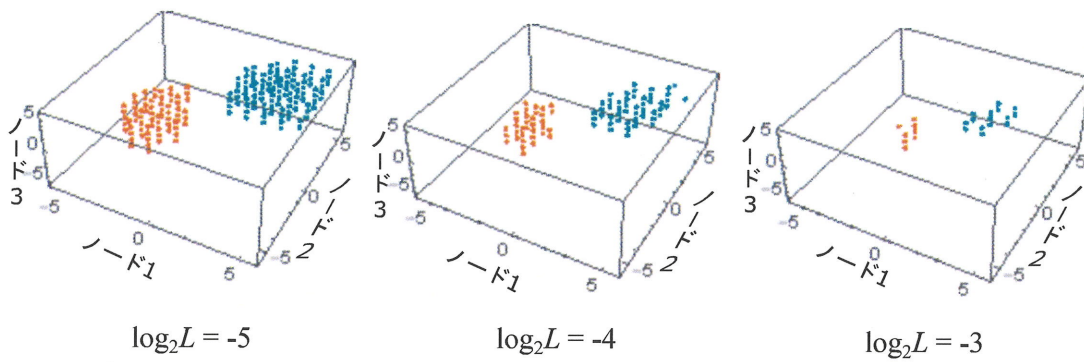


図 5.11: 3 ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の振動のパラメータ領域. 3 ノードのミカエリス定数 L における振動が出現したパラメータ領域である. 横軸は, K_1 , 縦軸は K_2 , 高さは K_3 で底を 2 とする対数で表現している. オレンジ色の \times と緑の \circ は, ネットワーク E とネットワーク G で多安定性が出現しているパラメータ領域である.

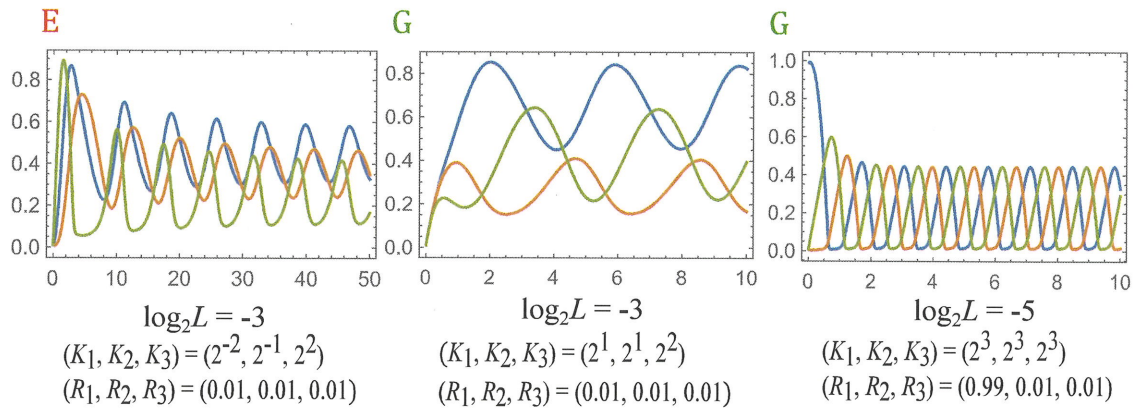


図 5.12: 3 ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の典型的なダイナミクス. 典型的な振動のダイナミクスである.

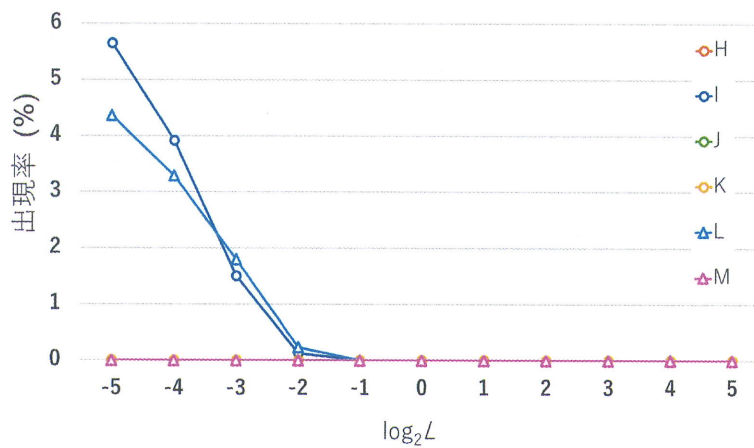


図 5.13: 4 ノードのミカエリス・メンテン型反応機構の単一のフィードバック制御の振動. 4 ノードのミカエリス定数 L における振動率を示したグラフである. 横軸はミカエリス定数 L , 縦軸は制御ネットワーク毎の出現率を示している. グラフに示す H~M は図 3.7 の制御ネットワーク H~M に対応している.

本節では、2ノードから4ノードの単一のフィードバック制御をもつ制御ネットワークについて網羅的に解析した。単一のフィードバック制御をもつ制御ネットワークは、フィードバック制御を受ける距離が遠いと多安定性の出現は減少することがわかった。ミカエリス定数の減少により非線形性が高くなるため多安定性の出現率は高くなり、親和性が高く、全て同一制御で構成されている制御ネットワークの場合、多安定性が起きやすいこともわかった。正の制御は負の制御より多安定性の出現に影響ががあり、非線形性が高い場合に多安定性が出現しているパラメータは非線形性が低い場合に多安定性が出現しているパラメータを包含していることもわかった。

5.2 2ノードの複数のフィードバック制御をもつ制御ネットワーク

2ノードの複数のフィードバック制御をもつ制御ネットワークについて網羅的に解析した [34,35]. ただし, 各ノードへの制御は, 高々正と負一つずつとなる制御ネットワークである. そのため対象となる制御ネットワークは図 3.8 に示す総数 10 個である. 各ノードのパラメータの値を独立に $2^{-5}, 2^{-4}, \dots, 2^4, 2^5$ の 11 個の値の範囲, つまり, $11^2 (= 121)$ の組合せに対して解析した. 正規化ミカエリス定数は全てのノードで同じ値とし, $2^{-5}, 2^{-4}, \dots, 2^4, 2^5$ の 11 個の値の範囲で動かした.

図 5.14 にミカエリス・メンテン型反応機構の 2 ノードの複数のフィードバック制御の多安定性を示す. 双安定性の出現率が高いネットワークは, F, G, H, I, J の 5 つのネットワーク, 双安定性の出現率がゼロまたは僅かなものは, A, B, C, D, E の 5 つのネットワークである. さらに, 双安定性の出現率が高いネットワークは, 出現率が非常に高いネットワーク (I, J) と, 出現率が中程度のネットワーク (F, G, H) に分類され, 双安定性の出現率がゼロまたは僅かなネットワーク (D, E) は, 出現率が非常に低いネットワークと出現率がゼロなネットワーク (A, B, C) に分類される. 双安定性の出現率が非常に高いネットワークでは, ミカエリス定数の増加に伴い減少した後一定の出現率となり, 出現率が中程度のネットワークと出現率が非常に低いネットワークでは, ミカエリス定数が小さい値で出現した後にゼロとなる. 最も高い双安定性の出現率はミカエリス定数が 2^{-5} の時にネットワーク J では 100 %, I は 69.4 %, H は 25.6 %, G は 19.0 %, F は 16.5 %, E は 2^{-5} と 2^{-1} のとき 1.7 %, D は 1.7 % である.

図 5.15 に, K_1 と K_2 のパラメータ領域における多安定平衡点の分布を各制御ネットワークとミカエリス定数について示す. 図 5.15 の感度グラフは, 安定な平衡点の組に対するパラメータ値の変化の影響を定量化する感度を用いている. 感度の正確な定義は, 3 章 3 節で述べている. 青色の領域はゼロまたはわずかな感度に対応し, 安定した平衡点の集合は領域内でほとんど変化しないことを意味する. 対照的に, 赤色の領域は, 大幅に変化している場合に高い感度を示す. 制御ネットワーク G, H, および J は各ノードについて対称であるので, これらのネットワークのグラフは対角線に対して対称であることが留意点である. 相互の負のフィードバックで構成されたネットワーク G の K_i の値が小さい領域に多安定性が現れることがわかる. 対照的に, 多安定性が互いに正のフィードバックを含むネットワーク H および J の K_i の値が大きい領域に現れる可能性が高い. パラメータ K_i は不活性化の最大速度を活性化の最大速度の比であるため, K_i の大きい値と小さい値は, それぞれ負の制御と正の制御を行う. ネットワーク G とネットワーク H では, 互いの作用を活性化するパラメータ領域で双安定性が出現していることがわかる. 正の制御を受ける場合は, K_i は小さい値, 負の制御を受ける場合は, K_i は大きい値をとるエリアにおいて, 双安定性が出現している. ネットワーク F から J では, ミカエリス定数 L が大きい場合の双安定性が出現する領域は, ミカエリス定数 L が小さい場合の領域を包含していることもわかる. また, パラメータ領域に示されている水色の部分は, パラメータによって安定な平衡点の集合が変化をしないロバストなパラメータ領域であり, パラメータ領域は

2つの部分に分かれている。その部分では、感度が高い部分が境目となりエリア同士が遷移する。図5.15のネットワークHの $L=2^{-1}$ の場合、ノード1とノード2の固有値が-2と0であるため、その近傍にある点は無限となり白い部分で示されている。双安定性が示されている7つのネットワークの定常状態値を調べて、1と0のポイントとして分類した。1で示しているものは0.9以上、0で示しているものは0.1以下としている。定常状態値の表示に誤差が生じないものは、ネットワークHの左下と真ん中の(0,1)、ネットワークIの下部の(0,1)、ネットワークGの真ん中の(0,0)と(1,1)、上部の(0,0)である。

図5.16にミカエリス・メンテン型反応機構の2ノードの複数のフィードバック制御の振動の流線プロットを示す。振動するネットワークは、10個のネットワークのうち図3.8に示しているネットワークDだけである。図5.16より、 $K_2 = 2^0$ 以上の場合、単安定となり、極限周期軌道が存在しなくなることがわかる。 L 毎に見た場合 K_2 が大きくなるにつれ、振幅が大きくなるが、さらに K_2 を大きくすると振幅が小さくなる様子がわかる。つまり、 L 毎に振幅を最大にする K_2 の値が存在するように見える。また、リミットサイクルは(0,0)の点を通って、 (R_1, R_2) が小さい領域に現れている。図5.16より、リミットサイクル $(R_1, R_2)=(0.5, 0.5)$ から始めた場合、 R_1 の値が減少するとノード2が活性化され R_2 の値が増加する。増加したのちに R_2 の値が0まで減少すると、 R_1 も減少し、 $(R_1, R_2)=(0, 0)$ 付近になる。 $(R_1, R_2)=(0, 0)$ 付近になり、正の自己フィードバックが活動することで R_1, R_2 がともに増加することがわかる。

本研究で新たに提案・定義された平衡の出現率と感度により、安定な平衡点の出現の特徴を定量的に解析する。これらの量は、構造の影響とパラメーターの値を特性によく検出している。

