

Metabolic Flow Simulator の試作

竹 葉 剛

A Computer Program for Metabolic Flow Analysis

GO TAKEBA

複雑な代謝系内のトレーサー分布を、代謝物の元素位置ごとに計算できるプログラム (simulator) を試作した。このプログラムを用いて、Calvin 回路によっては、生成する糖分子内のトレーサー分布を十分説明することができないことを、再確認することができた。

I. はじめに

生体の示す生命活動は、生体内の物質の流れ(代謝・移動)によって表現される、といえるが、その全体像を把握するための手法(方法論)は、まだ確立されていない。個々の酵素反応の知識を総合することによって、生体内における物質の流れをある程度は想像することができるが、生体の示す動的な挙動を理解するには、そして当面の主要な効用としては、未知の調節系を検出するための武器として、既知の反応系を組み合わせる手法の開発が望まれている。

電気(子)回路の動特性解析のように、生体反応系が解析できないのは、主要にはそれが不均一であるためと非線型であるためである。Chance, Garfinkel ら (1960)¹⁾ は、解糖系と電子伝達系における ATP 生成系について、ミハエリス-メンテン型の関係式を用いてシミュレーションを行い、一定の成果をあげたが、この研究はその後に継続されていない。また、近年の大型コンピューターの普及にともない、酵素反応をそれを構成する素反応の合成によって理解しようとする研究例^{2,3)} が多くなりつつあるが、複雑な酵素反応では数10の素反応から成るために、この方法を多くの酵素反応から成る代謝系に適用することは、現在の大型コンピューターの能力を越える作業となる。

生体内の物質の流れを知るためにトレーサー法が利用されるが、近年、¹³C-NMR の理論と装置が進歩し

た結果、化合物中の炭素位置ごとの ¹³C 分布が、化合物を分解することなく知ることができるようになってきた。従来、化合物中のトレーサーの分布については、定性的ないし半定量的な解釈しかなされておらず、特定の化合物中のトレーサーの分布を計算する方法についても発表されたものはないように思う。そのため、とりあえず代謝系の各化合物分子内の標識パターンを計算するプログラムを作成してみたが、このプログラムを基本にして各代謝物の物質量的変化も追跡できることがわかったので、これを Metabolic Flow Simulator (MFS-IA) として、その機能を調べていくことにする。

今回はまず、一例として Calvin 回路の各化合物分子内のトレーサー分布を計算する方法について述べ、その計算結果例について考察するが、次回以降に、Simulator としての機能について検討することにする。

II. 方 法

1. 記号および基本となる考え方

酵素反応において、反応速度は一般的には基質量と線型な関係にはないが、トレーサーの移行については、その酵素反応の反応形式にかかわらず、線型な関係式が成立する^{4,5)}。そこで、炭素固定系を構成する各化合物中の炭素位置を、それぞれ1つのコンパートメントとみなし、それらに通し番号(1~121)をつけ、各コンパートメントごとのトレーサー変化量を、線型連立微

