

生化学反応系で見られる 双安定性と振動現象

藤井 雅史

東京大学 黒田研

お知らせ

今日使うファイル類は

<http://kurodalab.bi.s.u-tokyo.ac.jp/class/Summer/2016/Day4/kadai/>
に置いてあります。(テキストエンコーディングはSJIS)

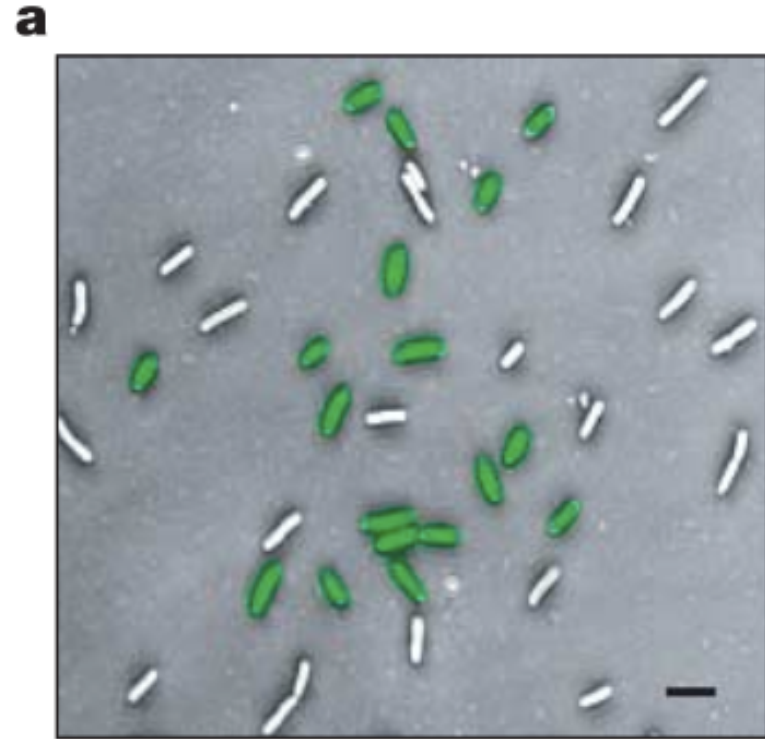
慣れてきたら自力で全部書く、あるいは、
これまで作ったプログラムを応用して作るようにして下さい。

今日の演習について

- 適当なタイミングで解説をします。
- わからない部分は適宜質問してください。
- どこまで進んでいるか分かるように、見えやすい位置に課題の図を表示してください。
- 出来る人は自分のペースで進んで下さい。
- 授業時間内に基本課題 (p.31) まで終わった人は、発展課題に進んでください。
- p.45まで終わってしまったら、TAに確認をしてもらい、OKが出たら退席しても大丈夫です。

大腸菌 *lac* オペロンの双安定性

1. Ozbudakモデルを動かしてヒステリシスを確認する
 - 大腸菌は糖の濃度を記憶する
2. ヒステリシスには次の2つの要素が必要なことを確認
 - ポジティブ・フィードバック
 - 協調作用
3. (ヒステリシスが起きる理由を力学系の言葉で説明)



Ozbudak et al. (2004) Nature

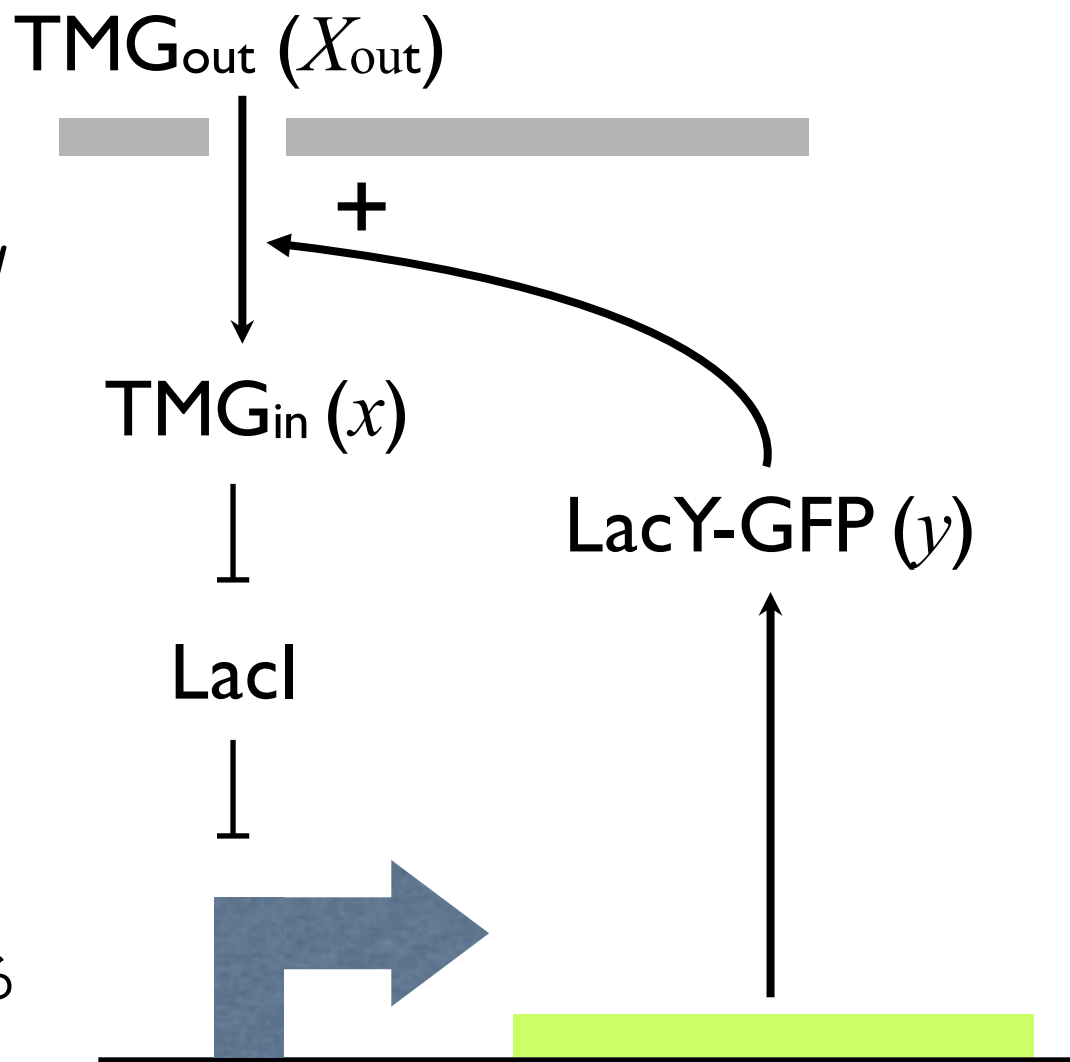
Ozbudakらは2変数の式で ポジティブ・フィードバックをモデル化した

$$\frac{dx}{dt} = -x + \alpha X_{out} + \beta y$$

$$\frac{dy}{dt} = \frac{x^2}{\rho + x^2} - y$$

Ozbudak et al. (2004) Nature の
モデルを簡略化したもの

TMG (methyl- β -D-thiogalactopyranoside)
LacYによって取り込まれ、LacIを阻害する



Ozbudakモデルの変数と定数の意味

$$\frac{dx}{dt} = -x + \alpha X_{out} + \beta y$$

$$\frac{dy}{dt} = \frac{x^2}{\rho + x^2} - y$$

Variables

x : TMG_{in}
 y : LacY-GFP

Constants

α, β : Rate constants,
 ρ : Tightness of LacI repression

微分方程式と生化学反応系の対応

x, y の分解

$$\frac{dx}{dt} = -x + \alpha X_{out} + \beta y$$

$$\frac{dy}{dt} = \frac{x^2}{\rho + x^2} - y$$

TMG_{out} (X_{out})

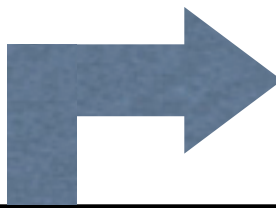


+

TMG_{in} (x)



LacI



LacY-GFP (y)



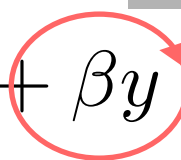
微分方程式と生化学反応系の対応

x, y の分解

$$\frac{dx}{dt} = -x + \alpha X_{out} + \beta y$$

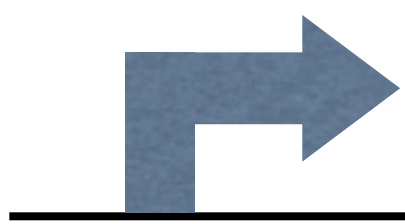
$$\frac{dy}{dt} = \frac{x^2}{\rho + x^2} - y$$

TMG_{out} (X_{out})

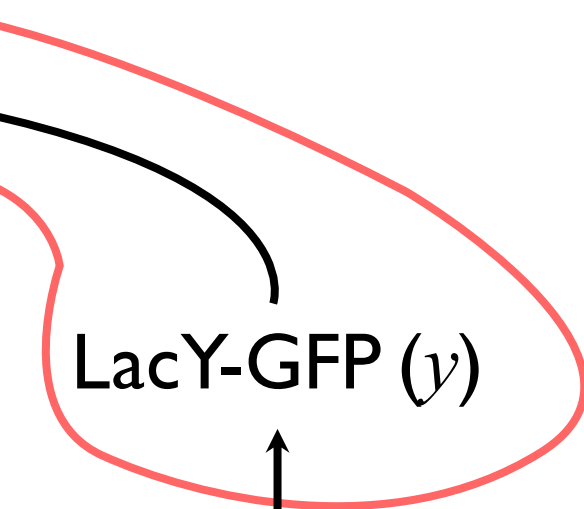


TMG_{in} (x)

LacI



LacY-GFP (y)



+



微分方程式と生化学反応系の対応

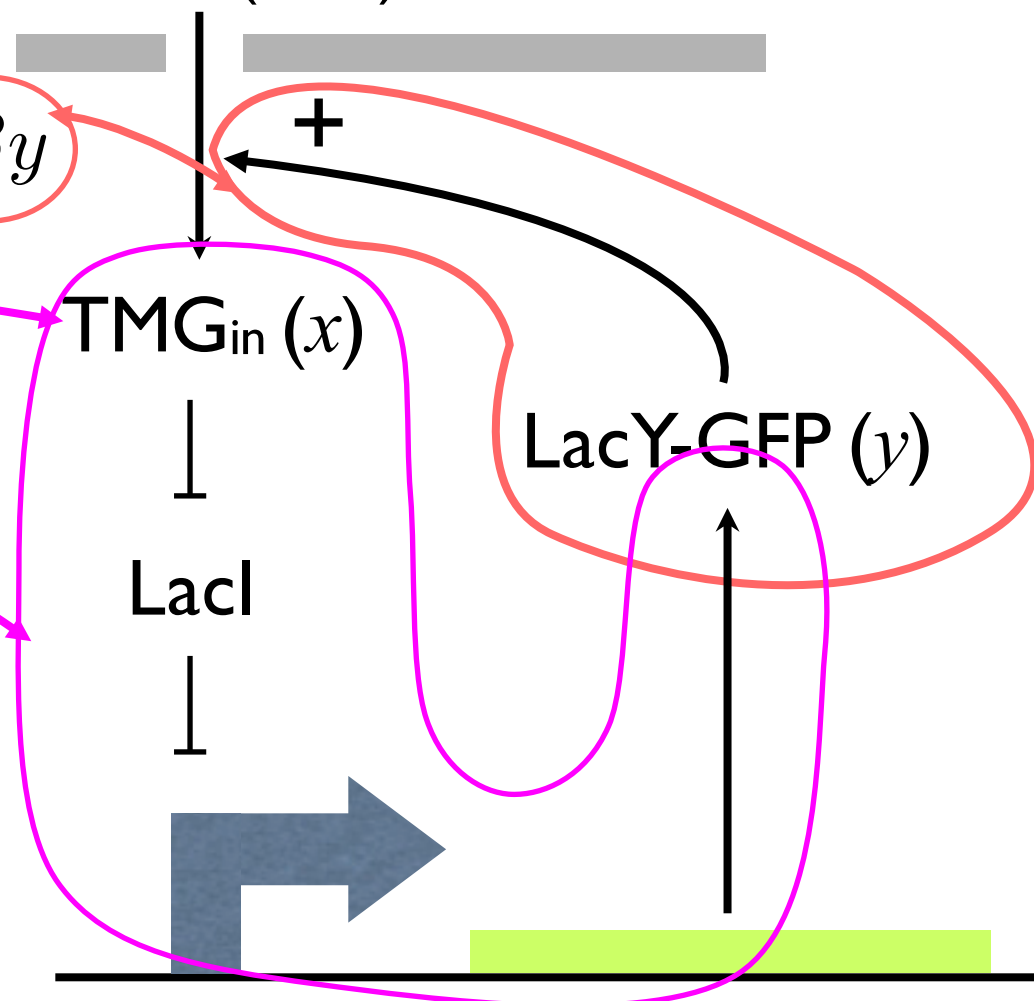
x, y の分解

$$\frac{dx}{dt} = -x + \alpha X_{out} + \beta y$$

$$\frac{dy}{dt} = \frac{x^2}{\rho + x^2} - y$$

ヒル式

TMG_{out} (X_{out})

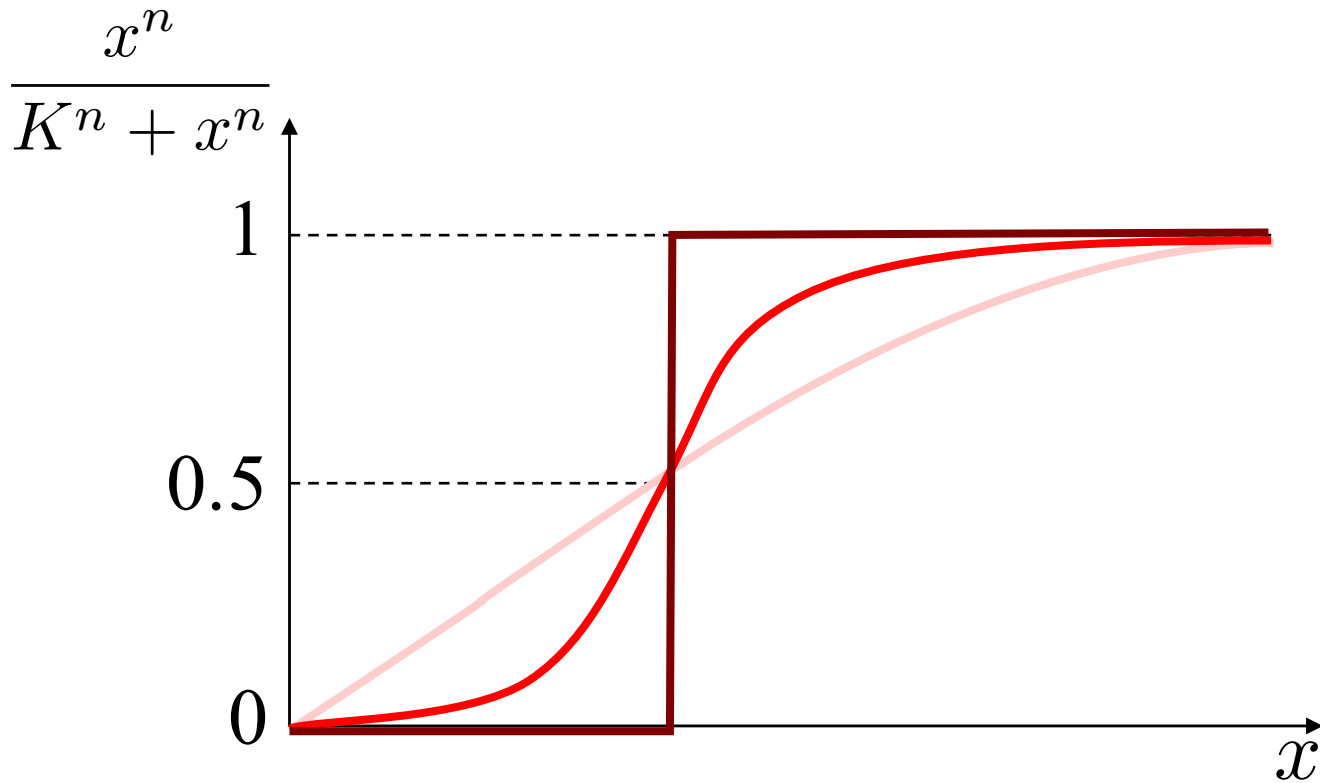


補足: ヒル式

x^n ヒル係数

$$\frac{x^n}{K^n + x^n}$$

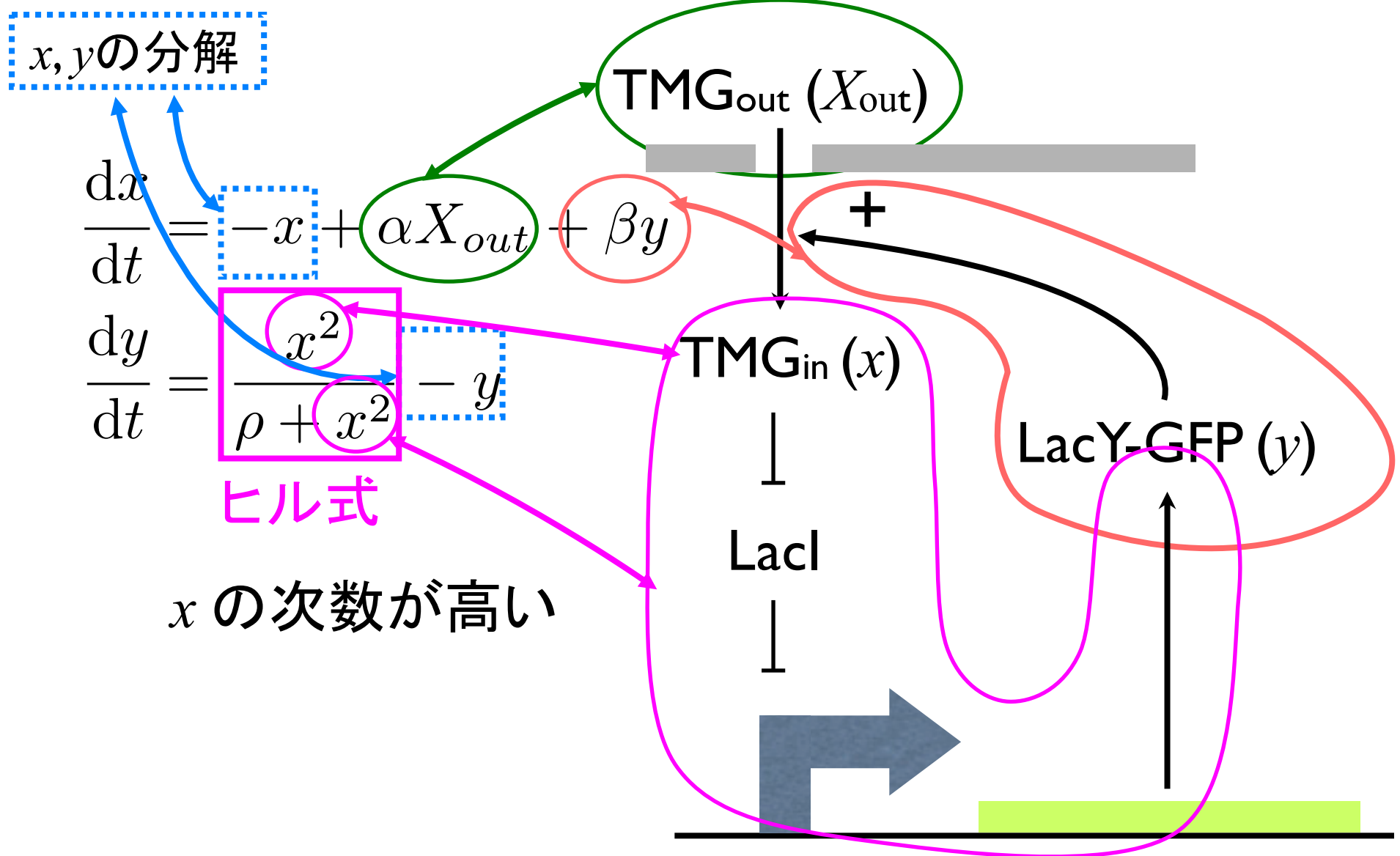
解離定数



n:
小
中
大

ヒル係数が大きくなる → スイッチ的になる = 協調的

微分方程式と生化学反応系の対応



演習1: まずはOzbudak model
を動かそう

演習1(MATLAB): Ozbudak modelを動かす

$$\frac{dx}{dt} = -x + \alpha X_{out} + \beta y$$

$$\frac{dy}{dt} = \frac{x^2}{\rho + x^2} - y$$

初期値(変数) : $x(t=0) = 0, y(t=0) = 0$

パラメータ(定数): $\alpha = 0.1, \beta = 10, \rho = 25, X_{out} = 5$

ファイルをDLして空欄を埋めなさい

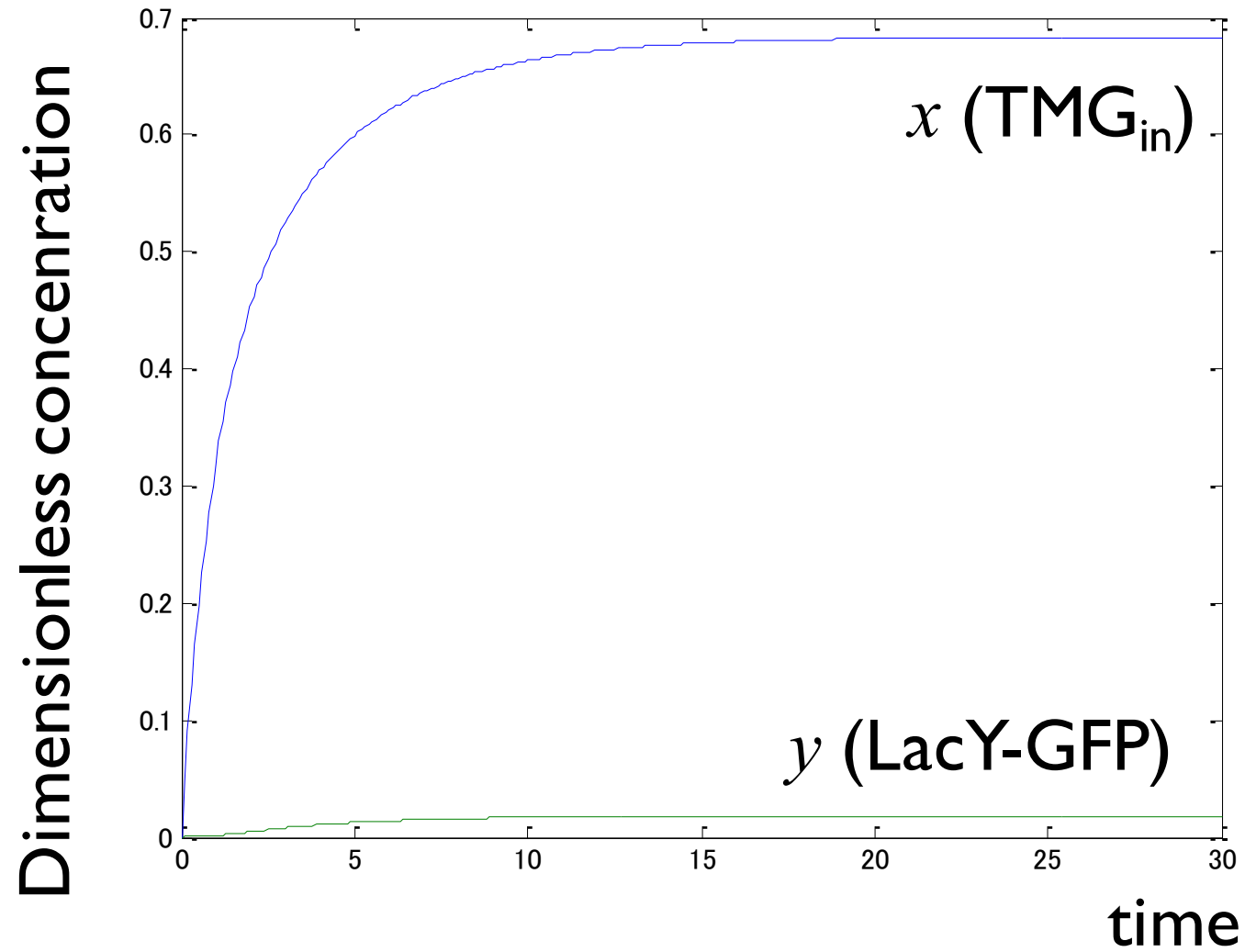
```
function ozbudak()  
    time = 0:0.1:30;  
  
    x_init = 0; y_init = 0;  
    alpha = 0.1; beta = 10; rho = 25; x_out = 5;  
  
    s0 = [ x_init , y_init ]; % Initial values  
    param = [ alpha , beta , rho , x_out ]; % Constants  
  
    [t,time_course] = ode15s(@(t,s) ODE(t,s,param),time,s0);  
    plot(t,time_course)  
end
```

```
function dsdt = ODE(t,s,param)  
    x = s(1); y = s(2);  
    alpha = param(1); beta = param(2); rho = param(3); x_out = param(4);  
  
    dsdt(1,:) =   
    dsdt(2,:) =   
end
```

