

研究速報

位相方程式によるショウジョウバエ概日時計システムの引込同調の解析

永田 憲章[†] 田中 久陽[†] (正員)

Analysis of Entrainment in the *Drosophila* Circadian Clock System Using Phase Equations

Noriaki NAGATA[†], *Nonmember* and
Hisa-Aki TANAKA[†], *Member*

[†] 電気通信大学電子工学科, 調布市

Department of Electronic Engineering, The University of
Electro-Communications (UEC), Chofu-shi, 182-8585 Japan

あらまし ショウジョウバエ概日時計を記述するモデルの一つである interlocked feedback model [5], [6] に対し, 位相方程式を用いて引込同期の特性を解析する. その結果, 三つの異なる光応答モデル, 更に異なる入力光波形に対し, 引込同調可能な周波数帯域 (引込範囲) がそれぞれ系統的に得られ相互の比較が可能となる. 更に引込特性が与えられたとき, これを実現する入力パターンが存在するか否かという逆問題を提起し, 十分小さい入力に対し, その解が実現される場合とそうでない場合があることを示す.

キーワード サーカディアンリズム, ショウジョウバエ, 引込同調 (同期), 位相方程式

1. ま え が き

サーカディアンリズム (circadian rhythms) の研究において引込同調が本質的な役割を果たしていることがこれまでに解明されてきた [1]. 更に最近 10 年間でサーカディアンリズム研究に質的な進展があった. これは過去においてブラックボックスとして扱われていたサーカディアンリズム生成源が細胞レベルで次第に明らかとなり, 分子生物学的アプローチによりその構成因子間の関係に関する知見が蓄積されてきたことによる. 現在では, サーカディアンリズムの理論的研究も従来におけるファンデルポール方程式等によるブラックボックスを用いる方向 [2] に加え, 細胞内のタンパク質群の代謝ネットワークを構成するボトムアップのシミュレーションアプローチが盛んになっている.

このボトムアップアプローチは対象をショウジョウバエ (*Drosophila*) に限っても複雑化の道をたどっている. 初期における細胞内の代謝ネットワークモデルは Period タンパク質 (PER) のみにより構成されるものであったが [3], その後 PER と Timeless タンパク質 (TIM) 及び PER-TIM 複合体 (PER-TIM) からなるフィードバックループモデルに拡張された [4]. 現在で

はこのフィードバックループに加え *Drosophila* Clock タンパク質 (dCLK), Cycle タンパク質 (CYC) 及び dCLK-CYC 複合体 (dCLK-CYC) からなるもう一つのフィードバックループが核内で相互作用する代謝ネットワークモデル (interlocked feedback model) [5], [6] が知られている. このようにボトムアップアプローチでは新たに実験から得られた分子レベルでの知見や仮説 (構成要素の付加等) を組み込んで数値シミュレーションを行うことが必要となり, システムの複雑化は必然的である.

このような代謝ネットワークに対し, 明解な理解を与える数少ない理論として [7] が存在する. これは [4] のように比較的シンプルなシステムに対し平衡状態の不安定化の条件を解析的に導くことによりロバストな発振のために本質的な要素を引き出すものである. そのため, 解析対象が [5], [6] のような複雑なシステムとなると取扱いが容易でないという問題が生じる.

本論文では, このような複雑なシステムを対象として, 引込同調の特性について注目する. 引込同調は (システムを連続力学系として記述すると) リミットサイクルとその近傍のベクトル場の構造によって規定されるものであり, 対象となるリミットサイクルを特定すれば計算上の労力は必要となるが, システムの見掛けの複雑さとは無関係に発振位相に関する簡潔な位相方程式の解析に帰着する [8]. 具体的には interlocked feedback model を対象として, 光入力を同調因子とした場合に, (i) 異なる光応答の機構, 更に (ii) 異なる光入力のパターンに対し, 引込同調について系統立った解析と比較検討を行う. その副産物として, (iii) 従来の研究では議論されることのなかったある種の逆問題の考察が可能となる.

2. Interlocked Feedback Model

本論文では代謝ネットワークモデルとして, interlocked feedback model [5], [6] を扱う. そこでまず, interlocked feedback model のこの分野での位置付けと構成の概要を説明する.

interlocked feedback model の提出された前提として 1. で述べた PER, TIM, PER-TIM で構成されるフィードバックループ (単一フィードバックループ) の発見とシミュレーションによる検証がある. この単一フィードバックループは, (i) 核内での mRNA の生成, (ii) 細胞質中 (核外) での PER, TIM のリン酸化と PER-TIM 複合体の形成, (iii) 両者間の輸送及び分解反応からなる. すなわち (i) では, 核外で形成さ

れ核内へ移行してきた PER-TIM により *per*, *tim* 遺伝子それぞれの mRNA の転写が抑制され, (ii) では mRNA から PER, TIM が形成され多段階のリン酸化と更に PER-TIM の形成を行うことにより一つのネガティブフィードバックループが生じることとなる^(注1).

単一フィードバックループモデルではそのシミュレーションにより得られる位相応答曲線 (PRC) と既に実験により得られていた光インパルス刺激に対する PRC とがよくフィットされることが知られ [4], 概日時計の代謝ネットワークの機能の一側面をとらえていることが期待される. しかしながら, 同時期の実験において

(a) PER あるいは, TIM の生成能力を欠いたミュータントにおいては *per*, *tim* の mRNA 発現が野生型に比較して少ないレベルとなり, またこのミュータントにおいて *dClk* mRNA の発現量も野生型に比較して少ないレベルとなること,

(b) PER 及び *dCLK*, PER 及び *CYC* の生成能力を欠いたミュータントにおいては *dClk* mRNA の発現レベルが上記のミュータントの場合より高く, 野生型のレベルとなること, 更に

(c) 野生型においては *dClk* mRNA の発現は概日振動すること

が明らかとなった. そのため, これらの事実を上記の単一フィードバックループモデルに矛盾なく説明することが問題となった. これに対し提出されたのが interlocked feedback model である. このモデルは上記の PER, TIM, PER-TIM で構成される単一フィードバックループに, これと同様の *dCLK*, *CYC*, *dCLK*-*CYC* のもう一つのフィードバックループを加え, これら二つのフィードバックループが核内で互いに活性化する相互作用を行うというものである. この核内での相互作用の機構の詳細は不明の点があり仮定を含んでいるが [5], このモデルの構築と系統的なシミュレーションの結果 [6] は上記の事実 (a), (b), (c) をすべて再現し, 更に種々のトランスジェネティックのショウジョウバエにおいて生じるタンパク質, mRNA の発現のパターンも矛盾なく説明する. したがって詳細に仮定は含むものの現時点でタンパク質等発現の最も多くの知見と整合する説得力あるモデルの一つと考えられる.