表5.1に多安定状態の出現に及ぼすネットワーク構造の影響を示す。制御ネットワークの多安定性の出現率を比較すると、出現率の高いネットワークは相互の正または負のフィードバックの構造をもつものである。自己フィードバックは、多安定性の出現にさらに影響を与えるようである。相互フィードバックと自己フィードバックの効果は、表5.1のように要約することができる。すなわち、正の自己フィードバックや負の相互フィードバックが多安定性の出現率を引き上げる可能性がある一方で、正と負の相互の制御は出現率を低下させる傾向がある。自己フィードバックに関しては、他のノードからの正の自己フィードバックと負の制御の両方を伴うノードは、多安定性を促進することができる一方、他のノードからの負の自己フィードバックと正の制御の両方を伴うノードを含むネットワーク多安定性を抑制する。

互いのフィードバック制御に関しては、互いに正または互いに負で制御されているネットワークは、双安定の出現率を上げる傾向があり、互いに正と負で制御されているネットワークは、双安定の出現率を下げる傾向がある。自己フィードバック制御に関しては、あるノードに関して正の自己フィードバックと負のフィードバックを持つネットワークは双安定性の出現率を上げる傾向があり、あるノードに関して負の自己フィードバックと正のフィードバックを持つネットワークは双安定の出現率を下げる傾向がある。本研究同様に、互いに負で制御される構造、かつ、1つの自己フィードバックが正で制御される重要であると示されている [14]。また、同様のネットワーク構造を用いて、一過的な入力の変

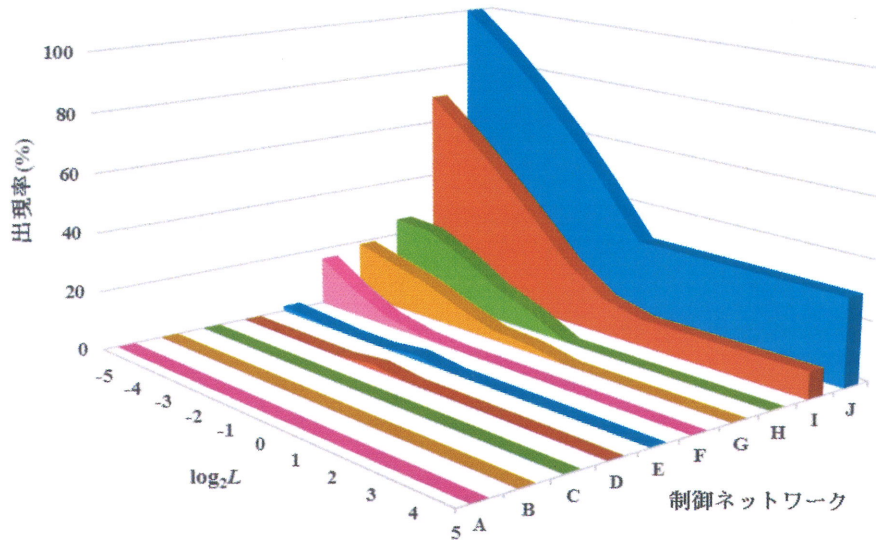


図 5.14: ミカエリス・メンテン型反応機構の 2 ノードの複数のフィードバック制御の多安定性. 2 ノードの双安定性の出現率を示したグラフである. 縦軸は, ミカエリス定数 L , 横軸は制御ネットワークの番号, 高さは制御ネットワーク毎の出現率を示している. 10 個のネットワークは, 双安定性の出現率が高いものと, 双安定性の出現率がゼロまたは僅かなものに分類される.

表 5.1: 多安定状態の出現に及ぼすネットワーク構造の影響. 上段の部分ネットワーク構造は多安定性の出現率を高くし, 一番下の列にあるものは逆に働く.

	相互フィードバック	自己フィードバック
促進		
抑制		

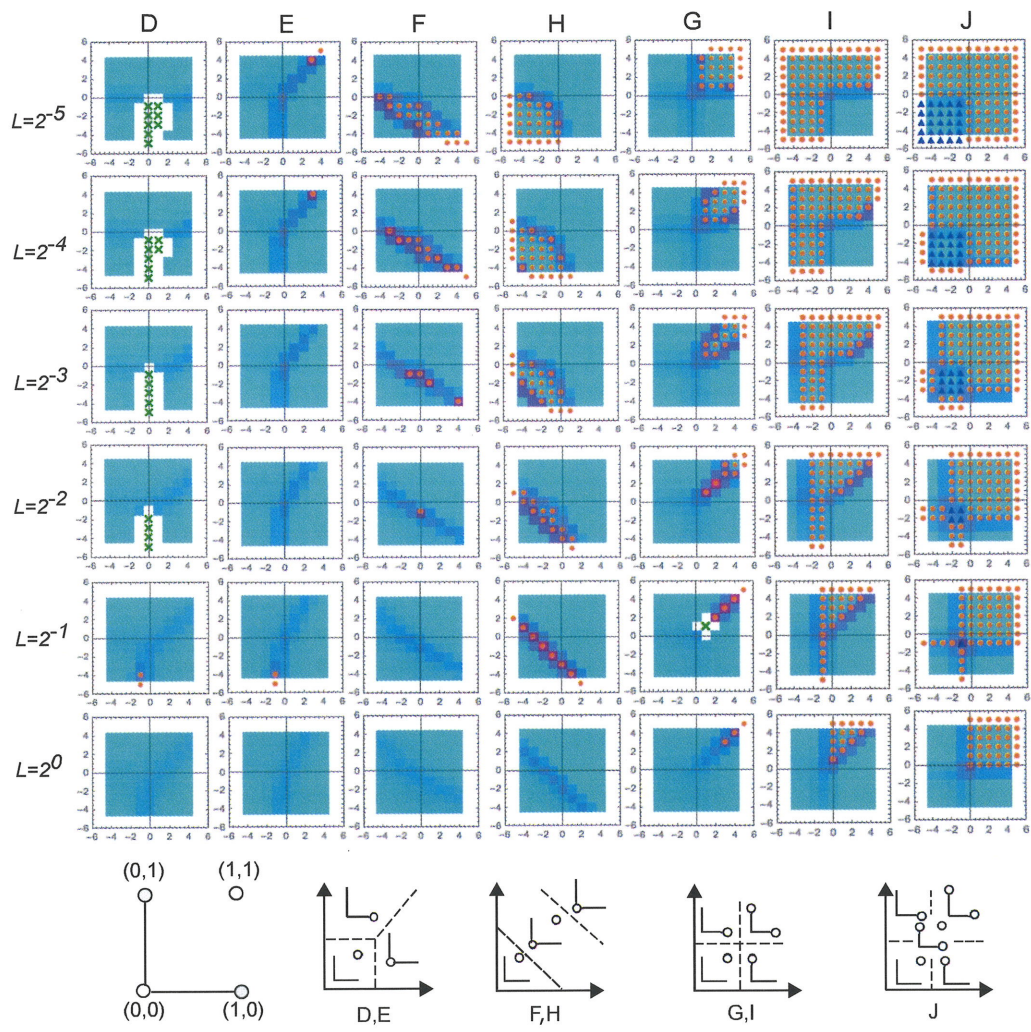


図 5.15: ミカエリス・メンテン型反応機構の 2 ノードの複数のフィードバック制御の多安定性のパラメータ領域。双安定性が示されたネットワークとそのパラメータ領域をミカエリス定数毎に示している。感度の高い部分が境目となり、状態が変化している。パラメータ領域における複数の安定した平衡点の分布と各制御ネットワークの感度は、多安定性が出現する D、E、F、G、H、I、および J の各制御ネットワークに対応する。L は正規化ミカエリス定数を示す。それぞれの小さなグラフの横軸および縦軸は、それぞれ K_1 および K_2 の底 2 の対数値を示す。オレンジ色の○と青色の△は、それぞれ双安定点と 3 安定点を特定します。ネットワーク D のグラフの緑色の×は、 2^5 と 2^{-2} の値の振動している点を示している。青色が低感度を示し、赤色が高感度を示すヒートマップとして、 K_1 および K_2 のパラメータ値の変化に対する平衡点のセットの感度がヒートマップとして表示される。ネットワーク H および $L = 2^{-1}$ についてのグラフの白い領域は、固有値の 1 つの実数部がゼロである点に対応する。最下段の 5 つのグラフは、左上の 5 つのグラフは、上のグラフの各明るい青色部分の安定した平衡点の値について、点を白い円で示している。右側の 4 つのグラフの部分グラフの (R_1, R_2) 平面における平衡点の値である。

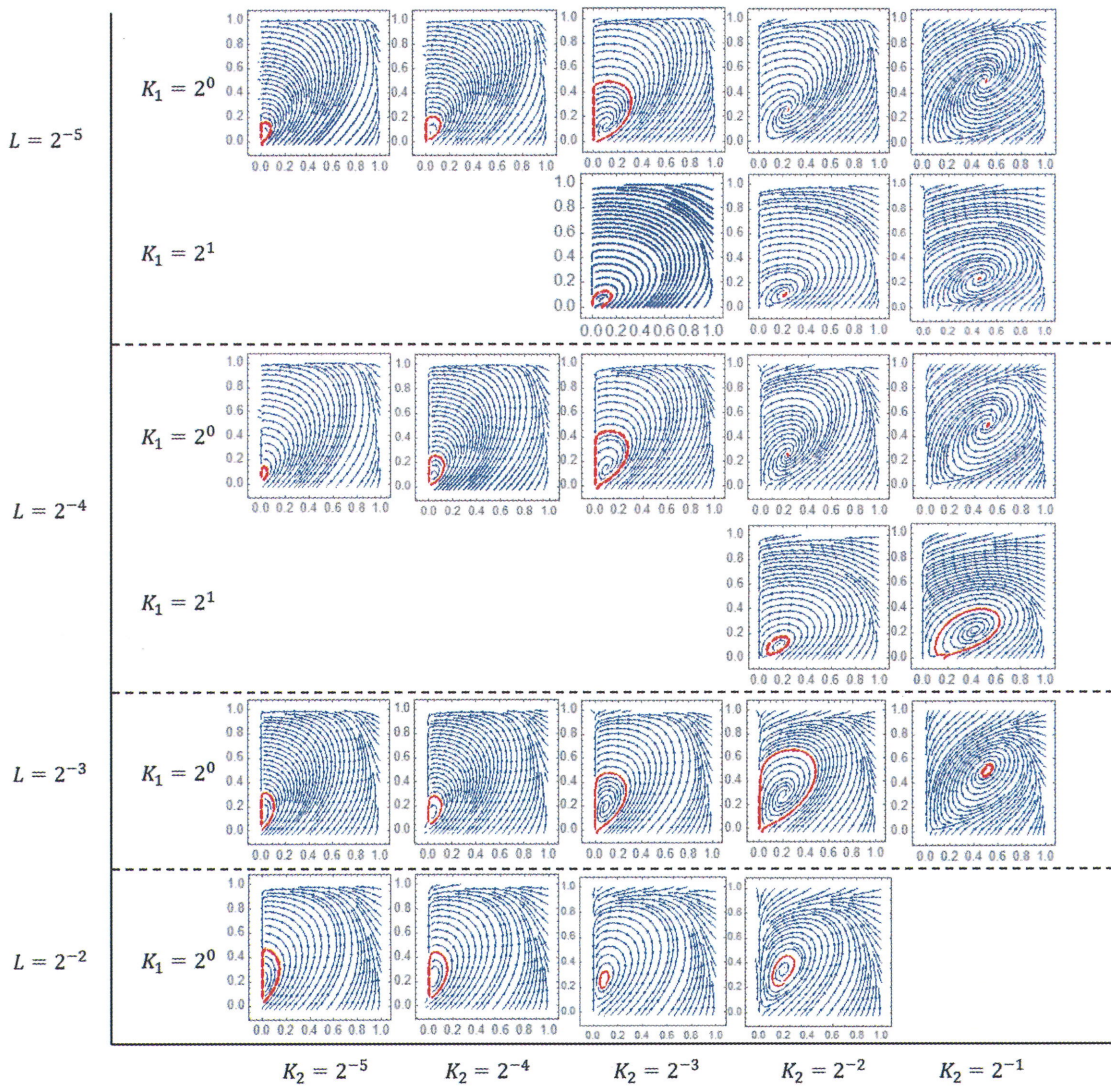


図 5.16: ミカエリス・メンテン型反応機構の 2 ノードの複数のフィードバック制御の振動の流線プロット. ネットワーク D における極限周期軌道をミカエリス定数毎に示している. 横軸は K_2 のパラメータ値を示し, 縦軸は正規化されたミカエリス定数 L の値を示す. K_1 のパラメータ値は 2^0 であり, 第 2 行の 3 つのグラフと第 4 行の 2 つのグラフを除き, K_1 の値はそれぞれの行に示されている. 各小さなグラフの横軸はノード 1 の活性化レベルである R_1 を示し, 縦軸はノード 2 の活性化レベルである R_2 を示す. 青い矢印は流線プロットを示し, 赤い矢印はリミットサイクルのコースを示す.

