

周期解の発生と概日リズムのモデル

鈴木 保夫 (YASUO SUZUKI)

大阪府立美木多高等学校

大阪府堺市城山台 4-1-1

大阪府立大学工学部数理工学科にて、研修中

ABSTRACT. Mathematical models, which are based on a understanding of biochemical process and biological knowledge, can provide nonintuitive insights into the circadian rhythms and can suggest new avenues for experimentation. A simple mathematical approach is developed to explore the dynamics of the *Drosophila* circadian components, that are *per*-RNA, *PER*-protein, *tim*-RNA, *TIM*-protein and *PER-TIM* complex. The model simulations are compared to data on the generation of circadian rhythms, entrainment to LD cycles, phase response curves (PRCs), loss of rhythmicity in constant light, *per* mutations and temperature compensation. These results indicate that the model is sufficient to exhibit the *Drosophila* circadian clock.

1. 序

1.1. 生物のいろいろな周期現象

生物は、様々な周期を持っている。その周期の発生原因によって、大きく2つに分けることが出来る。第1は、生物個体が外界の周期現象（例えば昼夜とか潮汐など）に、同調して周期が発生する場合である。第2は、生物個体自身の中から自律的に周期が、発生している場合である。これらは、恒常条件に隔離した条件のもとで、周期の発生を調べれば、区別することが出来る。

自律的な周期の例として、神経インパルス、昆虫のはねの振動数、心臓の拍動、歩行や動作のリズム、呼吸のリズム、概日リズム (circadian rhythms)、ホルモンの周期、個体数の変動、生理的な寿命などがあげられる。自律的な周期現象の発生原因は、昆虫のはねの振動数や歩行や動作のリズムのように力学的な固有振動数に関係する場合や神経インパルス、心臓の拍動、呼吸のリズム、概日リズム、ホルモンの周期のように、自己調節系から周期が出現する場合もある。自己調節系の周期現象は、一般に自励系の微分方程式の周期解で表現される。以下では、ショウジョウバエの概日リズムの数理解析モデルについて、数学的な準備およびモデルのシミュレーションと事実との適合性について述べる。なお、これらの議論の多くは、Runge-Kutta

4次近似による数値解析によって求めた結果に基づいている。

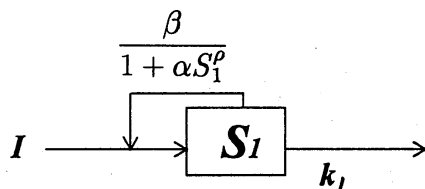
2. 数理モデルを作成する上での視点

数理モデルを作る場合、いろいろなアプローチがあるけれども、今回の場合は、現在までの研究によってわかっていることをもとにしてモデルを作ろうとしている。そのとき、分かっている事柄を数理モデルの上でどう表現するか、そして観測された量の極大の時刻間のずれの原因を、モデル式の中でどう考えるかが、モデル作成上のポイントとなっている。まず、概日リズムを作っている化学物質の量の変化を微分方程式で表現する場合の検討をしてみよう。

2.1. 時間遅れを含まないモデル

1. 自励系、1元、1階、時間遅れを含まない常微分方程式

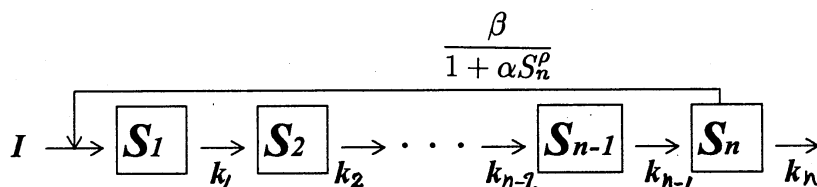
最も簡単な例から考えることにする。下図のように、 S_1 が I の速度で増加し、 k_1 の速度で減少している。そして、 S_1 の量に応じた negative feedback を I が受けて S_1 の量を調節している。negative feedback の式を $\frac{\beta}{1 + \alpha S_1^p}$ とする。このとき S_1 の量を表現するモデル式は、次のようになる。この式は、周期解を持たないことが知られている。



$$\dot{S}_1 = \frac{I\beta}{1 + \alpha S_1^p} - k_1 S_1$$

2. 自励系、多元、1階、時間遅れを含まない常微分方程式

化学物質が逐次反応している場合を考える。反応系の最後の S_n の量に応じた negative feedback を I が受けて調節している。このとき $S_1, S_2, \dots, S_n$ の量を表現するモデル式は、次のようになる。この式は、周期解を持つ場合がある [1]。

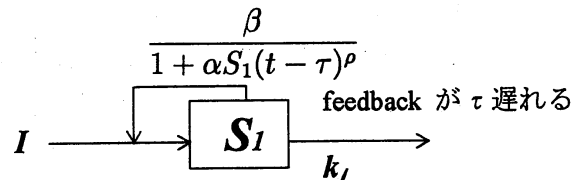


$$\begin{aligned} \dot{S}_1 &= \frac{I\beta}{1 + \alpha S_n^p} - k_1 S_1, & \dot{S}_2 &= k_1 S_1 - k_2 S_2, \\ \dots\dots\dots, & & \dot{S}_n &= k_{n-1} S_{n-1} - k_n S_n. \end{aligned}$$

2.2. 時間遅れを導入したモデル

1. 自励系、1 元、1 階、時間遅れを含む常微分方程式

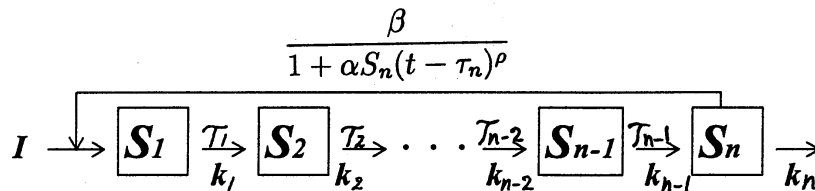
時間 τ だけ遅れて、negative feedback が働く場合を考える。そのとき、negative feedback の式を $\frac{\beta}{1 + \alpha S_1(t - \tau)^\rho}$ とするとよい。このとき、周期解を持つ場合がある[2]。



$$\dot{S}_1(t) = \frac{I\beta}{1 + \alpha S_1(t - \tau)^\rho} - k_1 S_1(t)$$

2. 自励系、多元、1 階、時間遅れを含む常微分方程式

物質や波の移動には、必ず時間がかかるので、同一の空間に存在しないかぎり「自然現象は、time delay を含む」と考えるのが自然である。移動に要する時間は、化学反応では短くて無視される場合が多いけれども、無視できない現象もあるだろう。もちろん、この式は周期解をもつ場合がある。



$$\begin{aligned} \dot{S}_1(t) &= \frac{I\beta}{1 + \alpha S_n(t - \tau_n)^\rho} - k_1 S_1(t), & \dot{S}_2(t) &= k_1 S_1(t - \tau_1) - k_2 S_2(t), \\ \dots\dots\dots, & & \dot{S}_n(t) &= k_{n-1} S_{n-1}(t - \tau_{n-1}) - k_n S_n(t). \end{aligned}$$