シミュレーション

モデル

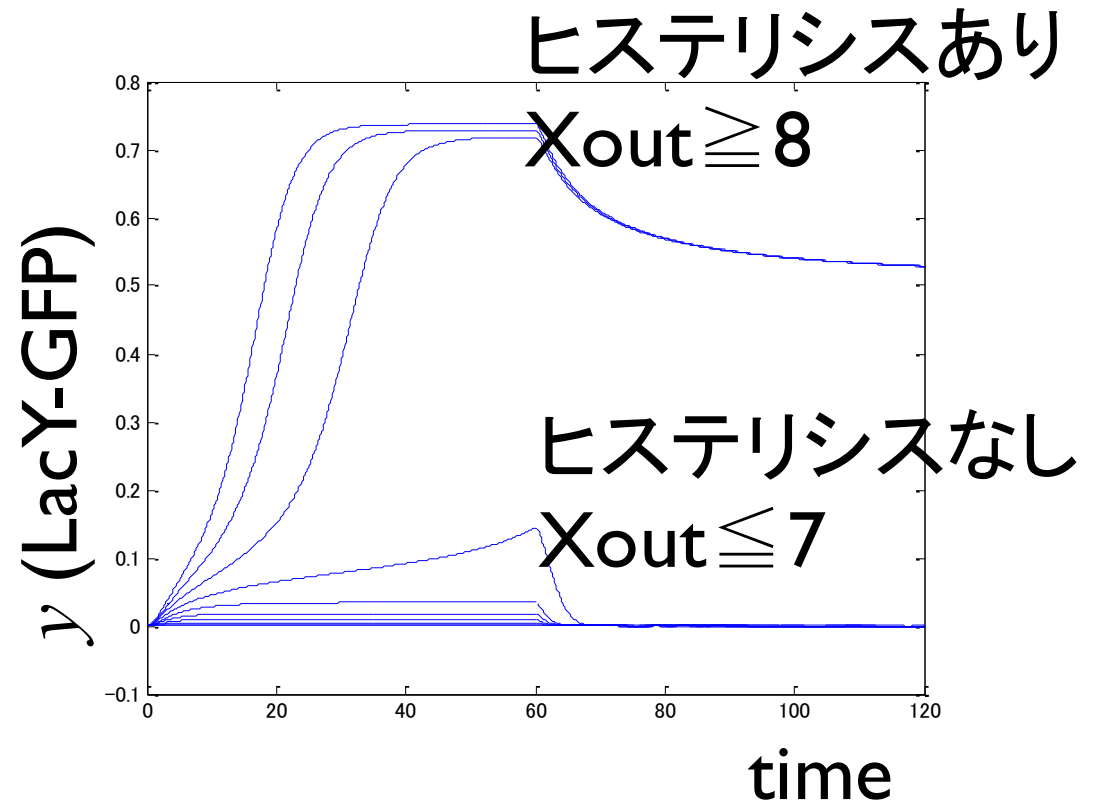
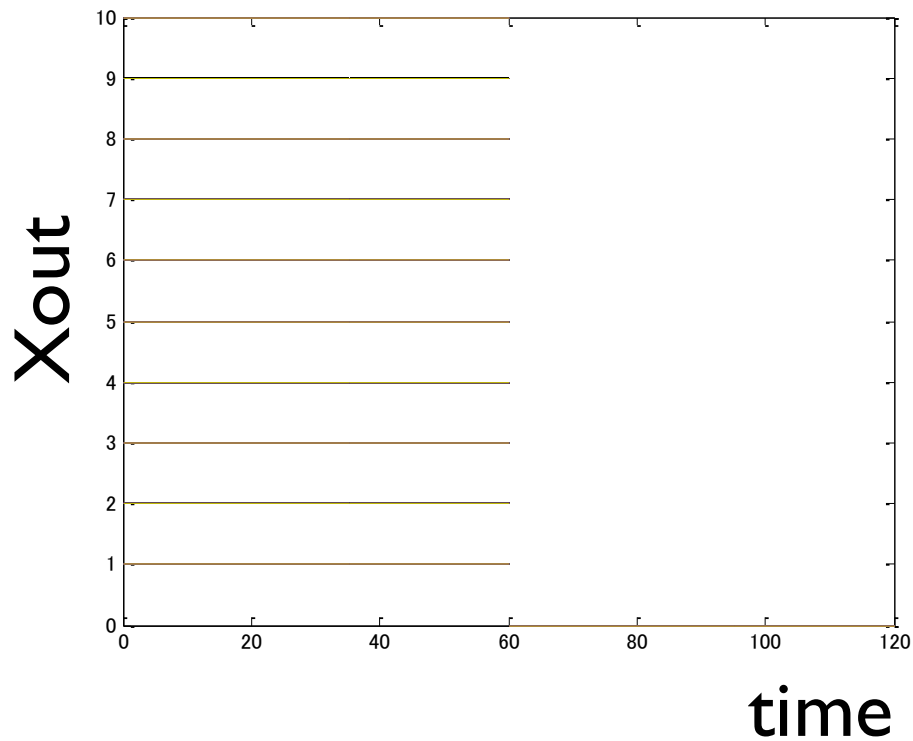
うまくいくとこうなるはず



演習2: Ozbudak modelがヒステリシス(履歴依存性)を示すことを確認する

t = 60 時点で、TMGout (Xout) を 0 にする

- 実験的には、培地から集菌して wash
- Xout の初期値によって、ヒステリシスが生じない場合と生じる場合がある



演習2: 空欄を埋めなさい

```
function ozbudak_hysteresis_timeseries( )
(略)
[t,time_course] = ode15s(@(t,s) ODE(t,s,param),time,s0);
plot(t,time_course(:,2)) % yのみプロットする
hold on % 重ね描きを許可する命令

x_init =  % time_course の終端値を x_init, y_init にセット
y_init = 
s0 = [ x_init , y_init ];

x_out =  % TMGout の値を 0 にする
param = [ alpha , beta , rho , x_out ];

time = 60:0.1:120;
[t,time_course] = ode15s(@(t,s) ODE(t,s,param),time,s0);

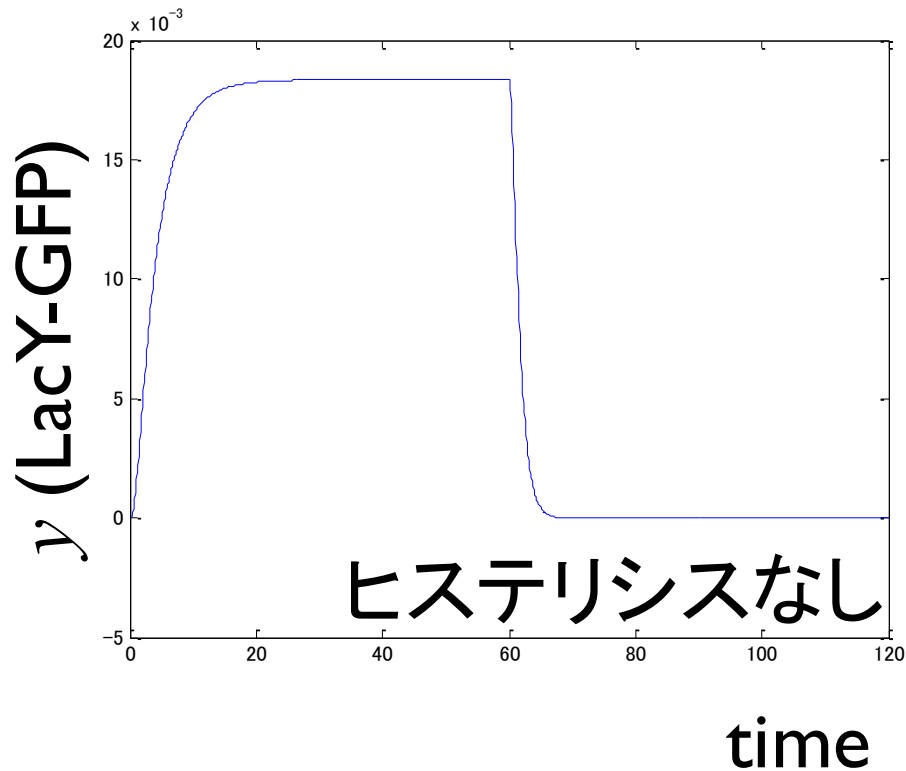
plot(t,time_course(:,2))
end

function dsdt = ODE(t,s,param) (略)
```

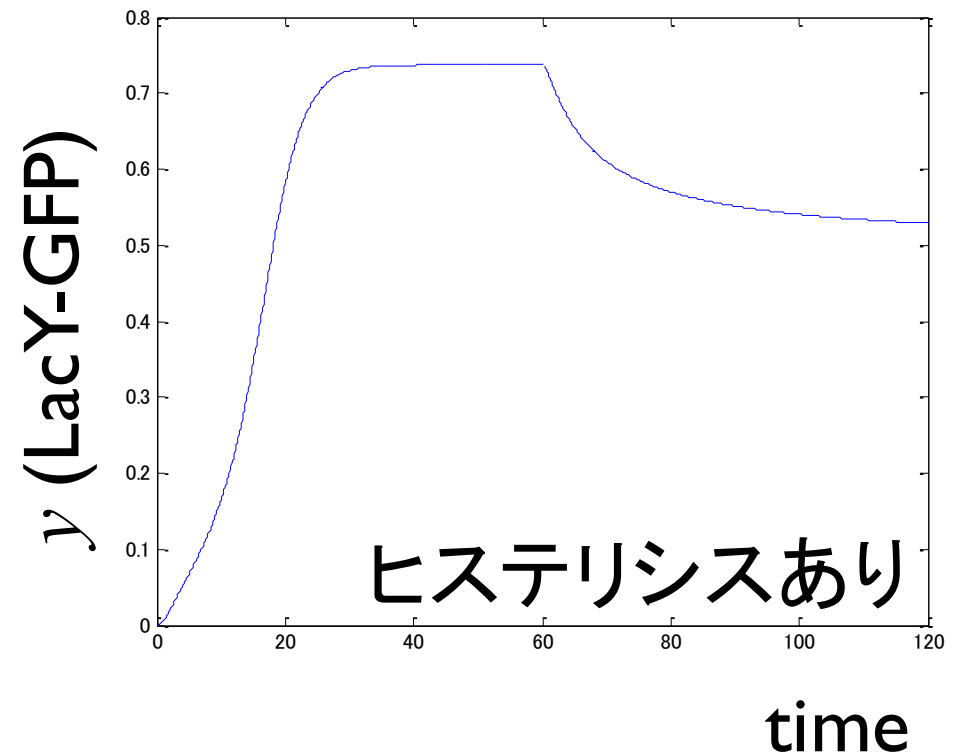
出力例

- X_{out} の初期値を2通り試してみる

$X_{out}(t=0) = 5$

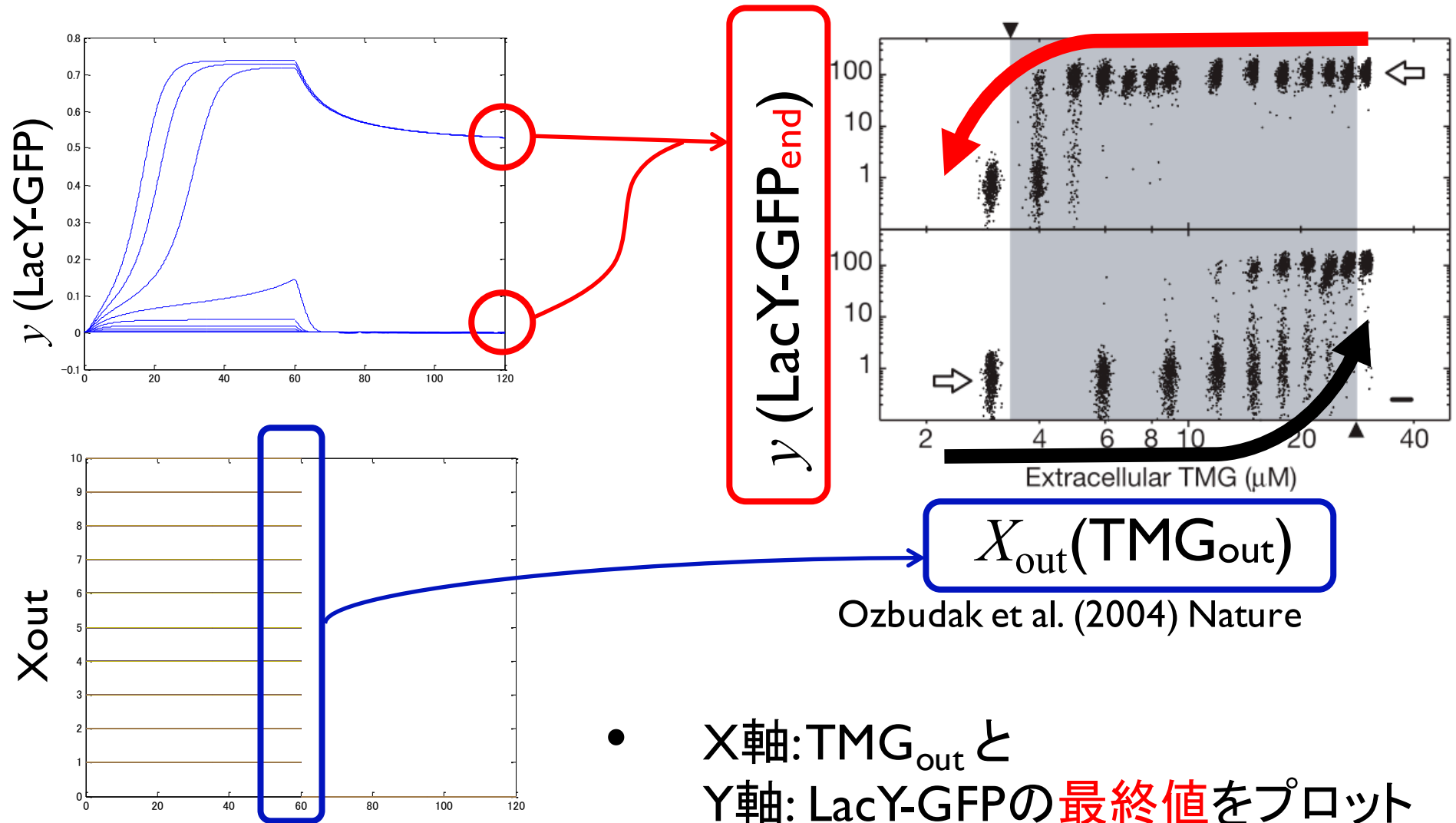


$X_{out}(t=0) = 10$



演習3: ヒステリシスが始まる TMGの濃度を図示する

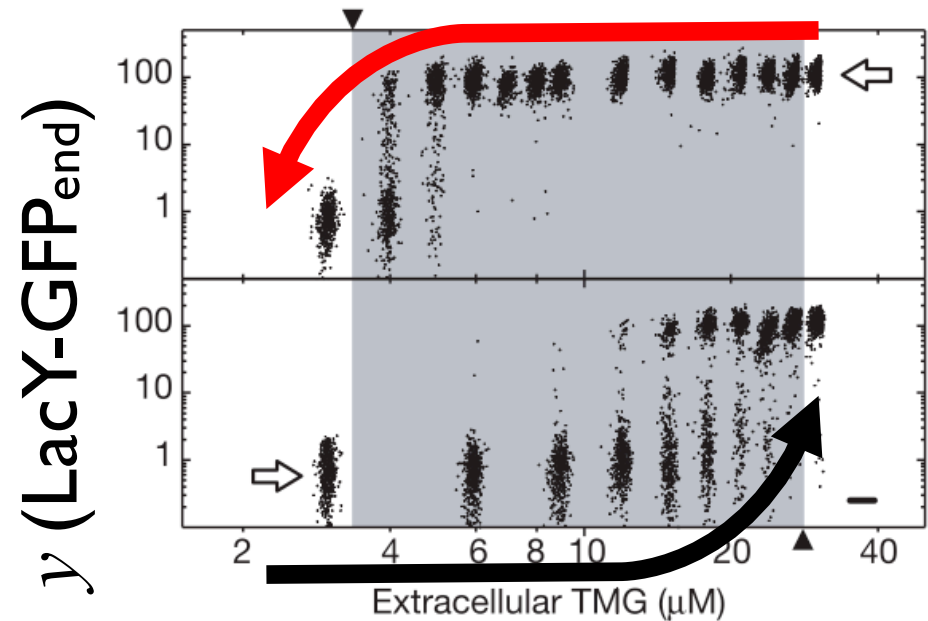
時系列を dose response curve に描き直す



- X軸: TMG_{out} と
Y軸: LacY-GFPの最終値をプロット

演習3(MATLAB): ヒステリシスのシミュレーション

- 右図の実験に相当するシミュレーションを行いなさい
- 右図下段は次のような実験
 1. TMG = X μM で培養
 2. 集菌
 3. TMG = $(X + \Delta X)$ μM で培養
 4. 以後この繰り返し
- 集菌の際、 x はリセットされるが、 y は保存される



$$X_{\text{out}}(\text{TMG}_{\text{out}})$$

Ozbudak et al. (2004) Nature

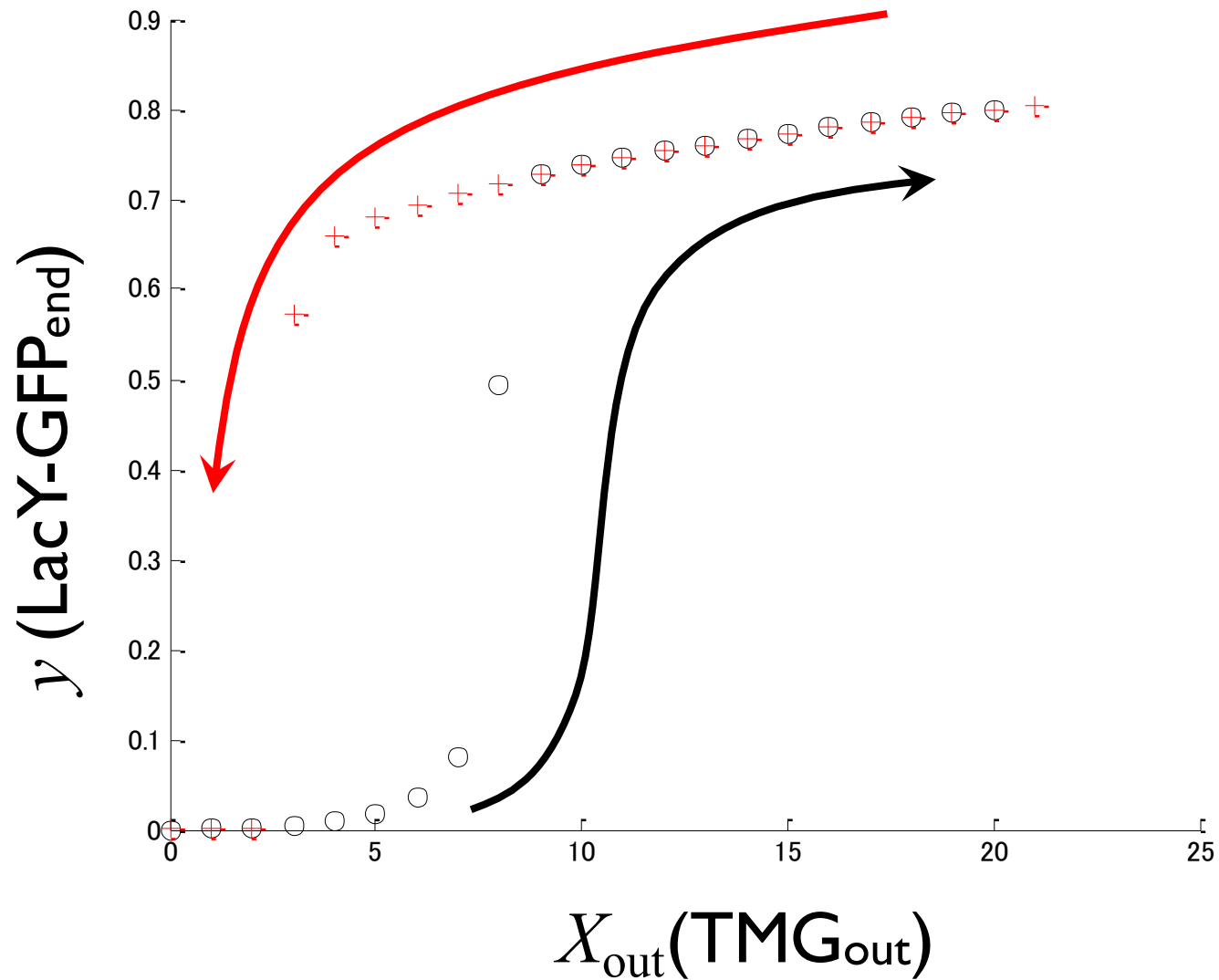
空欄を埋めなさい

```
function ozbudak_fig2b( )
    time = 0:0.1:30;
    x_init = 0; y_init = 0;
    alpha = 0.1; beta = 10; rho = 25; x_out = 0;
    param = [ alpha , beta , rho , x_out ]; % Constants
    figure(1)
    hold on
    while x_out <= 20; % このwhile文は Fig.2b 下段に相当
        s0 = [ x_init , y_init ]; % Initial values
        [t,time_course] = ode15s(@(t,s) ODE(t,s,param),time,s0);
        y_end =  % yの時系列の最終値(集菌時の値)をy_endに代入
        plot( x_out , y_end , 'ko');
        x_out = x_out + 1;
        param = [ alpha , beta , rho , x_out ]; % Constants
         % y_endを、次のシミュレーションの初期値にする
    end

    while x_out >= 0 % このwhileループには Fig.2b 上段に相当する内容を書く
         % ここには上の while ループと似た内容を書く。ただし
        % プロットする際、点は赤の十字('r+')とする。
    end
end
end

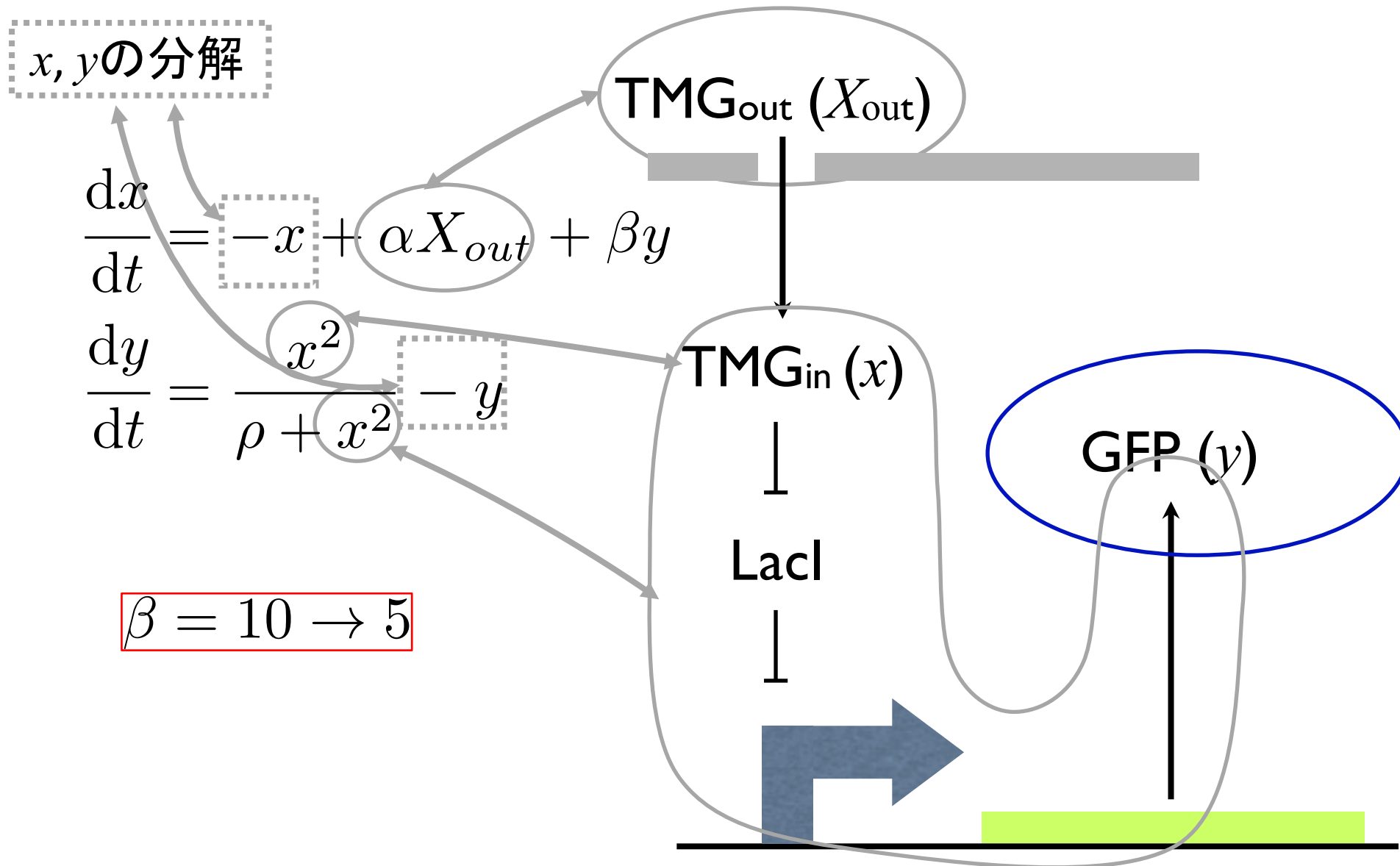
function dsdt = ODE(t,s,param) (以下略)
```