[6] による interlocked feedback model の構成は図 1 のとおりである.

ここでは単一フィードバックループモデルにおける多段階のリン酸化は省かれ, 図 1 のように 10 の構成要素からなるシステムとなる. 構成要素 (変数名) は

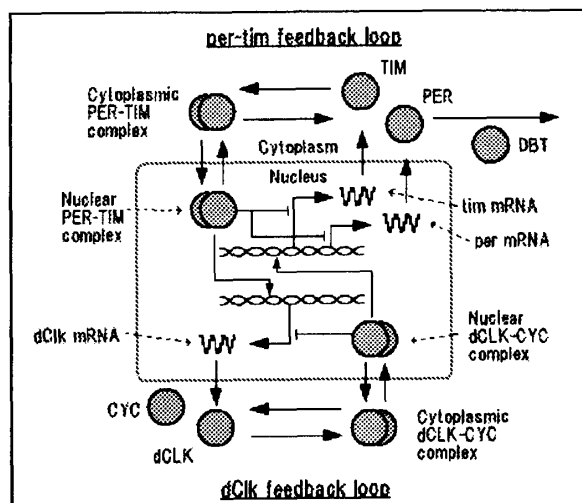


図 1 Interlocked feedback model の構成 [6]

Fig. 1 Interlocked feedback model of *Drosophila* circadian rhythm [6].

各々以下のとおりである;

per 遺伝子 mRNA (変数名: Per_m), *tim* 遺伝子 mRNA (Tim_m), *dCLK* 遺伝子 mRNA (Clk_m), 細胞質中 PER タンパク質 (Per_c), 細胞質中 TIM タンパク質 (Tim_c), 細胞質中 *dCLK* タンパク質 (Clk_c), 細胞質中 PER-TIM 複合体 (PT_c), 細胞質中 *dCLK*-*CYC* 複合体 (CC_c), 核内 PER-TIM 複合体 (PT_n), 核内 *dCLK*-*CYC* 複合体 (CC_n).

これらの変数はいずれも濃度を表し nM の単位をもつ. また細胞質中 DBT タンパク質 (Dbt_c), 細胞質中 *CYC* タンパク質 (Cyc_c) の濃度は一定であるとみなし定数としている.

このように変数の数は多くなるものの, 本質的に上記の単一フィードバックループと同様に核内での mRNA の転写の抑制/活性化, 細胞質中でのタンパク質の生成/分解, 更に両者間の輸送と分解反応からなるシステムであり, それぞれ Hill type の方程式, Michaelis-Menten type の方程式により記述されるものである. したがってシステム全体の方程式は付録のようになる. また方程式において必要となる係数も付録に記載する. これらの係数の設定は振動周期が恒暗条件下で約 24 時間となり, 同時に種々の構成要素の発現タイミングと一致するように巧妙に行われている [6].

(注1): ここで (i) の転写因子の抑制は Hill type の方程式, (ii) でのリン酸化等は Michaelis-Menten type の方程式を用いて記述されている. (iii) での分解反応及び細胞質と核の間の輸送は, 分解酵素あるいは輸送タンパク質によって媒介されていると仮定され, (ii) と同様に Michaelis-Menten type の方程式を用いて記述される.

3. 光刺激に対する引込同調

概日時計の光刺激に対する応答を特徴づけるものとして位相応答曲線 (PRC) が実験でしばしば測定される。PRC はパルス入力に対し、入力後の概日時計が無入力の場合の振動位相と比較してどれほど時間 (位相) がずれるかを概日時計の各時刻において求めることで得られる。この PRC を代謝ネットワークモデルで初めて再現したのは [4] によるものと思われる。[4] では光刺激入力後に TIM の分解が促進される実験事実を反映し、TIM の分解係数 (ここでは D_4) が一定時間増加することで光刺激入力の効果を表現している。そのシミュレーションにより得られる PRC は実験から得られる PRC のデータとよく一致することが報告されている [4]。

[6] による interlocked feedback model の解析においても光刺激に対する応答は上記と同様の仕方で表現されており、その結果 PRC の形状は [4] によるものとほぼ同様となっている^(注2)。また、市崎ら [13] は interlocked feedback model に対し、上記の TIM 自体の分解過程の代わりに PER-TIM 複合体の分解が生じるとして PRC を求めている。更に永田 [14] はより素朴に光刺激が直接に細胞質内 TIM を分解すると仮定して PRC を求めている。以上の三者の光応答モデルをそれぞれ上田タイプ、市崎タイプ、永田タイプと呼ぶこととし、各々の下で引込特性に差異が生じるか否かについて次章で考察を行う。

また実験系において光インパルスと同様に明暗サイクル光 (デューティ比 50% の方形波) を入力とすることが従来行われてきた。ところが最近では主に哺乳類を対象に、上記の明暗サイクルにおける立上りと立下りを幾分緩やかに変形した波形を入力したり、あるいは正弦波を入力として、明暗サイクル光の場合と引込範囲にどのような差異が生じるかが調べられている。その結果、これらの異なる入力光波形においては、従来の明暗サイクル光の場合と比べ引込範囲に有意な差があることが知られるようになった [11], [12]。これを受け、次章では異なる入力光波形に対し、それぞれ引込特性にどのように差異が生じるか解析を行う。