化に対する系の出力の時間パターンとその入力変化の差でなく、比に依存する特性を調査している研究もある [15]. 図 3.8 のネットワーク H では, 振動することが確認されているが, 同様のネットワーク構造をもつ反応機構は逐次ベイズ推定機構として細胞内で機能していることが示唆されている [44, 45].

本節では, 2 ノードの複数のフィードバック制御をもつ制御ネットワークについて網羅的に解析した. 2 ノードの複数のフィードバック制御をもつ 10 個のネットワークは, 双安定性の出現率が高いものと, 双安定性の出現率がゼロまたは僅かなものに分類される. 正の制御を受ける場合は, K_i は小さい値, 負の制御を受ける場合は, K_i は大きい値をとるエリアにおいて, 双安定性が出現している. ミカエリス定数 L が大きい場合の双安定性が出現する領域は, ミカエリス定数 L が小さい場合の領域を包含していることもわかる. 感度の高い部分が境目となり, 状態が変化している. それらは, 安定な定常状態値が変化する際に高い感度を示していることがわかった. また, ネットワークに関わらずミカエリス定数 L が小さくなると緩和時間が短くなる. ミカエリス定数が緩和過程に影響するパラメータ領域がネットワーク毎に異なり, 安定な平衡点が双安定から単安定に変化する領域と同様の領域で変化していることがわかった.

第6章 結論

細胞内シグナル伝達系の解析には、伝統的な生化学実験による方法に加え、数理モデルの構築と、コンピュータを用いたシミュレーション解析が行われている。しかし、生化学反応は、非線形であるため、理論的解析手法の構築が困難であり、特にシグナル伝達系はその制御対象である代謝系と比較して相互作用が複雑であるため、系統的網羅的な解析手法が確立されていない。そのため、解析対象の系毎にパラメータを固定し、コンピュータを用いたシミュレーションによる解析が行われているのが現状である。

本研究では、個別の系の解析ではなく、シグナル伝達系を伝達経路の酵素のサイクル反応系をノードとし、その制御関係をアークとする制御ネットワークとして定式化することにより、系を系統的網羅的に生成・解析する方法を提案した。解析対象としたのは系の多安定性である。多安定性とは、系の状態の安定な平衡点が複数あるという性質である。安定な平衡点は、定常状態とも呼ばれ、ランダムノイズによる動的変化における緩和過程の収束状態であり、正常状態や機能不全などの異なる生化学的状态に対応していると考えられるため、細胞内シグナル伝達系の多安定性を解析することは生物学的に重要である。解析対象としたのは、2~4種の酵素から構成される細胞内シグナル伝達系である。それらは、2~4ノードの制御ネットワークによりモデル化される。サイクル反応系内の反応機構として、反応速度が基質と酵素の積に比例する一次反応機構と、基質と酵素の2乗に比例する二次反応機構、一次反応機構が二つ連なった二段階反応機構、および、ミカエリス・メンテン型反応機構を仮定した。一次反応機構はミカエリス・メンテン型反応機構の線形領域近似に対応し、二次反応機構はMAPKカスケード等にみられる2段階活性化機構の近似と考えることができる。制御ネットワークの各ノードは、酵素の最大活性化速度と最大不活性化速度の比をパラメータとして持つ。ミカエリス・メンテン型反応機構の場合は、それに加えてミカエリス定数がパラメータとなる。解析は、制御構造とこれらのパラメータ値に関して網羅的に行った。さらに空間点集合間の距離と感度を用いた安定点の遷移状態の可視化を行った。

一次、二次、及び、二段階反応機構から構成される制御ネットワークの解析の結果、以下のことが新たな知見として得られた。制御数が多い制御ネットワークほど多安定性が出現し易い。その影響は一次反応機構のノードへの制御より二次反応機構のノードへの制御数が多い方が多安定性の出現がし易い。また、2段階反応機構から構成される制御ネットワークは、多安定性の出現に関しては一次反応機構から構成される制御ネットワークより出現率が高く、二次反応機構から構成される制御ネットワークより低く多安定性が出現する。各ノードが持つパラメータ値に関しては、制御が強められる領域において多安定性の出現率が高くなる。一次反応機構は線形であり、2段階反応機構、二次反応機構の順に非

線形性が大きくなると考えられるので、これらの結果は系の非線形性が高いほど多安定性
が出現し易くなることを示唆している。

陽に非線形性の強さに対応するミカエリス定数をパラメータとして持つミカエリスメン
テン型反応機構を仮定した制御ネットワークの解析の結果、以下のことが新たな知見
として得られた。ミカエリス定数の値は酵素反応の反応飽和度に対応し、小さなミカエ
リス定数は高い反応飽和度に対応する。単一のフィードバック制御をもつ環状の制御ネッ
トワークでも小さなミカエリス定数、すなわち、高い非線形性を仮定すると多安定性が多
く出現する。また、ノード数が大きくなる、すなわち、フィードバック経路が長くなると
多安定性が出現し難くなる。環状のフィードバック構造の内部にフィードバックを追加し
た制御ネットワークでは環状の場合よりも多安定性の出現率が高くなる。また、環状の場
合同様に、小さなミカエリス定数、すなわち、非線形性が高いと多安定性の出現率が高
くなる。制御構造と多安定性の関係として、相互の正もしくは負の構造、正の自己フィー
ドバックは、多安定性の出現を促進する。正と負の相互の構造、負の自己フィードバック
は、多安定性の出現を抑制する。各ノードが持つパラメータ値に関しては、一次・二次・
二段階反応機構から構成される制御ネットワークの場合と同様に、制御が強められる領域
において多安定性の出現率が高くなる。これらの結果は一次・二次・二段階反応機構から
構成される制御ネットワークの場合から得られた知見、すなわち、高い非線形性は多安定
性の出現を促進することを示唆している。さらに、多安定性の出現率を高める部分ネッ
トワークの存在は、多安定性の出現率を内部のフィードバック構造から予測できる可能性を
示している。系が多安定な場合の安定な平衡点の値についても定量的に解析し、相互に正
のフィードバック制御をもつ制御ネットワークの場合は2ノードともに大きな値もしくは
小さな値、相互に負のフィードバック制御をもつ制御ネットワークの場合はどちらかが大
きな値で安定な平衡点の値をとる。また、振動現象が生じる制御構造とパラメータ領域に
ついて解析し、多安定性の出現と同様に、その出現には高い非線形性が必要なことを示
した。

提案した制御ネットワークによる解析手法は、反応回路合成の素子反応系のスクリー
ニング手法として応用できる。また、本研究で見つかった多安定制御ネットワークはメモ
リ、振動する制御ネットワークはクロックとして使用できる可能性があり、さらに、進化
過程による反応回路生成の枠組みとして、遺伝子型としての隣接行列、表現型としての制
御ネットワークとして応用可能である。

今後の課題として、個々の制御ネットワークの多安定や振動などの制御可能性の解析が
必要である。また、解析を行う際のノード数の増加に伴い、計算の高速化と並列化などの
対策が必要である。固有値を用いた緩和過程やダイナミクスの解析などの課題もある。ま
た、現状は2ノードの解析データを可視化することは可能であるが、3ノード以降の高次
元データを可視化することができていない。2ノードのデータの可視化は2次元で表現す
ることが可能であるが、3ノードは3次元の可視化が必要となり、ノード数が増加する毎
に可視化する次元が増加する。

謝辞

本研究をまとめるにあたって多くの方にお世話になりました。この場を借りて、感謝の意を述べさせていただきます。まず、指導教員の仲 隆先生（九州産業大学 理工学部 情報科学科 教授）には、自由な雰囲気のもと、研究環境と学会発表を行う機会をたくさん与えて頂きました。ならびに修士・博士論文において懇切丁寧なご指導、ご鞭撻を賜りましたことを心から感謝致します。

また、石田 健一先生（九州産業大学 理工学部 情報科学科 教授）、田中 康一郎先生（九州産業大学 理工学部 情報科学科 教授）には、博士論文に関する多くの御助言をいただきました。

私の大学院進学、論文に関する在学中の学生生活に関しましてお世話になりました。成 凱先生（九州産業大学大学院 情報科学研究科長）、一ノ瀬 裕先生（前・九州産業大学大学院 情報科学研究科長）、坂本 直人先生（前・九州産業大学 情報科学部 情報科学科 教授）、宮崎 明雄先生（当時・九州産業大学情報科学部長 2014年11月死去）、井上 健太郎先生（宮崎大学 工学部 情報システム工学科 助教）に感謝致します。また、九州大学 薬学研究院 臨床薬学部門 生命薬学講座 医薬細胞生化学研究室の皆様、九州大学 理学研究院 生物科学部門 情報生物学講座 分子遺伝学研究室の皆様には、博士課程の3年間、研究室のテクニカルスタッフとして勤務するにあたり様々なお心遣いを頂きまして本当に有難うございます。卒業した皆様には卒業後も、多くの助言を頂きました。そして、同研究室の皆様には、終始に渡り研究活動について温かい協力で、多くのご指摘をいただきました。最後に、大学を飛び級後、大学院に進学させてくれた父と母には感謝致します。以上の皆様の助言・支援・協力・励ましに対し、深く感謝申し上げます。

参考文献

- [1] Ferrell, J. E: How regulated protein translocation can produce switch-like responses. *Trends in biochemical sciences*, **23**(12): pp. 461-465, December 1998.
- [2] Jeschke, M., Baumgartner, S., and Legewie, S: Determinants of cell-to-cell variability in protein kinase signaling. *PLoS computational biology*, **9**(12), e1003357, December 2013.
- [3] Kholodenko, B. N: Cell-signalling dynamics in time and space. *Nature reviews Molecular cell biology*, **7**(3), pp. 165-176, December 2006.
- [4] Volinsky, N., and Kholodenko, B. N: Complexity of receptor tyrosine kinase signal processing. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, **5**(8), a009043, 2013.
- [5] Byrne, K. M., Monsefi, N., Dawson, J. C., Degasperi, A., Bukowski-Wills, J. C., Volinsky, N., and Kida, K: Bistability in the Rac1, PAK, and RhoA signaling network drives actin cytoskeleton dynamics and cell motility switches. *Cell systems*, **2**(1), pp. 38-48, January 2016.
- [6] Mai, Z., and Liu, H: Random parameter sampling of a generic three-tier MAPK cascade model reveals major factors affecting its versatile dynamics. *PloS one*, **8**(1), e54441, January 2013.
- [7] Qiao, L., Nachbar, R. B., Kevrekidis, I. G., and Shvartsman, S. Y: Bistability and oscillations in the Huang-Ferrell model of MAPK signaling. *PLoS computational biology*, **3**(9), e184, September 2007.
- [8] Mobashir, M., Madhusudhan, T., Isermann, B., Beyer, T., and Schraven, B: Negative interactions and feedback regulations are required for transient cellular response. *Scientific reports*, **4**, 3718, January 2014.
- [9] Ramakrishnan, N., and Bhalla, U. S: Memory switches in chemical reaction space. *PLoS computational biology*, **4**(7), e1000122, July 2008.
- [10] Shah, N. A., and Sarkar, C. A: Robust network topologies for generating switch-like cellular responses. *PLoS computational biology*, **7**(6), e1002085, June 2011.