2.3. 周期解の発生と2つの time delay

自励系、1 階の常微分方程式について、1 元、時間遅れのない常微分方程式は周期解を持たないけれども、一元、時間遅れを持つ常微分方程式および多元の常微分方程式は周期解を持つ場合がある。2 階以上の場合には、1 階の多元の方程式に変換することができる。このことから、周期解の発生には、時間遅れの要素が関係していることがうかがわれる。

微分方程式に delay parts として、直接表現されている time delay を explicit time delay、式の形や係数の値によって生じる極値の時刻の遅れをうみだす原因となる過去の影響を、implicit time delay と呼ぶことにする。たとえば、

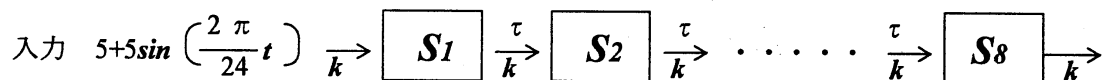
$$x'(t) = \frac{\beta}{1 + \alpha y(t)^p} - x(t), \quad y'(t) = x(t) - y(t).$$

初期値=0, $t_0 = 0$ のとき、定数変化法により

$$x'(t) = \frac{\beta}{1 + \alpha \left(e^{-t} \int_0^t e^s x(s) ds \right)^p} - x(t)$$

ここで、積分の項が implicit time delay を表す。この式は、周期解を持つ場合がある[1]。したがって、自励系、1階、1元の常微分方程式であっても、現在の自己が過去の自己の影響(積分の項、あるいはdelay parts)を受けるとき、周期解が生じる場合があると考えられる。言い換えれば、「自励系の常微分方程式が、周期解を発生していれば、広義の time delay を含む閉ループが存在する」と考えられる。

さて、モデル作成上では、物質の移動時間による遅れは、式の中に直接 delay parts として、explicit time delay によって直接表現されるべきものであり、反応時間による遅れは、式の形や係数の値によって表現されるべきものである。explicit time delay と implicit time delay の働きにより、極値をとる時刻に遅れが生じる。たとえば、次のような系を、微分方程式で表現すると(各ステップは、時間 τ の遅れをもち、速さ k で変化する)



$$\begin{aligned} \dot{S}_1(t) &= k \left(5 + 5\sin\left(\frac{2\pi}{24}t\right) - S_1(t) \right), & \dot{S}_2(t) &= k(S_1(t-\tau) - S_2(t)), \\ \cdots \cdots \cdots, & & \dot{S}_8(t) &= k(S_7(t-\tau) - S_8(t)). \end{aligned}$$

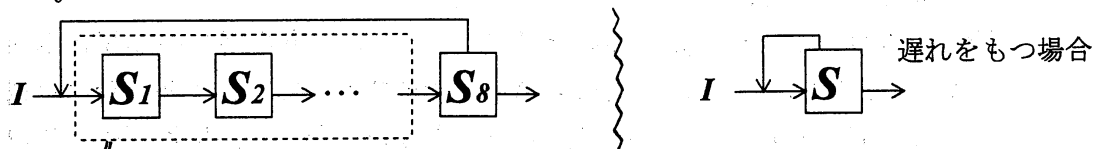
となる。このとき、極値をとる時刻の遅れを、解曲線から求めると下の表のようになる。この単純な例では、 $\tau = 0$ から $\tau = 1$ になると遅れは、それぞれ τ だけ増大する。また、 k が2倍になると遅れは、ほぼ $\frac{1}{2}$ になる。

極値をとる時刻の遅れ

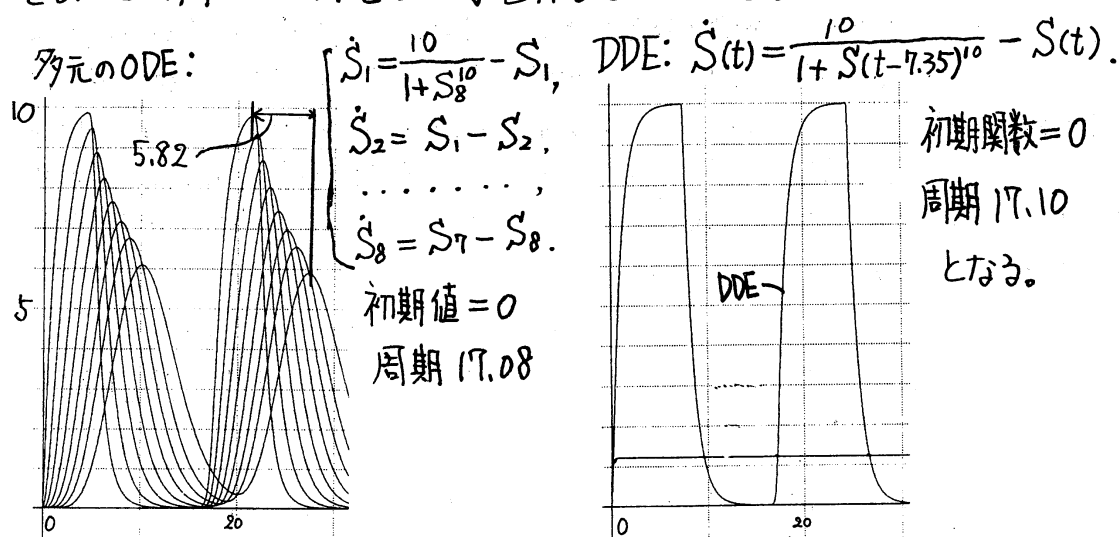
	入力 $\rightarrow S_1$	$S_1 \rightarrow S_2$	$S_2 \rightarrow S_3$	$S_3 \rightarrow S_4$	$S_4 \rightarrow S_5$	$S_5 \rightarrow S_6$	$S_6 \rightarrow S_7$	$S_7 \rightarrow S_8$
$\tau=0, k=1$ のとき	0.98	1.02	0.98	0.98	0.98	0.97	0.98	1.43
$\tau=0, k=2$ のとき	0.50	0.50	0.50	0.49	0.50	0.50	0.50	0.73
$\tau=1, k=1$ のとき	0+0.98	1+1.02	1+0.98	1+0.98	1+0.98	1+0.97	1+0.98	1+1.43
$\tau=1, k=2$ のとき	0+0.50	1+0.50	1+0.50	1+0.49	1+0.50	1+0.50	1+0.50	1+0.73

implicit time delay の代わりに、delay parts を使って、explicit time delay によって表現することはできないけれども、未知の調節や反応による implicit time delay に相当する値を、delay parts に加えることによって、同一の周期をもつ式を作ることとはできる。したがって、未知の調節や反応を表現する式の代わりに、delay parts