4. 位相方程式への縮約

以上に述べた interlocked feedback model と光応答のモデルを組み合わせて光入力に対する概日リズムの影響をシミュレーションにより求めることが可能となる。ここで入力の強度を弱いものと想定して、入力によるシステムの発振状態 (すなわちリミットサイク

ル近傍のベクトル場の構造) の変動が十分小さいものとする。このとき、発振のダイナミクスは振幅の自由度を無視でき、発振の位相のダイナミクスに縮約されることが知られている [8]。この発振位相のダイナミクスは位相方程式により記述され、その位相方程式を導出する方法として、変分方程式から求める方法 [8], [9]、及び、インパルス入力に対する応答 (PRC) から求める方法 [10] が知られている。本論文の目的から逸れるので省略するが、両者の方法は等価であることが示される。

いずれの方法においても、リミットサイクル近傍の変分方程式を前提とし、入力の強度は変分方程式による近似 (すなわち線形近似) が成立する範囲に制限される。現実の問題において、以上の入力強度の範囲を見積もるために LRR (Linear Response Region) [15] という情報が有益である。LRR はあるタイミングでインパルスが注入される時そのインパルス強度と位相シフトとが線形に比例する範囲を与えるものであるため、少なくとも LRR を超えた入力強度においては以上の変分方程式による近似は成立しないといえる^(注3)。

またここで扱う対象は大規模でかつ強非線形であるため前者の方法 [8], [9] においては変分方程式のアジョイントの求解の手間が多く、またその数値積分に誤差が生じやすい^(注4)。そこで本論文では前者の方法ではなく、PRC から位相方程式を導く方法 [10] を用いる。この方法による位相方程式の導出の詳細は [10] に譲り、以下ではその結果について説明する。得られる位相方程式は θ, θ' をそれぞれ時刻 t での概日時計の発振位相、及び入力波形の位相として

$$\frac{d\theta(t)}{dt} = \omega_0 + H(\theta(t) - \theta'(t)), \quad (1)$$

により与えられ^(注5)、その非線形項 $H(\cdot)$ は早い動き $\omega_0\tau$ に関する平均化:

$$\frac{\omega_0}{T_0} \int_0^{T_0} \frac{\Gamma(\omega_0\tau + \phi)}{S} R(\omega_0\tau + \phi') d\tau \equiv H(\phi - \phi'). \quad (2)$$

(注2): ただし両者は互いにタイミングが異なっているようであり、比較検討の余地があるように思われる。

(注3): 逆に入力強度が LRR 内にあるからといって、変分方程式による近似が必ず成立している保証はない。実際のシミュレーション/実験データと位相方程式からの理論値を比較して、初めて位相方程式の成立する入力強度の上限が確認される。

(注4): これらの問題については [9] の付録を参照のこと。

(注5): $\theta = \omega t + \phi, \theta' = \omega t + \phi'$ により ϕ, ϕ' で表示すると、式 (1) は $\dot{\phi} = \omega_0 - \omega + H(\phi - \phi')$ となる。

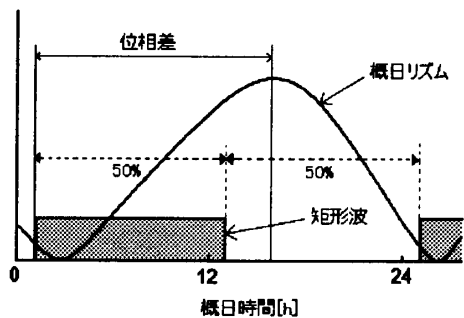


図2 Per_m 濃度の概日リズムと明暗サイクル光 (方形波) の位相差の定義

Fig.2 Phase difference between the circadian rhythm (Per_m) and the light-dark cycle input.

により与えられる. ここで $\Gamma(\cdot)$ は PRC, $R(\cdot)$ は入力波形, S は入力パルスの積分 (グラフにおける面積) に相当する正規化定数である. T_0 は概日リズムの自然周期 (約 24.045 時間), $\omega_0 = \frac{2\pi}{T_0}$ を表す. 角速度 ω の入力波に対し, 引込同調時において $\theta = \omega t + \phi, \theta' = \omega t + \phi'$ により回転座標が導入されるので, その上の位相 ϕ, ϕ' を以下では用いる.

4.1 異なる光応答モデルにおける引込特性の比較

以上により求められた概日時計の位相方程式を用いて, そこから得られる理論値と実際の数値シミュレーション結果の比較を以下で行う.

まず 3. で議論した異なる光応答モデルに対し, それぞれ引込特性の比較を行う. そのためにまず概日リズムと明暗サイクル光 (同調因子) の位相差 (時間差) を図 2 のように入力波の立上りと概日リズムの最大時の差で定義する. 更に, 入力波の位相としてどこを 0 と決めるか任意性が残っているので, 以下では明暗サイクル光の周期が概日リズムの自然周期とちょうど一致しているときの位相差を 0 と定める.