○はTMG徐々に増加、+はTMG減少



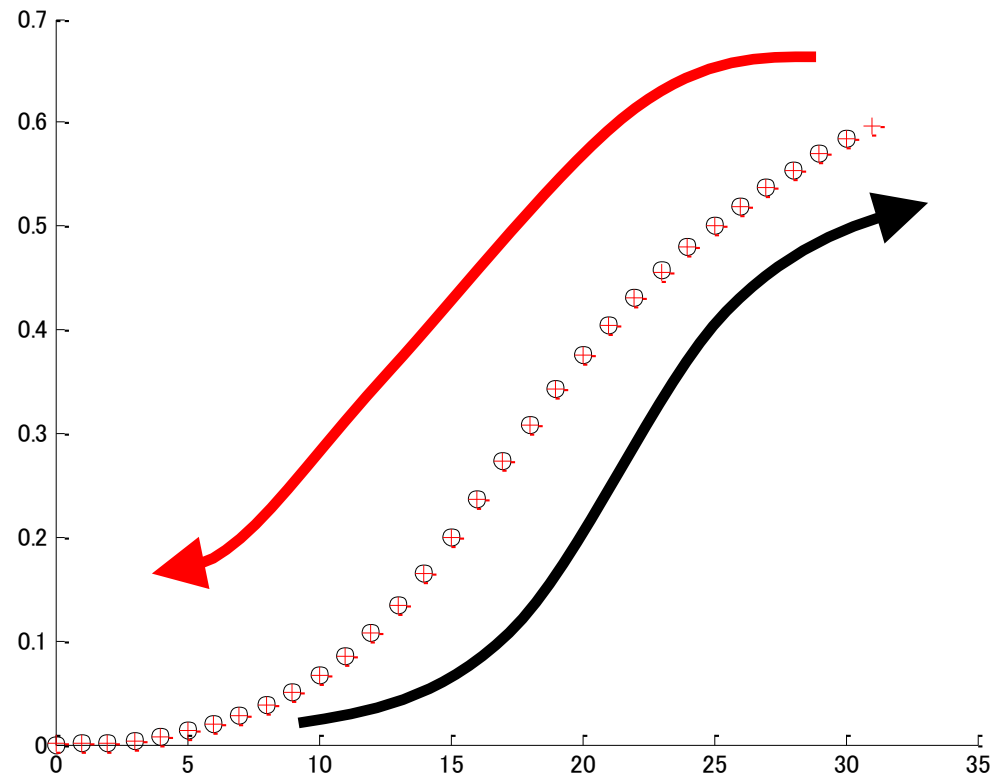
演習4: ポジティブ・フィードバック
を切ると
ヒステリシスは起きなくなる

ポジティブ・フィードバックを遮断する(弱める)



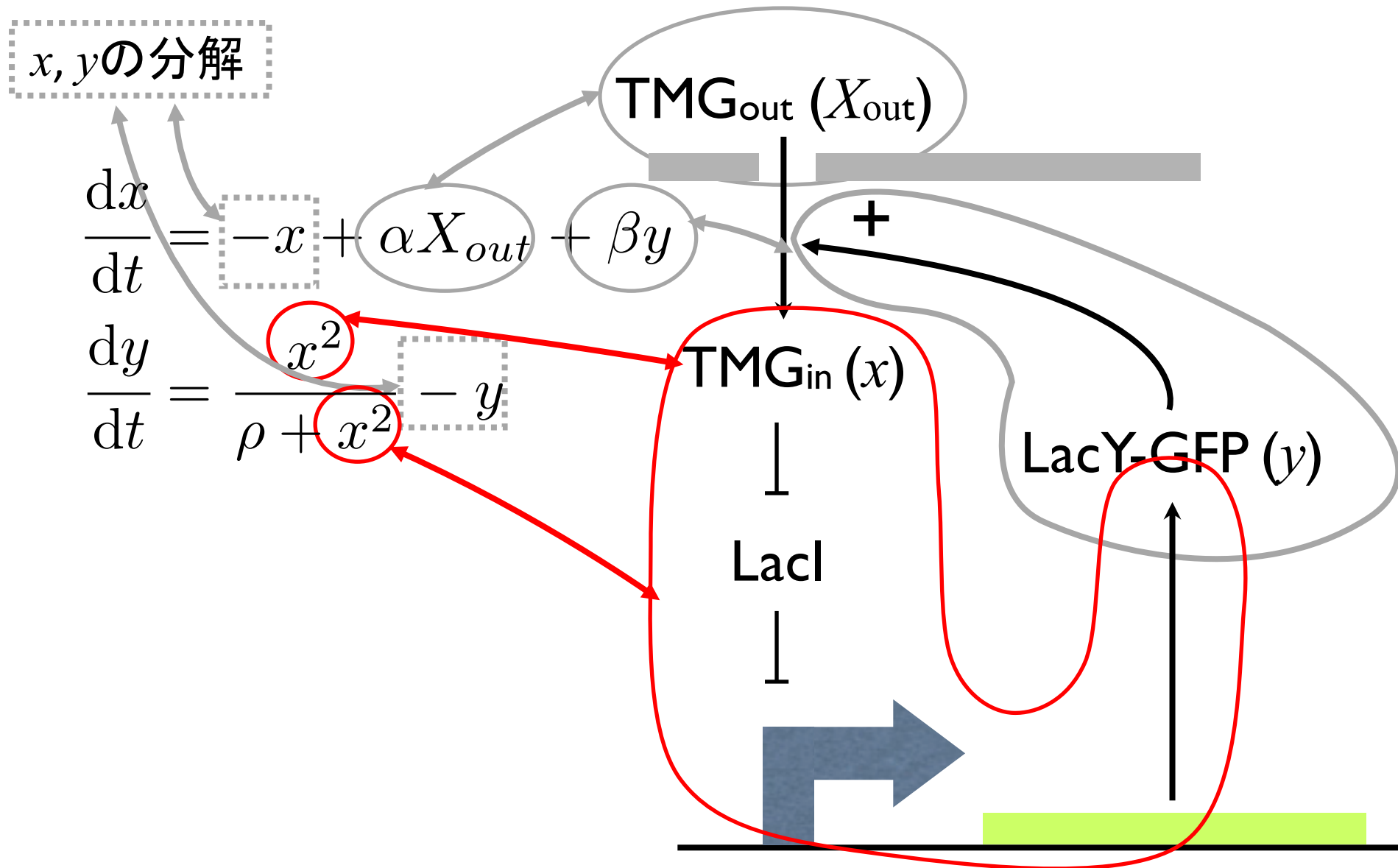
ポジティブ・フィードバックを遮断すると ヒステリシスを示さなくなる

- X_{out} 増加(0→30)、減少(30→0)のどちらの場合も同じS字カーブを描く



演習5: 協調作用がなくなると
ヒステリシスは起きなくなる

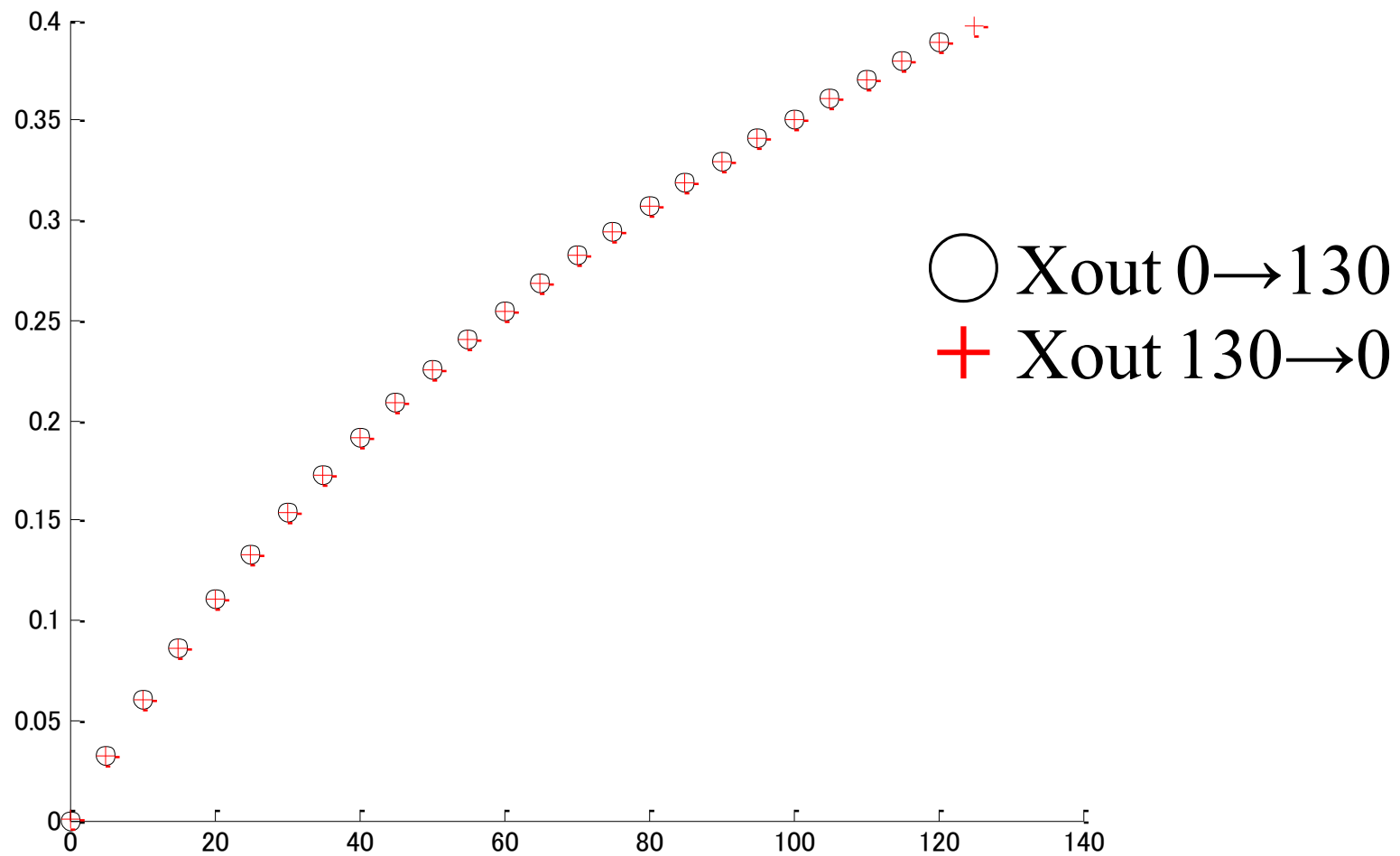
協調作用がない \Leftrightarrow Hill係数が1



Hill係数とヒステリシスの関係を調べてみよう

- Hill 係数 = 1
- ポジティブ・フィードバックあり
- 上記の結果が出たら、Hill係数を振ってみる

演習5: Hill係数を1にしてみると



- ポジティブ・フィードバックあり、Hill係数=1

結論: ヒステリシスには次の2因子が必要である

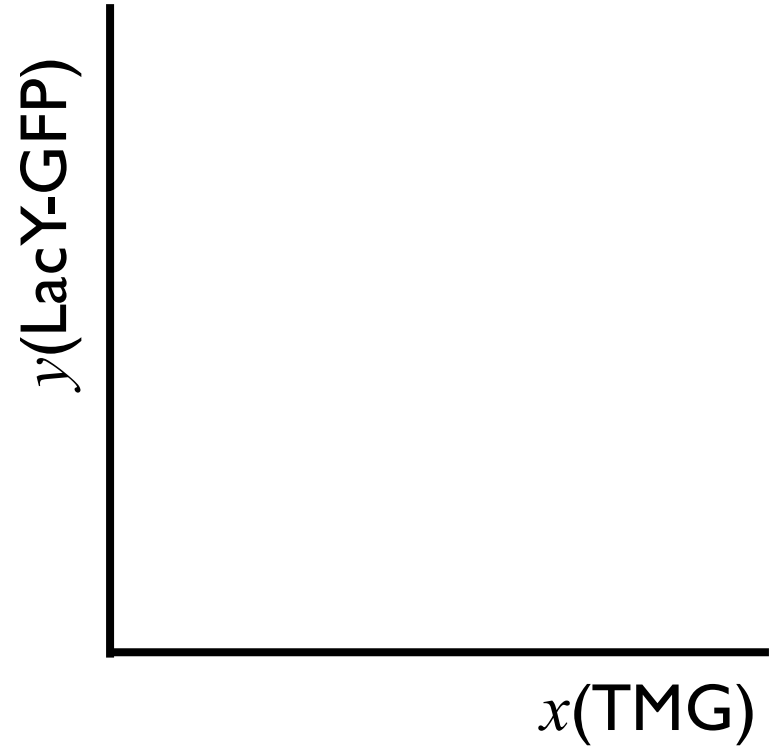
- ポジティブ・フィードバック
- 協調作用
 - 高いHill係数

なぜヒステリシスが起きるのか？

- ポジティブ・フィードバック、協調作用が必要な理由を知りたい
- 力学系の道具を使って説明できる
 1. 相平面
 2. ヌルクライン
 3. 固定点（発展）
 4. ベクトル場（発展）
 5. ヤコビ行列と固有値・固有ベクトル（発展）

道具その1: 相平面

- 時間変化する2変数を縦軸・横軸にとった平面
- ここでは $x(\text{TMG})$ - $y(\text{LacY-GFP})$ 平面のこと

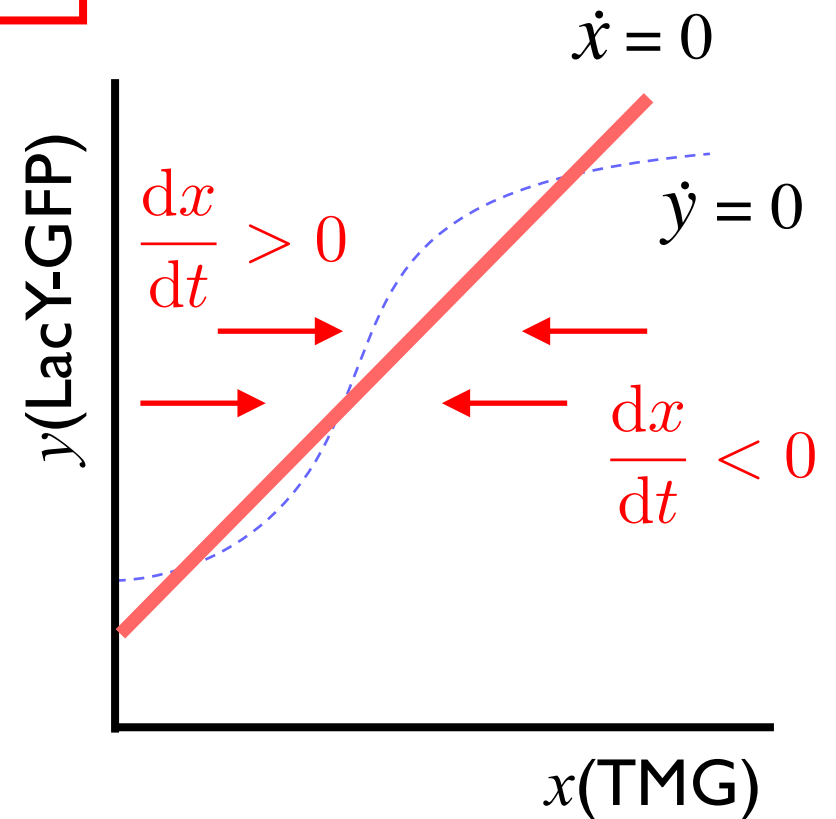


道具その2:ヌルクライン

$$\frac{dx}{dt} = -x + \alpha X_{out} + \beta y = 0$$

$$\frac{dy}{dt} = \frac{x^2}{\rho + x^2} - y = 0$$

- $\dot{x} = 0, \dot{y} = 0$ となる点の集まりからなる曲線

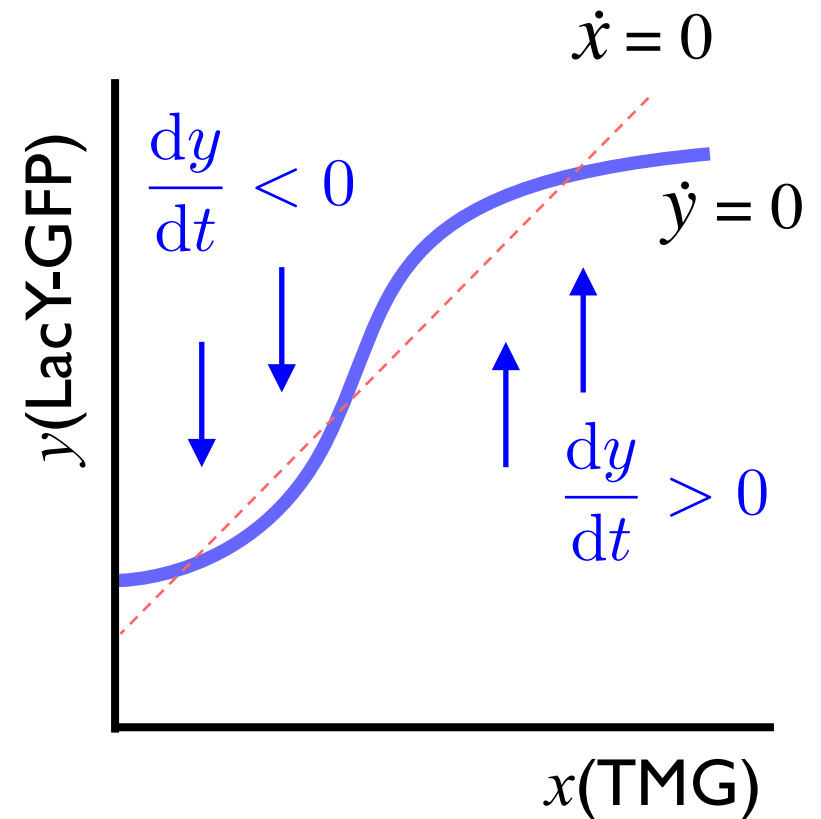


道具その2:ヌルクライン

$$\frac{dx}{dt} = -x + \alpha X_{out} + \beta y = 0$$

$$\frac{dy}{dt} = \frac{x^2}{\rho + x^2} - y = 0$$

- $\dot{x} = 0, \dot{y} = 0$ となる点の集まりからなる曲線

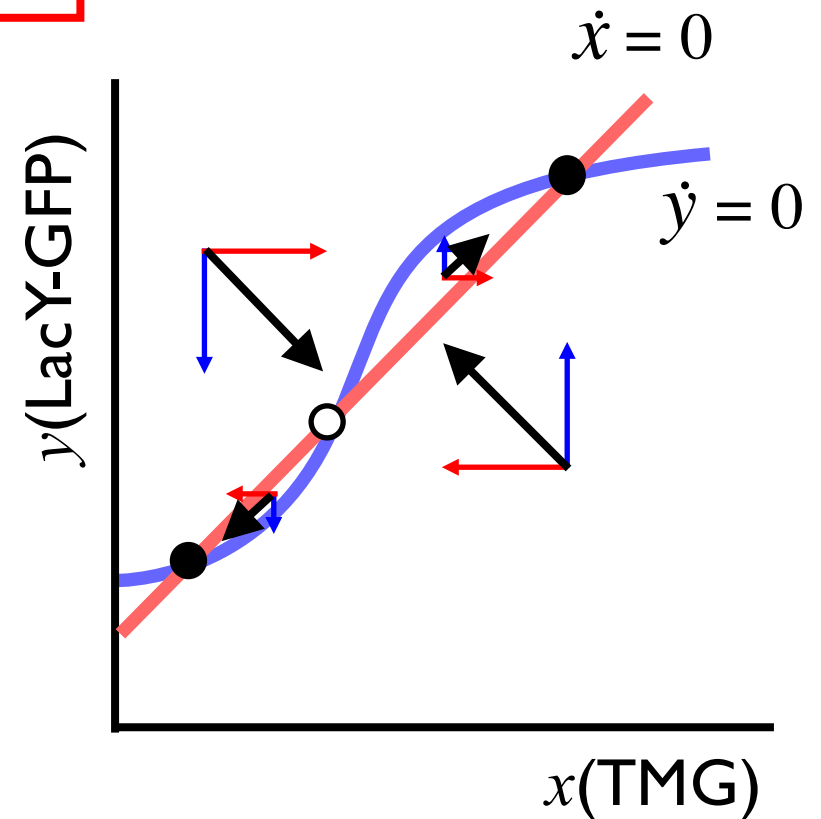


道具その2:ヌルクライン

$$\frac{dx}{dt} = -x + \alpha X_{out} + \beta y = 0$$

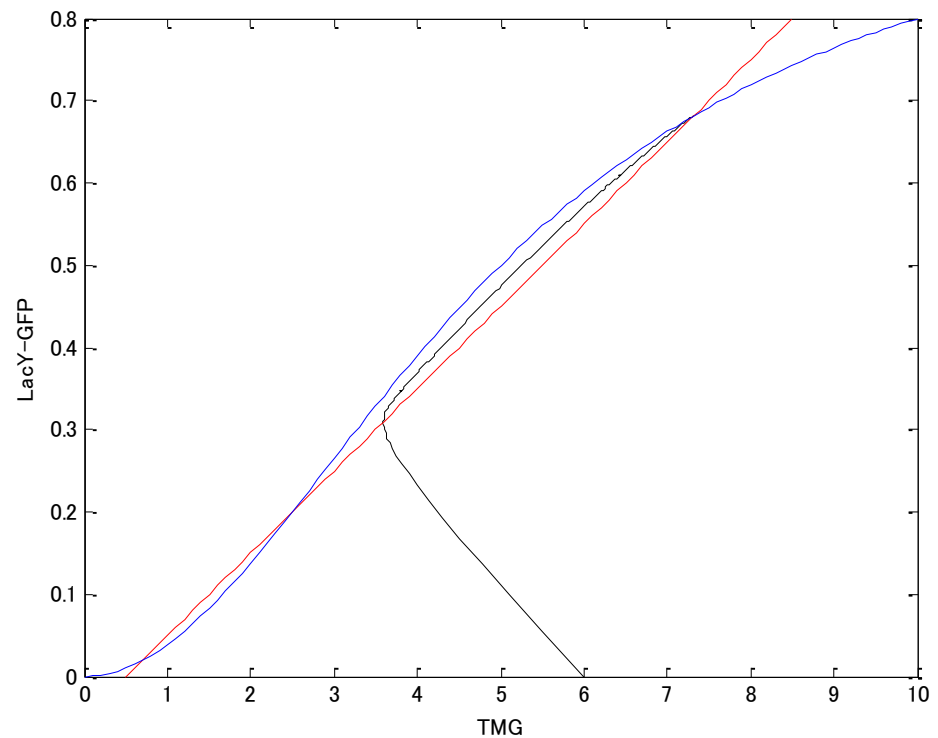
$$\frac{dy}{dt} = \frac{x^2}{\rho + x^2} - y = 0$$

- $\dot{x} = 0, \dot{y} = 0$ となる点の集まりからなる曲線
- ヌルクラインの交点は「固定点」と呼ばれる

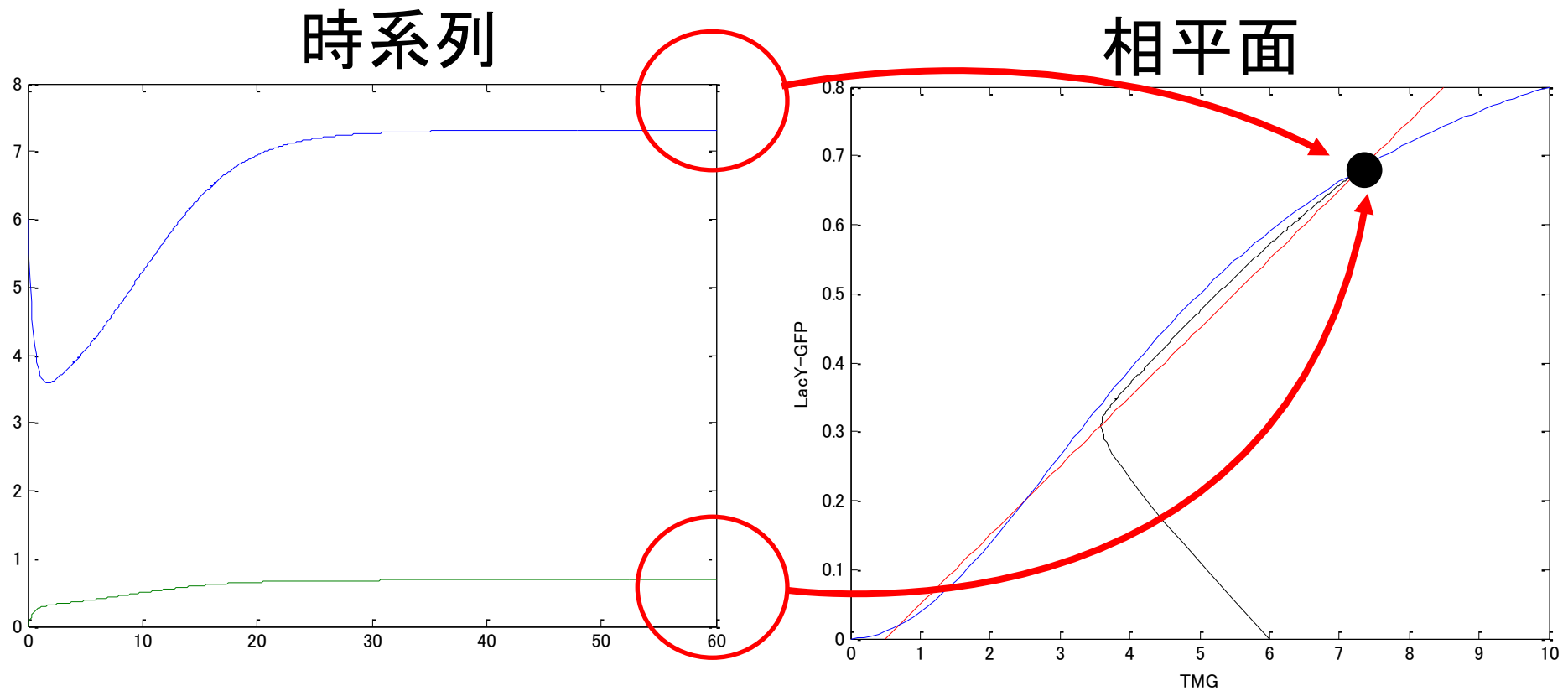


固定点は定常状態のことである

- ヌルクラインの交点
3つ
 - すなわち「固定点」
 - TMG, LacY-GFPともに変化しないので定常状態
- 解軌跡(右図では黒線)が固定点に到達してそこにとどまる