- [11] Tsai, T. Y. C., Choi, Y. S., Ma, W., Pomerening, J. R., Tang, C., and Ferrell, J. E: Robust, tunable biological oscillations from interlinked positive and negative feedback loops. *Science*, **321**(5885), pp. 126-129, July 2008.
- [12] Kuwahara, H., and Gao, X: Stochastic effects as a force to increase the complexity of signaling networks. *Scientific Reports*, **3**, 2297, July 2013.
- [13] Ma, W., Trusina, A., El-Samad, H., Lim, W. A., and Tang, C: Defining network topologies that can achieve biochemical adaptation. *Cell*, **138**(4), pp. 760-773, August 2009.
- [14] Yao, G., Tan, C., West, M., Nevins, J. R., and You, L: Origin of bistability underlying mammalian cell cycle entry. *Molecular systems biology*, **7**(1), 485, April 2011.
- [15] Adler, M., Szekely, P., Mayo, A., and Alon, U: Optimal regulatory circuit topologies for fold-change detection. *Cell systems*, **4**(2), pp. 171-181, February 2017.
- [16] *Wolfram Research Inc. Mathematica* (online), available from (<http://www.wolfram.com/mathematica/index.ja.html?footer=lang>)
- [17] Philip W. Kuchel, Gregory B. Ralston(1987).Schaum's outline series theory and problems of biochemistry.(Philip W. Kuchel, Gregory B. Ralston, 林 利彦 (翻訳) (1996). 酵素反応 (マダロウヒル大学演習. 生化学:2) オーム社).
- [18] 深見 泰夫 (2011) 『分子生物学 (基礎生物学テキストシリーズ:2)』 化学同人.
- [19] 山本 雅, 仙波 憲太郎 編集 (2004) 『キーワードで理解するシグナル伝達イラストマップ』 羊土社.
- [20] 岡崎 進, 岡本祐幸編集 (2002) 『生体系のコンピュータ・シミュレーション: タンパク質の構造をどこまで予測できるか (化学フロンティア:8)』 化学同人.
- [21] 林 勝哉, 坂本 直人 (1981) 『酵素反応のダイナミクス』 学会出版センター.
- [22] 江口 至洋 (2008) 『細胞のシステム生物学』 共立出版.
- [23] James E. Ferrell Jr., Eric M. Machleder.: The Biochemical Basis of an All-or-None Cell Fate Switch in *Xenopus* Oocytes. *Science*, **280**(5365), pp. 895-898, May 1998.
- [24] 柏木 香菜, 末吉 智奈佐, 仲 隆: 細胞内シグナル伝達系の制御特性解析の Routh-Hurwitz 判定基準による高速化, 第 16 回情報科学技術フォーラム講演論文集, G-005, 第 2 分冊 pp. 325-326, 2017 年 9 月.
- [25] 黒木 金太郎, 末吉 智奈佐, 仲 隆: 3 段階シグナル伝達系の制御関係が多安定性に及ぼす影響の網羅的解析, 平成 29 年度 第 25 回 電子情報通信学会九州支部学生会講演会・講演論文集, A-12, 2017 年 9 月.

- [26] Takashi N.: Systematic model construction and simulation analysis for regulatory networks in cellular signal transduction systems. The 25nd international conference on genome informatics (GIW2014), 2014年9月.
- [27] 末吉 智奈佐, 仲 隆: 細胞内シグナル伝達系の多安定性に関する網羅的解析, 情報処理学会 第78回全国大会論文集, 4E-02, pp. 4-429-430, 2016年3月.
- [28] 末吉 智奈佐, 仲 隆: 細胞内シグナル伝達系の反応機構が双安定性に及ぼす影響の網羅的解析, 2015年度 火の国情報シンポジウム 2016, 4B-04, pp. 1-7, 2016年3月.
- [29] 末吉 智奈佐, 仲 隆: フィードバック反応経路が細胞内シグナル伝達系の多安定性に及ぼす影響の網羅的解析, 第15回情報科学技術フォーラム講演論文集, G-002, 第2分冊 pp. 279-280, 2016年9月.
- [30] 末吉 智奈佐, 仲 隆: フィードバック反応経路と反応次数が細胞内シグナル伝達系の多安定性に及ぼす影響の網羅的解析, 電気・情報関係学会九州支部第69回連合大会論文集, 07-1A-03, 59, 2016年9月.
- [31] 鶴田 昌也, 末吉 智奈佐, 仲 隆: 細胞内シグナル伝達系の制御ネットワークによる定式化と反応次数が双安定性に及ぼす影響の解析, 第15回情報科学技術フォーラム講演論文集, G-001, 第2分冊 pp. 277-278, 2016年9月.
- [32] Sueyoshi, C. and Naka, T: Exhaustive analysis for the effects of network structures and reaction saturation levels on the multi-stability in cellular signaling systems, 5th International Conference on the Theory and Practice of Natural Computing - TPNC 2016, Poster presentations, December 2016.
- [33] Sueyoshi, C. and Naka, T: Exhaustive analysis for the effects of a feedback regulation on the bi-stability in cellular signaling systems, Computational Science and Its Applications - ICCSA 2017, Lecture Notes in Computer Science, 10404, pp. 159-173, Springer, Cham, July 2017.
- [34] 福永 隆之介, 末吉 智奈佐, 仲 隆: 細胞内シグナル伝達系の反応機構の近似が双安定性に及ぼす影響の網羅的解析, 平成28年度 第24回 電子情報通信学会九州支部学生会講演会・講演論文集, A-7, 2016年9月.
- [35] Sueyoshi, C. and Naka, T: Stability Analysis for the Cellular Signaling Systems Composed of Two Phosphorylation-Dephosphorylation Cyclic Reactions. Computational Molecular Bioscience, 7, pp. 33-45, September 2017.
- [36] 末吉 智奈佐, 仲 隆: 細胞内シグナル伝達系の制御ネットワークによる定式化とその安定な平衡点での緩和過程の網羅的解析, 第16回情報科学技術フォーラム講演論文集, G-006, 第2分冊 pp. 327-328, 2017年9月.

- [37] 末吉 智奈佐, 仲 隆: 細胞内シグナル伝達系のフィードバック反応経路がその安定な平衡点での緩和過程に及ぼす影響の網羅的解析, 電気・情報関係学会九州支部第70回 連合大会論文集, 12-1A-01, 111, 2017年9月.
- [38] Huang, C. Y., and Ferrell, J. E: Ultrasensitivity in the mitogen-activated protein kinase cascade. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **93**(19), pp. 10078-10083, September 1996.
- [39] Brightman, F. A., and Fell, D. A: Differential feedback regulation of the MAPK cascade underlies the quantitative differences in EGF and NGF signalling in PC12 cells. *FEBS letters*, **482**(3), pp. 169-174, October 2000.
- [40] Levchenko, A., Bruck, J., and Sternberg, P. W: Scaffold proteins may biphasically affect the levels of mitogen-activated protein kinase signaling and reduce its threshold properties. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **97**(11), pp. 5818-5823, May 2000.
- [41] Schoeberl, B., Eichler-Jonsson, C., Gilles, E. D., and Muller, G: Computational modeling of the dynamics of the MAP kinase cascade activated by surface and internalized EGF receptors. *Nature biotechnology*, **20**(4), pp. 370-375, 2002.
- [42] Hatakeyama, M., Kimura, S., Takashi, N., Kawasaki, T., Yumoto, N., Ichikawa, M., and Yokoyama, S: A computational model on the modulation of mitogen-activated protein kinase (MAPK) and Akt pathways in heregulin-induced ErbB signalling. *Biochemical Journal*, **373**(2), pp. 451-463, July 2003.
- [43] Heinrich, R., and Schuster, S: *The Regulation of Cellular Systems*. Springer, New York, 2012.
- [44] Kobayashi, T. J: Implementation of dynamic Bayesian decision making by intracellular kinetics. *Physical review letters*, **104**(22), 228104, June 2010.
- [45] Kobayashi, T. J., and Kamimura, A: Dynamics of intracellular information decoding. *Physical biology*, **8**(5), 055007, August 2011.