以上の設定のもとで, ある与えられたタイミングで入力として光インパルスを加えたとする. このとき Per_m 濃度の概日リズムには位相シフトが生じるが, この位相シフトのパルス入力強度依存性を図 3 に示す^(注6). 図 3 において原点を中心とする小領域では位相シフトがインパルス強度にほぼ線形に比例することが分かる. この小領域すなわち LRR は振動状態のどのタイミングでインパルスを入力するか依存して異なるものであるが, そのうち最も狭いものを選択する. その結果, LRR は図 3 のとおり, (狭く見積もって) ほぼ $[-0.05, 0.05]$ となる^(注7). 以上の結果は上田タイプに対して得られたものであるが, 他の光応答モデル

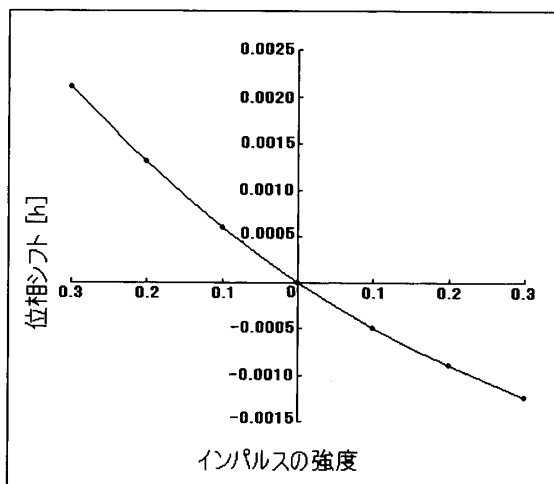


図3 光インパルス入力に対する位相シフト量 (単位は時間)

Fig.3 Phase shifts by light impulse.

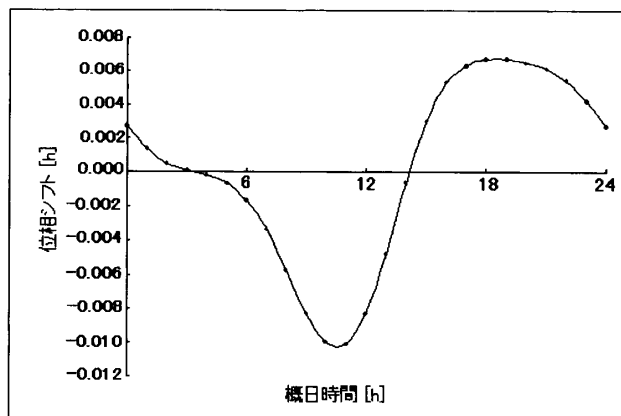


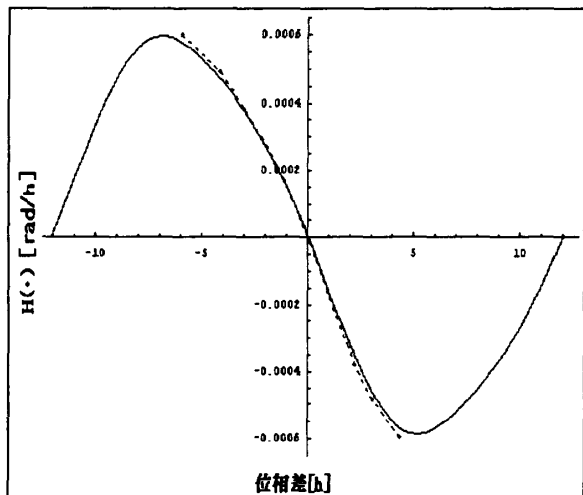
図4 光インパルス入力タイミングに対する位相シフト量 (単位は時間)

Fig.4 Phase shifts with respect to light impulse timing.

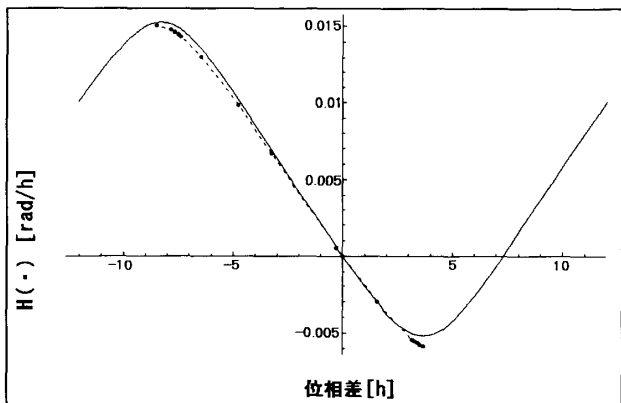
に対しても同様の仕方で LRR が求まるので, 他の場合にはここでは割愛する.

(注6): その際用いるインパルスの幅は 1 時間としている. これはシミュレーションにおける数値積分の精度の確保と計算量の削減のための便宜的なものである. 数値積分は MATLAB のルンゲ・クッタルーチンにおいて可変ステップサイズを用い, ステップサイズの上限を 0.00005 時間としている. 同じ条件で 0.1 時間のより狭いインパルスを入力した際得られる PRC は 1 時間の幅のインパルスの場合と同様となることを確認している. したがって以下で位相方程式を導出する目的としてはここで用いる若干幅の広いインパルスの使用は支障を来さない.

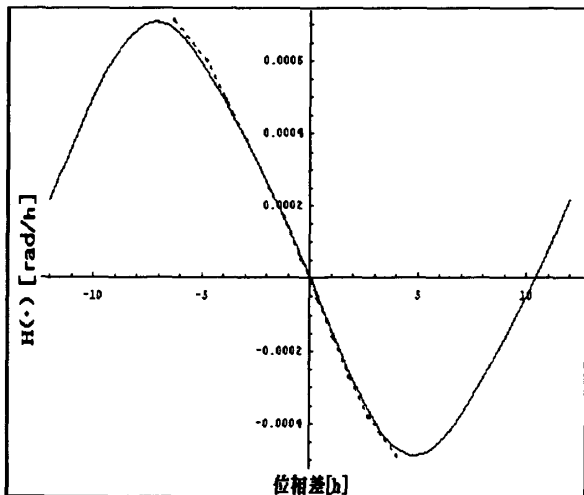
(注7): 上記のように, 入力の強度はリミットサイクル近傍での変分方程式による近似が成立する範囲に限定される. 実際にはこの場合, 入力強度が 0.1 程度以下であれば $H(\cdot)$ の理論値とシミュレーションによる引込特性はよく一致することが確認される. 逆に入力強度が 0.1 を超え, 0.2, 0.3 等の値をとると理論値とシミュレーションデータは一部分で差異が増大していく傾向をもつ. このためにここでは LRR を狭く見積もり, 入力強度を十分小さく設定することとした.