固定点は定常状態のことである



- 時系列が定常状態に達したら、それは相平面上では解軌跡が固定点に到達したことに対応する

演習6: 相平面とヌルクライン

1. Ozbudakモデルの解軌跡を相平面に描きなさい
(MATLAB)
 - 解軌跡 = 時間が経つにつれて点 (x, y) が2次元平面上でどのように動くか
2. ヌルクラインの式を紙と鉛筆で求め、MATLABでグラフ化しなさい

空欄を埋めなさい

```
function ozbudak_phaseplane()
```

(略。初期値、パラメータはx_out以外、演習1と同じものとする。)

```
x_out =  % ヒステリシスを起こす値と起こさない値を試すこと
```

```
function dsdt = ODE(t,s,param) (略)
```

```
function plot_phase_plane(time_course , alpha , beta , rho )
```

```
x_time_course = time_course(:,1);
```

```
y_time_course = time_course(:,2);
```

```
figure(1);
```

```
hold on;
```

```
plot( ,  , 'k'); % 解の軌跡を描く
```

```
xlabel('TMG') ylabel('LacY-GFP')
```

```
y = 0:0.01:0.8;
```

```
 ; % dx/dt = 0
```

```
plot(x , y , 'r'); % 'r'はredのr
```

```
x = 0:0.1:10;
```

```
y = x.^2 ./  ; % dy/dt = 0
```

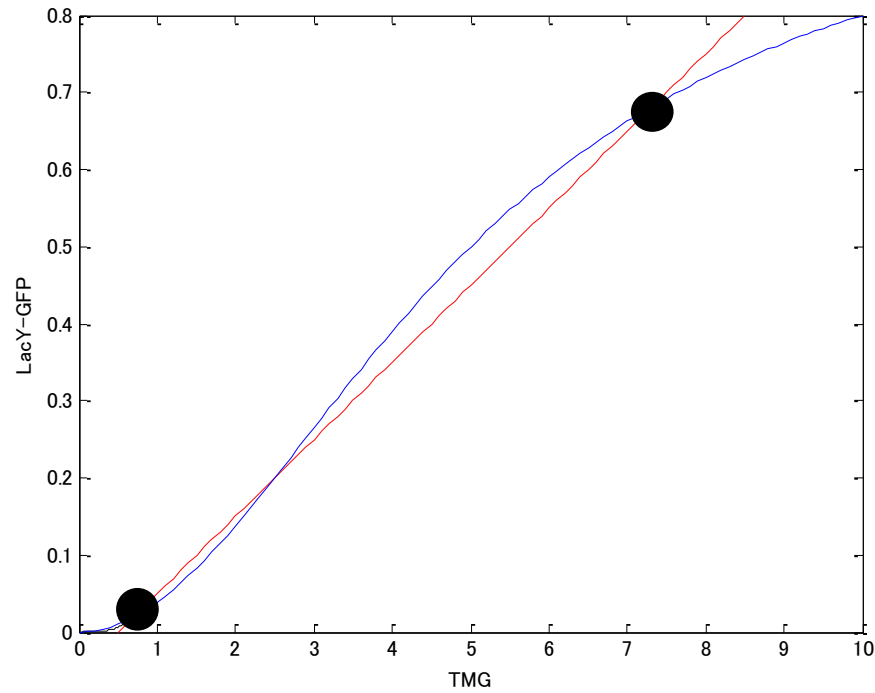
```
plot( ,  , 'b');
```

```
hold off;
```

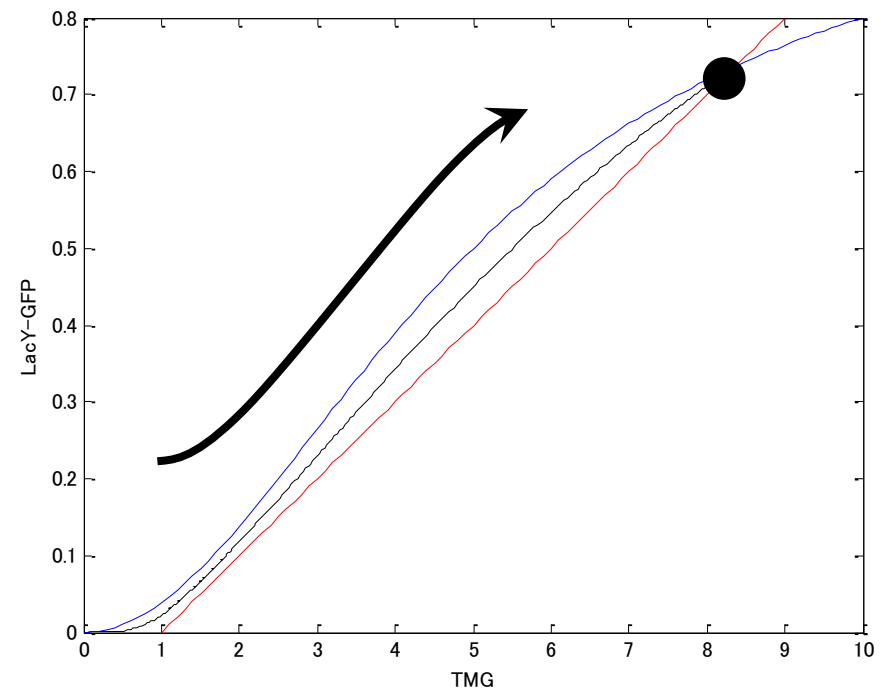
```
end
```

解答出力例 (黒線が解軌跡)

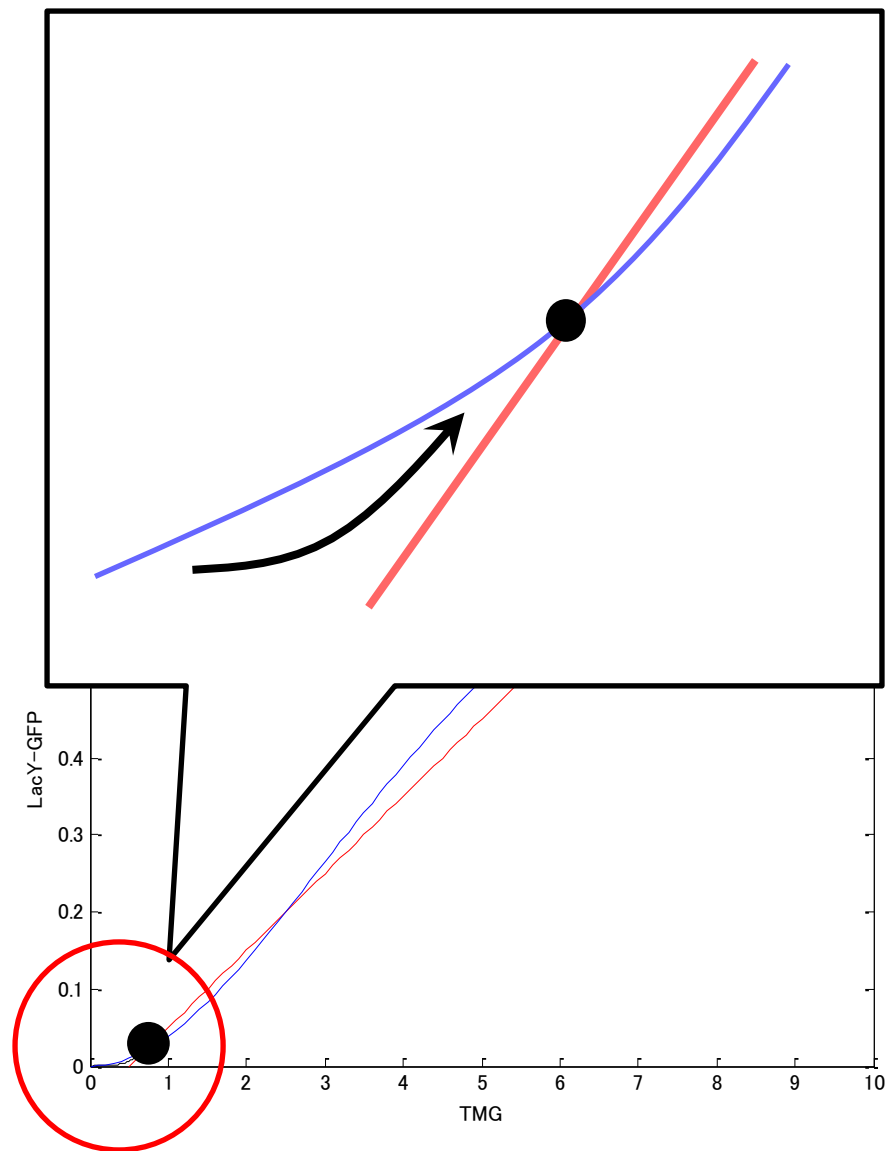
ヒステリシスなし



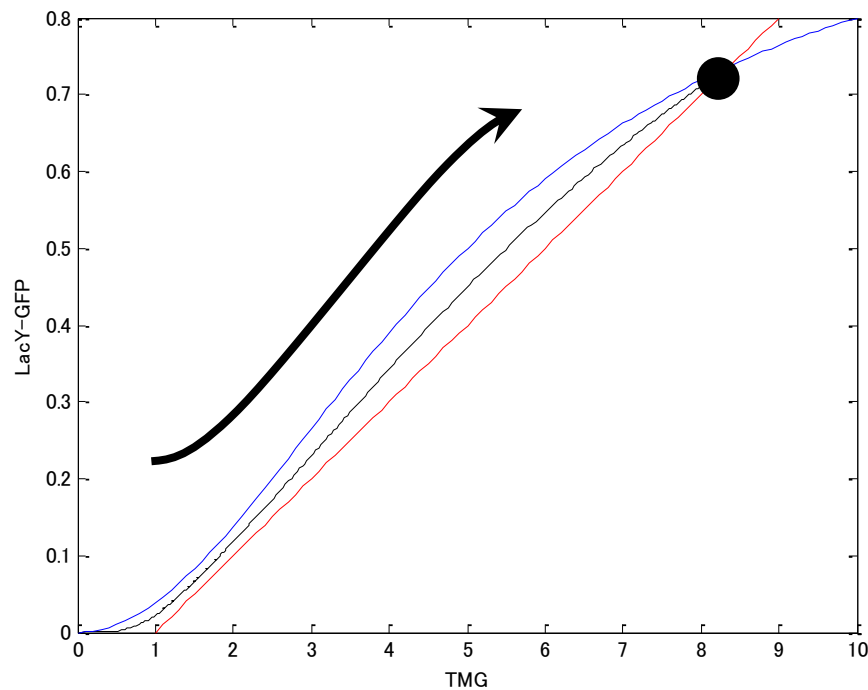
ヒステリシスあり



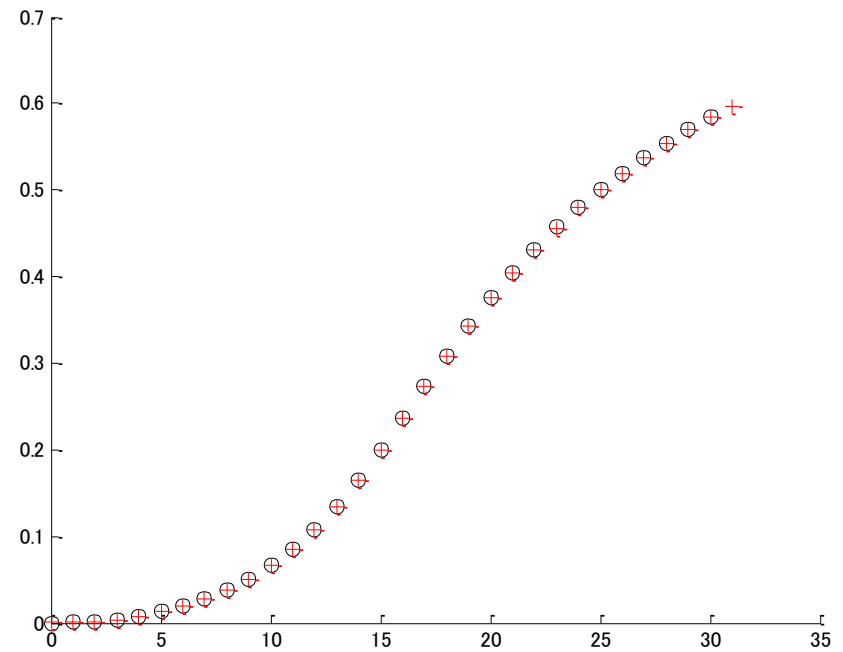
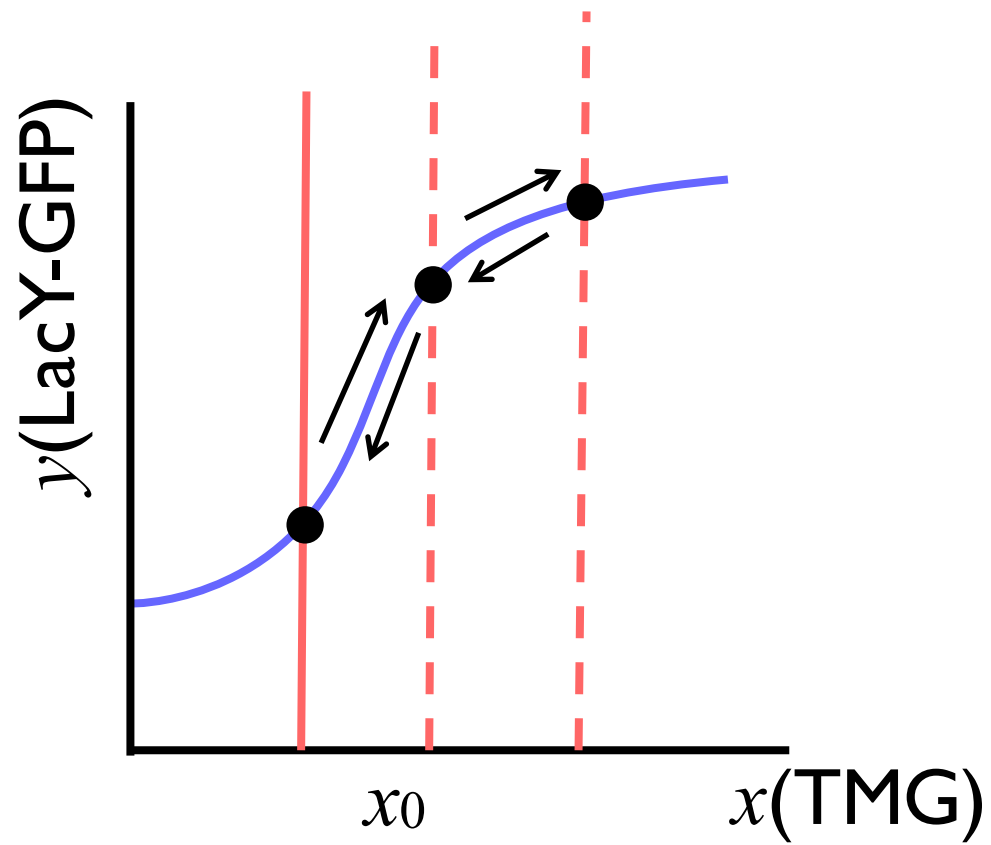
解答出力例 (黒線が解軌跡)



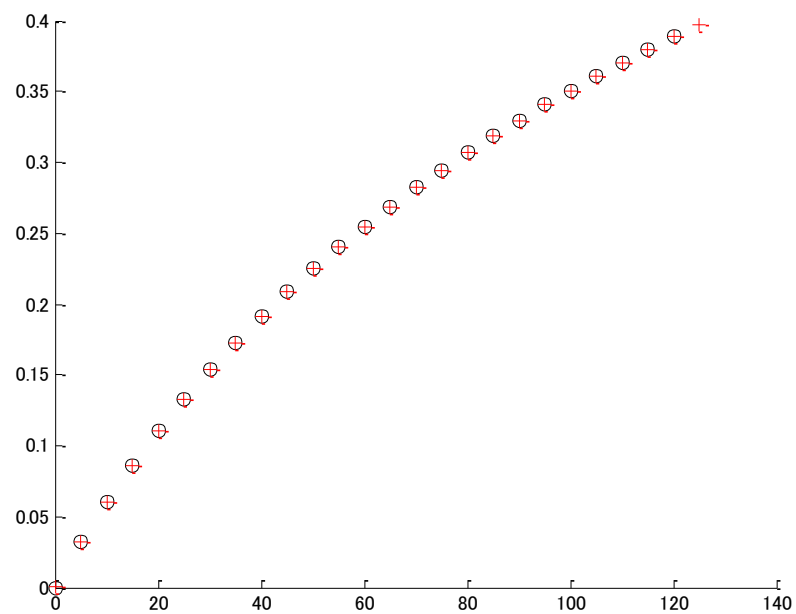
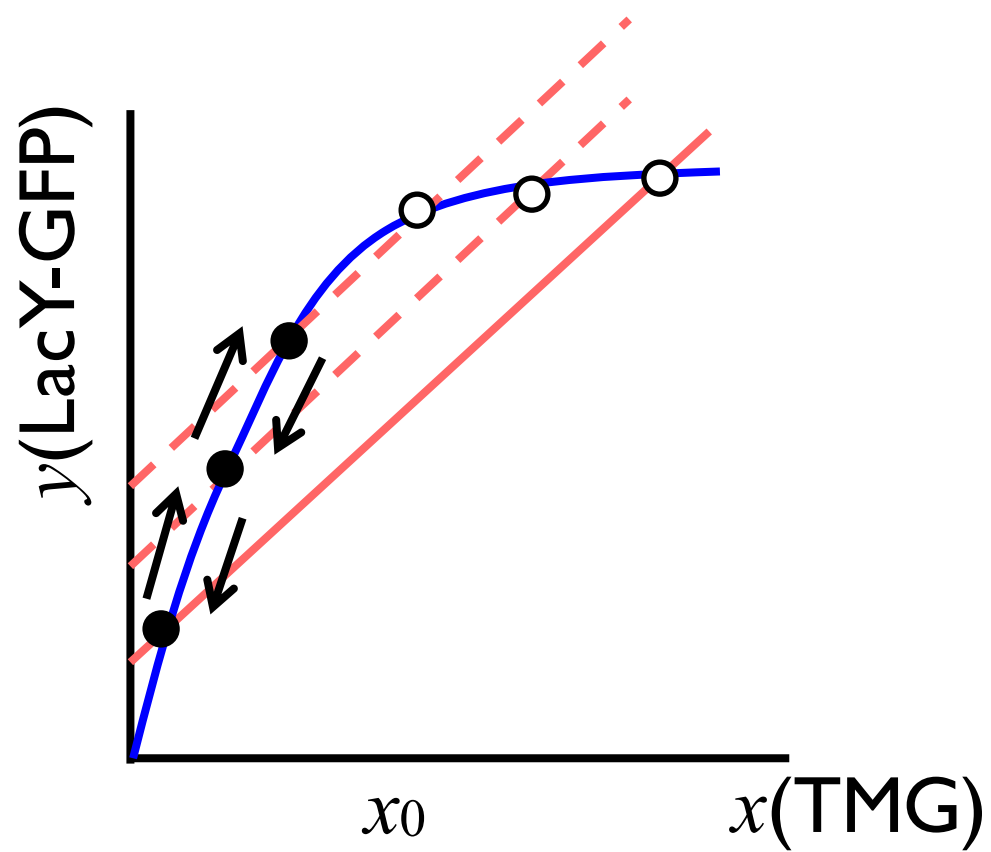
ヒステリシスあり



ポジティブ・フィードバックなし



協調作用なし



双安定まとめ

1. Ozbudakモデルはヒステリシスを再現する
 - － 大腸菌は糖の濃度を記憶する
2. ヒステリシスには次の2つの要素が必要である
 - － ポジティブ・フィードバック
 - － 協調作用
3. ヒステリシスが起きる理由は力学系の言葉で説明できる
 - － 相平面、ヌルクライン、固定点

休憩

生体内での振動現象

- 心拍、血糖値、細胞分裂、概日周期、etc...

↳ 起源: 細胞内の生化学反応・遺伝子発現の振動

視交叉上核の Ca^{2+}



YouTubeより

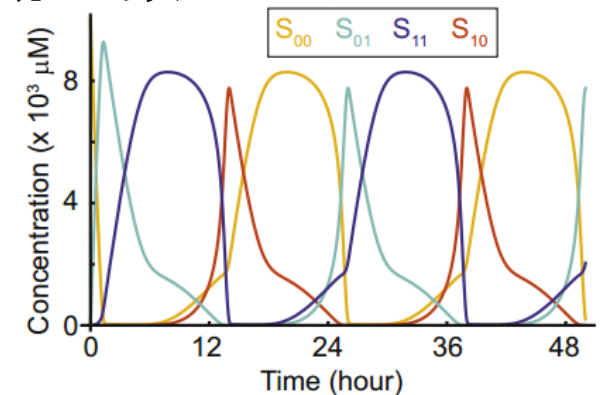
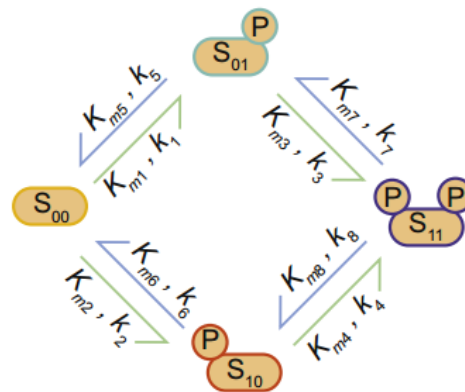
- 解糖系から: *Sel'kov* モデル
- 神経発火から: *FitzHugh-Nagumo* モデル
- 合成生物学から: *Repressilator* モデル

心筋細胞



YouTubeより

リン酸化反応の振動の数理モデル

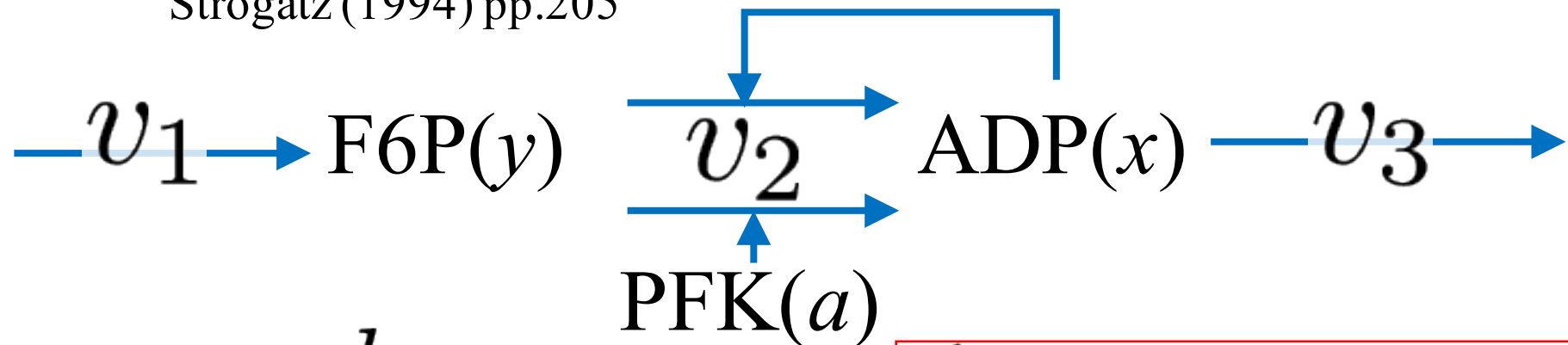


Jolley *et al.*, Cell Report (2012)

生体内での振動現象1

例1. 解糖系の振動モデル (*Sel'kov model*)

Strogatz (1994) pp.205



$$v_1 = b$$

$$v_2 = ay + x^2y$$

$$v_3 = x$$

$$\begin{cases} \dot{x} = v_2 - v_3 \\ \dot{y} = v_1 - v_2 \end{cases}$$

課題1-1: シミュレーションで振動を確認しよう

パラメータ: $a = 0.06, b = 0.6$

横軸: 時間

初期値: $x(0) = 1, y(0) = 1$

縦軸: 濃度

“selkov.m”をダウンロードして空欄を埋める

```
function selkov()  
    % selkovモデル  
    s0 = [1, 1]; % ADP(x)の初期値とF6P(y)の初期値  
    param = [0.06, 0.6]; % パラメータ a, b  
    time = 0.01:0.1:100; % シミュレーションを行う時間  
  
    [t, time_course] = ode45(@(t, s) ODE(t, s, param), time, s0); % ODEを解く  
    figure(1)  
    plot(t, time_course(:,1), 'r', t, time_course(:,2), 'b'); % 横軸:時間、縦軸:濃度でplot  
    legend({'ADP','F6P'});  
  
end
```

end

```
function dsdt = ODE(t, s, param)
```

```
    x = s(1); % ADP
```

```
    y = s(2); % F6P
```

```
    a = param(1);
```

```
    b = param(2);
```

```
    v1 = 
```

```
    v2 = 
```

```
    v3 = 
```

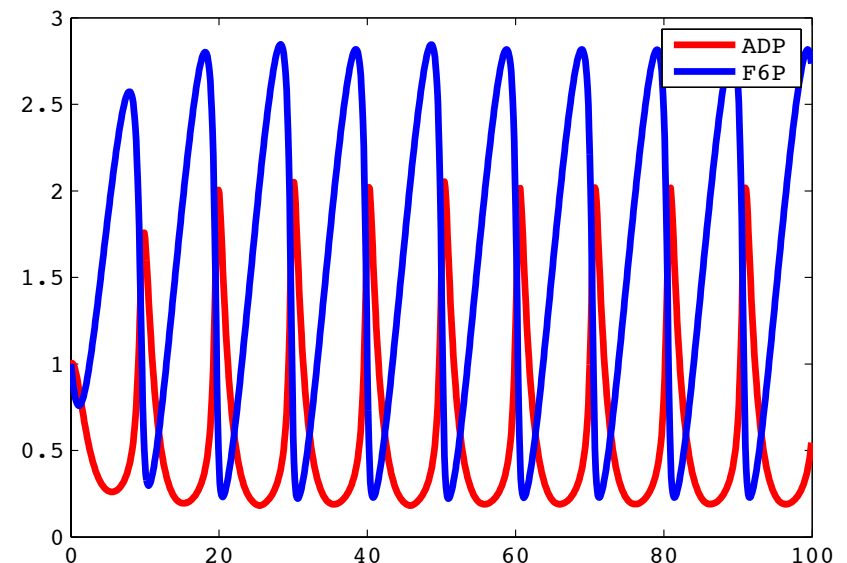
```
    dsdt(1, :) = 
```

```
    dsdt(2, :) = 
```

end

```
% ADPの時間変化  
% F6Pの時間変化
```

シミュレーション結果



解答例 (課題1-1)