を変化させて同一の周期を出現させることにより、black box を含んでいる現象を暫定的に表現できる。したがって、black box をふくむモデルの delay parts は、未知の調節や反応による implicit time delay と 分子の移動時間による explicit time delay の和を意味している。たとえば、



ここが black box の場合、black box の部分のかわりに、適当な時間遅れをもたせて、同一の周期をもつ式を作ることができる。



以上のことを基礎にして、概日モデルを構成している物質の変化を表現する数理モデルを作成し、適当な係数を与えてシミュレーションを行い、既知の実験結果との比較検討をしよう。

3. 概日リズムの数理モデル

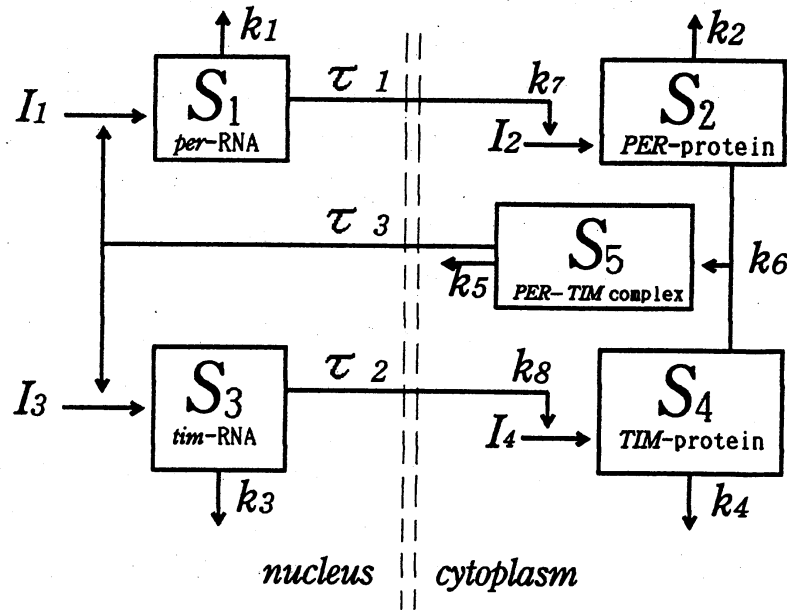
3.1. 概日リズムの数理モデル

概日リズムは、単細胞生物からヒトまでの様々な系統の生物にみられる。1 個の細胞内でも概日リズムが働くことから、細胞間の相互作用は主要なことではないと考えられる[3]。また、概日リズムが多く真核生物にみられ、原核生物にはあまりみられないことは、真核生物のみが持っている核膜や細胞内膜系との関係がうかがわれた。しかし、藍藻の一種である *Synechococcus sp* (原核生物である) は、概日リズムと温度補償性を確実に持っていることがわかっている[4]。けれども、まだ真核生物の時計と原核生物の時計とが、等しいかどうかわかっていない。ここでは、ショウジョウバエの概日リズムのモデルを考えるが、原核生物や他の生物の概日リズムについても示唆することがあるだろう。

ショウジョウバエの概日リズムに関する最近の研究成果は、何がリズムの中心的役割をはたしているのかに迫っていると思われる。1996年に別々の4チームによって、よく似た内容のリズムの位相変位 (light-entrainment mechanism) のモデルが提案されている [5, 6, 7, 8]。これらの位相変位メカニズムの中には、リズム発生のメカニズムが含まれていると考えられる。生命現象は、分子の言葉で表現されるものであることは言うまでもないことであるが、分子の反応順序や周期的な分子の濃度変化の記述のみでは、リズム発生のメカニズムの予想は立てられても、実際に24時間の周期をもつリズムを起こすことを示せないであろう。リズムの発生は、DNA転写調節に関する negative feedback によって引き起こされることがすでに提案されている [9, 10]。しかし、フィードバックから必ず、リズムが発生するとは限らないので、リズムが発生することを示すためには、分子生物学の成果に基づく数理モデルが作られることが必要である。また、そのことによって始めて、周期の突然変異や位相変位や温度補償性についての詳細な検討をなすことができると考えられる。

生物時計を構成している遺伝子から作られる *per*-RNA と *PER*-protein は、DNA転写調節に negative feedback loop をもつことによって、24時間の周期をもつと考えられている [9, 10]。 *per*-RNA は核内でつくられ、RNA processing control, RNA transport control, translation control という様々な調節 [15, 16] を受けたのち、核外にでて *PER*-protein を合成する。このとき、 *per*-RNA の極大の時刻と *PER*-protein の極大の時刻との間には、約6時間 (少なくとも4時間) の遅れをもつことが知られている [3, 5]。もう一つの生物時計を構成している遺伝子から作られる *tim*-RNA も、同様に核外にでて、 *TIM*-protein を合成する。つぎに、 *PER*-protein や *TIM*-protein は、単独では核膜を通過できず、 *PER-TIM* complex になって核膜を通過し、核内に入ってDNA転写調節に negative feedback として働いて、RNAを減少させる。 *PER-TIM* complex の核膜の通過には、調節があることが知られている [5, 6, 7, 8, 11, 12]。さらに、これらのタンパク質はリン酸化や他の過程によって活性を調節されているらしい [13, 14]。また、 *TIM*-protein が光によって減少すること、そして光による *TIM*-protein の減少が位相の変化をもたらしていると考えられている [5, 6, 7, 8]。さらに、 *TIM*-protein と *PER*-protein はよく似た位相をもつ量的変化をすることがわかっている [5]。