(a)



(b)



(c)

図5 明暗サイクル光に対する引込特性. (a) 上田タイプの場合. (b) 市崎タイプの場合. (c) 永田タイプの場合

Fig. 5 Entrainment characteristics to light-dark cycle input. (a) Photonic response model per Ueda [6], (b) Ichizaki [13], and (c) Nagata [14].

以上のLRR内に収まる十分小さいインパルス強度として0.03を選び、これに対するPRCを求めた結果を図4に示す。ここで横軸は細胞の主観的概日時刻を表し、 Per_m が最小となる時刻を0時と定義している。このPRCにおいて、概日時間（インパルス入力タイミング）に依存して位相前進あるいは位相後退の二つの領域が存在している。

式(2)により、ここで求めた $\Gamma(\cdot)$ 及び方形入力波 $R(\cdot)$ から $H(\cdot)$ を求めた結果、図5のようになった^(注8)。ここで実線は $H(\cdot)$ の理論値、データプロットは直接数値シミュレーションを行った結果を示している。横軸の位相差は Per_m 濃度の発振位相と明暗サイクル光の位相差を示している。図5の(a), (b), (c)いずれの場合も理論曲線 $H(\cdot)$ とシミュレーション結果はまずまずのよい一致を示し、インパルス応答による縮約の方法の実際の有効性を裏づけている。また興味深い結果として、(a)の上田タイプと(b)の市崎タイプでは理論値、シミュレーションデータいずれにおいても引込範囲について有意な差が生じており、いずれが実験の結果と整合するかを検証することにより両者の仮定の妥当性を議論できるものと期待される。

4.2 異なる入力光波形に対する引込特性の比較

3.で議論した異なる入力光波形に対し、それぞれ引込特性の比較を行う。光応答モデルとしては上田タイプを用いる。以下では方形波（ただし、最大値：0.03、最小値：0）、正弦波（振幅：0.015、最大値：0.03、最小値：0）、半波整流波（最大値： $\frac{2}{\pi} \times 0.03$ 、最小値：0）をそれぞれ入力光として与え比較を行う。上記の入力光は一周期での照度の積分が互いに等しくなるように振幅を設定することで、引込特性のフェアな比較を意図している。

以上の比較結果を図6に示す。ここで引込範囲は、半波整流波の場合、方形波の場合、正弦波の場合の順に広いことが認められる^(注9)。これに対し数値シミュレーションの結果は図7に示すとおりである。図7の横軸は入力波の角周波数 ω と概日リズムの固有角周波数 ω_0 の差 $\omega - \omega_0$ を表し、(誌面の制限から省略するが)図6、図7を重ねて表示すると両者はよく一致することが確かめられる。以上の結果から、概日時計

(注8)：LRR内においてPRCを求めたので、式(2)により定義される $H(\cdot)$ の形状は入力 $R(\cdot)$ の定数倍を除いて、入力 $R(\cdot)$ の形状のみに依存して一意に定まる。

(注9)：それぞれ、[23.29, 24.12], [23.99, 24.10], [24.01, 24.09]（単位は時間）となる。

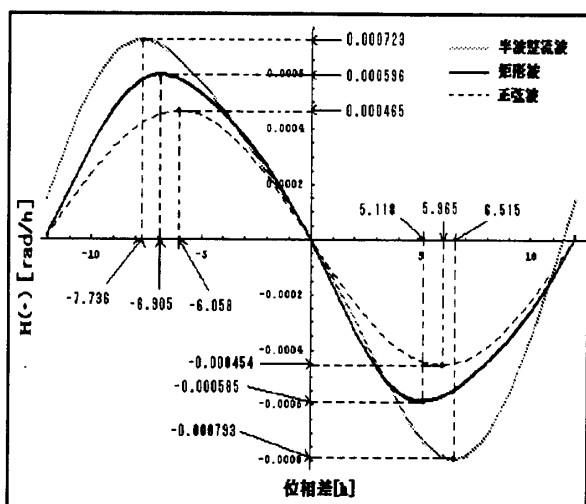


図 6 異なる入力波形に対する引込特性の比較 (理論結果)
 Fig. 6 Entrainment characteristics for three different photonic inputs (theoretical results).

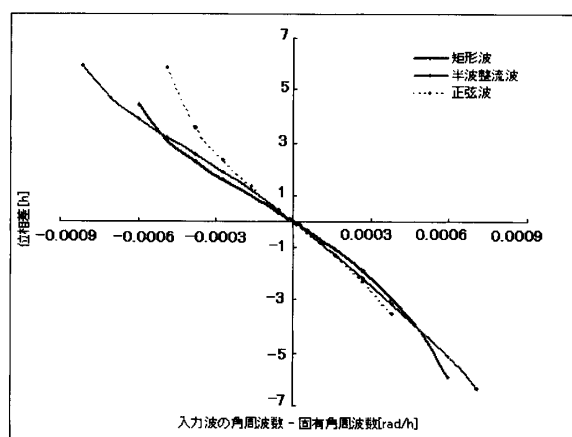


図 7 異なる入力波形に対する引込特性の比較 (シミュレーション結果)
 Fig. 7 Entrainment characteristics for three different photonic inputs (simulation results).