付録A 複数のフィードバックをもつ3ノードの制御ネットワーク

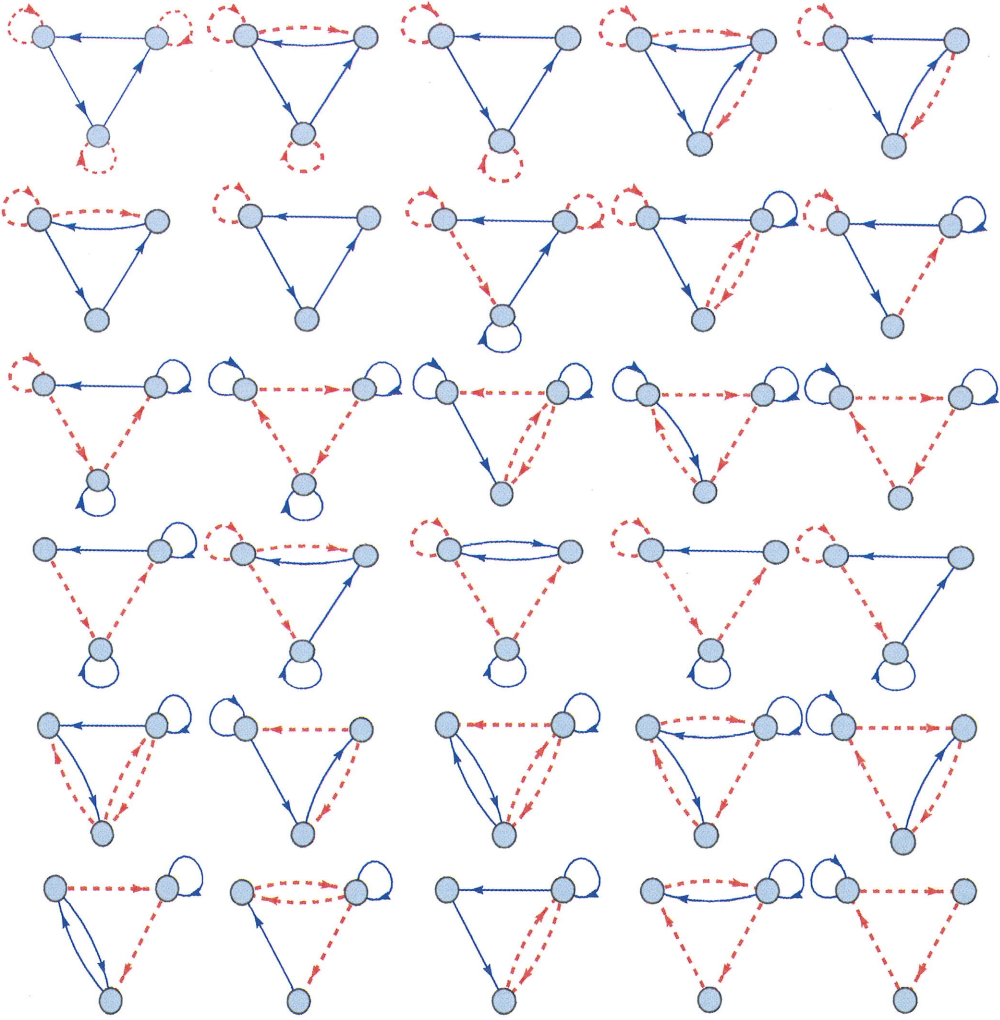


図 A.1: 複数のフィードバックをもつ3ノードの制御ネットワーク (1). 74個のうち30個を表示している.

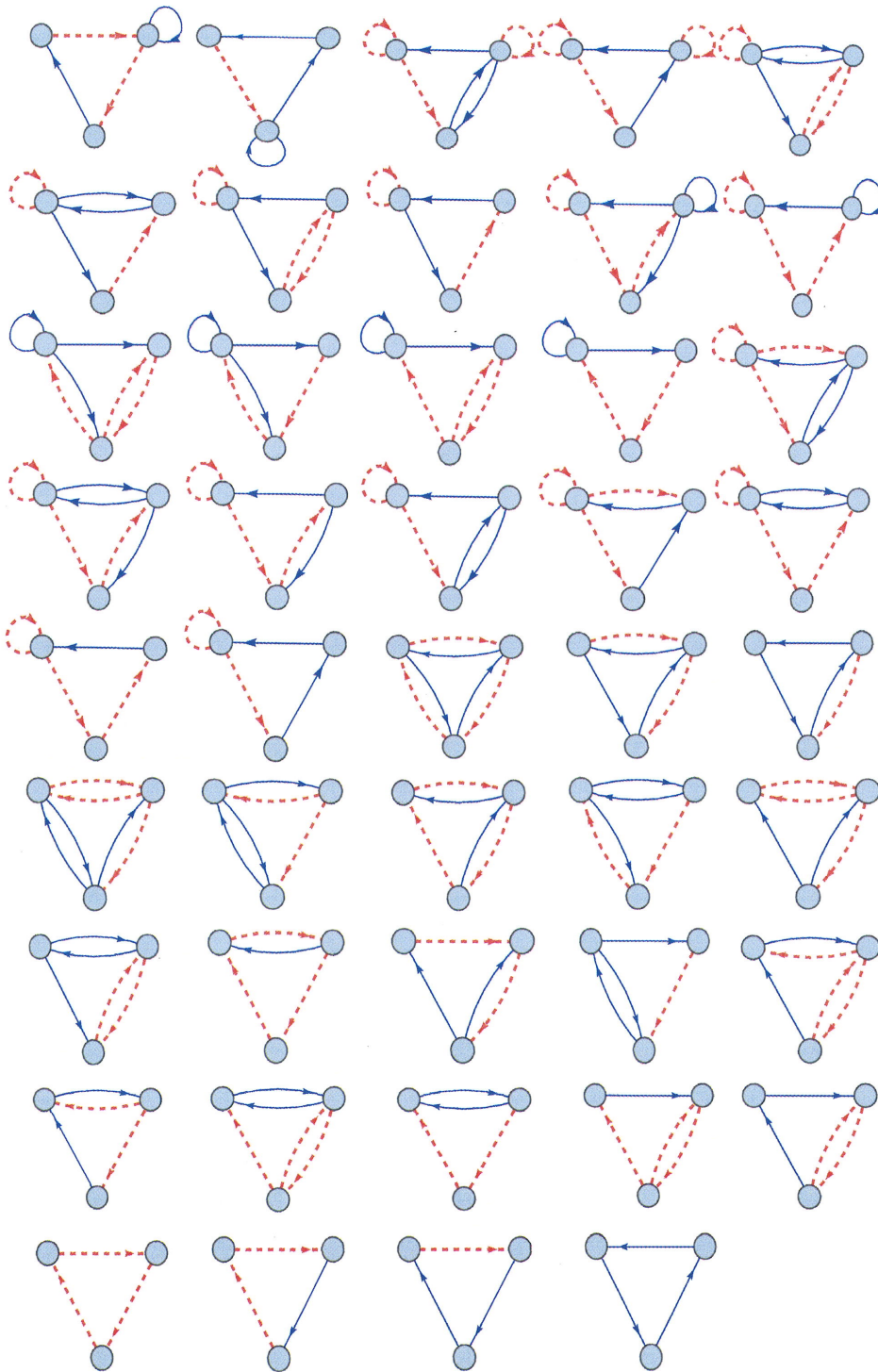


図 A.2: 複数のフィードバックをもつ3ノードの制御ネットワーク (2). 74個のうち44個を表示している.

付録B *Mathematica* プログラム

B.1 制御ネットワークの網羅的生成プログラム

B.1.1 単一のフィードバック制御をもつ制御ネットワーク

ノード数の値

```
size=2
```

制御行列の要素となる値のリスト

```
regulations={-1,1}
```

環状部分の制御要素の網羅的生成のための標準形の生成

```
canonicalize[cycle_] :=  
  First[MaximalBy[NestList[RotateLeft, cycle, Length[cycle] - 1], # &]];
```

関数 `canonicalize` で生成された環状部分の制御行列に重複があれば削除

```
genAllCycles[size_, regulations_] :=  
  DeleteDuplicates[canonicalize /@ Tuples[regulations, size]];
```

制御行列が入力されると対角行列を求めて左にシフトする

```
cycleToMatrix[cycle_] := RotateLeft /@ DiagonalMatrix[cycle];
```

ノード数と制御行列の要素のリストが入力されると全ての制御行列のリストが生成

```
genAllMatrix[size_, regulations_] :=  
  cycleToMatrix /@ genAllCycles[size, regulations];
```

B.1.2 複数のフィードバック制御をもつ制御ネットワーク

ノード数の値

```
size=2
```

制御行列の要素となる値のリスト形式

```
regulations={-1,1}
```

環状部分の制御要素の網羅的生成のための標準形の生成

```
canoCycle[cycle_] :=  
  First[MaximalBy[ NestList[RotateLeft, cycle, Length[cycle] - 1], # &]];
```

関数 `canonicalize` で生成された環状部分の制御行列に重複があれば削除

```
genAllMatrix[size_, regulations_] :=  
  cycleToMatrix /@ genAllCycles[size, regulations];
```

制御行列を入力すると要素を適切な位置に移動させた行列が生成

```
rotateMatrix[matrix_] :=  
  MapThread[RotateRight, {matrix, Range[Length[matrix]] - 1}, 1];
```

`pdm` はリスト形式の制御行列, `perm` はリスト形式の置換の位置を指定
置換に従い置換えた制御行列が生成

```
permuteMatrix[pdm_, perm_] :=  
  Permute[Permute[#, perm] & /@ pdm, perm];
```

`pdm` はリスト形式の制御行列を入力すると標準形の行列が生成

```
canonicalize[pdm_] := Module[{size = Length[pdm], perms},  
  perms = Permutations[Range[size]];  
  First[MaximalBy[permuteMatrix[pdm, #] & /@ perms, # &]]]
```

`pdm` はリスト形式の制御行列, `perm` はリスト形式の置換の位置を指定
全ての制御行列のリストが生成

```
genAllMatrix[size_, regCycle_] :=  
  Module[{regulations, cycs, rows, regMatrix, tregms, tregmss,  
    canoTregmss},  
    regulations = Append[regCycle, 0]; (*環状部分以外の要素の生成*)  
    cycs = genAllCycles[size, regCycle]; (*環状部分の制御行列の行の網羅的  
    生成*)
```



```

rows = Tuples[regulations, size];(*環状部分以外の制御行列の行の網羅的
生成*)
regMatrix =
  Tuples[Append[Table[rows, {size - 1}], cycs]];(*制御行列の網羅的生
成*)
tregms = Transpose /@ regMatrix;(*行と列を入替*)
tregmss = rotateMatrix /@ tregms;(*環状制御要素を適切な位置へ移動*)
canoTregmss = canonicalize /@ tregmss;(*各制御行列のを標準行列で置換
えて重複をなくす*)
DeleteDuplicates[canoTregmss]];

```

生成された全ての制御行列のリストを入力すると各ノードへの制御は高々正と負ひとつづつの制御ネットワークであるか判定を出力

```

condition[row_] :=
  Or[Count[row, 0] >= Length[row] - 1,
  And[Count[row, 0] >= Length[row] - 2, Total[row] == 0]];

```

生成された全ての制御行列のリストを入力すると各ノードへの制御は高々正と負ひとつづつで次数が同じものであるか判定を出力

```

targetPdmP[pdm_] := And @@ condition /@ pdm;

```

B.2 微分方程式とパラメータ値の生成, 定常状態値および安定性解析プログラム

サイクル反応系が1段である場合, step=1 と設定

```
step = 1;
```

aは基数, nはべき数であり a^n (nの値が負の場合は1を返す) の計算結果が出力

```
spow[a_, n_] := a^Max[n, 0];
```

Listableをシンボル spow の属性のリストに追加

```
SetAttributes[spow, Listable];
```

生成された制御行列を入力すると, 微分方程式の右辺のリストが生成

```
getFs[pdm_] := Module[{size},
  size = Length[pdm];
  rv = Array[r, size];
  (Times @@ spow[rv, pdm[[#]]] (1 - r[#]) -
   Times @@ spow[rv, -pdm[[#]]] r[#] k[#]) &
  /@ Range[size]);
```

dはノードの数, nはパラメータの範囲, pはパラメータ間の幅を入力すると, パラメータ値のリストが生成

```
getKvls[d_, n_, p_] := Tuples[Table[2^(i/p), {i, -n p, n p}], d];
```

fsはリスト形式の微分方程式, kvlはひとつのパラメータを入力すると, *Mathematica* の Solve 命令で微分方程式を解き定常状態値のリストが生成

```
getSS[fs_, kvl_] := Module[{eqs, size},
  size = Length[kvl];
  kv = Array[k, size];
  eqs = Thread[(fs /. Thread[kv -> kvl])
  == ConstantArray[0, size]];
  (rv /. #) & /@ Solve[eqs, rv, Reals];
```