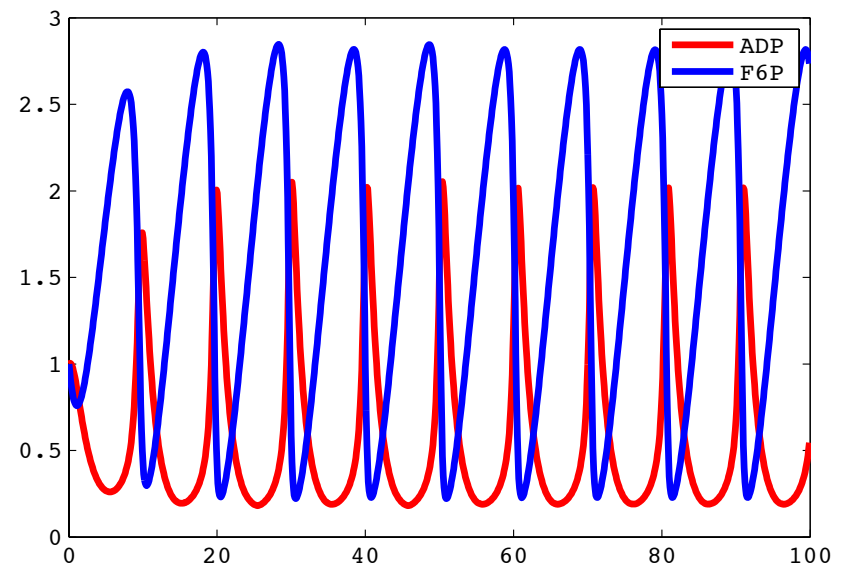
```
function selkov()  
    % selkovモデル  
    s0 = [1, 1]; % ADP(x)の初期値とF6P(y)の初期値  
    param = [0.06, 0.6]; % パラメータ a, b  
    time = 0.01:0.1:100; % シミュレーションを行う時間  
  
    [t, time_course] = ode45(@(t, s) ODE(t, s, param), time, s0); % ODEを解く  
    figure(1)  
    plot(t, time_course(:,1), 'r', t, time_course(:,2), 'b'); % 横軸:時間、縦軸:濃度でplot  
    legend({'ADP','F6P'});  
  
end
```

end

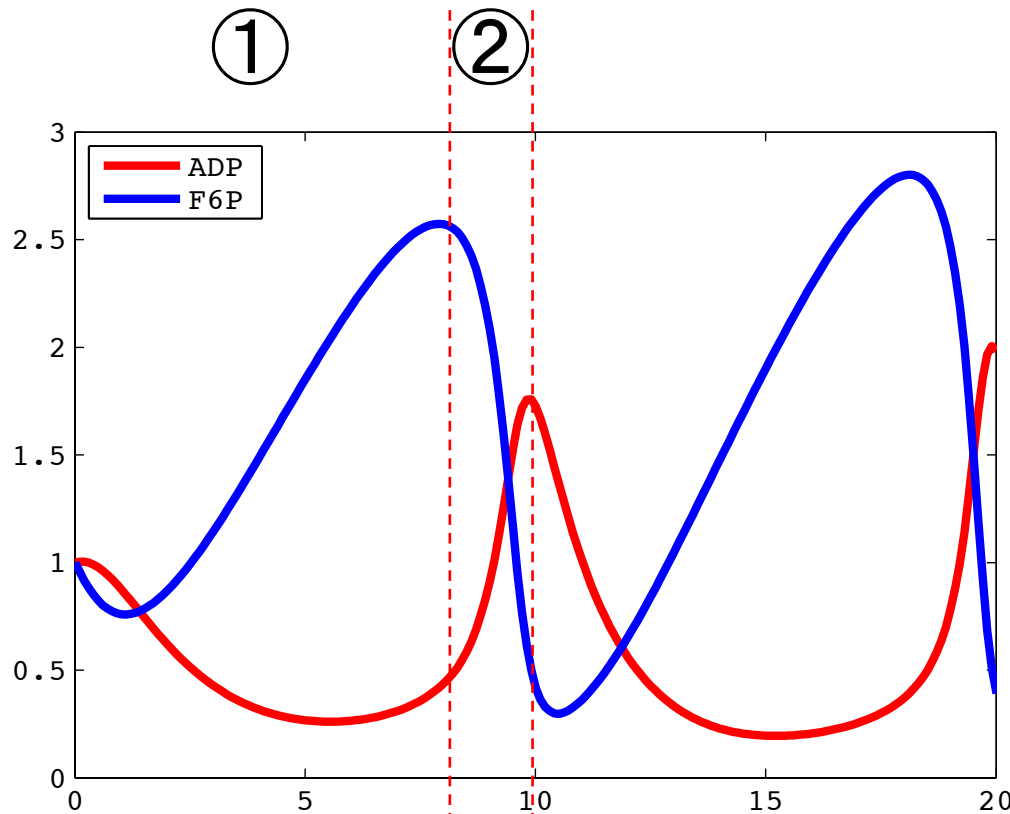
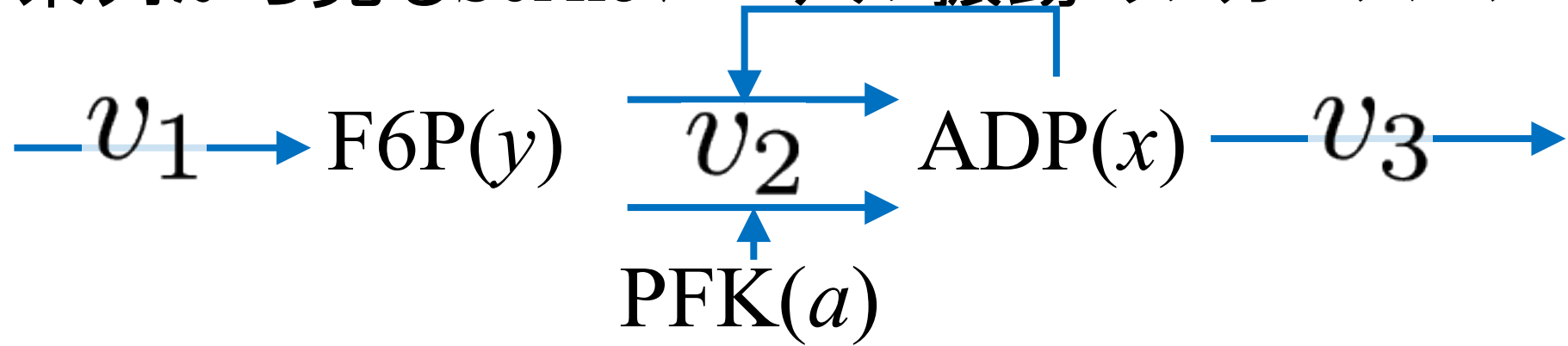
```
function dsdt = ODE(t, s, param)  
    x = s(1); % ADP  
    y = s(2); % F6P  
    a = param(1);  
    b = param(2);  
    v1 = b;  
    v2 = a .* y + x.^2 .* y;  
    v3 = x;  
  
    dsdt(1, :) = v2 - v3 ; % ADPの時間変化  
    dsdt(2, :) = v1 - v2 ; % F6Pの時間変化
```

end

シミュレーション結果



時系列から見るSel'kov モデル振動のメカニズム



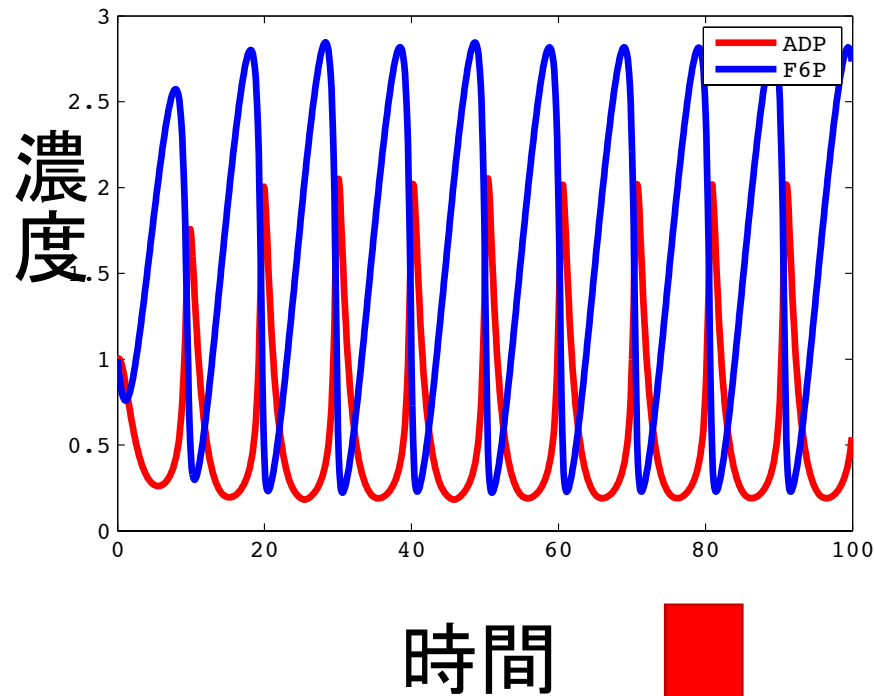
$$v_1 = b$$

$$v_2 = ay + x^2y$$

$$v_3 = x$$

- ① 入力(定数)によってF6Pが溜まる。ADPは有限の値を維持。
- ② F6Pが大きくなるとADPが増え、F6Pが減る(時間遅れのNFB)

x - y 平面上で解軌道を描く



課題1-2:

さっきのファイルをいじって
相平面上での解軌道
(x - y 平面上でplot)
とヌルクラインも描け



F6P (y)

相図

?

ADP (x)

ヒント

`plot(t, time_course(:,1));`
は横軸:時間、縦軸:ADP濃度。
描きたいのは...

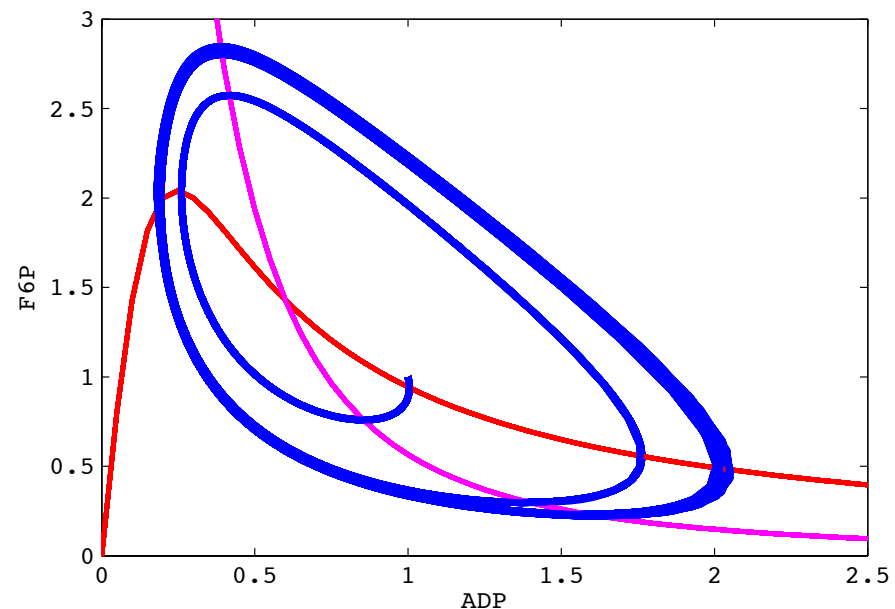
解答例 (課題1-2)

```
function selkov2()  
    % selkovモデル  
    (略)  
    figure(1);  
    plot(t, time_course(:,1), 'r', t, time_course(:,2), 'b'); % 横軸:時間、縦軸:濃度でplot  
    figure(2);  
    hold on;  
    plot_nullcline(param); % dx/dt=0, dy/dt=0をplot  
    plot(time_course(:,1), time_course(:,2), 'b'); % 横軸:ADP濃度、縦軸:F6P濃度でplot  
  
end
```

```
function dsdt = ODE(t, s, param)  
    (略)  
end
```

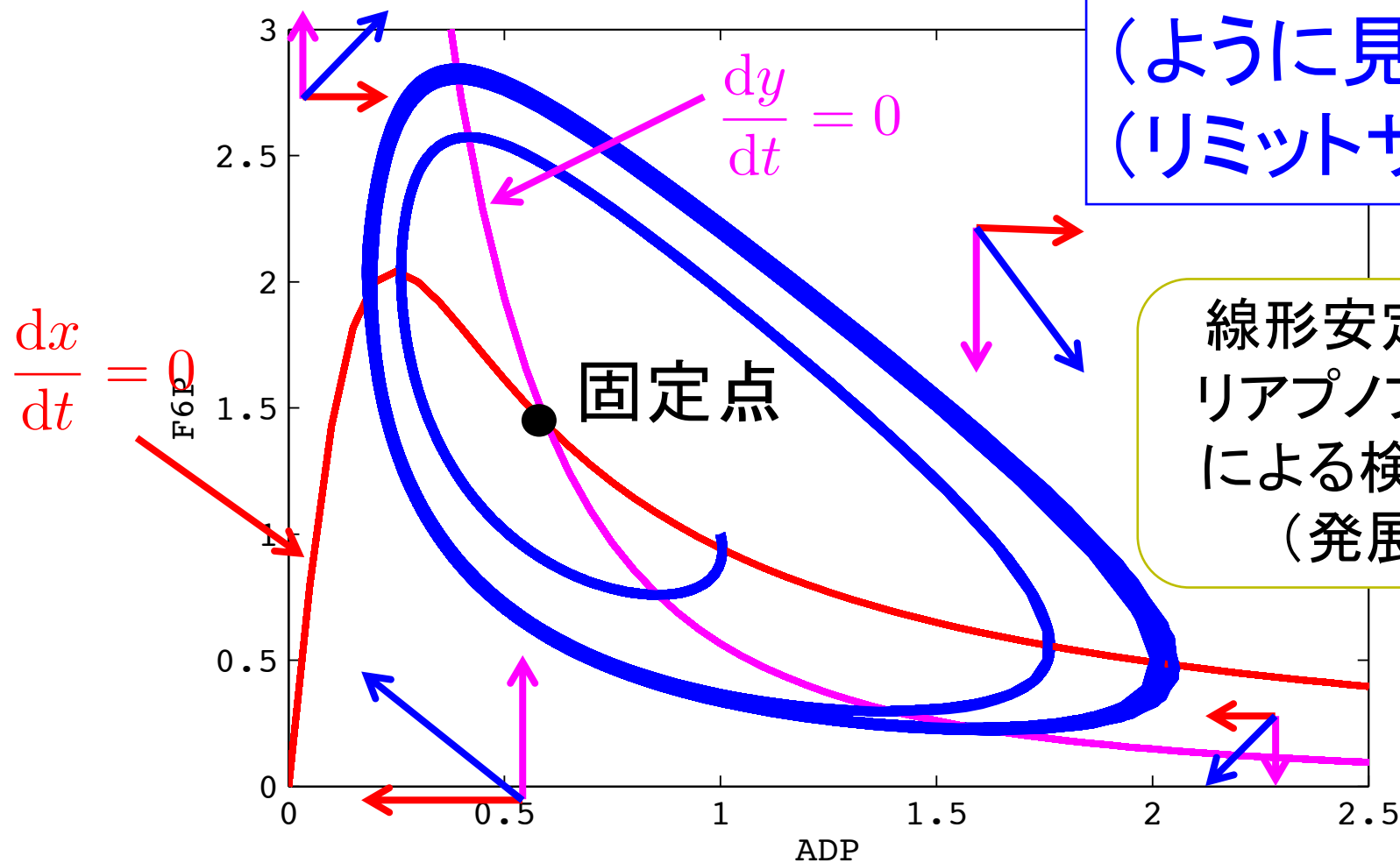
```
function plot_nullcline(param)  
    a = param(1);  
    b = param(2);  
    x = 0:0.05:2.5;  
    y1 = x./(a + x.^2);  
    y2 = b./(a + x.^2);  
    plot(x, y1, 'r', x, y2, 'm');  
end
```

シミュレーション結果



課題1-2 考察

シミュレーション結果

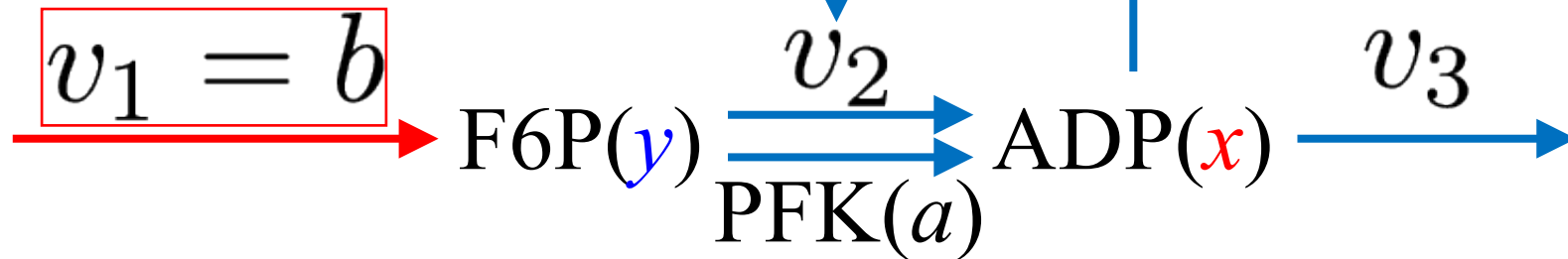


ぐるぐる回る
(ように見える)
(リミットサイクル)

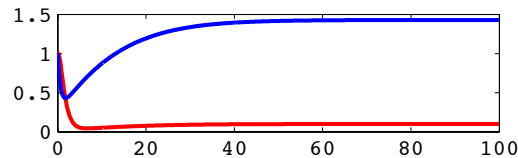
線形安定性解析・
リアプノフ解析など
による検証が必要
(発展課題)

課題1-3: 入力が大きくなる or 小さくなるとどうなるか

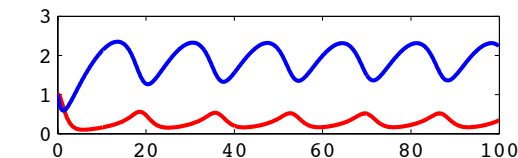
振動解のパラメータ依存性



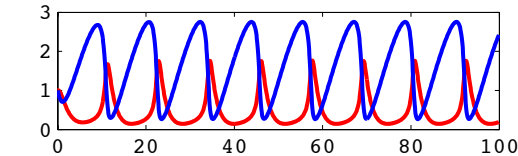
$b = 0.1$



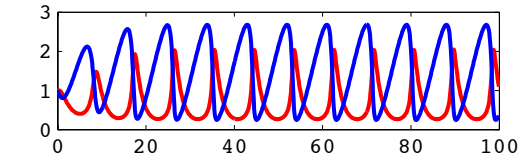
$b = 0.3$



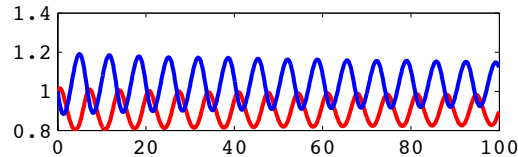
$b = 0.5$



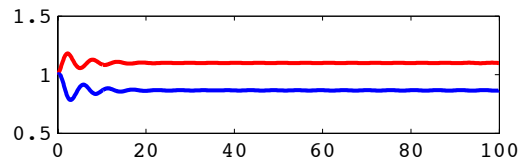
$b = 0.7$



$b = 0.9$



$b = 1.1$



入力の増加

⇒ 振幅: 増加

振動数: 増加

入力の増加

⇒ 振幅: 減少

振動数: 増加

ヒント: 複数のパラメータを計算する場合 for文を使う

```
function selkov()  
    (略)  
    [t, time_course] = ode45(@(t, s) ODE(t, s, param), time, s0);  
  
    figure(1);  
    (略)  
end
```

```
function selkov_parameter_dependency() {  
    (略)  
    b = 0.1:0.2:1.1;  
    for i = 1:numel(b)  
        param(2) = b(i);  
        [t, time_course] = ode45(@(t, s) ODE(t, s, param), time, s0);  
  
        figure(1);  
        hold on; subplot(numel(b), 1, i);  
        plot(t, time_course(:,1), 'r', t, time_course(:,2));  
  
        (略)  
    end  
end
```

```
for i = 1:n  
    (※)
```

```
end
```

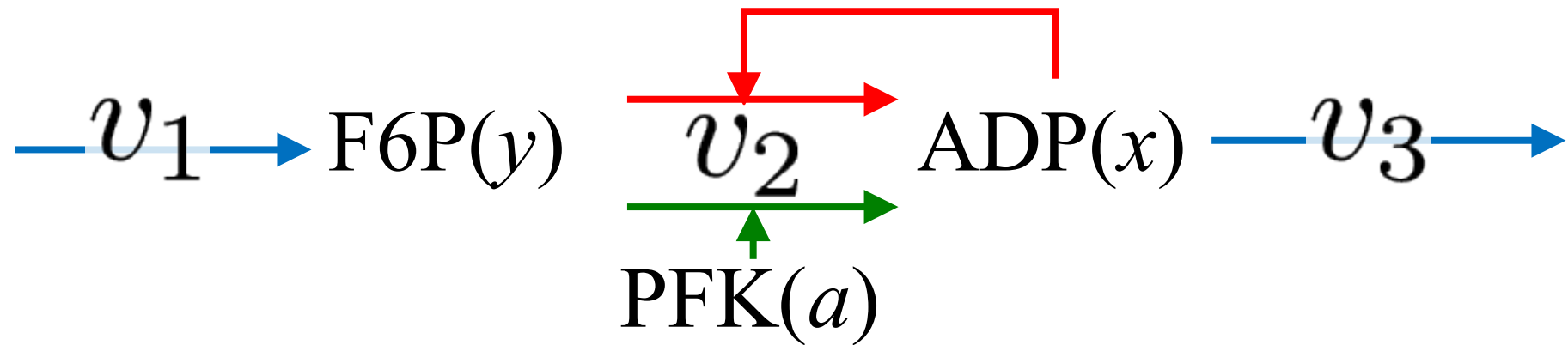
⇒ (※)をn回繰り返す

```
numel(配列)
```

⇒ 配列の要素の個数

解答例はselkov_parameter_dependency.mを参照

Sel'kovモデルの振動解に必要なパラメータとは？



$$v_1 = b$$

$$v_2 = ay + x^2y$$

$$v_3 = x$$

ADPによるF6Pの生成において
F6Pの次数(協調性)が変わる

or/and

PFKによる基礎生成が変わる
(a の値を変える)

どうなるか確認せよ

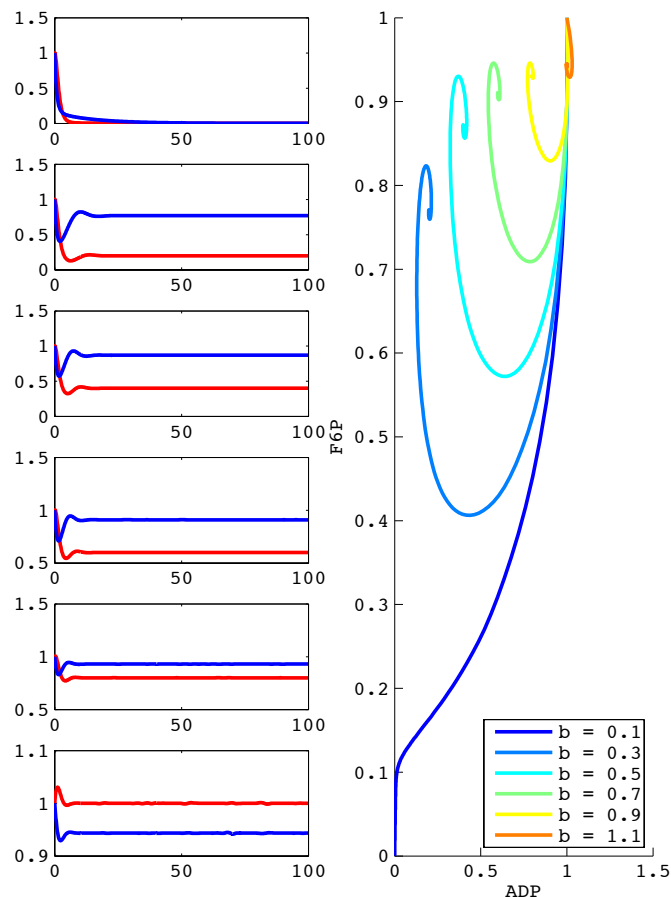
(課題1-4)

入力(b)依存性も調べよ

(課題1-5)