の引込特性は入力する波形の形状に確かに依存することが分かる。更に半波整流波はこれまでの実験系 (例えば, [11], [12]) では扱われていない入力パターンであるが, 図 6 の $H(\cdot)$ の形状から分かるように原点を中心とする傾き負の領域 (すなわち, 引込範囲) が方形波の場合, 正弦波の場合に比べ, いずれよりも有意に広がること分かる。以上の予想を実験系において検証することは興味深い課題といえよう。

4.3 逆問題の検討

前節では, 異なる入力波に対する位相方程式を導出し引込特性の比較を行った。以下では位相応答関数 $H(\phi - \phi')$ が与えられたとしてこれを実現する入力波

が存在するか否かを考察する。

まず PRC はフーリエ級数を用いて以下のように近似的に表される。

$$\Gamma(\phi) = \sum_{k=0}^N (a_k \cos k\phi + b_k \sin k\phi). \quad (3)$$

入力波についても同様に

$$R(\phi') = \sum_{k=0}^N (x_k \cos k\phi' + y_k \sin k\phi'). \quad (4)$$

式 (2) において PRC と入力波形の積を一周期で平均化することで位相応答関数 $H(\phi - \phi')$ が得られる。すなわち,

$$H(\phi - \phi') = \frac{1}{2} \sum_{k=0}^N [(a_k x_k + b_k y_k) \cos\{k(\phi - \phi')\} + (-a_k y_k + b_k x_k) \sin\{k(\phi - \phi')\}]. \quad (5)$$

一方, $H(\phi - \phi')$ は次で与えられているとする。

$$H(\phi - \phi') = \sum_{k=0}^N [\alpha_k \cos\{k(\phi - \phi')\} + \beta_k \sin\{k(\phi - \phi')\}]. \quad (6)$$

ここで式 (5) と式 (6) が一致するために, 以下の方程式が解をもたねばならない。

$$\begin{aligned} a_k x_k + b_k y_k &= 2\alpha_k, \\ -a_k y_k + b_k x_k &= 2\beta_k, \quad (k = 0, \dots, N). \end{aligned} \quad (7)$$

上の方程式 (7) において PRC に対応する a_k, b_k は既知である。ここで, 例えば図 6 で与えられる 3 通りの $H(\cdot)$ に対応する α_k, β_k を与えてみると, 式 (7) の解 x_k, y_k として, それぞれ半波整流波, 方形波, 正弦波に対応するフーリエ係数が得られることが確認される。これらの半波整流波, 方形波, 正弦波に対応する $H(\cdot)$ をそれぞれ比較すると, 図 6 のように半波整流波においてその引込位相差のとり値の範囲が最も広がっているが, この引込範囲はどこまで広くなり得るのか考えることにする。そのために引込範囲が最も広い極限として図 8 のようなこぎり波状の $H(\cdot)$

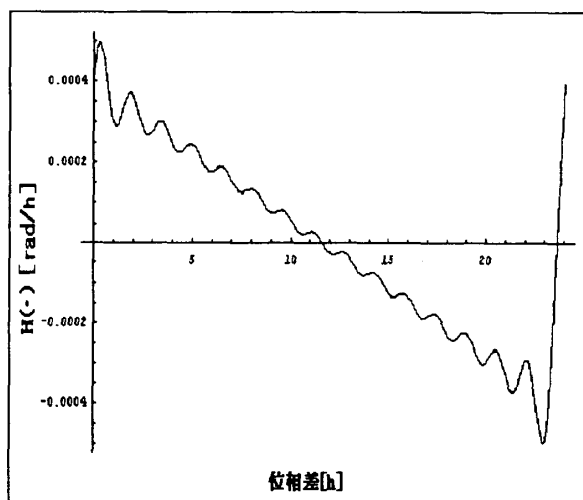


図 8 のこぎり波状の位相応答関数 $H(\phi - \phi')$
Fig. 8 Sawtooth-like phase response function $H(\phi - \phi')$.

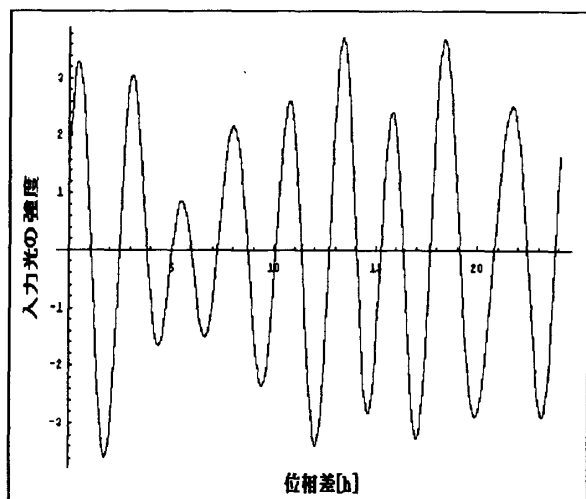


図 9 求められた入力波形 $R(\phi')$
Fig. 9 Resulting input waveform $R(\phi')$.

を想定し、そのときの式 (7) の解を求める^(注10)。

このとき方程式 (7) の解は存在し、得られる $R(\phi')$ は図 9 のようになる。ところが、この場合解 R の振幅は 3.0 を超え、上記の半波整流波、方形波、正弦波の場合にそれぞれ振幅がたかだか 0.03 であることと比べはるかに大きくなっている。入力波の振幅が 3.0 のように極端に大きくならなければならないというこ

(注10)：ここでは $N = 10$ とする。これは PRC のデータ点数がそれほど多くなく、したがって対応するフーリエ級数の項数が制限されている理由による。理想的なこぎり波を仮定する場合は、式 (2) の両辺に基底関数を掛けてフーリエ係数を求めることができる。結果としては式 (7) と同様の計算を行うことになる。

(注11)：interlocked feedback model に関するこれまでのいずれの研究においても具体的な照度の議論はなされていない。

とは、位相方程式が成立するリミットサイクル近傍でのダイナミックスの縮約の前提を明らかに逸脱していることを意味している。したがってここで極限として設定したのこぎり波状の $H(\cdot)$ は十分小さい入力範囲では実現不可能であることが帰結される。

以上は幾分特殊な場合に対する結果であったが、一般にどのような引込特性 $H(\cdot)$ に対し実現可能な入力波形 R が存在し得るか、あるいは引込範囲を最大化するような入力波形はどのように与えられるか、といった問題は未解決であり、実験との比較検証も期待される。