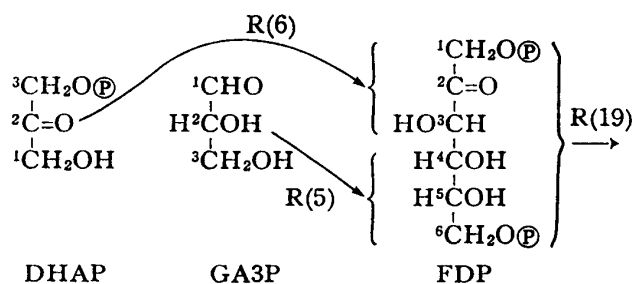
表1. YC(DF) と各化合物中の C-番号との対照表

QC 番号	YC(DF) 番号	C-番号	化合物名	QC 番号	YC(DF) 番号	C-番号	化合物名			
1	1	1	CO ₂ in tissue	12	45	1	sedoheptulose-7-phosphate			
2	2	1	ribulose-1,5-diphosphate (RuDP)	46	2	(S7P)				
	3	2		47	3					
	4	3		48	4					
	5	4		49	5					
	6	5		50	6					
3	7	1	3-phosphpho-glyceric acid (PGA)	51	7					
	8	2		13	52			1	sedoheptulose-1,7- diphosphate (SDP)	
	9	3		53	2					
4	10	1	1,3-diphospho-glyceric acid (DPGA)	54	3					
	11	2		55	4					
	12	3		56	5					
5	13	1	glyceraldehyde-3- phosphate (GA3P)	57	6					
	14	2		58	7					
	15	3		14	59			1	ribulose-5-phosphate (Ru5P)	
6	16	1	dihydroxy acetone phosphate (DHAP)	60	2					
	17	2		61	3					
	18	3		62	4					
7	19	1	fructose-1,6-diphosphate (FDP)	63	5					
	20	2		15	64			1	glucose-6-phosphate (G6P)	
	21	3		65	2					
	22	4		66	3					
	23	5		67	4					
	24	6		68	5					
8	25	1	fructose-6-phosphate (F6P)	69	6					
	26	2		16	70			1	phospho-glycolate (GLCP)	
	27	3		71	2					
	28	4		17	72			1		glycolate (GLCO)
	29	5		73	2					
	30	6		18	74			1		glyoxylic acid (GLYOX)
9	31	1	erythrose-4-phosphate (E4P)	75	2					
	32	2		19	76			1	glycine (GLY)	
	33	3		77	2					
	34	4		20	78			1	serine (SER)	
10	35	1	xylulose-5-phosphate (Xu5P)	79	2					
	36	2		80	3					
	37	3		21	81			1	hydroxy-pyruvic acid (PyrOH)	
	38	4			82			2		
	39	5			83			3		
11	40	1	ribose-5-phosphate (Ri5P)	22	84	1	glyceric acid (GCA)			
	41	2			85	2				
	42	3			86	3				
	43	4								
	44	5								

QC 番号	YC(DF) 番号	C-番号	化合物名	QC 番号	YC(DF) 番号	C-番号	化合物名	
23	87	1	starch	28	104	1	pyruvic acid in M (Pyr-M)	
	88	2			105	2		
	89	3			106	3		
	90	4		29	107	1	phosphoenol pyruvic acid (PEP)	
	91	5			108	2		
	92	6			109	3		
24	93	1	sucrose (SUC)	30	110	1	oxaloacetic acid (OAA)	
	94	2			111	2		
	95	3			112	3		
	96	4			113	4		
	97	5		31	114	1	malic acid in M (MAL-M)	
	98	6			115	2		
25	99	1	CO ₂ in air	116	3	32	malic acid in VBS (MAL-V)	
26	100	1	HCO ₃ ⁻	117	4			
27	101	1	pyruvic acid in VBS (Pyr-V)	118	1	32		malic acid in VBS (MAL-V)
	102	2		119	2			
	103	3		120	3			
				121	4			

2. トレーサー量の変化を表わす関係式

各コンパートメントごとのトレーサー変化量 DF は、他のコンパートメント中のトレーサー量 YC と線型な関係で結びつけられるが、いまその関係式を、FDP について具体的にみてみよう。FDP は GA3P と DHAP から aldolase 反応により生成する。



このとき、FDP の C-1, 2, 3 は、DHAP の C-3, 2, 1 にそれぞれ由来し、また、FDP の C-4, 5, 6 は、GA3P の C-1, 2, 3 にそれぞれ由来する。各 C 位置のトレーサー変化量 DF は、その C 位置へのトレーサー流入速度と流出速度の差として表わされ、また、流入(出)速度は、流入(出)もとのトレーサー量に定数 K をかけた形で表わされる⁹⁾ から、各 C 位置の DF(YC) 番号を表 1 の対照表をみて各化合物の C 番号と対応させると、次のような関係式が得られる。

$$DF(19) = K(6) * YC(18) - K(7) * YC(19)$$

$$DF(20) = K(6) * YC(17) - K(7) * YC(20)$$

$$DF(21) = K(6) * YC(16) - K(7) * YC(21)$$

$$DF(22) = K(5) * YC(13) - K(7) * YC(22)$$

$$DF(23) = K(5) * YC(14) - K(7) * YC(23)$$

$$DF(24) = K(5) * YC(15) - K(7) * YC(24)$$

このような関係式を、表 1 に示したすべての YC (DF) について表わしたものが、図 2 に示した SUB-ROUTINE FUN の内容である。

3. プログラムの構成

各炭素位置におけるトレーサー分布の時間変化を知ることが、図 2 に示された連立 (121 連) 微分方程式を解くことである。

FACOM SSLII⁶⁾ には、常微分方程式を解くためのサブルーチンがいくつか用意されているが、ここでは、Runge-Kutta-Verner 法によるキザミ巾可変のサブルーチンである ODRK1 を用いた。キザミ制御を行わない、一般のルンゲ・クッタ法は、要求精度の解を求めることができないので、今回のように微分方程式の数が多くなる場合には、適さない。