1組のリスト形式の定常状態値が入力されると, 全ての値が0以上1以下か判定

```
allApproval[list_] := And @@ ((# >= 0 && # <= 1) & /@ list);
```

fssは1組のリスト形式の微分方程式の右辺, kvlsはパラメータリスト, tmlは計算が打ち切られるまでの時間を設定

```

getAllSS[fs_, kvls_, tml_] := (Print[++counter];
  TimeConstrained[getSS[fs, #], tml, {ee}] & /@ kvls);

```

1組のリスト形式の定常状態値が入力されると、リストの要素の全ての値が0以上1以下か判定

```

selectNNSs[sss_] := Map[Select[#, allApproval] &, sss, {2}];

```

1組のリスト形式の微分方程式の右辺を入力すると、1組のリスト形式の微分方程式の右辺のヤコビアン行列を生成

```

getJfs[fs_] := Outer[D, fs, rv];

```

複数のリスト形式の定常状態値が入力されると、全ての値が0以上1以下か判定

```

getEV[jf_, rvl_, kvl_] :=
  Eigenvalues[jf /. Thread[rv -> rvl] /. Thread[kv -> kvl]];

```

jfは1組のリスト形式の微分方程式の右辺のヤコビアン行列、rvlは定常状態値、kvlはパラメータ値を入力すると、その1組の固有値がリスト形式で出力

```

stableSSp[jf_, rvl_, kvl_] := Max[Re[getEV[jf, rvl, kvl]]] <= 0;

```

jfは1組のリスト形式の微分方程式の右辺のヤコビアン行列、rvlは定常状態値、kvlはパラメータ値を入力すると、その1組の安定な定常状態値がリスト形式で出力

```

selectStabelSS[jf_, rvls_, kvl_] :=
  Select[rvls, stableSSp[jf, #, kvl] &];

```

jfsは複数のリスト形式の微分方程式の右辺のヤコビアン行列、rvlssは定常状態値のリストのリスト、kvlsはパラメータ値のリストを入力すると、安定な定常状態値のリストのリストが出力

```

getStableSS[jfs_, rvlss_, kvls_] :=
  Outer[selectStabelSS[jfs[[#1]], rvlss[[#1, #2]],
    kvls[[#2]]] &, Range[Length[jfs]], Range[Length[kvls]]];

```

B.3 定常状態値から安定性解析を行うプログラム

size はノード数の値, regCycle は制御行列の要素となる値を設定

```
Clear[sss];
```

```
size = 2; regCycle = {1, -1};
```

```
Length[rmAll = genAllMatrix[size, regCycle]]
```

各ノードへの制御は高々正と負ひとつずつで次数が同じものの抽出

```
Length[rm2 = Select[rmAll, targetPdmP]]
```

制御行列から微分方程式の右辺の生成

```
Length[fss = getFsMM /@ rm2]
```

微分方程式の右辺からヤコビアンの生成

```
Length[jfs = getJfs /@ fss]
```

パラメータ値の生成

```
pN = 5; pP = 1;
```

```
Length[kvls = getKvls[size, pN, pP]]
```

```
121
```

ミカエリス定数とネットワークごとに現在されている処理を表示

```
For[i = 1, i <= 11, i++,  
  lv = 2^(i - 6);  
  Print[lv];  
  First[Timing[sss[i] = N[getAllSSs[fss, kvls, 1]]]];  
  psss[i] = selectNNSs[sss[i]];  
  ssss[i] = getStableSS[jfs, psss[i], kvls];  
  ssssNum[i] = Map[Length, ssss[i], {2}]]
```

```
1/32
```

```
1
```

2

•
•
•

9

10

安定な定常状態解の個数をリストで表示

```
data = Table[ssssNum[i], {i, 1, 11}]
```

```
{{{3, 3, 3, 3, 3, 2, 2, 2, 2, 2, 2, 3, 3, 3, 3, 3, 2, 2, 2, 2, 2, 2,  
3, 3, 3, 3, 3, 2, 2, 2, 2, 2, 2, 3, 3, 3, 3, 3, 2, 2, 2, 2, 2, 2,  
... , 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1,  
1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1,  
1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1, 1}}
```

B.4 2段階および二次制御反応機構のパラメータ空間を描画するプログラム

B.4.1 2ノードパラメータ空間の描画

A.4.1のプログラムは、A.5のプログラムを先に実行してから使用する。result1, result2は2段階反応および二次制御反応の解析で得られた{パラメータ毎の得られた解の総個数, 0から1までの範囲内にある解の総個数}, の順でリストとして格納

```
result1 = {{{{4, 2}, {4, 2}, {4, 2}, {4, 2}, {4, 2}, {4, 2},
  ..., {5, 3}, {5, 3}}}};
result2 = {{{{4, 2}, {4, 2}, {4, 2}, {4, 2}, {4, 2}, {4, 2},
  ..., {5, 3}, {5, 3}}}};
```

aは1組のリストであり、1つのリストが入力されると、リストの右側の要素のみ出力

```
cot[a_] := a /. {x_Integer, y_Integer} -> y
```

aは複数のリストであり、nbはカウントする値が入力されると、aのリスト内に該当するnbの値がいくつ含まれているのかを計算

```
cn[a_, nb_] := Count[Flatten[cot[a]], nb]
```

aは複数のリストであり、0から4まで各値がリスト内にいくつ含まれているのかを計算

```
tot[a_] := Total[cn[a, #] & /@ Table[i, {i, 0, 4}]]
```

data1は2段階反応の解析で多安定性が示されたパラメータの位置で、data2は二次制御反応の解析で多安定性が示されたパラメータの位置である。各リストの1番目の値は K_1 、2番目の値は K_2 である。

```
data1 = Position[cot[result1[[1]]], 2]
{{1, 1}, {1, 2}, {1, 3}, {1, 4}, {1, 5}, {1, 6}, {1, 7},
 {1, 8}, {1, 9}, {1, 10}, {1, 11}, {1, 12}, {2, 1},
 ..., {9, 6}, {10, 1}, {10, 2}, {10, 3}, {10, 4},
 {10, 5}, {11, 1}, {11, 2}, {11, 3}, {12, 1}, {12, 2}}
data2 = Position[cot[result2[[1]]], 2]
{{1, 1}, {1, 2}, {1, 3}, {1, 4}, {1, 5}, {1, 6}, {1, 7},
 {1, 8}, {1, 9}, {1, 10}, {1, 11}, {1, 12}, {1, 13}, {1, 14},
 ..., {11, 5}, {11, 6}, {12, 1}, {12, 2}, {12, 3},
 {12, 4}, {12, 5}, {13, 1}, {13, 2}, {13, 3}, {14, 1}}
```

nはパラメータの範囲、pはパラメータ間の幅を入力すると、パラメータ値のリストが生成


```
lks2[n_, p_] := Table[{2^(i/p), 2^(j/p)},
  {i, -n p, n p}, {j, -n p, n p}];
```

d に data1 および data2 の結果を入力すると、0 から 1 までの範囲内にある解の個数が 2 組ある場合のパラメータのパラメータ値のリストが生成

```
cor2[d_] := d /. {a1_Integer, b1_Integer} -> lks2[10, 1][[a1, b1]]
```

cor2[data1], cor2[data2] は 2 段階反応および二次制御反応機構の解析で得られたパラメータで、0 から 1 までの範囲内にある解の個数が 2 組ある場合のパラメータのパラメータ値のリスト

```
cor2[data1]
{{1/1024, 1/1024}, {1/1024, 1/512}, {1/1024, 1/256},
 {1/1024, 1/128}, {1/1024, 1/64}, {1/1024, 1/32}, {1/1024, 1/16},
 ..., {1/2, 1/512}, {1/2, 1/256}, {1/2, 1/128}, {1/2, 1/64},
 {1, 1/1024}, {1, 1/512}, {1, 1/256}, {2, 1/1024}, {2, 1/512}}
cor2[data2]
{{1/1024, 1/1024}, {1/1024, 1/512}, {1/1024, 1/256},
 {1/1024, 1/128}, {1/1024, 1/64}, {1/1024, 1/32}, {1/1024, 1/16},
 ..., {1, 1/32}, {2, 1/1024}, {2, 1/512}, {2, 1/256}, {2, 1/128},
 {2, 1/64}, {4, 1/1024}, {4, 1/512}, {4, 1/256}, {8, 1/1024}}
```

d に data1 および data2 の結果を入力すると、0 から 1 までの範囲内にある解の個数が 2 組ある場合のパラメータのパラメータ値のリストを 2 の累乗で表現

```
cod2[d_] :=
  d /. x_List /; NumericQ[x[[1]]] -> {Log2[x[[1]]], Log2[x[[2]]]}
```

cod2[data1], cod2[data2] は 2 段階反応および二次制御反応機構の解析で得られたパラメータで、0 から 1 までの範囲内にある解の個数が 2 組ある場合のパラメータのパラメータ値のリストを 2 の累乗で表現

```
cod2[cor2[data1]]
{{-10, -10}, {-10, -9}, {-10, -8}, {-10, -7}, {-10, -6}, {-10, -5},
 {-10, -4}, {-10, -3}, {-10, -2}, {-10, -1}, {-10, 0}, {-10, 1},
 ..., {-2, -7}, {-2, -6}, {-2, -5}, {-1, -10}, {-1, -9}, {-1, -8},
 {-1, -7}, {-1, -6}, {0, -10}, {0, -9}, {0, -8}, {1, -10}, {1, -9}}
cod2[cor2[data2]]
{{-10, -10}, {-10, -9}, {-10, -8}, {-10, -7}, {-10, -6}, {-10, -5},
 {-10, -4}, {-10, -3}, {-10, -2}, {-10, -1}, {-10, 0}, {-10, 1},
 ..., {0, -8}, {0, -7}, {0, -6}, {0, -5}, {1, -10}, {1, -9},
 {1, -8}, {1, -7}, {1, -6}, {2, -10}, {2, -9}, {2, -8}, {3, -10}}
```

2の累乗で示された複数のリストを代入すると、グラフが描写

```
plot1 = ListPlot[cod2[cor2[data1]],  
  PlotRange -> {{-11, 11}, {-11, 11}}, PlotStyle -> Darker[Cyan],  
  PlotMarkers -> {● 5}, TicksStyle -> Directive[23],  
  Frame -> True]  
plot2 = ListPlot[cod2[cor2[data2]],  
  PlotRange -> {{-11, 11}, {-11, 11}}, PlotStyle -> {Orange},  
  PlotMarkers -> {×, 10}, TicksStyle -> Directive[23],  
  Frame -> True]  
Show[{plot2, plot1}]
```