5. むすび

本論文では、複雑な代謝ネットワークの一例として interlocked feedback model を対象として、位相方程式による解析方法を適用することにより、引込特性について系統的な解析を行った。また、ある引込特性を与えるような入力パターンが存在するか否かという逆問題を提起し、十分小さい入力に対し、その解が実現される場合とそうでない場合があることを示した。

過去の実験結果においては「入力光の強度が十分小さい」という小ささは実際にはどの程度の照度に対応するかは明らかになっていないが^(注11)、[4]において行われている理論と実験から得られる PRC のマッチングがこの答の手掛りとなると考えられる。またこれに関し、ショウジョウバエの羽化のタイミングはわずか 0.01 [lx] (月の光の照度は約 0.1 [lx]) でさえ影響を受けることが知られており [16]、「入力光の強度が十分小さい」というここでの仮定は現実問題としてさほど不自然な仮定でないことが予想される。

謝辞 本研究を進めるにあたり有意義な議論、コメント頂いた島田尚氏 (東大分子細胞生物学研)、黒澤元氏 (九大理学部)、上田泰己氏 (理化学研究所) に感謝致します。前川知毅君 (本学在学中) には本レター中図 5(b) の計算を助けて頂きました。また本会の非線形問題研究会 (専門委員長：斉藤利通先生) での議論は有益でした。査読者には文献 [10] を御教示頂き、有益なコメントを頂きました。ここに改めて感謝致します。

文 献

- [1] A.T. Winfree, The Geometry of Biological Time, Springer-Verlag, New York, 1980.
- [2] E.B. Klerman, D. Dijk, R.E. Kronauer, and C.A. Czeisler, "Simulations of light effects on the human circadian pacemaker: Implications for assessment of intrinsic period," Am. J. Physiol. Regul. In-

- tegr. Comp. Physiol., vol.270, pp.R271-R282, 1996.
- [3] A. Goldbeter, "A model for circadian oscillations in the *Drosophila* period (PER) protein," Proc. Roy. Soc. Lond. B, vol.261, pp.319-324, 1995.
- [4] J.C. Leloup and A. Goldbeter, "A model for circadian rhythms in *Drosophila* incorporating the formation of a complex between the PER and TIM proteins," J. Biological Rhythms, vol.13, pp.70-78, 1998.
- [5] N.R. Glossop, L.C. Lyons, and P.E. Hardin, "Interlocked feedback loops within the *Drosophila* circadian oscillator," Science, vol.286, pp.766-768, 1999.
- [6] H.R. Ueda, M. Hagiwara, and H. Kitano, "Robust oscillations within the interlocked feedback model of *Drosophila* circadian rhythm," J. Theor. Biol. vol.210, pp.401-406, 2001.
- [7] G. Kurosawa and Y. Iwasa, "Saturation of enzyme kinetics in circadian clock models," J. Biological Rhythms, vol.17, pp.568-577, 2002.
- [8] Y. Kuramoto, Chemical Oscillations, Waves, and Turbulence, Dover Pubns, 1984.
- [9] B. Ermentrout, "Type I membranes, phase resetting curves, and synchrony," Neural-Comput., vol.8, no.5, pp.979-1001, 1996.
- [10] J. Rinzel and B. Ermentrout, "Analysis of neural excitability and oscillations," in Methods in Neuronal Modeling: From Ions to Networks, ed. C. Koch and I. Segev, 2nd ed., pp.251-291, MIT Press, Cambridge, 1998.
- [11] U. Setsuo, Y. Takahashi, and T. Okazaki, "Range of entrainment of rat circadian rhythms to sinusoidal light-intensity cycles," Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol., vol.278, pp.R1148-R1156, 2000.
- [12] I-H. Tang, D.M. Murakami, and C.A. Fuller, "Effects of square-wave and simulated natural light-dark cycles on hamster circadian rhythms," Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol., vol.276, pp.R1195-R1202, 1999.
- [13] 市崎育宏, インターロックフィードバックモデルを用いた概日リズムの動態解析, 金沢大学工学部電気・情報工学科卒業論文, 2002.
- [14] 永田憲章, ショウジョウバエ概日分子時計における光引き込み能力のシミュレーションによる解析と制御可能性について, 電気通信大学電気通信学部電子工学科卒業論文, 2003.
- [15] A. Hajimiri and T.H. Lee, "A general theory of phase noise in electrical oscillators," IEEE Trans. Solid-State Circuits, vol.33, pp.179-194, 1998.
- [16] A.T. Winfree, "Suppressing *Drosophila* circadian rhythm with dim light," Science, vol.183, pp.970-972, 1974.

付 録

Interlocked Feedback Model の方程式と係数等の設定 [6]

シミュレーションに用いる Interlocked Feedback Model の方程式は以下のように 10 変数の微分方程式で記述される.

$$\frac{dPer_m}{dt} = C_1 + S_1 \frac{\left(\frac{CC_n}{A_1}\right)^a + B_1}{1 + \left(\frac{PT_n}{R_1}\right)^r + \left(\frac{CC_n}{A_1}\right)^a + B_1} - D_1 \frac{Per_m}{L_1 + Per_m} - D_0 Per_m, \quad (A.1)$$

$$\frac{dPer_c}{dt} = S_2 Per_m - V_1 Per_c Tim_c + V_2 PT_c - D_2 Dbt_c \frac{Per_c}{L_2 + Per_c} - D_0 Per_c, \quad (A.2)$$

$$\frac{dTim_m}{dt} = C_2 + S_3 \frac{\left(\frac{CC_n}{A_2}\right)^a + B_2}{1 + \left(\frac{PT_n}{R_2}\right)^r + \left(\frac{CC_n}{A_2}\right)^a + B_2} - D_3 \frac{Tim_m}{L_3 + Tim_m} - D_0 Tim_m, \quad (A.3)$$

$$\frac{dTim_c}{dt} = S_4 Tim_m - V_1 Per_c Tim_c + V_2 PT_c - D_4 \frac{Tim_c}{L_4 + Tim_c} - D_0 Tim_c, \quad (A.4)$$