今回のプログラムを、MFS-IA と名づけることにするが、全体の流れ図を図 3 に示してある。この流れ図に従って、その概要を述べておく。

(1) 最初に QC, R などの初期条件の読みこみを行うが、この外、時間変数 X の最終値 XEND と、時

```

02080      SUBROUTINE FUN(X,YC,DF)
02090      COMMON MODEL,N,M,NR,IT,ISTATE,MT,MG,XEND,SAC02,INL(500,2),
02100      * @C(500),R(1000),K(1000),T(30),XT(30),
02110      * ICT(30),YT(30,2000),QT(30,500),RT(30,1000),SPAT(30,2000),
02120      * MTABLE(100),MGRAPH(100),DQC(500)
02130      DIMENSION YC(2000),DF(2000)
02140      REAL K
02150 C  PLACE THE DEFINITIONS OF YOUR SIMULTANEOUS DIFFERENTIAL EQUATIONS
02160      GO TO (10,20), MODEL
02170 C  ** CO2 IN CHLOROPLAST ** @C(1) **
02180      10 DF(1) = -K(1)*YC(1)+R(20)*SAC02+K(38)*YC(121)+K(25)*YC(76)
02190 C  ** RUDP ** @C(2) **
02200      DO 100 I=2,6
02210      DF(I) = K(17)*YC(I+57)-K(18)*YC(I)-K(21)*YC(I)
02220      100 CONTINUE
02230 C  ** PGA ** @C(3) **
02240      DF(7) = K(1)*YC(1)+(K(18)+K(21))*YC(4)-(K(2)+K(32))*YC(7)
02250      + K(28)*YC(84)
02260      DF(8) = K(18)*YC(3)+(K(18)+K(21))*YC(5)-(K(2)+K(32))*YC(8)
02270      + K(28)*YC(85)
02280      DF(9) = K(18)*YC(2)+(K(18)+K(21))*YC(6)-(K(2)+K(32))*YC(9)
02290      + K(28)*YC(86)
02300 C  ** DPGA ** @C(4) **
02310      DO 101 I=10,12
02320      DF(I) = K(2)*YC(I-3)-K(3)*YC(I)
02330      101 CONTINUE
02340 C  ** GA3P ** @C(5) **
02350      DO 102 I=13,15
02360      DF(I) = K(3)*YC(I-3)-(K(4)+K(5)+K(8)+K(14))*YC(I)
02370      102 CONTINUE
02380 C  ** DHAP ** @C(6) **
02390      DO 103 I=16,18
02400      DF(I) = K(4)*YC(I-3)-(K(6)+K(11))*YC(I)
02410      103 CONTINUE
02420 C  ** FDP ** @C(7) **
02430      DF(19) = K(6)*YC(18)-K(7)*YC(19)
02440      DF(20) = K(6)*YC(17)-K(7)*YC(20)
02450      DF(21) = K(6)*YC(16)-K(7)*YC(21)
02460      DF(22) = K(5)*YC(13)-K(7)*YC(22)
02470      DF(23) = K(5)*YC(14)-K(7)*YC(23)
02480      DF(24) = K(5)*YC(15)-K(7)*YC(24)
02490 C  ** F6P ** @C(8) **
02500      DO 104 I=25,30
02510      DF(I) = K(7)*YC(I-6)-(K(9)+K(19))*YC(I)
02520      104 CONTINUE
02530 C  ** E4P ** @C(9) **
02540      DO 105 I=31,34
02550      DF(I) = K(9)*YC(I-4)-K(10)*YC(I)
02560      105 CONTINUE
02570 C  ** XU5P ** @C(10) **
02580      DO 106 I=35,36
02590      DF(I) = K(9)*YC(I-10)+K(13)*YC(I+10)-K(15)*YC(I)
02600      106 CONTINUE
02610      DO 107 I=37,39
02620      DF(I) = K(8)*YC(I-24)+K(14)*YC(I-24)-K(15)*YC(I)
02630      107 CONTINUE
02640 C  ** R15P ** @C(11) **
02650      DO 108 I=40,44
02660      DF(I) = K(13)*YC(I+7)-K(16)*YC(I)
02670      108 CONTINUE
02680 C  ** S7P ** @C(12) **
02690      DO 109 I=45,51
02700      DF(I) = K(12)*YC(I+7)-K(13)*YC(I)
02710      109 CONTINUE