B.4.2 3ノードパラメータ空間の描画

A.4.2のプログラムは、A.5のプログラムを先に実行してから使用する。result1は2段階反応の解析で多安定性が示されたパラメータの位置で、result2は二次制御反応機構の解析で多安定性が示されたパラメータの位置である。各リストの1番目の値は K_1 、2番目の値は K_2 である。

```
result1 = {{1, 19, 17}, {1, 19, 18}, {1, 20, 18}, {1, 20, 19},
..., {21, 10, 20}, {21, 10, 21}, {21, 11, 21}, {21, 12, 21}};
result2 = {{1, 18, 15}, {1, 18, 16}, {1, 19, 16}, {1, 19, 17},
..., {21, 12, 21}, {21, 13, 20}, {21, 13, 21}, {21, 14, 21}};
```

nはパラメータの範囲、pはパラメータ間の幅を入力すると、パラメータ値のリストが生成

```
lks3[n_, p_] :=
Table[{2^(i/p), 2^(j/p), 2^(k/p)},
{i, -n p, n p}, {j, -n p, n p}, {k, -n p, n p}];
```

dにdata1およびdata2の結果を入力すると、0から1までの範囲内にある解の個数が2組ある場合のパラメータのパラメータ値のリストが生成

```
cor2[d_] := d /. {a1_Integer, b1_Integer, c1_Integer} ->
lks3[10, 1][[a1, b1, c1]]
```

cod2[data1], cod2[data2]は2段階反応および二次制御反応機構の解析で得られたパラメータで、0から1までの範囲内にある解の個数が2組ある場合のパラメータのパラメータ値のリストを2の累乗で表現

```
cor2[data1]
{{1/1024, 256, 64}, {1/1024, 256, 128}, {1/1024, 512, 128},
{1/1024, 512, 256}, {1/1024, 512, 512}, {1/1024, 512, 1024},
..., {1024, 1/4, 512}, {1024, 1/4, 1024}, {1024, 1/2, 512},
{1024, 1/2, 1024}, {1024, 1, 1024}, {1024, 2, 1024}}
cor2[data2]
{{1/1024, 128, 16}, {1/1024, 128, 32}, {1/1024, 256, 32},
{1/1024, 256, 64}, {1/1024, 256, 128}, {1/1024, 256, 256}
..., {1024, 1, 1024}, {1024, 2, 512}, {1024, 2, 1024},
{1024, 4, 512}, {1024, 4, 1024}, {1024, 8, 1024}}
```

dにdata1およびdata2の結果を入力すると、0から1までの範囲内にある解の個数が2組ある場合のパラメータのパラメータ値のリストを2の累乗で表現

```

cod2[d_] :=
  d /. x_List /; NumericQ[x[[1]]] :>
  {Log2[x[[1]]], Log2[x[[2]]], Log2[x[[3]]]}

```

cod2[data1], cod2[data2] は 2 段階反応および二次制御反応機構の解析で得られたパラメータで、0 から 1 までの範囲内にある解の個数が 2 組ある場合のパラメータのパラメータ値のリストを 2 の累乗で表現

```

cod2[cor2[data1]]
{{-10, 8, 6}, {-10, 8, 7}, {-10, 9, 7}, {-10, 9, 8},
{-10, 9, 9}, {-10, 9, 10}, {-10, 10, 8}, {-10, 10, 9},
..., {10, -3, 9}, {10, -3, 10}, {10, -2, 9}, {10, -2, 10},
{10, -1, 9}, {10, -1, 10}, {10, 0, 10}, {10, 1, 10}}
cod2[cor2[data2]]
{{-10, 7, 4}, {-10, 7, 5}, {-10, 8, 5}, {-10, 8, 6},
{-10, 8, 7}, {-10, 8, 8}, {-10, 9, 6}, {-10, 9, 7},
..., {10, 0, 8}, {10, 0, 9}, {10, 0, 10}, {10, 1, 9},
{10, 1, 10}, {10, 2, 9}, {10, 2, 10}, {10, 3, 10}}

```

2 の累乗で示された複数のリストを代入すると、グラフが描写

```

plot1 = ListPointPlot3D[cod2[cor2[data1]],
  PlotRange -> {{-11, 11}, {-11, 11}, {-11, 11}},
  PlotStyle -> Darker[Cyan], TicksStyle -> Directive[15]]
plot2 = ListPointPlot3D[cod2[cor2[data2]],
  PlotRange -> {{-11, 11}, {-11, 11}, {-11, 11}},
  PlotStyle -> {Orange}, TicksStyle -> Directive[15]]
Show[{plot2, plot1}]

```

B.5 2段階および二次制御反応機構の様相生成のプログラム

2ノードの場合, 2行2列の行列を d2 に代入する. 互いに正の制御をし合う 2ノードの制御ネットワークである.

```
d2 = {{0, 1}, {0, 0}}
```

pdm は d2, perm は置換する場所を入力すると, その場所が置換されて出力

```
permuteMatrix[pdm_, perm_] :=  
  Permute[Permute[#, perm] & /@ pdm, perm];
```

pdm は d2 を入力すると, 1 を 2 に, -1 を 1 に置換された後の全ての要素が出力

```
canonicalize[pdm_] := Module[{dim = Length[pdm], perms},  
  perms = Permutations[Range[1, dim]];  
  First[MaximalBy[permuteMatrix[pdm, #]  
    & /@ perms, # /. {1 -> 2, -1 -> 1} &]]]
```

pdm は d2 を入力すると, 3行3列の3ノードの制御行列が出力

```
genAllFSPG[pdm_] := Module[{size = Length[pdm]},  
  Append[#, ConstantArray[0, size + 1]]  
  & /@ (Transpose /@ (Append[Transpose[pdm], #] & /@  
    IdentityMatrix[size]))]
```

pdm は d2 を入力すると, 3行3列の制御行列が重複している場合, 削除をして出力

```
genFSPGList[pdmList_] :=  
  Module[{dim = Length[First[pdmList]], cand, va1},  
    cand = Join @@ genAllFSPG /@ pdmList;  
    va1 = ConstantArray[1, dim + 1];  
    cand = Select[cand, Max[#, va1] < 3 &];  
    cand = canonicalize /@ cand;  
    DeleteDuplicates[cand]]
```

pdm は d2 を入力すると, 各制御行列の1行2列目の成分が1と-1となる制御行列のリストが出力

```
genFSP[pdm_] := Module[{dim = Length[pdm], cand, pos, tpl, rpl, va1},  
  pos = Position[pdm, 1];  
  tpl = Tuples[{1, -1}, dim - 1];  
  rpl = Thread[pos -> #] & /@ tpl;  
  cand = Normal[SparseArray[#, dim]] & /@ rpl;
```

```

va1 = ConstantArray[1, dim];
cand = Select[cand, Max[Abs[#.va1]] < 2 &];
cand = canonicalize /@ cand;
DeleteDuplicates[cand]]

```

pdm は d2 を入力すると, genFSP[pdm] で求めたリストを結合し出力

```
genFSPList[pdmList_] := Join @@ (genFSP /@ pdmList);
```

genFSPList[d2] で求めた結果を f2 に格納し, 行列形式で出力

```
MatrixForm /@ (f2 = genFSPList[d2])
```

n にノードの数を入力すると, 2 進数における桁数字を整数 n のリストが出力

```
list[n_] := IntegerDigits[#, 2, n] & /@ Table[i, {i, 0, (2^n) - 1}]
```

n にノードの数, m に制御ネットワークの番号を入力すると, 右側に m 桁移動したリストが出力

```
per[n_, m_] :=
Module[{per1, per2},
per1 = RotateRight[list[n][[m]], #] & /@ Table[i, {i, 1, n - 1}];
Flatten[{{list[n][[m]]}, per1}, 1];
```

n にノードの数, m に制御ネットワークの番号を入力すると, 2 を底とする数字として重複するものを削除し, 最小の値を表示

```
dig[n_, m_] :=
Module[{per3, per4}, per3 = per[n, m][[#]] & /@ Table[i, {i, 1, n}];
per4 = FromDigits[#, 2] & /@ per3; Min[DeleteDuplicates[per4]]]
```

n にノードの数を入力すると, 2 を底とする数字として重複するものを削除し, 最小値をリスト形式で表示

```
net[n_] := dig[n, #] & /@ Table[i, {i, 1, 2^n}]
```

n にノードの数を入力すると, net[n] で重複するものを削除し出力

```
res[n_] := DeleteDuplicates[net[n]]
```

n にノードの数を入力すると, res[n] + 1 までの list[n] が出力

```
add[n_] := list[n][[#]] & /@ (res[n] + 1)
```

n にノードの数を入力すると, add[n] で求めたリストの各 n 行 2 列目の値を右に移動させ, -1 に置換


```
tra0[n_] :=
  ReplacePart[RotateRight[add[n][[2]], #], # -> -1] & /@
  RotateLeft[Table[i, {i, n}], 1]
```

nにノードの数を入力すると、add[n]で求めたリストの各n行2列目の値を右に移動させ、1に置換

```
tra1[n_] :=
  ReplacePart[RotateRight[add[n][[2]], #], # -> 1] & /@
  RotateLeft[Table[i, {i, n}], 1]
```

nにノードの数, mに制御ネットワークの番号を入力し, add[n]が0より大きい場合は, tra0[n], add[n]が0より小さい場合は, tra1[n]を計算

```
rep[n_, m_] :=
  If[add[n][[m, #]] > 0, tra0[n][[#]], tra1[n][[#]]] & /@
  Table[i, {i, 1, n}];
```

nにノードの数を入力すると, rep[n, m]の処理をLength[res[n]]まで行い, 環状部分の制御構造のリストを出力

```
remp[n_] := rep[n, #] & /@ Table[i, {i, 1, Length[res[n]]}]
```

nにノードの数, mに制御ネットワークの番号, 制御行列の対角成分となる部分つまり自己フィードバック制御を{{1, 1}, {1, -1}, {-1, 1}, {-1, -1}}の4つのうち何番目を使用するかを1に入力すると, 環状の制御ネットワークに自己フィードバック制御の構造が追加されたリストが出力

```
make0[n_, m_, l_] :=
  Module[{data1, data2, data3}, data1 = remp[n][[m]];
  data2 = Tuples[{1, -1}, n][[l]];
  data3 = (data1[[#, #]] = data2[[#]]) & /@ Table[i, {i, 1, n}];
  data1];
```

nにノードの数, mに制御ネットワークの番号を入力すると, 自己フィードバック制御を{{1, 1}, {1, -1}, {-1, 1}, {-1, -1}}の4つ全てが備わった制御行列のリストが出力

```
make2[n_] :=
  Flatten[make1[n, #] & /@ Table[i, {i, 1, Length[res[n]]}], 1];
```

nにノードの数を入力すると, 各制御ネットワークの番号と対角成分を{{1, 1}, {1, -1}, {-1, 1}, {-1, -1}}の4つ全てが備わった制御行列のバリエーションのリストが出力

```
com1[n_] :=
  canonicalize[make2[n][[#]]] & /@ Table[i, {i, 1, Length[make2[n]]}]
```

nにノードの数を入力すると、重複しているリストを削除し表示

```
com2[n_] := Intersection[make2[n], com1[n]]
```