$$\frac{dPT_c}{dt} = V_1 Per_c Tim_c - V_2 PT_c - T_1 \frac{PT_c}{K_1 + PT_c} + T_2 \frac{PT_n}{K_2 + PT_n} - D_5 \frac{PT_c}{L_5 + PT_c} - D_0 PT_c, \quad (A.5)$$

$$\frac{dPT_n}{dt} = T_1 \frac{PT_c}{K_1 + PT_c} - T_2 \frac{PT_n}{K_2 + PT_n} - D_6 \frac{PT_n}{L_6 + PT_n} - D_0 PT_n, \quad (A.6)$$

$$\frac{dClk_m}{dt} = C_3 + S_5 \frac{\left(\frac{PT_n}{A_3}\right)^a + B_3}{1 + \left(\frac{CC_n}{R_3}\right)^r + \left(\frac{PT_n}{A_3}\right)^a + B_3} - D_7 \frac{Clk_m}{L_7 + Clk_m} - D_0 Clk_m, \quad (A.7)$$

レ タ ー

$$\begin{aligned} \frac{dClk_c}{dt} = & S_6 Clk_m - V_3 Clk_c C_{yc_c} + V_4 CC_c \\ & - D_8 \frac{Clk_c}{L_8 + Clk_c} - D_0 Clk_c, \quad (\text{A}\cdot 8) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \frac{dCC_c}{dt} = & V_3 Clk_c C_{yc_c} - V_4 CC_c - T_3 \frac{CC_c}{K_3 + CC_c} \\ & + T_4 \frac{CC_n}{K_4 + CC_n} - D_9 \frac{CC_c}{L_9 + CC_c} \\ & - D_0 CC_c, \quad (\text{A}\cdot 9) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \frac{dCC_n}{dt} = & T_3 \frac{CC_c}{K_3 + CC_c} - T_4 \frac{CC_n}{K_4 + CC_n} \\ & - D_{10} \frac{CC_n}{L_{10} + CC_n} - D_0 CC_n. \quad (\text{A}\cdot 10)^{(\text{注}12)} \end{aligned}$$

(平成 16 年 8 月 9 日受付, 12 月 24 日最終原稿受付)

(注12)：上記の方程式における係数は以下のとおりである。

最大転写速度 $S_i (i = 1, 3, 5)$, 転写活性化因子の DNA への結合定数 $A_i (i = 1, 2, 3)$, Hill 定数 α , 転写抑制因子の DNA への結合定数 $R_i (i = 1, 2, 3)$, Hill 定数 r , PER-TIM 複合体あるいは dCLK-CYC 複合体以外の転写因子による転写活性化を表す定数 $B_i (i = 1, 2, 3)$.

また翻訳の速度は mRNA の濃度に比例すると仮定しており, その比例定数 $S_i (i = 2, 4, 6)$, PER-TIM 複合体及び dCLK-CYC 複合体の会合と解離における速度定数 $V_i (i = 1, 2, 3, 4)$.

分解過程は最大速度 $D_i (i = 1, 2, \dots, 10)$ と結合定数 $L_i (i = 1, 2, \dots, 10)$, 輸送過程は最大速度 $T_i (i = 1, 2, 3, 4)$ と結合定数 $K_i (i = 1, 2, 3, 4)$ で特徴付けられる。またタンパク質の自然分解の比例定数 D_0 , 恒常的に活性のあるプロモータからの転写を表す項を $C_i (i = 1, 2, 3)$ とする。

またこれらの値は次のように設定している。

$C_{yc_c} = 1$ [nM], $Dbt_c = 1$ [nM], $C_1 = C_2 = C_3 = 0$ [nM/h], $S_1 = S_3 = 1.45$ [nM/h], $S_2 = S_4 = 0.48$ [1/h], $S_5 = 1.63$ [nM/h], $S_6 = 0.47$ [1/h], $r = 4$, $R_1 = R_2 = 1.02$ [nM], $R_3 = 0.89$ [nM], $\alpha = 1$, $A_1 = A_2 = 0.45$ [nMh], $A_3 = 0.8$ [nMh], $B_1 = B_2 = 0$, $B_3 = 0.6$, $V_1 = 1.45$ [1/nMh], $V_2 = 1.45$ [1/h], $V_3 = 1.63$ [1/nMh], $V_4 = 1.63$ [1/h], $T_1 = 1.73$ [nM/h], $T_2 = 0.72$ [nM/h], $T_3 = 1.63$ [nM/h], $T_4 = 0.52$ [nM/h], $K_1 = 2$ [nM], $K_2 = 2$ [nM], $K_3 = 2$ [nM], $K_4 = 2$ [nM], $D_1 = D_3 = 0.94$ [nM/h], $D_2 = D_4 = 0.44$ [nM/h], $D_5 = 0.44$ [nM/h], $D_6 = 0.29$ [nM/h], $D_7 = 0.54$ [nM/h], $D_8 = 0.6$ [nM/h], $D_9 = 0.6$ [nM/h], $D_{10} = 0.3$ [nM/h], $L_1 = L_3 = 0.3$ [nM], $L_2 = L_4 = 0.2$ [nM], $L_5 = 0.2$ [nM], $L_6 = 0.2$ [nM], $L_7 = 0.13$ [nM], $L_8 = 0.2$ [nM], $L_9 = 0.2$ [nM], $L_{10} = 0.2$ [nM], $D_0 = 0.012$ [1/h].

またシステムの変数の初期状態は以下のように入力している。 $Per_m = 0$ [nM], $Per_c = 0.65$ [nM], $Tim_m = 0$ [nM], $Tim_c = 0.65$ [nM], $PT_c = 0.47$ [nM], $PT_n = 2.78$ [nM], $Clk_m = 3.16$ [nM], $Clk_c = 0.75$ [nM], $CC_c = 0.32$ [nM], $CC_n = 0.28$ [nM].