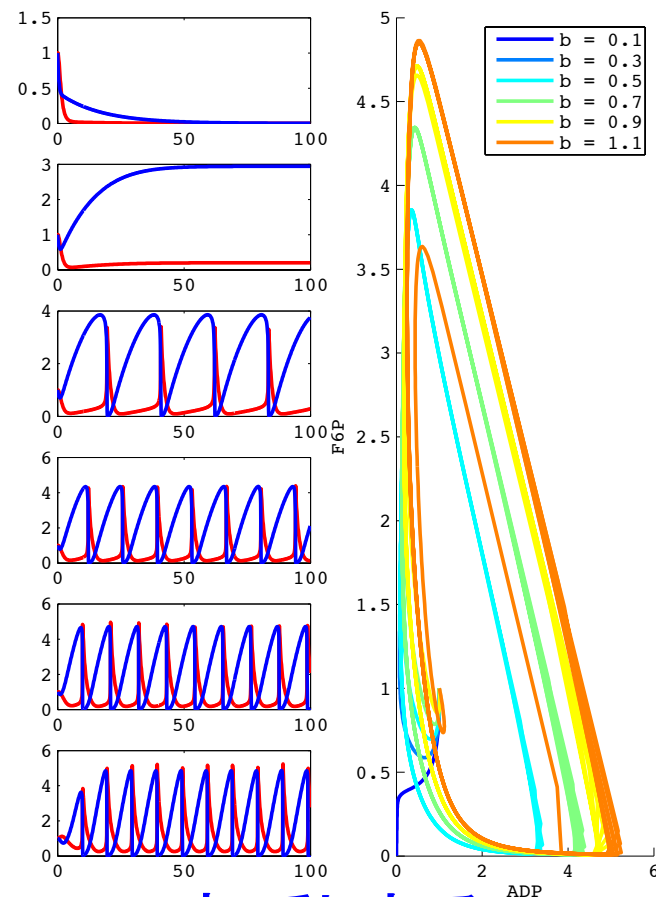
ADPによるF6Pの生成におけるF6Pの次数(協調性)

x の次数が1のとき



振動しない

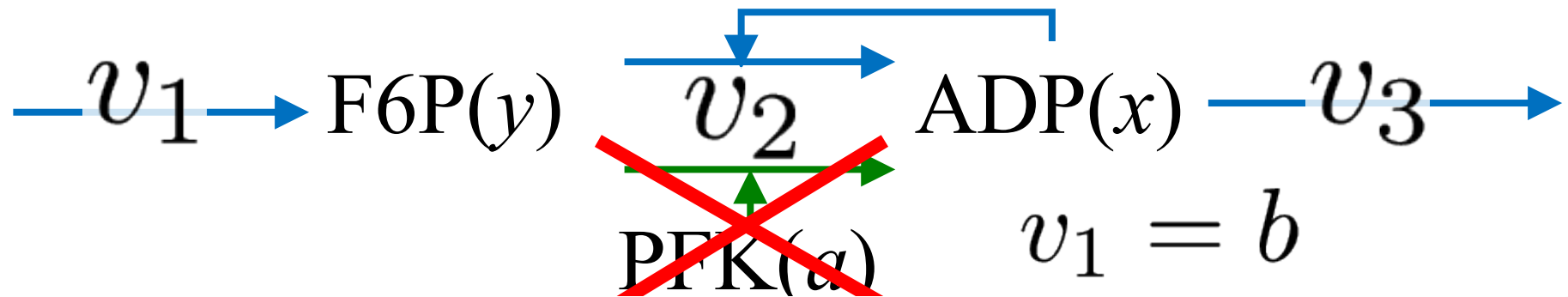
x の次数が3のとき



振動する

Sel'kovモデルの振動には
ポジティブフィードバックの協調性が必要なようだ

PFKによる基礎生成は必要か？



$$v_1 = b$$

$$v_2 = ay + x^2 y$$

$$v_3 = x$$

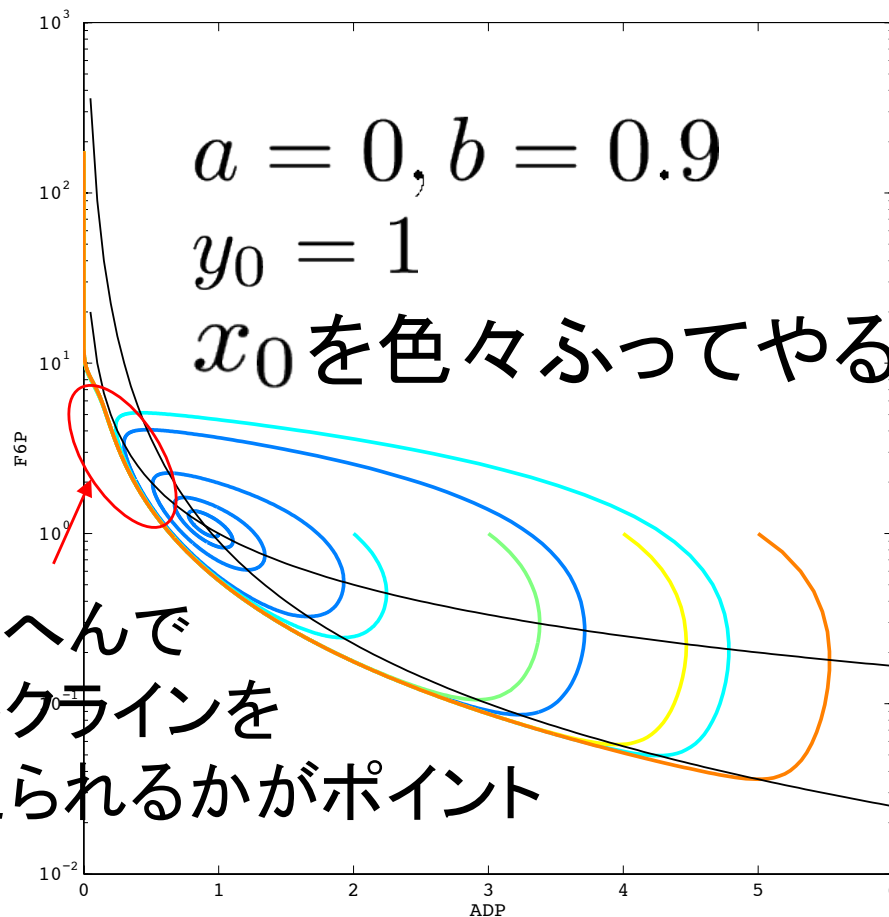
$$(x, y) = \left(b, \frac{1}{b}\right)$$

が唯一の固定点だが...

x が小さくなりすぎると、
 $v_2 = v_3 = 0$ となり、
 y が増加し続ける

こともある(初期値依存)

振動は起こらない



このへんで
 ヌルクラインを
 超えられるかがポイント

今日のまとめ

- MATLABを用いて、
 - Ozbudakモデルのシミュレーションを行い、**ポジティブフィードバック**と**協調性**によって**双安定**が現れることを確認
 - Sel'kovモデル・(Fitzhugh-Nagumoモデル※・Repressilatorモデル※)のシミュレーションを行い、**ポジティブ/ネガティブフィードバック**によって**振動**が現れることを確認

※ 発展課題

- Q. フィードバックがあれば必ず双安定や振動は現れる？
- A. 否。フィードバックの強さなどと密接に関係

この後の発展問題は、
今日これまでやってきたモデルの
線形安定性解析に関する問題です。

これまで、固有値や固有ベクトルを求めたことはあっても、
固有値や固有ベクトルの意味・意義がよく分からない...
という人は、

http://kurodalab.bi.s.u-tokyo.ac.jp/class/Summer/2015/Day6/linear_stability_analysis.pdf
で、簡単に線形安定性解析についてまとめてあるので、
一度見ておいてください。

發展課題(双安定性)

力学系の道具を使ってみよう

1. 相平面
2. ヌルクライン
3. 固定点
4. ベクトル場
5. ヤコビ行列と固有値・固有ベクトル

力学系の道具 3 -固定点-

固定点とは、連立方程式

$$\begin{cases} dx/dt=0 \\ dy/dt=0 \end{cases}$$

を満たす点である。

連立方程式を解くには、

```
syms x y;
```

で変数x, yを文字として認識させた後

```
S = solve('式1', '式2', 'x', 'y');
```

とすれば、Sに解が代入される。

得られた解は、

```
[S.x, S.y]
```

とすれば確認できる。

例:

```
syms x y;
```

```
S = solve('x + y = 1', '2*x - y = 4', 'x', 'y');
```

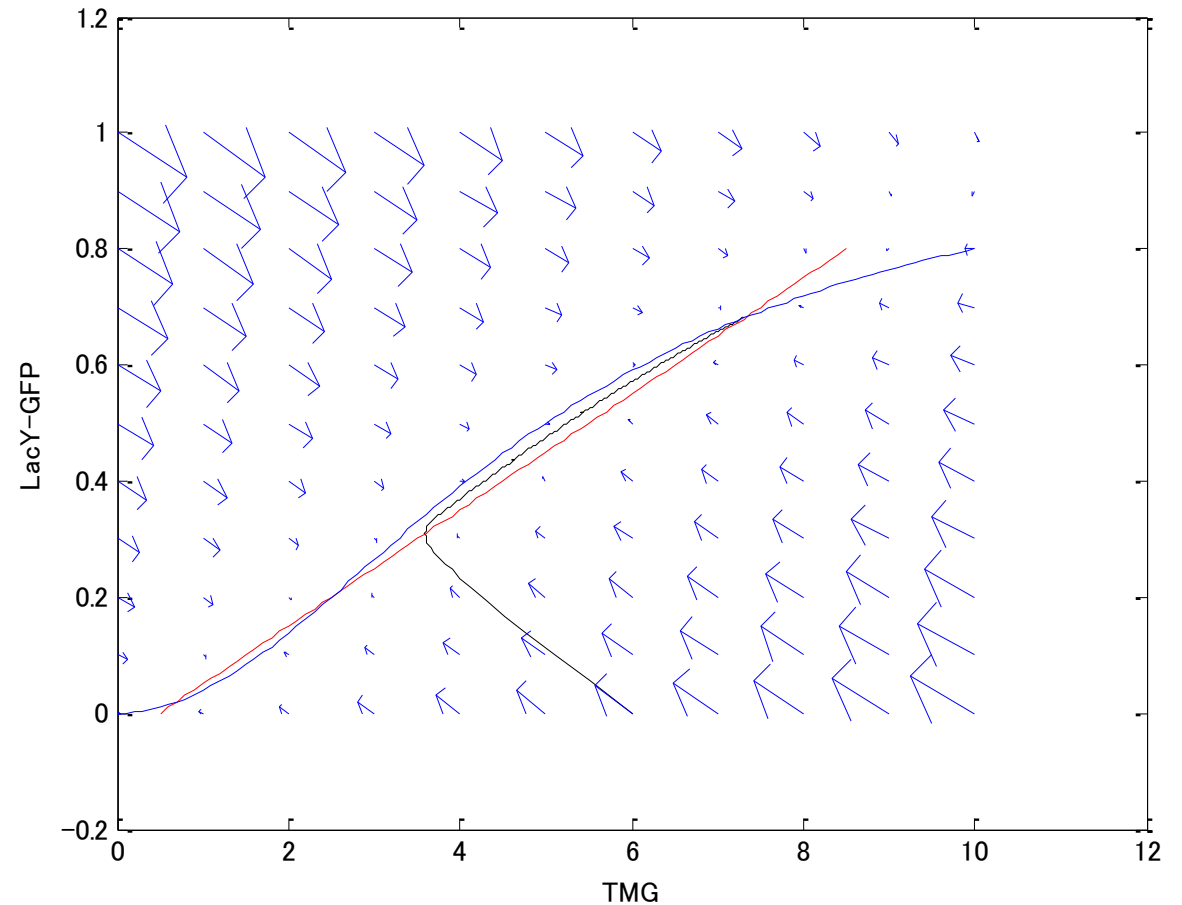
発展課題(双安定性)1: 固定点

- Ozbudakモデルに3つある固定点の座標を求めなさい
 - 固定点 = ヌルクラインの交点

```
function S = ozbudak_fixed_point( )  
    syms x y;  
    S = solve('-x + 0.1 * 5 + 10 * y = 0', ...  
             ' [redacted]', 'x', 'y');  
    [redacted] % 固定点の座標を表示  
end
```

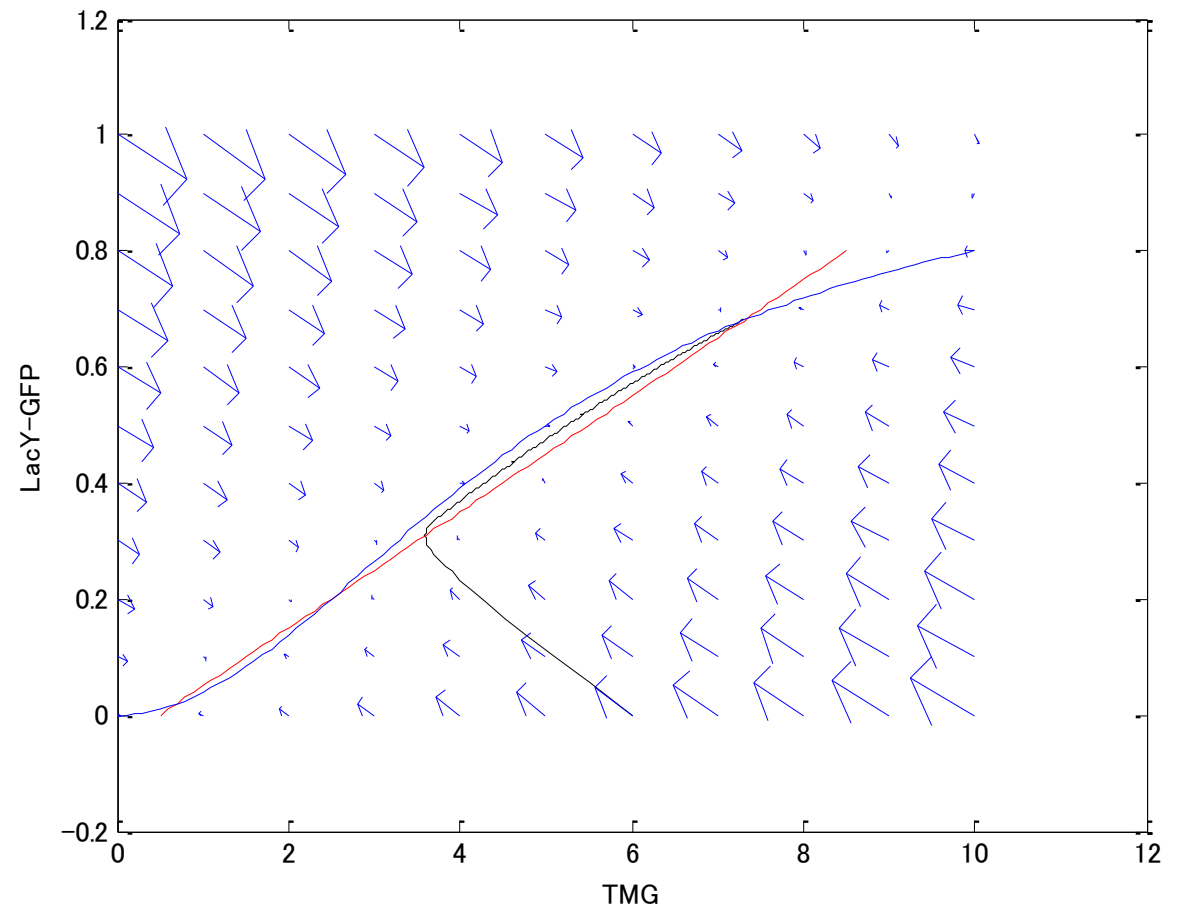

力学系の道具その4:ベクトル場

- 点 (x, y) に大きさ (\dot{x}, \dot{y}) のベクトルを描いたもの
- 「 (\dot{x}, \dot{y}) のベクトル」はその地点の風の強さと向きに相当



ベクトル場を描くと、系内の「風」の向きと強さがわかる

- 初期値を相平面のどこか一点に置く
- 解軌跡は矢印の方向をなぞる
- 最後は固定点に到達



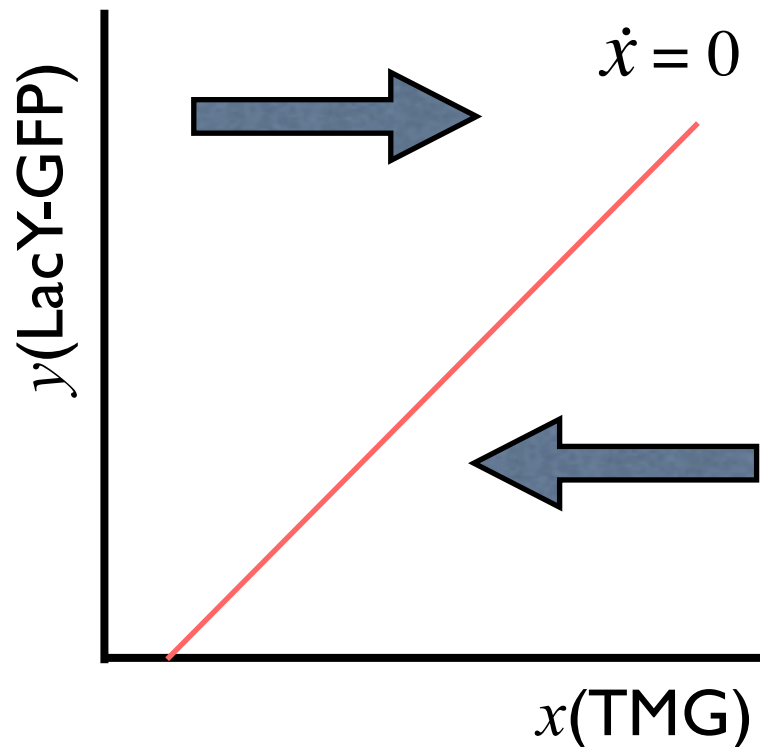
相平面上にベクトル場を描く

- 描き方の基本

$$\begin{cases} \dot{x} = f(x, y) \\ \dot{y} = g(x, y) \end{cases} \quad \rightarrow \quad \text{点 } (x, y) \text{ に大きさ } (\dot{x}, \dot{y}) \text{ のベクトルを描く}$$

- ヌルクラインの性質を利用した描き方
 - x のヌルクライン上では $\dot{x} = 0$
 - すなわちベクトルは垂直
- ベクトルの向きは?
 - 例えば $\dot{x} > 0$ となる領域を求める場合、 $\dot{x} = f(x, y) > 0$ において式変形
 - ヌルクラインを境にどちら側の領域が $\dot{x} > 0$ となるかがわかる

ヌルクラインとベクトル場



$\dot{x} > 0$ は右向きベクトル

$\dot{x} < 0$ は左向きベクトル

まず、 $\dot{x} > 0$ となる領域は

$$\dot{x} = -x + \alpha X_{out} + \beta y > 0$$

$$y > \frac{1}{\beta}(x - \alpha X_{out}) \text{ である。}$$

$\dot{x} = 0$ のヌルクラインの式は

$$y = \frac{1}{\beta}(x - \alpha X_{out}) \text{ であるから、} \dot{x} = 0 \text{ を}$$

境として上側が $\dot{x} > 0$ 、下側が $\dot{x} < 0$ である。

\dot{y} も同様

力学系の道具 4 -ベクトル場-

ベクトル場は、

```
quiver([ベクトルの始点x],  
        [ベクトルの始点y],  
        [ベクトルのx軸方向の長さ],  
        [ベクトルのy軸方向の長さ]);
```

で描ける。

例えば、

点(0,0)と(2,1)をそれぞれ始点とした

ベクトル(※)(5,4)と(-2,-3)を描きたい場合は、

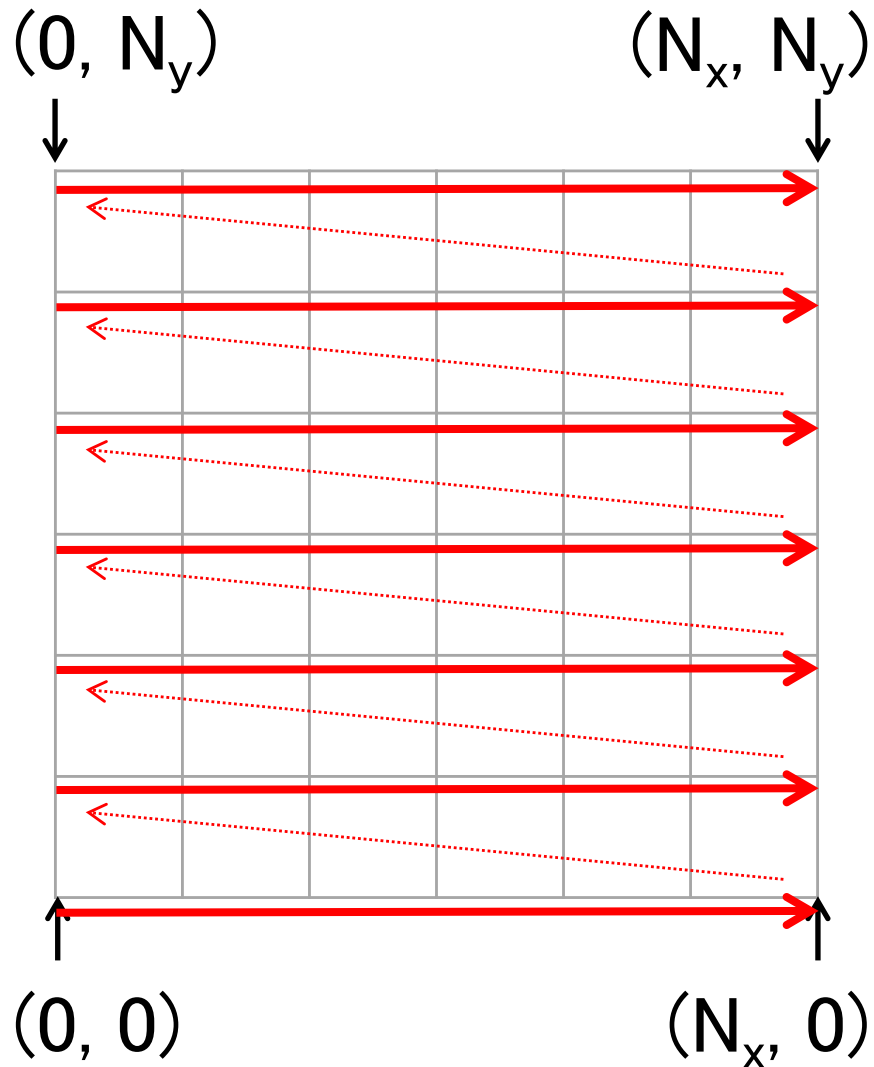
```
quiver([0,2], [0,1], [5,-2], [4,-3]);
```

とすればよい。

※ 実際には、一番長いベクトルの長さが $\sqrt{2}$ になるように規格化されてしまう。

力学系の道具 4 -ベクトル場-

ベクトルの始点の決め方



`[X,Y]=meshgrid(0:Nx, 0:Ny)`

`meshgrid(0:4, 0:5)`

X =					Y =				
0	1	2	3	4	0	0	0	0	0
0	1	2	3	4	1	1	1	1	1
0	1	2	3	4	2	2	2	2	2
0	1	2	3	4	3	3	3	3	3
0	1	2	3	4	4	4	4	4	4
0	1	2	3	4	5	5	5	5	5

X, Yを使って、
変化ベクトルを求める

`DX = ... ;`
`DY = ... ;`
`quiver(X, Y, DX, DY);`

発展課題(双安定性)2: ベクトル場を描く(MATLAB)

- MATLABを使ってOzbudakモデルのベクトル場を描きなさい。

```
function ozbudak_vector_field()  
(略)
```

```
function vector_field( alpha , beta , rho , x_out )
```

```
    [x,y] = meshgrid(  );
```

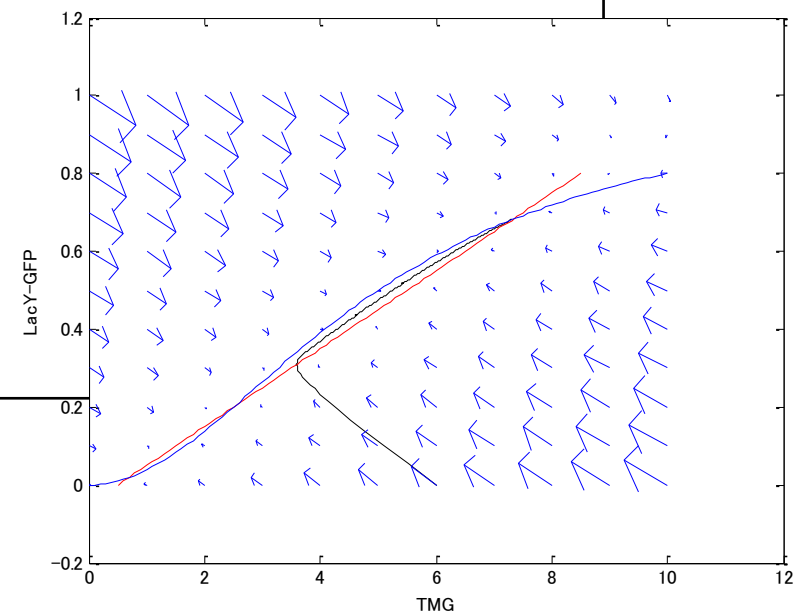
```
    DX = 
```

```
    DY = 
```

```
    figure(1)
```

```
    quiver(  );
```

```
end
```



力学系の道具 5 - ヤコビ行列と固有値 -

ヤコビ行列とは、連立微分方程式

$$\begin{cases} \dot{x}_1 = f_1(x_1, \dots, x_n) \\ \vdots \\ \dot{x}_n = f_n(x_1, \dots, x_n) \end{cases}$$

について

$$J = \begin{cases} \frac{\partial f_1}{\partial x_1} & \dots & \frac{\partial f_1}{\partial x_n} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial f_n}{\partial x_1} & \dots & \frac{\partial f_n}{\partial x_n} \end{cases}$$

となる行列のこと

力学系の道具 5 -ヤコビ行列と固有値-

ヤコビ行列をMATLABを用いて求めるには、
シンボル化された変数 (x_1, \dots, x_n) と
関数 $f = f(x_1, \dots, x_n)$

に対して、微分を行う関数 `diff` を用いる。

例1:

```
syms x y; % シンボルx,yを定義
f = x^2 + y^3; % 関数fを定義
dfdx = diff(f, x); % fをxで微分
subs(dfdx, x, 2) % x=2のときの微分係数
```

例2:

```
syms x y; % シンボルx,yを定義
f = x^2 + y^3; g = x^4*y; % 関数fを定義
J = [diff(f, x), diff(f, y); diff(g, x), diff(g, y)]; % ヤコビ行列を計算
      ※ セミicolon
```

```
subs(J, [x, y], [1, 2]) % x=1, y=2のときのヤコビ行列
```