これらの知見をもとにして、 *per*-RNA、 *PER*-protein、 *tim*-RNA、 *TIM*-protein、 *PER-TIM* complex の各分子の量 (同じ意味で濃度あるいは活性) の変化を数理モデルで表現しよう。そのとき、未知の調節や反応によって起こされる time delay および、分子の移動時間による time delay を考慮して、時間遅れを含む微分方程式によって表現することにする。DNA転写調節の詳細は、知られていないので、negative feedback を表す式として、 $\frac{\beta}{1 + \alpha x^p}$ を用いる。この式を含む方程式には、周期解を持つ場合があることが知られている [1, 2]。概日リズムのような恒常条件での自律的



$$\dot{S}_1(t) = \frac{I_1 \beta_1}{1 + \alpha_1 S_5(t - \tau_3)^{\rho_1}} - k_1 S_1(t)$$

$$\dot{S}_2(t) = I_2 k_7 S_1(t - \tau_1) - k_2 S_2(t) - k_6 S_2(t) S_4(t)$$

$$\dot{S}_3(t) = \frac{I_3 \beta_2}{1 + \alpha_2 S_5(t - \tau_3)^{\rho_2}} - k_3 S_3(t)$$

$$\dot{S}_4(t) = I_4 k_8 S_3(t - \tau_2) - k_4 S_4(t) - k_6 S_2(t) S_4(t)$$

$$\dot{S}_5(t) = k_6 S_2(t) S_4(t) - k_5 S_5(t)$$

Fig1. ショウジョウバエの概日リズムの数理モデル

ドットは、時間微分； t は時刻； $S(t - \tau)$ は、時刻 $(t - \tau)$ の S の値という意味； S_1, S_2, S_3, S_4, S_5 はそれぞれ *per*-RNA, *PER*-protein, *tim*-RNA, *TIM*-protein, *PER-TIM* complex の量（同じ意味で濃度、あるいは活性）を表す。 τ_1 は、*per*-RNA が、核から細胞質へ未知の反応や調節を経て移動する時間を表現する time delay、 τ_2 は、*tim*-RNA が、核から細胞質へ未知の反応や調節を経て移動する時間を表現する time delay、 τ_3 は、*PER-TIM* complex が、細胞質から核への移動するのに使われる時間を表現する time delay を表している。 I_1, I_3 は DNA から RNA への転写速度、 $I_2 k_7, I_4 k_8$ は、RNA 濃度に比例して、タンパク質が合成されときの反応速度、 k_1, k_2, k_3, k_4, k_5 は、基質が別のものになる反応速度、 k_6 は、*TIM* と *PER* から *PER-TIM* complex ができるときの反応速度を表している。周期解を持つとき、周期=関数 $(\tau_1, \tau_2, \tau_3, I_1, I_3, I_2 k_7, I_4 k_8, k_1, k_2, k_3, k_4, k_5, k_6, \alpha_1, \alpha_2, \beta_1, \beta_2, \rho_1, \rho_2)$ である。

なりズムの発生は、数学でいえば、初期関数が一定のとき、自励系の微分方程式が、周期解を発生することに相当する。周期解の発生や極大値の時刻の遅れには、上記 2 つの time delay (2.3 をみよ) の和の大きさが強く関係していることが、数値解析によって予測されている。

以上のことより、シヨウジョウバエの概日リズムの数理モデルを提案する (Fig1)。 S_1 は、 S_5 が移動に要する時間を考慮して、 τ_3 時間前の S_5 の量に対して negative feedback を受けて $\frac{I_1\beta_1}{1+\alpha_1 S_5(t-\tau_3)^{\rho_1}}$ の速度で増加し、 k_1 の速度で減少する。 S_2 は、タンパク合成開始までに要する時間を考慮して、 τ_1 時間前の S_1 の量に比例した $I_2 k_7 S_1(t-\tau_1)$ の速度で増加し、 k_2 の速度で減少する。 S_3 は、 S_5 が移動に要する時間を考慮して、 τ_3 時間前の S_5 の量に対して negative feedback を受けて $\frac{I_3\beta_2}{1+\alpha_2 S_5(t-\tau_3)^{\rho_2}}$ の速度で増加し、 k_3 の速度で減少する。 S_4 は、タンパク合成開始までに要する時間を考慮して、 τ_2 時間前の S_3 の量に比例した $I_4 k_8 S_3(t-\tau_2)$ の速度で増加し、 k_3 の速度で減少する。 S_5 は、 k_6 の速度で S_2 と S_4 より合成されて増加し、 k_5 の速度で減少する。

3.2. 周期を決定する要因

この数理モデルの周期は、 $\tau_1, \tau_2, \tau_3, I_1, I_3, I_2 k_7, I_4 k_8, k_1, k_2, k_3, k_4, k_5, k_6, \alpha_1, \alpha_2, \beta_1, \beta_2, \rho_1, \rho_2$ の関数となっている。しかし、数学的には、この周期を求めることは困難であり、まだ求められていない。また、モデル式が周期解を持つことは、数学的には証明されていないが、数値解析によって予想される。この数理モデルの周期が変化するためには、フィードバックの式が変化する場合 ($\alpha_1, \alpha_2, \beta_1, \beta_2, \rho_1, \rho_2$)、あるいは、2 種類の意味を含む time delay が変化する場合 (τ_1, τ_2, τ_3)、あるいは、反応速度が変化する場合 ($I_1, I_3, I_2 k_7, I_4 k_8, k_1, k_2, k_3, k_4, k_5, k_6$) のいずれかである。周期解を持つ範囲で、 τ_1, τ_2, τ_3 の増加は、周期の増加をもたらす。 α_1, α_2 の増加は、周期の増加をもたらす場合が多い。 $\beta_1, \beta_2, I_1, I_3, I_2 k_7, I_4 k_8, k_1, k_2, k_3, k_4, k_5$ の増加は、周期の減少をもたらす場合が多い。したがって、概日リズムの周期が変化した突然変異である $per^0, per^S, per^L, timeless$ は、係数値のいずれかが、野生種と異なる値となる変化が起こったと考えられる。さらに、一般に温度の上昇に伴って反応速度が増加するので、そのとき周期を一定にする調節がないと周期は短くなる。概日リズムは、温度変化にかかわらずに周期を一定にするという温度補償性を持っている。したがって、温度の上昇したときにはリズムが長くなるように、上記の 3 点のうちのいずれかを調節していると考えられる。