重複していない2ノードの制御ネットワークのリストを #2 に代入して、長さを計算

```
Length[(f12 = com2[2])]
```

ks はパラメータ値の1組のリスト, qs は分母となる値の1組のリスト, pdm は解析対象となる1組の制御ネットワークを入力すると、代入された計算結果を出力

```
nextQs[ks_, qs_, pdm_] :=  
  1/(1 + ks Inner[#2^(-2 #1) &, pdm, qs, Times]);
```

pdm は解析対象となる1組の制御ネットワーク, ks はパラメータ値の1組のリストを入力すると、微分方程式を立てて、実数領域の範囲で解いた結果を出力

```
steadyStates[pdm_, ks_] := Module[{dim = Length[pdm], nqs, qs, sseqs},  
  qs = Array[p, dim];  
  nqs = nextQs[ks, qs, pdm];  
  sseqs = Thread[qs == nqs];  
  Solve[sseqs, qs, Reals]]
```

pdm は解析対象となる1組の制御ネットワーク, ks はパラメータ値の1組のリストを入力すると、微分方程式を立てて、実数領域の範囲で解いた解の個数をリスト形式で出力

```
numSSS[pdm_, ks_] := Module[{dim = Length[pdm], qs, nqs, sol},  
  qs = Array[p, dim];  
  sol = qs /. steadyStates[pdm, ks];  
  {Length[sol], Length[sol]}]
```

pdm は解析対象となる1組の制御ネットワーク, ksl はパラメータ値のリストを入力すると、微分方程式を立てて、実数領域の範囲で解いた解の個数のリストをリスト形式で出力

```
numSSS2[pdm_, ksl_] :=  
  ksl /. x_List /; NumericQ[x[[1]]] :> numSSS[pdm, x]
```

pdm は解析対象となる1組の制御ネットワーク, ks はパラメータ値の1組のリストを入力すると、意味のある定常状態解のリストをリスト形式で出力

```
solSSS[pdm_, ks_] := Module[{dim = Length[pdm], qs, sol},  
  qs = Array[p, dim];  
  sol = qs /. steadyStates[pdm, ks];  
  sol]
```

pdm は解析対象となる 1 組の制御ネットワーク, ks はパラメータ値の 1 組のリストを入力すると, 意味のある定常状態解のリストを数値的な値のリスト形式で出力

```
solSSS2[pdm_, ks1_] :=
  ks1 /. x_List /. NumericQ[x[[1]]] -> solSSS[pdm, x]
```

ks はパラメータ値の 1 組のリスト, sol は 1 つの意味のある定常状態解を入力すると, K_1 のパラメータ値, K_2 のパラメータ値, 1 つの意味のある定常状態解の順に 1 組のリスト形式で出力

```
makeP2[ks_, sol_] := Append[ks, #] &/@ sol
```

n1 はパラメータの下限の範囲, n2 はパラメータの上限の範囲, p はパラメータ間の幅を入力すると, パラメータ値のリストが生成

```
genKs2e[n1_, n2_, p_] :=
  Table[{2^(i/p), 2^(j/p)}, {i, n1 p, n2 p}, {j, n1 p, n2 p}];
```

n1=-10, n2=10, p=3 にパラメータ値のリストを設定し, ks2a1 にパラメータ値のリストを格納

```
ks2a1 = genKs2e[-10, 10, 3]
```

関数 solSSS2 に制御ネットワークのリストが格納されている変数 f12 の 1 番目の制御ネットワーク $\{\{0,1\},\{1,0\}\}$ という互いに正の制御ネットワーク, ks2a1 に格納されているパラメータ値のリストを入力し, 2 ノードの各定常状態値のリストを求める

```
f12n4sol2a1 = N[solSSS2[f12[[1]], ks2a1]][[A11, A11, A11, 1]]
```

1 組のリストの中身は, K_1 のパラメータ値, K_2 のパラメータ値, ノード 1 の定常状態値の順番で変数 ppf12n4sol2a1 にリスト形式で格納

```
ppf12n4sol2a1 = MapThread[makeP2, {ks2a1, f12n4sol2a1}, 2]
```

1 組のリストの中身は, K_1 のパラメータ値を底を 2 とする累乗, K_2 のパラメータ値を底を 2 とする累乗, ノード 1 の定常状態値の逆数の順番で変数 pppf12n4sol2a1 にリスト形式に格納

```
pppf12n4sol2a1 =
  N[ppf12n4sol2a1 /. x_List /. NumericQ[x[[1]]] ->
    {Log2[x[[1]]], Log2[x[[2]]], 1/x[[3]]}]
```

pppf12n4sol2a1 に格納されているデータを横軸は K_1 のパラメータ値を底を 2 とする累乗, 縦軸は K_2 のパラメータ値を底を 2 とする累乗, 高さ部分はノード 1 の定常状態値の逆数の値が 3 次元のグラフで表示

```
ListPointPlot3D[Flatten[pppf12n4sol2a1, 2], PlotRange -> All,
  ColorFunction -> "Rainbow"]
```

B.6 2段階反応機構の流線プロットのプログラム

$K_1 = 2^{-2}$, $K_2 = 2^{-1}$ に設定

```
k1 = 2^(-2); k2 = 2^(-1);
```

2ノードの互いに正に制御する制御ネットワークの微分方程式を解き, sol1 に格納

```
sol1 = Solve[{r2^2 (1 - r1) - k1^2 r1 == 0,  
r1^2 (1 - r2) - k2^2 r2 == 0}, {r1, r2}];
```

dには sol1 が入力されることで, 2個の値がリスト形式となり出力

```
cor2[d_] := d /. {a1_ -> a2_, b1_ -> b2_} -> {a2, b2}
```

StreamPlot で流線プロットを描画したグラフ上に, sol1 に格納されている安定な定常状態値の値が○で表示

```
Show[{StreamPlot[{r2^2 (1 - r1) - k1^2 r1,  
r1^2 (1 - r2) - k2^2 r2}, {r1, 0, 1}, {r2, 0, 1},  
TicksStyle -> Directive[15]],  
ListPlot[cor2[sol1], TicksStyle -> Directive[15],  
PlotStyle -> {Pink, PointSize[Large]}]}]
```

$K_1 = 2^4$, $K_2 = 2^4$ に設定

```
k1 = 2^(4); k2 = 2^(4);
```

2ノードの互いに負に制御する制御ネットワークの微分方程式を解き, sol2 に格納

```
sol2 = Solve[{1/k1^2 (1 - r1) - r2^2 r1 == 0,  
1/k2^2 (1 - r2) - r1^2 r2 == 0}, {r1, r2}];
```

StreamPlot で流線プロットを描画したグラフ上に, sol2 に格納されている安定な定常状態値の値が○で表示

```
Show[{StreamPlot[{1/k1^2 (1 - r1) - r2^2 r1,  
1/k2^2 (1 - r2) - r1^2 r2}, {r1, 0, 1}, {r2, 0, 1}],  
ListPlot[cor2[sol2], TicksStyle -> Directive[15],  
PlotStyle -> {Pink, PointSize[Large]}]}]
```

B.7 一次および二次混在機構の場合のバブルチャートの生成プログラム

A.1.1 もしくは A.1.2 で制御ネットワークを生成後、A.3 のプログラムを実行した後、本プログラムを使用する。

rm2 は 2 ノードの制御次数が混在した全制御ネットワークのリスト、ssssNum は、それらの多安定性の出現率、kvls はパラメータ値のリスト形式が入力されると、一次制御数、二次制御数、多安定性の平均出現率の平均値の順番にリスト形式で出力

```
appdata[rm2_, ssssNum_, kvls_] := Module[{nkv, apr, c12, grv, mms},
  nkv = Length[kvls];
  apr = Map[(nkv - Count[#, 1])/nkv &, ssssNum];
  c12 = {Count[#, 1, {2}], Count[#, 2, {2}]} & /@ Abs[rm2];
  grv = GroupBy[Thread[{c12, apr}], First];
  mms = Mean /@ Values[grv][[All, All, 2]];
  MapThread[Append, {Keys[grv], mms}]
appdata[rm2, ssssNum, kvls]
{{4, 0, 35/363}, {2, 2, 279/484}, {3, 0, 1/44}, {2, 1, 31/242},
{0, 4, 320/363}, {0, 3, 219/484}, {1, 2, 151/242}, {2, 0, 0},
{1, 1, 17/242}, {0, 2, 9/121}}
```

横軸は一次制御数、縦軸は二次制御数のバブルチャートを描画

```
BubbleChart[appdata[rm2, ssssNum, kvls]]
```

B.8 距離および感度解析のプログラム

A.1.1 もしくは A.1.2 を実行し, A.3 のプログラムを用いて解析する. A.3 のプログラムにある安定な定常状態値が格納されている変数 `ssss` を使用する. `ssss` は, 1 組の安定な定常状態値がリストのリスト形式で格納されているため, `ssss[1]` から `ssss[11]` までミカエリス定数の個数分リストに格納する. 格納した `ssss` のリストを変数 `data1` に格納する. 定常状態値から安定性解析を行うプログラムを先に実行後, 安定な定常状態値のリストを `data1` に格納

```
data1 = Table[ssss[i], {i, 1, 11}]
```

`nw` は `rm2` に代入されている対象となる制御ネットワークの番号, `lv` は $-5 \leq L \leq 5$ のミカエリス定数の値の番号 (ここでは $-5 \leq L \leq 5$ の範囲で解析), `i` は K_1 のミカエリス定数の値, `j` は K_2 のミカエリス定数の値を入力すると, 1 組の定常状態値のリストが出力

```
ssvals[nw_, lv_, i_, j_] :=  
  data1[[lv, nw, Position[kvls, {2^i, 2^j}][[1, 1]]];
```

`ps1` と `ps2` はそれぞれの安定な定常状態値のリストを入力することで, その距離を計算

```
gdisM[ps1_, ps2_] := Module[{gdis1},  
  gdis1[pls_, pss_] :=  
    Max[Min /@ Outer[EuclideanDistance, pls, pss, 1]];  
  Max[gdis1[ps1, ps2], gdis1[ps2, ps1]]]
```

`z` は距離が入力されることで, その値に応じた値の色が出力

```
CoolColor[z_] :=  
  If[z == ∞ || z == -∞ || z === Indeterminate,  
    White, RGBColor[z, 1 - z, 1]];
```

`nw` は `rm2` に代入されている対象となる制御ネットワークの番号, `lv` は $-5 \leq L \leq 5$ のミカエリス定数の値の番号 (ここでは $-5 \leq L \leq 5$ の範囲で解析), `i` は K_1 のミカエリス定数の値, `j` は K_2 のミカエリス定数の値

```
sensM[nw_, lv_, i_, j_] :=  
  gdisM[ssvals[nw, lv, i, j], ssvals[nw, lv + 1, i, j]]
```

`nw` は `rm2` に代入されている対象となる制御ネットワークの番号, `lv` は -5 から 5 の順番に並んでいるため, その該当する順番の値

```
flatM[nw_, lv_] :=  
  Flatten[Table[sensM[nw, lv, i, j], {i, -5, 5}, {j, -5, 5}]];
```


nw は rm2 に代入されている対象となる制御ネットワークの番号, lv は $-5 \leq L \leq 5$ のミカエリス定数の値の番号 (ここでは $-5 \leq L \leq 5$ の範囲で解析), ton は対象となる制御ネットワークの感度の最大値を入力すると, 横軸は K_1 のパラメータ値, 縦軸は K_2 のパラメータ値の感度を示したグラフを描画

```
plotnw[nw_, lv_, ton_] :=
Module[{rever, coldata, col},
  rever = Reverse[
    Transpose[
      Partition[Flatten[{{flatM[nw, lv][[#]] & /@ Range[121]}/ton}], 11]]];
  col[nb_] := CoolColor[#] & /@ rever[[nb]];
  coldata = col[#] & /@ Range[11]; ArrayPlot[coldata]]
```