力学系の道具 5 -ヤコビ行列と固有値-

MATLABで固有値・固有ベクトルを求めるには、関数`eig`を用いる。

例1:

```
[V,D] = eig(A);
```



V: 行列。各列が各固有ベクトルに対応

D: 行列。対角成分に固有値。

固有ベクトルの列番号と対応

例2:

```
d = eig(A);
```



d: 固有値のベクトル

固有値の実部がどれか1つでも正なら、固定点は不安定
固有値の実部が全て負なら、固定点は安定

Further Readings

- Steven Strogatz 「ストロガッツ 非線形ダイナミクスとカオス」, 丸善出版
 - 生物・化学の例が多く比較的読みやすい非線形力学系教科書
- Ozbudak, E.M. *et al.*, “Multistability in the lactose utilization network of *Escherichia coli*”, *Nature* 427(6976):737-40, 2004.
 - 大腸菌 *lac* オペロンのような古典的な系で、ヒステリシスが起こることを示した
- Bhalla, U.S. and Iyengar, R., “Emergent properties of networks of biological signaling pathways”, *Science* 283(5400):381-7.
 - シグナル伝達経路に生じる双安定性が記憶装置の基盤である可能性を指摘
- Tanaka, R.J. *et al.* “Skin barrier homeostasis in atopic dermatitis: feedback regulation of kallikrein activity”, *PLoS ONE* 6(5):e19895, 2011.
 - アトピー性皮膚炎を起こした外部刺激を取り除いても炎症がおさまらない理由として双安定性の可能性を指摘

発展課題(振動)

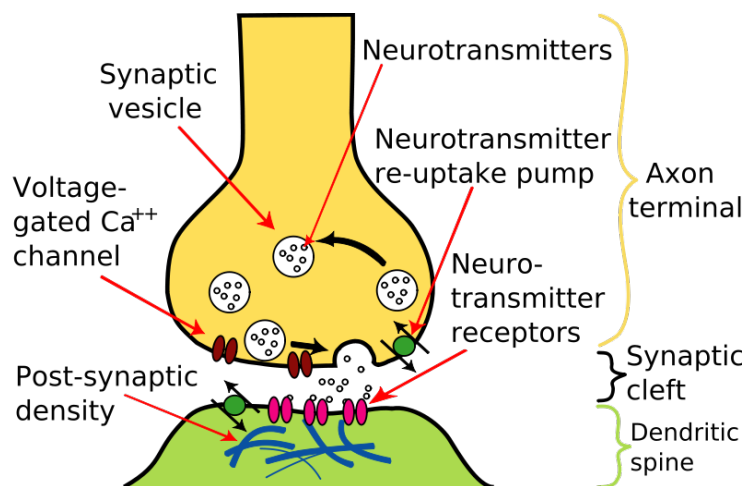
生体内での振動現象2

神経発火の(簡略化)モデル(*FitzHugh-Nagumo model*)

FitzHugh, Biophys. J (1961)

Nagumo *et al.*, Proc. IRE (1962)

(Hodgkin-Huxleyと同様の
振る舞いを示す2変数モデル)



イカの神経軸索を用いた神経発火

⇒ Hodgkin-Huxleyモデル
(4変数、複雑)

数学的に上手く再現

FitzHugh-Nagumoモデル

⇒ van der Pol方程式をベース
(2変数、簡単)

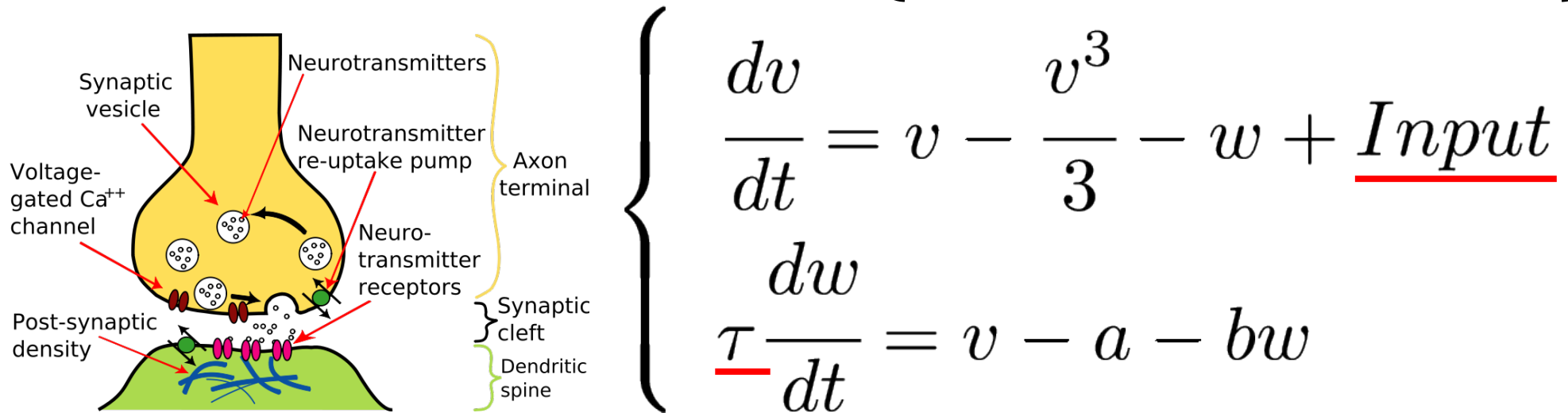
生体内での振動現象2

神経発火の(簡略化)モデル(*FitzHugh-Nagumo model*)

FitzHugh, Biophys. J (1961)

Nagumo *et al.*, Proc. IRE (1962)

(Hodgkin-Huxleyと同様の
振る舞いを示す2変数モデル)



v : 膜電位、 w : 不活性化変数

(簡略化によって集約)

発展課題2-1: シミュレーションで振動を確認しよう

パラメータ: $a = 0, b = 1, Input = 0, \tau = 10$

初期値: $x(0) = 1, y(0) = 0$

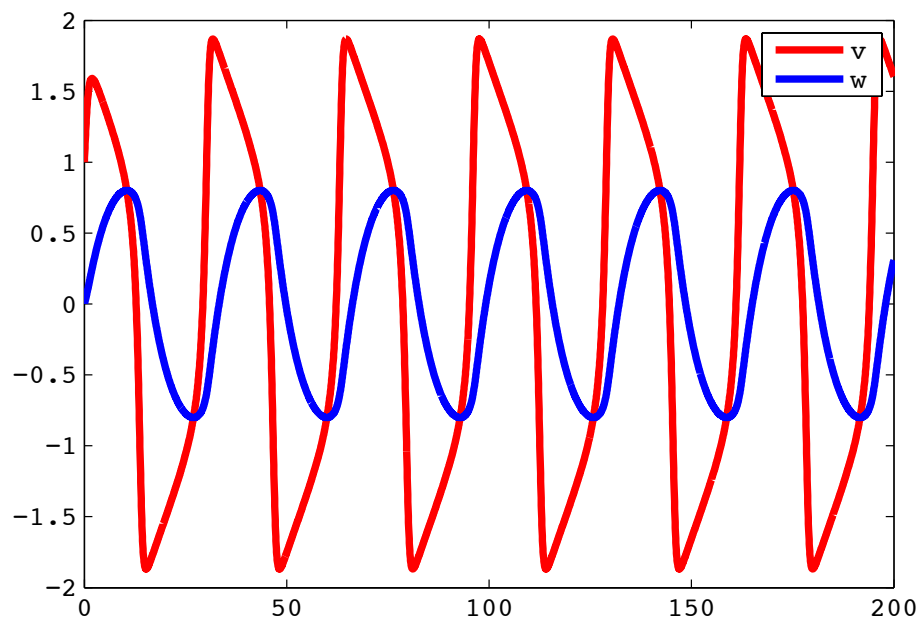
“fitzhugh_nagumo.m”をダウンロードして空欄を埋める

```
function fitzhugh_nagumo()  
    % FitzHugh-Nagumoモデル  
    % ODEを数値的に解く  
    s0 = [1, 0]; % 膜電位(v)の初期値と不活性化変数(w)の初期値  
    param = [0.0, 1, 0, 10]; % パラメータ a, b, Input, tau  
    (略)  
    figure(1);  
    plot( );  
    figure(2);  
    plot( );  
    (略)  
end
```

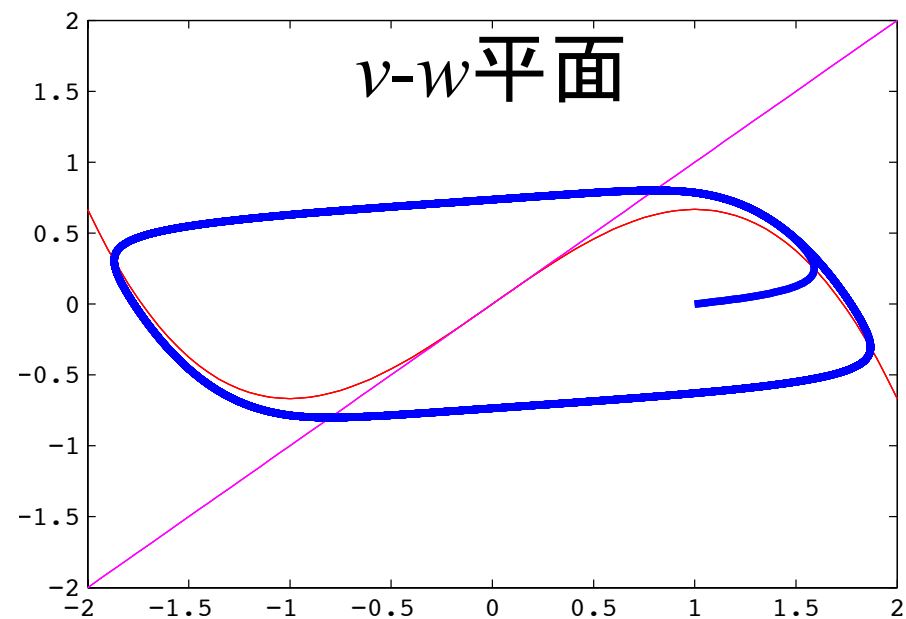
```
function dsdt = ODE(t, s, param)  
    v = s(1); % 膜電位  
    w = s(2); % 不活性化変数  
    a = param(1);  
    b = param(2);  
    Input = param(3);  
    tau = param(4);  
  
    dsdt(1, :) = ;  
    dsdt(2, :) = ;  
end
```

```
function plot_nullcline(param)  
    a = param(1);  
    b = param(2);  
    Input = param(3);  
    tau = param(4);  
  
    v = -2:0.05:2;  
    w1 = ;  
    w2 = ;  
    plot(v, w1, 'r', v, w2, 'm');  
end
```

発展課題2-1 シミュレーション結果



振動する！



振動解を持つ！

解答例（発展課題 2-1）

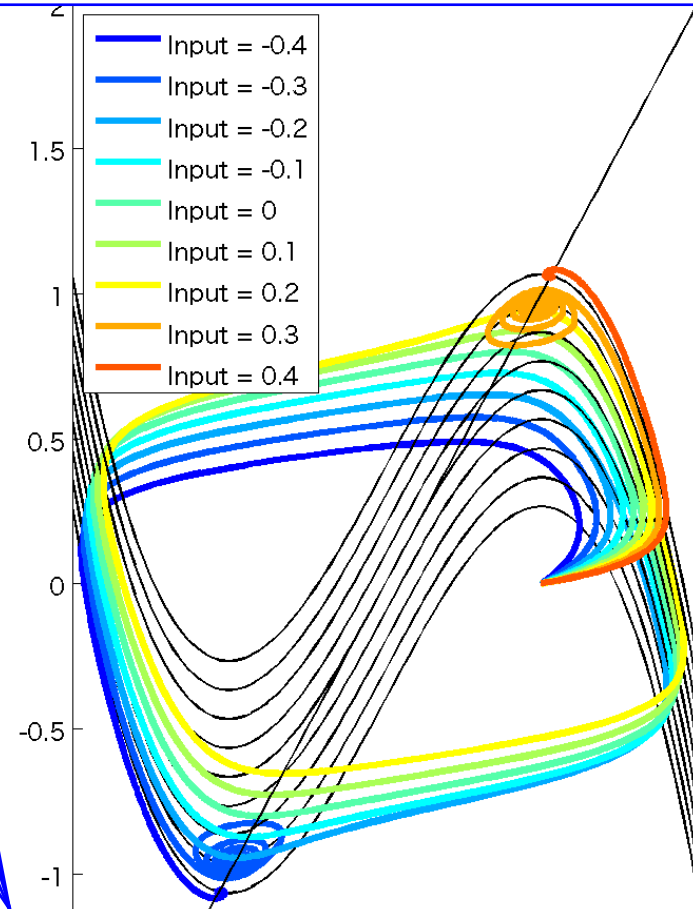
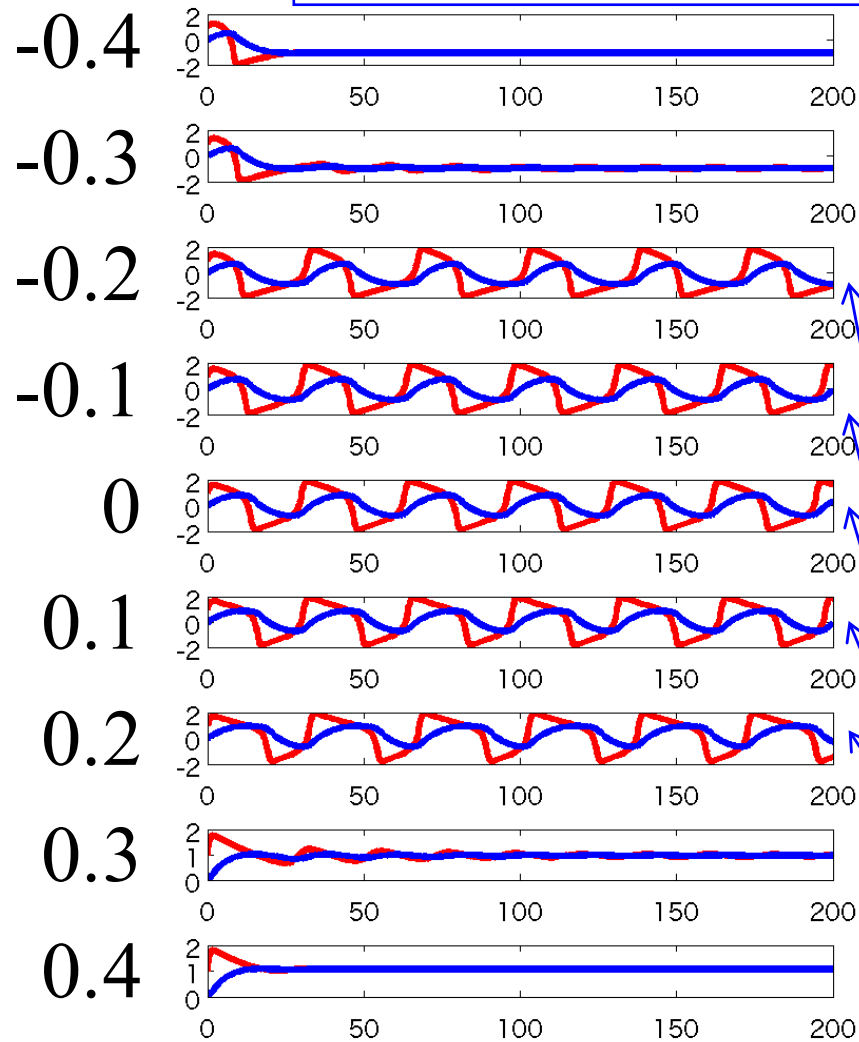
```
function dsdt = ODE(t, s, param)
    (略)
    dsdt(1, :) = v - v.^3./3 - w + Input;
    dsdt(2, :) = 1 ./ tau .* (v - a - b .* w);
end
```

```
function plot_nullcline(param)
    (略)
    w1 = v - v.^3./3 + Input;
    w2 = 1./b .* (v - a);
    plot(v, w1, 'r', v, w2, 'm');
end
```


FitzHugh-Nagumoモデルのパラメータ依存性

Input

Sel'kovモデルの場合を参考にしつつ自力で作ってみる！



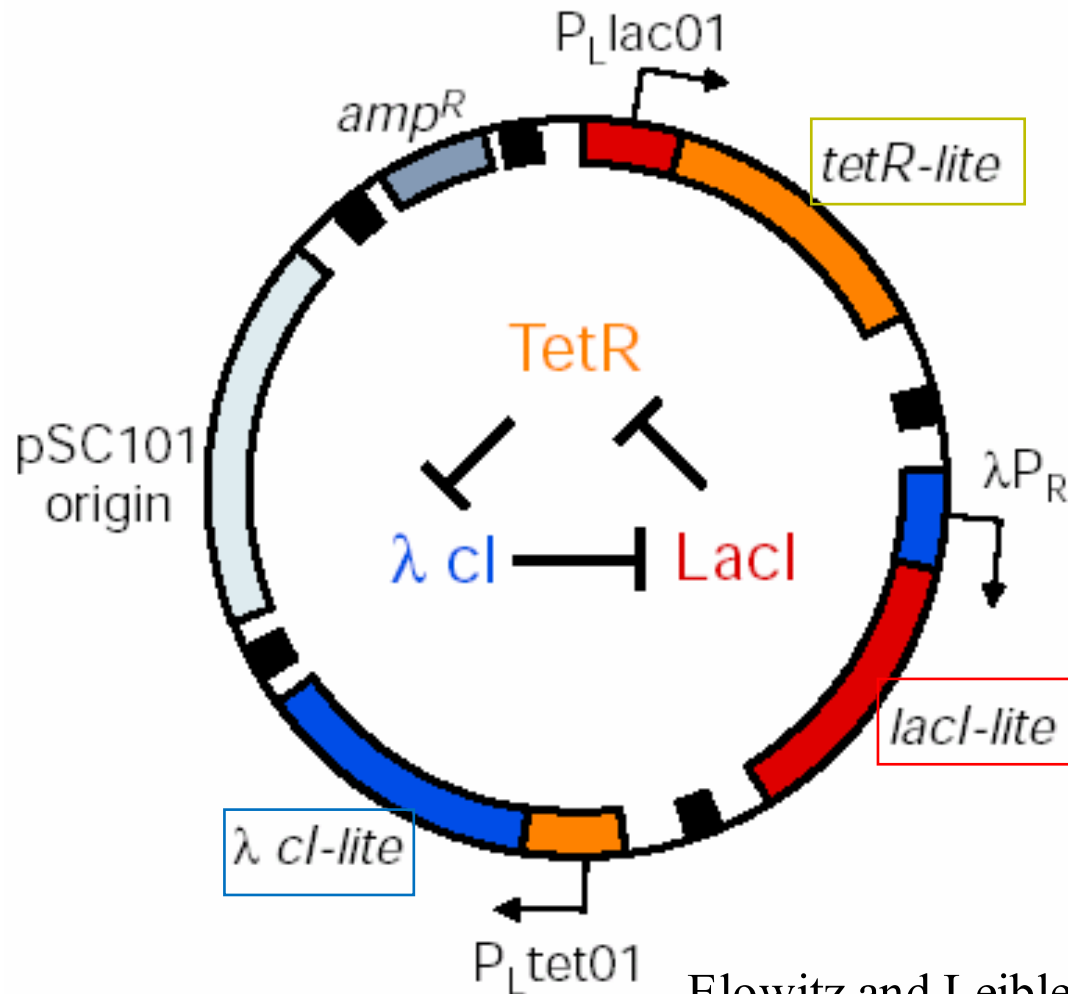
振動する場合、 v の振幅はほぼ一定

どうしても自力で出来ない場合は、
解答例 (fitzhugh_nagumo_parameter_dependency.m) を参照

生体内(?)での振動現象3

例3. リプレッシレーター (*Repressilator*)

※ 天然にはない組み合わせ、人工的に合成



3種のタンパク質が
各々異なるタンパク質の
プロモーター領域に結合・
発現を抑制

生体内(?)での振動現象3

例3. リプレッシレーター (*Repressilator*)

mRNAの時間変化

$$\frac{dm_i}{dt} = -m_i + \frac{\alpha}{1 + p_j^n} + \alpha_0$$

プロモーター領域に結合した Inhibitorによる発現の阻害

分解 (mRNAに比例)

mRNAの基礎発現

Proteinの時間変化

$$\frac{dp_i}{dt} = \beta(m_i - p_i)$$

分解 (タンパク質量に比例)

各パラメータは無次元化してある

翻訳 (mRNAに比例)

$$(i, j) = (TetR, LacI), (LacI, \lambda cI), (\lambda cI, TetR)$$

$$\alpha = 100, \alpha_0 = 1, \beta = 5, n = 2$$

発展課題3-1 “repressilator.m”をダウンロードして空欄を埋める

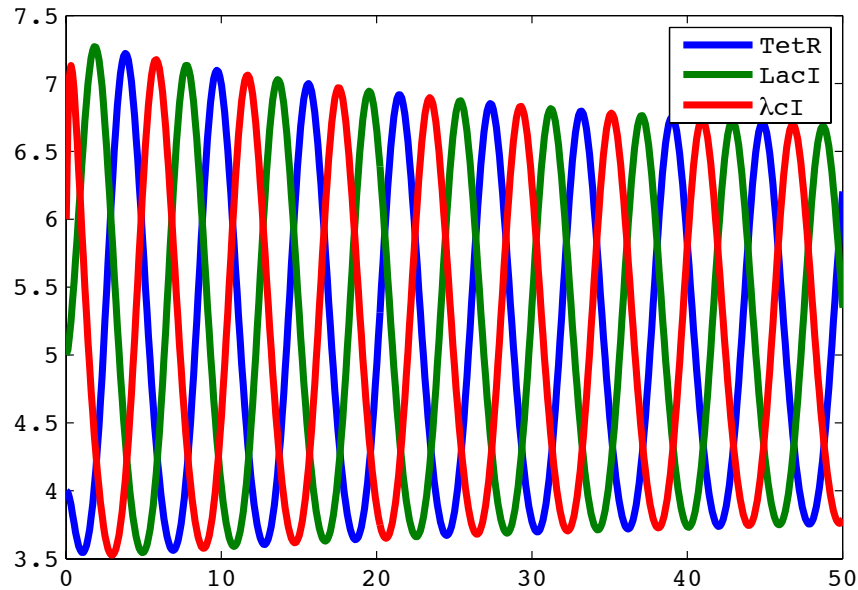
```
function repressilator()  
    % Repressilatorモデル  
    % ODEを数値的に解く  
    (略)  
    figure(1);  
    plot( );  
    % 横軸:時間、縦軸:変数でプロット (3種類のタンパク質について)  
    figure(2);  
    plot3( );  
    % 横軸:TetR、縦軸:LacI、高さ軸: $\lambda$ CI  
end
```

```
function dsdt = ODE(t, s, param)  
    (略)  
    dsdt(1, :) = ;  
    dsdt(2, :) = ;  
    dsdt(3, :) = ;  
    dsdt(4, :) = ;  
    dsdt(5, :) = ;  
    dsdt(6, :) = ;  
end
```

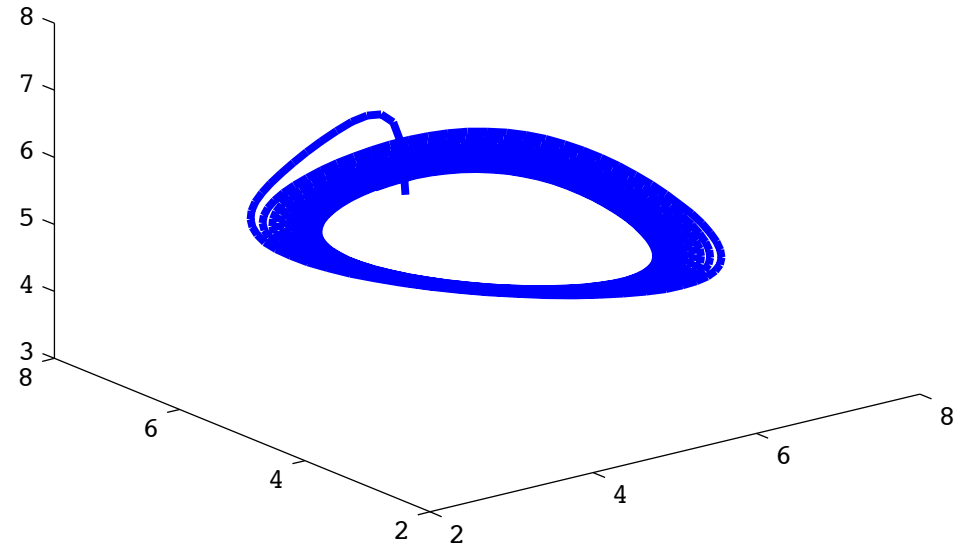
3次元のプロット:
plot3([xの配列], [yの配列], [zの配列], 色)

```
% tetR-lite  
% lacI-lite  
%  $\lambda$ CI-lite  
% TetR  
% LacI  
%  $\lambda$ CI
```

発展課題3-1 シミュレーション結果



3種類のタンパク質が
位相差を伴って発現！



解答例 (発展課題3-1)

```
function repressilator()  
    % Repressilatorモデル  
    % ODEを数値的に解く  
    (略)  
    figure(1);  
    plot(t, time_course(:,4), 'r', t, time_course(:,5), 'g', t, time_course(:,6), 'b');  
        % 横軸:時間、縦軸:変数でプロット (3種類のタンパク質)  
    figure(2);  
    plot3(time_course(:,4), time_course(:,5), time_course(:,6), 'b');  
        % 横軸:TetR、縦軸:LacI、高さ軸:λcI  
end
```

```
function dsdt = ODE(t, s, param)  
    (略)  
    dsdt(1, :) = alpha/(Y^n+1)+alpha0 - x; % tetR-lite (mRNA)  
    dsdt(2, :) = alpha/(Z^n+1)+alpha0 - y; % lacI-lite (mRNA)  
    dsdt(3, :) = alpha/(X^n+1)+alpha0 - z; % λcI-lite (mRNA)  
    dsdt(4, :) = -beta * (X - x); % TetR (Protein)  
    dsdt(5, :) = -beta * (Y - y); % LacI (Protein)  
    dsdt(6, :) = -beta * (Z - z); % λcI (Protein)  
end
```