また、DNA 転写調節には、 $\alpha_1, \alpha_2, \beta_1, \beta_2, \rho_1$ と ρ_2 ; RNA の移動時間、RNA プロセッシング調節、RNA 輸送調節と翻訳の調節には、 τ_1 と τ_2 ; m-RNA の分解調節には、 k_1 と k_3 ; タンパク質の活性調節には、 k_2, k_4 と k_5 ; タンパク質の移動時間と輸送調節には、 τ_3 ; 以上のように、各係数の値を変化させることによって、様々な調節をシミュレーションすることができる。

4. モデルのシミュレーション結果と検討

4.1. 24 時間周期の発生

PER-protein の量は、*PER*-antigen antibody を用いて測定されている。*PER*-antigen antibody は、単独の *PER*-protein ばかりでなく *PER*-*TIM* complex の中の *PER*-protein にも反応している [6] ので、これまでに報告されている *PER*-protein の量は、*PER*-protein と *PER*-*TIM* complex を合計した値と考えられる。したがって、*per*-RNA の peak の時刻と *PER*-protein と *PER*-*TIM* complex の和の peak の時刻との差が約 6 時間であることを満たすように $\tau_1 = \tau_2 = 4.0$ とし、周期が 24 時間になるように他の係数の値を定める (Fig2)。この結果から、核膜を隔てた分子の移動および未知の反応や調節 [11, 12, 15, 16] によって作られる大きな time delay (τ_1, τ_2, τ_3) を含む、DNA 転写調節の negative feedback によって、24 時間の周期を引き起こすことができることが示された (Fig2AB)。いうまでもなく周期が 24 時間になる係数の値の組は無数にあるが、進化を通じて適した値の組が、自然選択された結果、実際の係数の値の組を持つ概日リズムが作られたと考えられる。また、このシミュレーションの *per*-gene の feedback の働きと *tim*-gene の feedback の働きは異なっているので、単独の *PER*-protein と単独の *TIM*-protein の peak の時刻は異なっている。

4.2. LD(Light-Dark) cycle への同調

光によって、*TIM*-protein が減少することは、 k_4, k_5 が、増大することによってシミュレーションできる。恒暗条件では、*TIM*-protein は、ZT20(Zeitgeber time) のとき、1 時間で 1.5 倍に増加し、光の照射によって減少して $\frac{1}{6}$ に漸近することが知られている [5]。

このことから、 S_4 の増加速度を 1、減少速度を a とすると、

$$\dot{S}_4(t) = 1 - aS_4(t). \text{ より } S_4(t) = e_0 e^{-at} + \frac{1}{a}.$$

したがって、 $S_4(0)=1$ とすると、1 時間で 1.5 倍になる恒暗条件の時は、

$$S_4(1) = \left(1 - \frac{1}{a}\right)e^{-a} + \frac{1}{a} = 1.5 \text{ これより、} a \approx 0.4$$

光の照射により、 $\frac{1}{6}$ に漸近するときは、 $\lim_{t \rightarrow \infty} S_4(t) = \frac{1}{a} = \frac{1}{6}$ これより、 $a=6$

モデルでは、 $k_5=0.3$ としたので、光の効果は、 k_4, k_5 を 20 倍にすることおよび *PER*-*TIM* complex の *TIM*-protein がなくなると、単独の *PER*-protein が残るので、 $\dot{S}_2(t)$ 式の右辺に、 $(20-1) \times 0.3S_5(t)$ を加えることによってシミュレーションすることができる。

その結果、各成分は、L12D12-cycle(明期 12 時間、暗期 12 時間) に同調する。さ

らに、*per*-RNA, *PER*-protein, *tim*-RNA, *TIM*-protein, *PER-TIM* complex の振幅は、恒暗条件より大きくなり、かつ極大値と極小値の比は、大きくなる (Fig2BC)。このことは、L12D12-cycle では、恒暗条件と比較して、リズムが、より強く明確におこることを意味している。また、単独の *PER*-protein の極大の時刻は、ZT1 と ZT12 となると予想される (Fig2C)。同様に、他の LD cycle においても、各成分は、LD-cycle に同調し、また、単独の *PER*-protein の極大の時刻は、光を消した時刻と光をつけ始めてから約1時間後の時刻に極大があらわれる場合が多い。ただし、光の効果を20倍から順に小さくするにしたがって、つまり明期の光を弱くするにしたがって同調しない状態が出現してくる。

4.3. 光の影響による位相の変化 (PRCs)

恒暗条件の下で、circadian time ごとに、一定量の光を与えたとき、その後の周期が進んだり遅れたりすることが知られている [17]。弱い光の効果と強い光の効果を、*TIM*-protein の減少速度をそれぞれ4倍、あるいは20倍することによって、シミュレーションすることができる。その結果、光照射を与える時刻によって、その後の位相が進んだり、遅れたりする (Fig3AB)。次に、刺激終了後13時間以降にある2番目の S_5 の極大の時刻によって、位相のずれを調べ、位相反応曲線 (PRCs) を求めた。このとき、弱い光では1型、強い光では、0型になった (Fig3CD) [17]。実際のショウジョウバエの羽化や活動量の PRCs に大変よく似た曲線を描くことがわかった。また、このシミュレーションでは、刺激終了時刻が、 $t=86$ 、光の効果を6.2倍にすると、リズムが弱くなり、回復するのに100時間ほどかかる消去点に近い値となる。適当な位相に0型を起こす刺激より弱い適当な大きさの刺激を与えると、リズムが消滅することが知られている [17]。以上のことからこのモデルは、光による位相の変化を反映していることがわかる。

4.4. 恒明条件でのリズムの消失

野生種の *PER*-protein の量は、恒暗条件では変動せずリズムを持たないことが知られている [18]。恒明条件での各成分の変化を、光の効果を Fig2C と同様に変化させてシミュレーションした。そのとき、光の効果を20倍にすると、時計の各成分は、リズムを持たなかった (Fig4A)。次に光の効果をしだいに弱くするにしたがって、周期と振幅がどう変化するかを調べた (Fig4B)。そのとき、光の効果が、8.7倍より大きくなると、振幅が0となりリズムが失われることが分かった。また、光の効果が、8.7倍より小さくなるにしたがって振幅が大となり、周期も大となる。このことは、一定の強さの以上の光のもとで、リズムが消滅することを示している。また、一定の強さ以下の光のもとでは、恒暗条件と比較して、振幅が小さいので、弱いリズムが発現すること、および 短い周期となることが予想される。

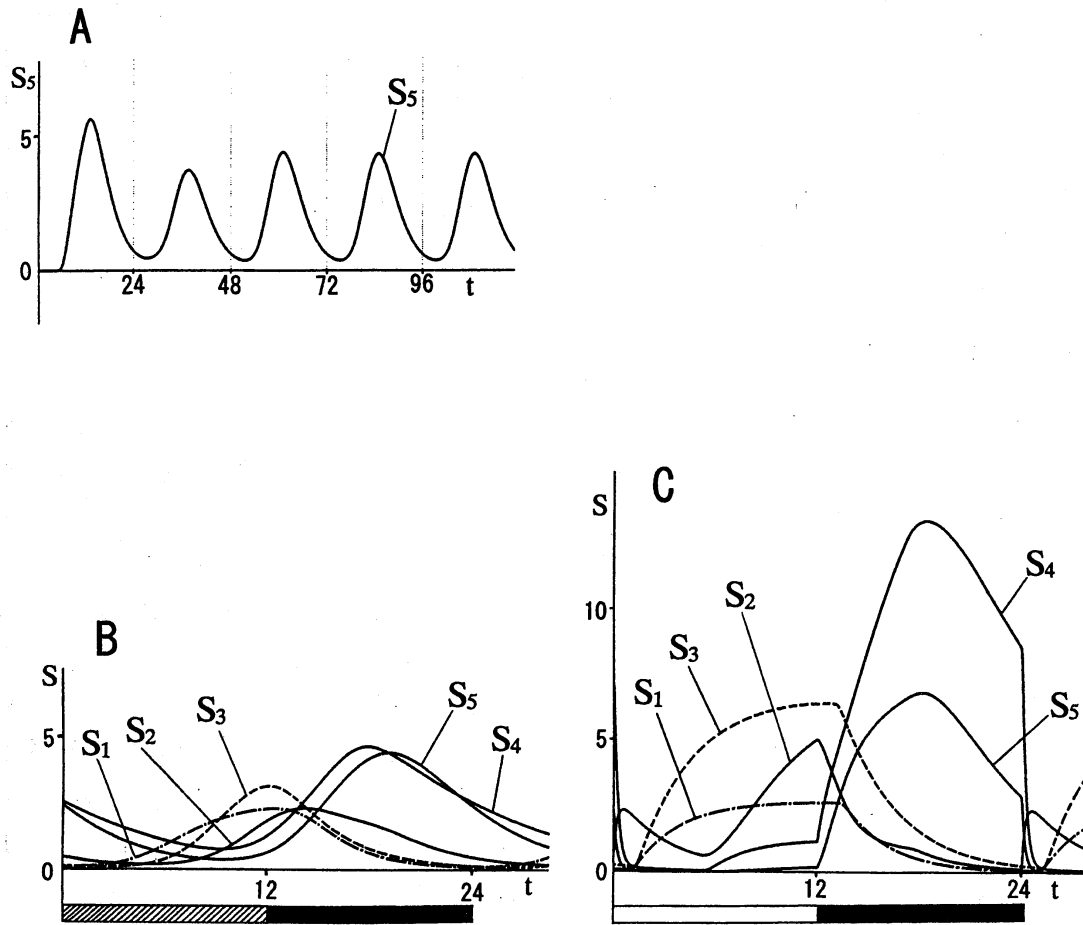


Fig2 シミュレーションの結果

Fig1 の式に次の係数の値をもちいる。 $S_1(t), S_2(t), S_3(t), S_4(t), S_5(t)$ の初期関数=0, $\tau_1=\tau_2=4.0$, $\tau_3=1.0$, $I_1=1.0$, $I_3=2.0$, $I_2k_7=I_4k_8=1.0$, $k_1=0.38$, $k_2=0.38$, $k_3=0.30$, $k_4=0.20$, $k_5=0.30$, $k_6=0.20$, $\alpha_1=1.0$, $\alpha_2=10$, $\beta_1=\beta_2=1.0$, $\rho_1=\rho_2=3.0$

A: S_5 - t 曲線。恒暗条件。24 時間周期が発生する。

B: S_1, S_2, S_3, S_4, S_5 - t 曲線。恒暗条件。 tim -RNA の極大の時刻を CT12(circadian time) と定める。

C: S_1, S_2, S_3, S_4, S_5 - t 曲線。 L(明期):D(暗期)=12:12。 単独の PER -protein の極大の時刻は、 ZT1 と ZT12 となる。 $24n \leq t < 12 + 24n$ のとき、明期、光の効果として、 $k_4 = 20 \times 0.2, k_5 = 20 \times 0.3; \dot{S}_2(t) = S_1(t-4) - 0.38S_2(t) - 0.2S_2(t)S_4(t) + (20-1) \times 0.3S_5(t)$ にする。 $12 + 24n \leq t < 24 + 24n$ のとき、暗期、Fig2 の係数値を使う。 ($n=0,1,2,\dots$)