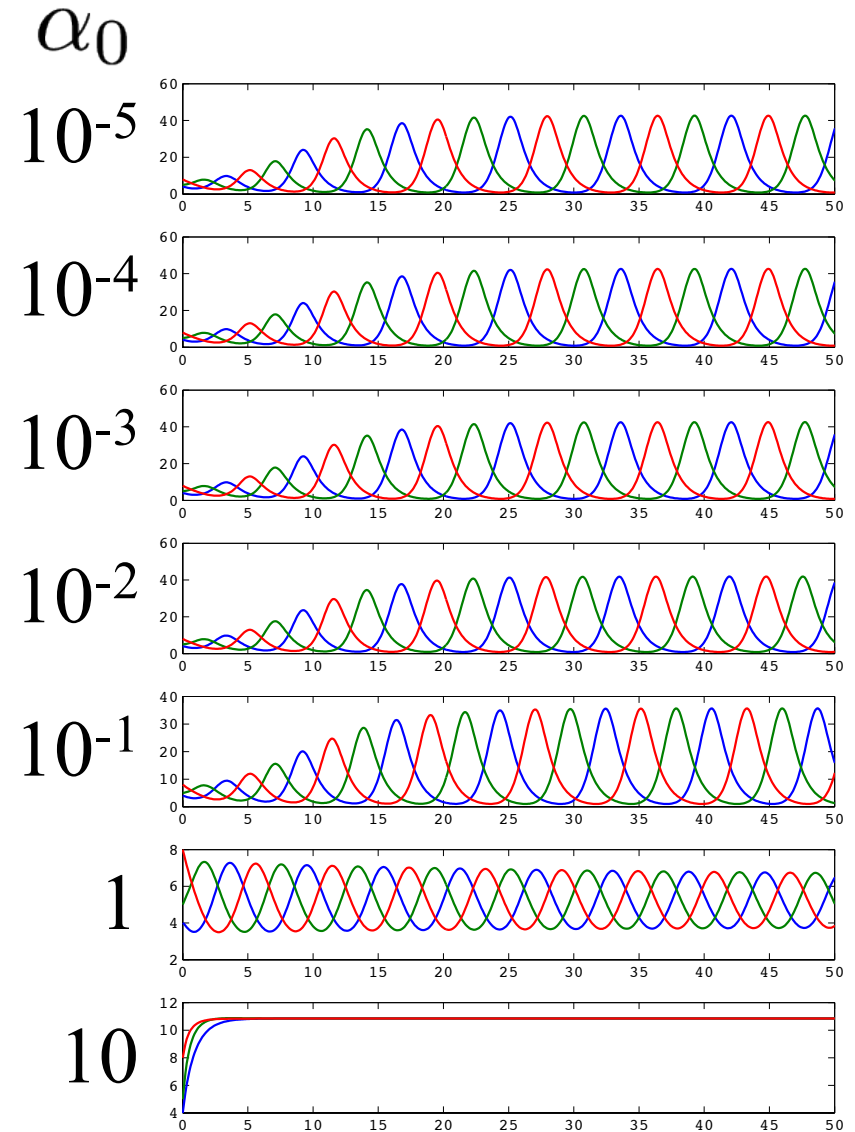
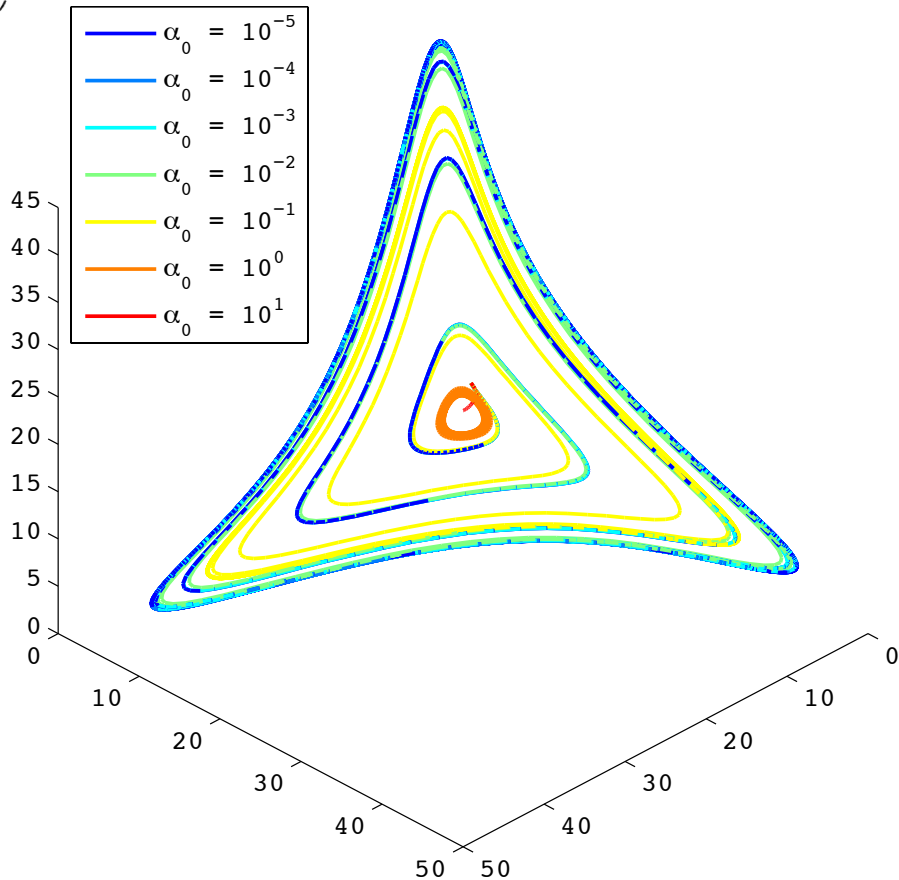
3次元のプロット:
plot3([xの配列], [yの配列], [zの配列], 色)

発展課題3-2: Repressilatorのパラメータ依存性

mRNAの基礎発現

$$\frac{dm_i}{dt} = -m_i + \frac{\alpha}{1 + p_j^n} + \alpha_0$$

$$\frac{dp_i}{dt} = \beta(m_i - p_i)$$



repressilator_paramater_dependency.m

発展課題3-3: Repressilatorのパラメータ依存性

$$\frac{dm_i}{dt} = -m_i + \frac{\alpha}{1 + p_j^n} + \alpha_0$$

$$\frac{dp_i}{dt} = \beta(m_i - p_i)$$

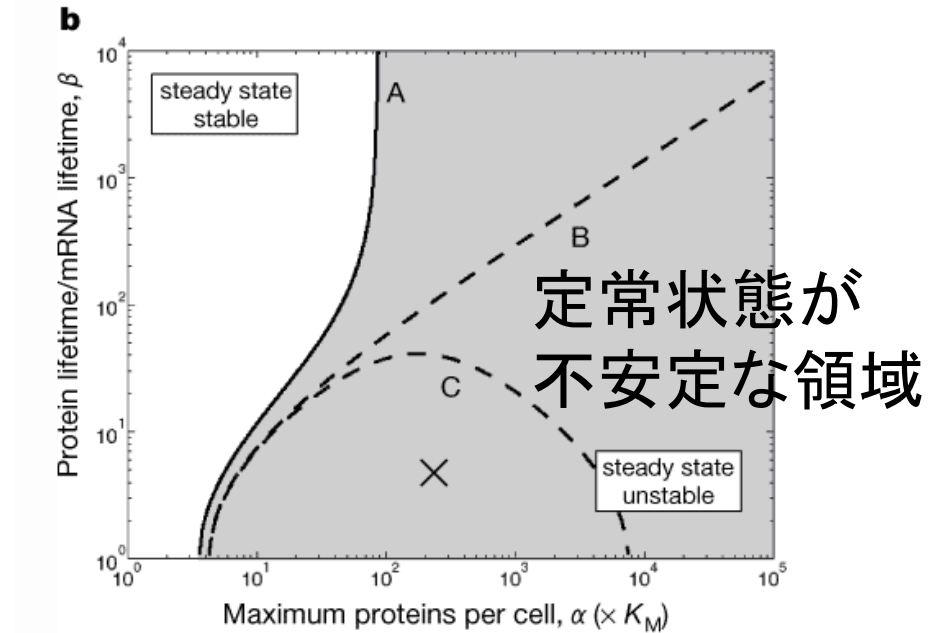
他にもパラメータ依存性を調べよ

- プロモータの強さ: α
- Inhibitorの協調性: n
- mRNAの翻訳速度及びタンパク質の分解速度: β
(mRNAとタンパク質の分解速度の比)

Repressilatorの合成のために

パラメータ依存性を調べた研究

- mRNAの基礎発現: α_0
- プロモータの強さ: α
- mRNAの翻訳速度及びタンパク質の分解速度: β



振動が起こる条件は、

A. 基礎発現 (α_0) が低く、プロモータ (α) が強い

B. mRNAとタンパク質の分解速度のバランス (β) が取れている



モデルを元に、振動を起こすために論文で行われたことは・・・

A. 抑制時と比べ、300～5000倍発現するプロモータを使用

B. プロテアーゼの認識部位を末端につけ、タンパク質の分解を促進

発展課題 4 (次のページ以降に解法のヒントあり)

Sel'kovモデルについて、

- (1) ベクトル場を描け
- (2) 固定点を求めよ
- (3) ヤコビ行列を求めよ
- (4) 固有値を求め、固定点の安定性を調べよ。
- (5) パラメータの組 (a,b) を変化させて、解軌道がどのように変化するか調べよ。

(横軸: a 、縦軸 b として、固定点の安定性を示せ。

ヒント: 固有値の実部と虚部は何を示しているのか)

- (6) 各パラメータや初期値を変化させて、解軌道をシミュレーションし、振動解が現れる場合における、振動数-振幅間関係を調べよ(パラメータを変化させて、横軸: 振動数・縦軸: 振幅でプロット)。また、(5)との対応を議論せよ。

発展課題 5

FitzHugh-Nagumoモデルについて、

- (1) ベクトル場を描け
- (2) 固定点を求めよ
- (3) ヤコビ行列を求めよ
- (4) 固有値を求め、固定点の安定性を調べよ。
- (5) パラメータの I を変化させて、固定点及び固定点の安定性がどのように変化するか調べよ。
(例: 横軸: I 、縦軸: 固定点の x 座標、色: 安定性)
- (6) 別のパラメータについても、(5)と同様に調べよ。
- (7) 各パラメータや初期値を変化させて、解軌道をシミュレーションし、振動解が現れる場合における、振動数-振幅間の関係を調べよ(パラメータを変化させて、横軸: 振動数・縦軸: 振幅でプロット)。また、(6)との対応を議論せよ。

発展課題 6

Repressilatorモデルについて、
今回の実習では、各パラメータは、分子の種類に依存しないことを仮定していた。

そこで、ある分子種だけパラメータを変化させた場合、
解軌道はどのように変わるか？

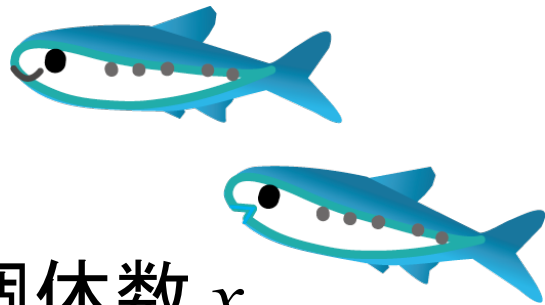
$$\begin{aligned} \text{例: } \alpha_0 = 1 & \quad \Rightarrow \quad \alpha_0^{\text{tetR-lite}} = 5 \\ & \quad \alpha_0^{\text{lacI-lite}} = 1 \\ & \quad \alpha_0^{\lambda \text{ cI-lite}} = 1 \end{aligned}$$

おまけ発展問題 -数理生態学での振動-

Lotka-Volterraモデル (補食者-被補食者モデル)

元々アドリア海の魚の漁獲量が
長い周期で振動する現象に対して
数理的に説明したモデル

小魚 (被捕食者)



個体数 x

食べられる

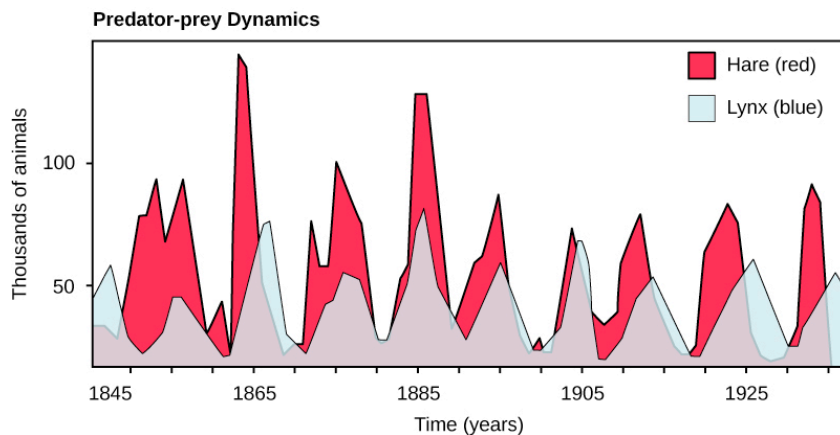


食べる

大魚 (捕食者)



個体数 y

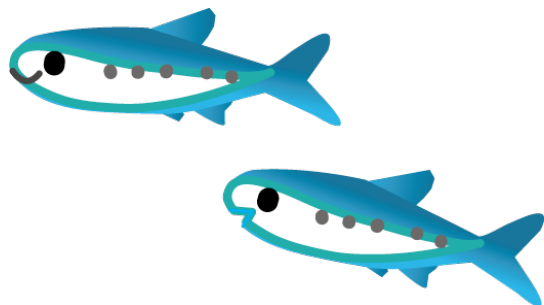


ノウサギとオオヤマネコの個体数の変化

〔観測してるのはHudson Bay Companyが
買い受けた毛皮の数〕

D. A. McLulich (1937)

小魚(被捕食者) 個体数 x



$$\frac{dx}{dt} = ax - bxy$$

一定の割合で増える

捕食者と遭遇する確率に比例して減少

大魚(捕食者) 個体数 y



$$\frac{dy}{dt} = cxy - dy$$

餌の量が多ければ増えやすい

一定の割合で減少

Lotka-Volterraモデルを解くときの注意点

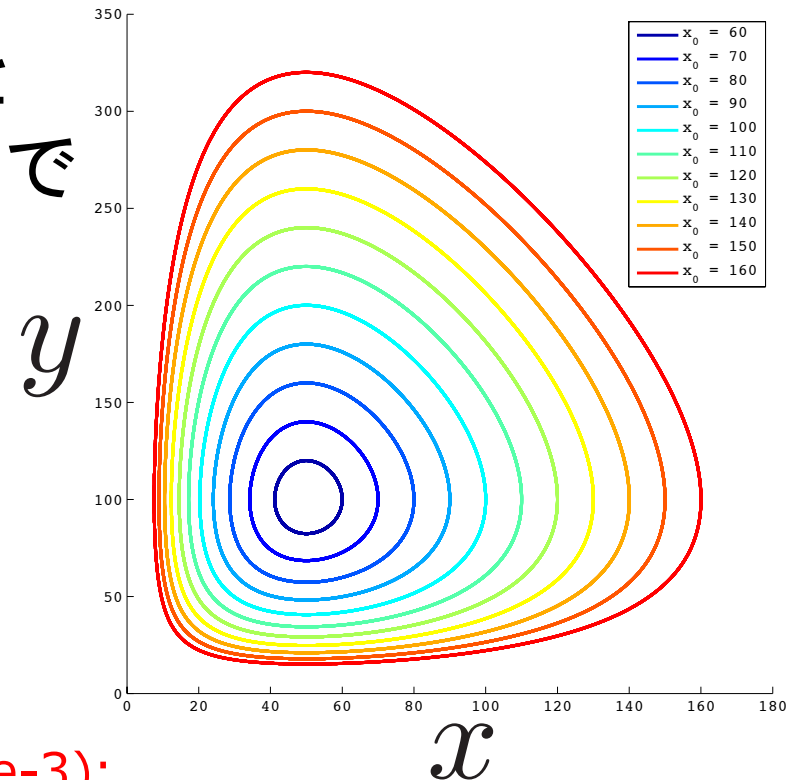
Lotka-Volterraモデルで相図を描くと、
厳密には閉軌道を示す

そのままode45で数値解を求めると
初期値依存の閉軌道にならないので
許容誤差を変える
(以下、赤い部分を追加)

```
function lotka_volterra
    % Lotka-Volterraモデルを数値的に解く
    time = 0:0.01:150;
    param = [1,0.01,0.02,1]; % a, b, c, d
    s0 = [20, 20]; % x0, y0
    options = odeset('RelTol', 1e-6, 'AbsTol', 1e-3);
    [t, time_course] = ode45(@(t, s) ODE(t, s, param), time, s0, options);
```

(略)

end

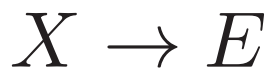


おまけ発展問題 -化学反応での振動-

Brusselatorモデル(振動するパラメータは自分で見つけよう)

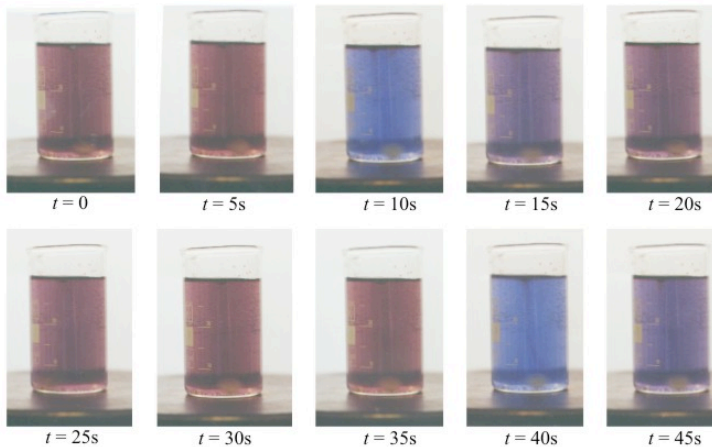
自己触媒反応の数理モデル

実際の例としてBelousov-Zhabotinsky (BZ)反応がある



$$\frac{d[X]}{dt} = [A] + [X]^2[Y] - [B][X] - [X]$$

$$\frac{d[Y]}{dt} = [B][X] - [X]^2[Y]$$



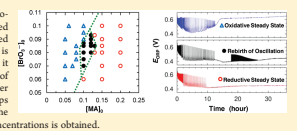
BZ反応 (Wikipediaより転載)

Rebirth of a Dead Belousov-Zhabotinsky Oscillator

Hitomi Onuma,[†] Ayaka Okubo,[†] Mai Yokokawa,[‡] Miki Endo, Ai Kurihashi,[§] and Hiroyuki Sawahata[¶]

Mito Dai-ni Senior High School, Ob-machi, Mito, Ibaraki, Japan

ABSTRACT: Long time behaviors of the Belousov-Zhabotinsky (BZ) reaction are experimentally analyzed in a closed reactor. The amplitude of the oscillation is suddenly damped after about 10 h. After about 5–20 h, the dead oscillator is suddenly restored with nearly the same amplitude as before it stopped its oscillation for certain values of the concentrations of sodium bromate and malonic acid (MA). With the other domains of the concentrations, the oscillator simply damps and never restores its oscillation. The phase diagram of the different types of damping behaviors as a function of the concentrations is obtained.



1. INTRODUCTION

The Belousov-Zhabotinsky (BZ) reaction has been well investigated as a typical example of chemical oscillators.^{1–9} The BZ reaction has been examined in both closed systems (batch reactors) and open systems (continuous flow reactors). In the open system, reactants are supplied at a constant rate, and steady states such as a periodic oscillation, multistable states, or chaotic behaviors have been observed. On the other hand, reactants are consumed with the progress of the reaction in the closed system, thus the system eventually approaches chemical equilibrium as oscillatory states die out. It has been reported that a rich and complicated behavior is shown in the closed system of various reaction conditions.^{10–15} However, in their studies they have mainly focused on the complex behavior of the oscillation and not on the way the oscillation dies away. In this paper, we will focus on this dying away process.

To see this process, we performed experiments of the BZ reaction in a closed reactor for a very long time. For example, if we leave the ferriin catalyzed and stirred a BZ solution in a beaker for a very long time, the oscillation of its color between red and blue ceases and turns into a monotonous light yellow. This can be explained as follows: In general the reaction in a closed system should reach a thermodynamic equilibrium state.¹⁶ In our case, the ferriin/ferriin, which is an iron catalyst in the BZ solution of an acidic condition, slowly dissociates in Fe²⁺/Fe³⁺ and the 1,10-phenanthroline ligand.¹⁷ At the same time, other reagents are also gradually consumed as time goes by. Hence, the chemical oscillation cannot last forever, and the oscillating state is dragged into one of some steady states depending on the initial concentration of the ingredients. Then the system reaches a monotonous state of thermodynamic equilibrium.^{18,19} We found that it is indeed the case for almost all concentrations of the ingredient of the solution.

However, we also found that, for a certain value of the concentrations, the dead BZ oscillator suddenly resumes its oscillation after about 5–20 h, with nearly the same amplitude as it did before the oscillation stopped. An example of these phenomena is shown in Figure 1, where the intermediate quiet

steady period is about 5.5 h. After this rebirth, we found that the system gradually reaches a monotonous thermodynamic equilibrium. Such dynamical behavior with a much shorter dead time of about 1–2 min has been previously provided as a result of model calculation.¹⁵ However, to our knowledge, the phenomenon with such a long dead time reaching several to 20 hours, which is 3 orders of magnitude longer than the time scale observed in ref 15, has not yet been reported. Furthermore, it was clarified experimentally that the phase diagram of the initial concentration of [MA]₀ and [BrO₃⁻]₀ of BZ oscillator with the long dead interval had a well-defined domain. Hence, it seems to us that this long time behavior may be categorized as a new dynamical phenomenon. The main purpose of this paper is to report this interesting new observation.

2. EXPERIMENT

Our experiment has been performed as follows: A beaker of 20 mL was placed in a thermostatted water bath to keep the reaction temperature constant at 25 °C. In all experiments, the initial concentrations of sulfuric acid and ferriin were fixed as 0.80 M and 2.0 × 10⁻³ M, respectively, while the initial concentrations of sodium bromate and MA were changed in the values shown in Table 1. The free surface of the BZ solution contacted with the atmosphere. To perform all experiments, we first prepared a solution without ferriin just before the experiment, then the oscillation began when ferriin was added next. Therefore, the total volume of the reaction mixture was kept constant at 20 mL, and the stirring rate was 190 rpm through this study. We measured the profiles of the redox potential E_{redox} by using a combination electrode (HORIBA, 6561-10C), which is composed of a Pt wire and Ag/AgCl electrode utilizing a saturated K₂SO₄ aqueous solution as an internal solution, and the data were recorded by a personal computer through an AD

Received: January 5, 2011
Revised: October 14, 2011
Published: October 14, 2011

Onuma et al., *J. Phys. Chem. A* **115**, 14137 (2011)
日本の女子高校生らがBZ振動の復活を発見
(非常に遅い振動モードによって誘起される)

さらなる振動を見たい人は...

Tsai *et al.*, Science (2008)

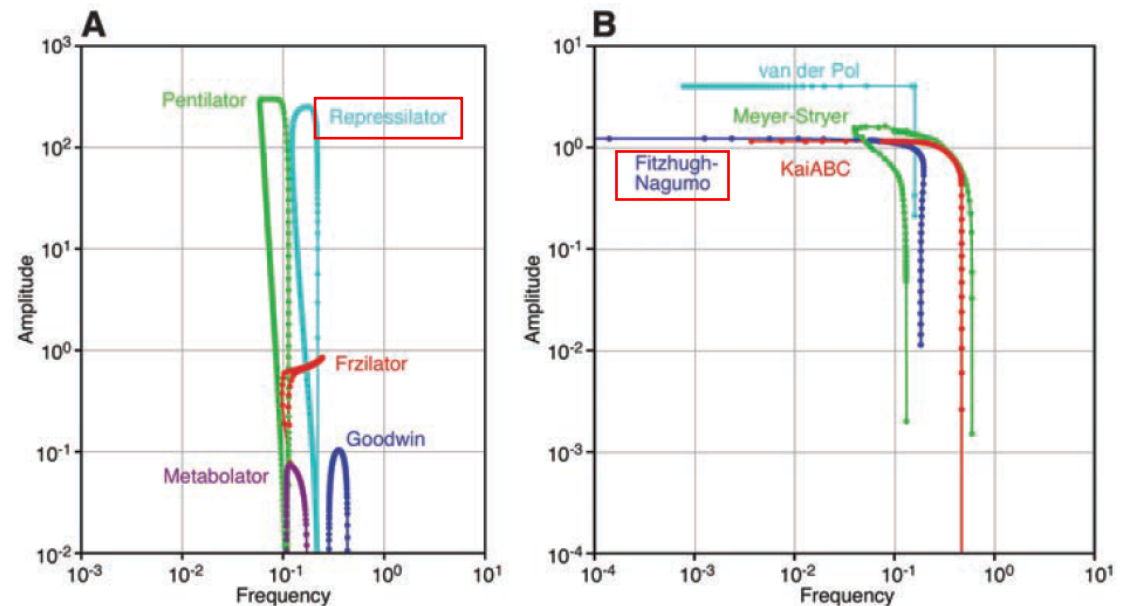
(<http://stke.sciencemag.org/cgi/content/abstract/sci;321/5885/126>

モデルの詳細はSupporting Online Materialにある)

様々な系のシミュレーションをせよ。

また、振動解の振幅・振動数の関係(論文Fig.3、下図)を調べよ。

論文で用いられている式に
いくつか誤りがあるので、
memo_and_correction.pdf
を参照



変化させるパラメータ例

Repressilator: 1種類だけタンパク質分解速度を変化

→ 振幅が大きく変化

FitzHugh-Nagumo: 不活性化変数の緩和時間

→ 振動数が大きく変化