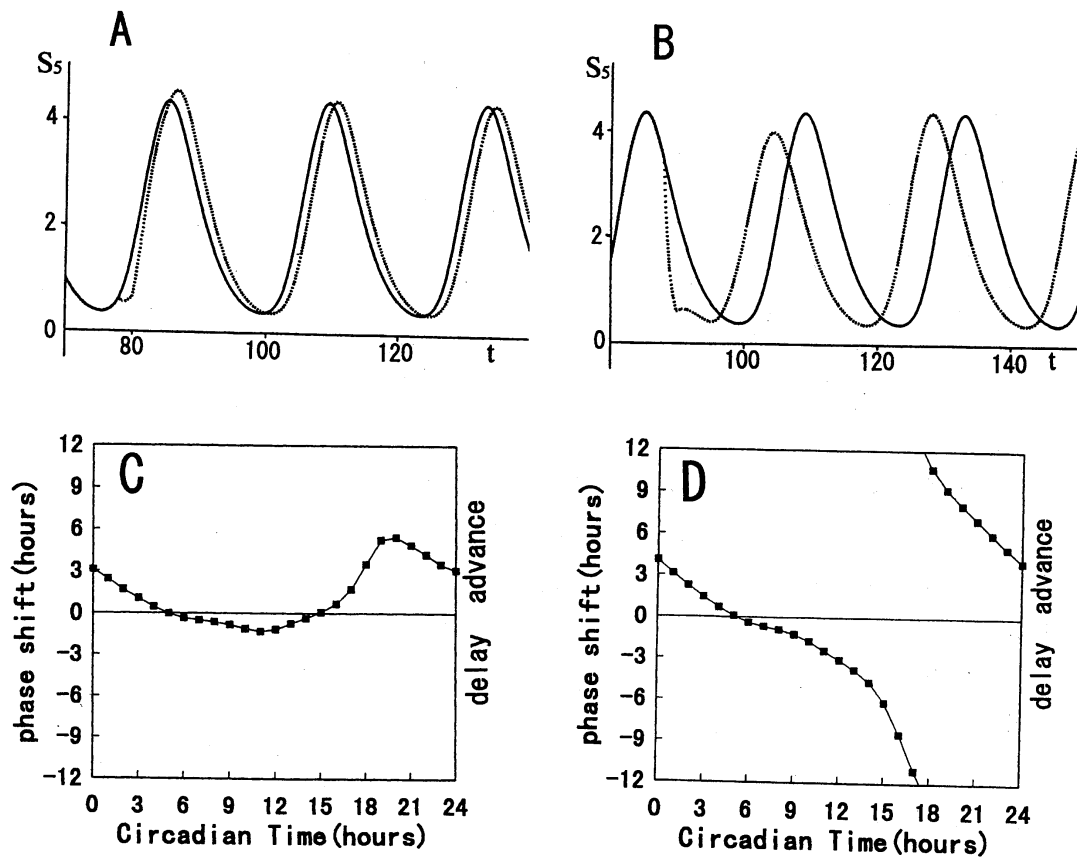


Fig3. 位相反応曲線 (PRCs)

A: S_5 - t 曲線。位相が遅れる。実線は、恒暗条件の時で、Fig2A と等しい。点線は、 $79 \leq t < 80$ に光を与えている。光の効果は、 $78 \leq t < 80$ のとき $k_5 = 4 \times 0.3$ 、 $79 \leq t < 80$ のとき $k_4 = 4 \times 0.2$ と $\dot{S}_2(t) = S_1(t-4) - 0.38S_2(t) - 0.2S_2(t)S_4(t) + (4-1) \times 0.3S_5(t)$ 。その他の時刻では、Fig2 の値をとる。 k_5 を 2 時間変化させることは、*PER-TIM* complex が、核内に入るときの time delay 1 時間を考慮すると、実際には、光を 1 時間あてたことに相当する。

B: S_5 - t 曲線。位相が進む場合。実線は、恒暗条件の時で、Fig2A と等しい。点線は、 $89 \leq t < 90$ に光を与えている。

C: 弱い光をあてたときの PRC。タイプ 1 となる。光の効果をも、4 倍としたとき。刺激終了後 13 時間以降にある 2 番目の S_5 の極大の時刻を比較することによって位相のずれを調べ、PRC を描いた。Fig3A は、 $t=80$, CT11. Fig3B は、 $t=90$, CT21 の場合に当たる。位相の遅れは負、進みは正であらわす。Circadian time の 0 から 12 は主観的昼をあらわし、CT12 から CT24 は、主観的夜をあらわす。

D: 強い光を当てたときの PRC。タイプ 0 となる。光の効果をも、20 倍としたとき。他は、C と等しい。

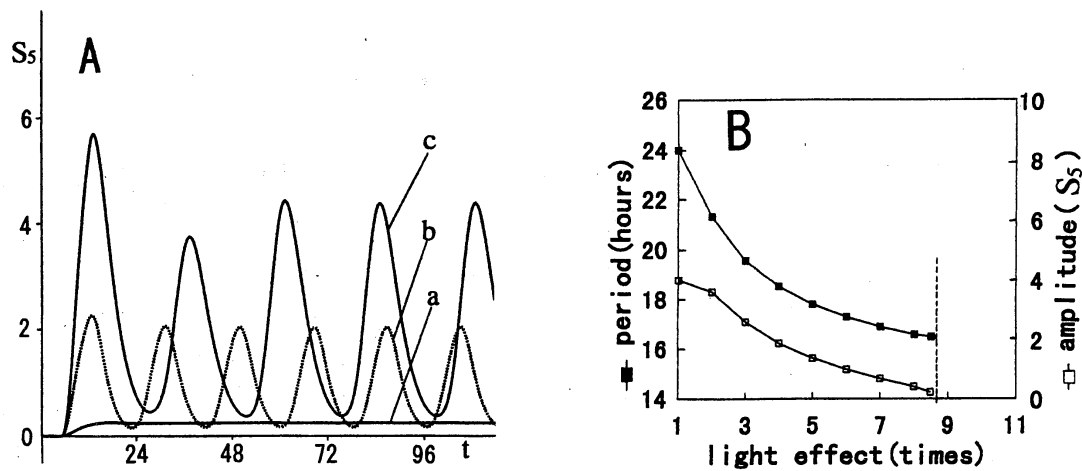


Fig4: 恒明条件における光の効果と周期や振幅との関係。

A: a, 恒強光下での S_5 - t の曲線。光の効果は、20 倍にする。 $k_4=20 \times 0.2$ 、 $k_5=20 \times 0.3$ 、 $\dot{S}_2(t) = S_1(t-4) - 0.38S_2(t) - 0.2S_2(t)S_4(t) + (20-1) \times 0.3S_5(t)$ 。

b, 恒弱光下での S_5 - t の曲線。光の効果は、4 倍にする。 $k_4=4 \times 0.2$ 、 $k_5=4 \times 0.3$ 、 $\dot{S}_2(t) = S_1(t-4) - 0.38S_2(t) - 0.2S_2(t)S_4(t) + (4-1) \times 0.3S_5(t)$ 。

c, 恒暗条件での S_5 - t の曲線。条件は Fig2A と同一。

B: 光の効果と周期や振幅との関係。光の効果は、8.7 より大きいとき、振幅が、0 になる。そのとき、リズムが消滅する。

4.5. *per* 突然変異と温度補償性について

概日リズムの周期が消滅する突然変異である per^0 は、完全な *per*-protein が作られないことが分かっている。 $I_1=0$ 、あるいは $k_6=0$ にすることによりシミュレーションできる。このときは、安定な解が得られる。周期が短く変化する突然変異である per^S や周期が長く変化する突然変異である per^L については、3.2 で述べた様々な可能性が考えられ、何が原因であるのか確定しがたい。また、この温度補償性についても同様に様々な可能性や調節を考えることができる。すでに行われた実験結果の中に、実験者の意図にかかわらず、これらの疑問に答えうる内容が含まれているかもしれない。また、数理モデルを使うことによって、どのようなことがわかれば疑問に答えられるかについて詳細に検討することができるだろう。

この数理モデルは、 per^0 、 per^S 、 per^L 、*timeless* の各 mutation は、何が変化した結果であるのか、また、温度補償性はどのように実現されているのかという疑問や実験から生じた数々の疑問にたいして、実験を実施する上での指針を与えることができるであろう。

5. まとめ

モデルを表現する微分方程式に関して

1. 微分方程式に delay parts として、直接表現されている time delay を explicit time delay、式の形や係数の値によって生じる極値の時刻の遅れをうみだす原因となる過去の影響を、implicit time delay と呼ぶことにする。
2. 自励系の常微分方程式が、周期解を発生していれば、広義の time delay を含む閉ループが存在すると考えられる。
3. ここで考えているような単純な反応を表現する微分方程式では、未知の調節や反応 (black box) が生み出す implicit time delay と explicit time delay の和に相当する値を、explicit time delay に加えることによって、同一の周期をもつ式を作ることができる。また、解曲線の極値の時刻の遅れは、implicit time delay と explicit time delay に強く依存し、これらの和が大きくなると遅れは大きくなる。
4. 得られた概日リズムの数理モデルは、シミュレーションによって、24 時間周期となる定数があることはわかったが、これを数学的に証明することが今後の課題となる。

ショウジョウバエの概日リズムの数理モデルに関して

1. 分子生物学的研究の結果にもとづいて、DNA の転写調節の negative feedback loop に explicit time delay を含む概日リズムの数理モデルを作成した。このモデルは、24 時間の周期を発生させることができる。
2. この数理モデルは、L12D12 cycle に同調する。そのとき、恒暗条件より強いリズムとなっている。また、単独の *PER*-protein は ZT1 と ZT12 に極大値をもつと予想される。
3. この数理モデルは、実際の PRCs と同様に、光の強さに応じて 2 種類の PRCs を描いて、位相が変化する。
4. この数理モデルは、強い恒明条件のもとではリズムの消失がおこる。また、弱い恒明条件のもとでは、周期が短くてかつ弱いリズムになると予想される。
5. この数理モデルは、係数の値を変えることによって、周期を変化させることができる。したがって、周期の突然変異である *per*⁰、*per*^s、*per*^L、*timeless* をシミュレーションすることができる。また、温度補償性をシミュレーションすることもできる。
6. すでに発表されている実験結果を基にして、数理モデルから *per* 突然変異の原因や温度補償性を求めること、あるいは何を調べればよいかを示すことが今後の課題となる。

参考文献

1. C. Walter, *The Occurrence and the Significance of Limit Cycle Behavior in Controlled Biochemical Systems*, J.Theor.Biol.,27, 259-272(1970).
2. C. M. Mackey and L. Glass, *Oscillation and Chaos in Physiological Control Systems*, SCIENCE,197,287-289(1977).
3. H. Zeng, P. E. Hardin, M. Rosbash, *Constitutive overexpression of the Drosophila period protein inhibits period mRNA cycling*, The EMBO Journal,13,3590-3598(1994).
4. T. Kondo et al, *Circadian Clock Mutants of Cyanobacteria*, SCIENCE,266,1233-1236(1994).
5. M. Hunter-Ensor, A. Ousley, A. Sehgal, *Regulation of Drosophila Protein Timeless Suggests a Mechanism for Resetting the Circadian Clock by Light*, Cell,84,677-685(1996).
6. H. Zeng, Z. Qian, M. Myers, M. Rosbash, *A light-entrainment mechanism for the Drosophila circadian clock*, NATURE,380,129-135(1996).
7. M. P. Myers, K. Wager-Smith, A. Rothenfluh-Hilfiker, M. W. Young, *Light-Induced Degradation of Timeless and Entrainment of the Drosophila Circadian Clock*, SCIENCE,271,1736-1740(1996).
8. C. Lee, V. Parikh, T. Itsukaichi, K. Bae, I. Edery, *Resetting the Drosophila Clock by Photic Regulation of PER and a PER-TIM Complex*, SCIENCE,271,1740-1744(1996).
9. P. E. Hardin, J. C. Hall, M. Rosbash, *Feedback of the Drosophila period gene product on circadian cycling of its messenger RNA levels*, NATURE,343,536-540(1990).
10. B. D. Aronson, K. A. Johnson, J. J. Loros, J. C. Dunlap, *Negative Feedback Defining a Circadian Clock: Autoregulation of the Clock Gene frequency*, SCIENCE,263,1578-1584(1994).
11. L. B. Vosshall, J. L. Price, A. Sehgal, L. Saez, M. W. Young, *Block in Nuclear Localization of period Protein by a Second Clock Mutation, timeless*, SCIENCE,263,1606-1609(1994).
12. K. D. Curtin, Z. J. Huang, M. Rosbash, *Temporally Regulated Nuclear Entry of the Drosophila period Protein Contributes to the Circadian Clock*, Neuron,14,365-372(1995).
13. I. Edery, L. J. Zwiebel, M. E. Dembinska, M. Rosbash, *Temporal phosphorylation of the Drosophila period protein*, Proc.Natl.Acad.Sci.USA,91,2260-2264(1994).
14. Z. J. Huang, K. D. Curtin, M. Rosbash, *PER Protein Interactions and Temperature Compensation of a Circadian Clock in Drosophila*, SCIENCE,267,1169-1172(1995).
15. B. Alberts et al., *Molecular Biology of the Cell*, Garland Publishing, p401-47, 1994, (third edition).
16. J. E. Darnell Jr, *Variety in the level of gene control in eukaryotic cells*, NATURE,297,365-371(1982).
17. A. T. Winfree, *Integrated View of Resetting a Circadian Clock*, J.Theor.Biol.,28,327-374(1970).
18. J. L. Price, M. E. Dembinska, M. W. Young, M. Rosbash, *Suppression of Period protein abundance and circadian cycling by the Drosophila clock mutation timeless*, The EMBO Journal,14,4044-4049(1995).

謝辞

数理モデルの数理解析と数値解析について、大阪府立大学工学部数理工学科の原惟行教授、宮崎倫子博士をはじめとする研究室の人々の暖かい指導と有益な議論に感謝する。また、大阪府教育委員会より、研修の機会を与えられたことに感謝する。