```

図 2 (1)

```

02720 C    ** SDP **   QC(13) **
02730      DF(52) = K(11)*YC(18)-K(12)*YC(52)
02740      DF(53) = K(11)*YC(17)-K(12)*YC(53)
02750      DF(54) = K(11)*YC(16)-K(12)*YC(54)
02760      DO 110 I=55,58
02770      DF(I) = K(10)*YC(I-24)-K(12)*YC(I)
02780 110 CONTINUE
02790 C    ** RUSP **  QC(14) **
02800      DO 111 I=59,63
02810      DF(I) = K(15)*YC(I-24)+K(16)*YC(I-19)-K(17)*YC(I)
02820 111 CONTINUE
02830 C    ** G6P **   QC(15) **
02840      DO 112 I=64,69
02850      DF(I) = K(19)*YC(I-39)+K(30)*YC(I+23)-(K(29)+K(31))*YC(I)
02860 112 CONTINUE
02870 C    ** GLYCOLATE-P ** QC(16) **
02880      DF(70) = K(21)*YC(3)-K(22)*YC(70)
02890      DF(71) = K(21)*YC(2)-K(22)*YC(71)
02900 C    ** GLYCOLATE ** QC(17) **
02910      DO 113 I=72,73
02920      DF(I) = K(22)*YC(I-2)-K(23)*YC(I)
02930 113 CONTINUE
02940 C    ** GLYOXYLATE ** QC(18) **
02950      DO 114 I=74,75
02960      DF(I) = K(23)*YC(I-2)-K(24)*YC(I)
02970 114 CONTINUE
02980 C    ** GLY **   QC(19) **
02990      DO 115 I=76,77
03000      DF(I) = K(24)*YC(I-2)-2.0*K(25)*YC(I)
03010 115 CONTINUE
03020 C    ** SER **   QC(20) **
03030      DF(78) = K(25)*YC(76)-K(26)*YC(78)
03040      DF(79) = K(25)*YC(77)-K(26)*YC(79)
03050      DF(80) = K(25)*YC(77)-K(26)*YC(80)
03060 C    ** HYDROXY PYRUVATE ** QC(21) **
03070      DO 116 I=81,83
03080      DF(I) = K(26)*YC(I-3)-K(27)*YC(I)
03090 116 CONTINUE
03100 C    ** GLYCERATE ** QC(22) **
03110      DO 117 I=84,86
03120      DF(I) = K(27)*YC(I-3)-K(28)*YC(I)
03130 117 CONTINUE
03140 C    ** STARCH ** QC(23) **
03150      DO 118 I=87,92
03160      DF(I) = K(29)*YC(I-23)-K(30)*YC(I)
03170 118 CONTINUE
03180 C    ** SUCROSE ** QC(24) **
03190      DO 119 I=93,98
03200      DF(I) = K(31)*YC(I-29)
03210 119 CONTINUE
03220 C    ** CO2 IN AIR ** QC(25) **
03230      DF(99) = -(K(20)+K(33))*YC(99)
03240 C    ** CARBONATE ** QC(26) **
03250      DF(100) = R(33)*SAC02 - K(34)*YC(100)
03260 C    ** PYRUVATE IN VBS-CELLS ** QC(27) **
03270      DO 120 I=101,103
03280      DF(I) = K(32)*YC(I-94)+K(38)*YC(I+17)-K(39)*YC(I)
03290 120 CONTINUE
03300 C    ** PYRUVATE IN MESOPHYLL ** QC(28) **
03310      DO 121 I=104,106
03320      DF(I) = K(39)*YC(I-3)-K(40)*YC(I)
03330 121 CONTINUE
03340 C    ** PEP **   QC(29) **
03350      DO 122 I=107,109
03360      DF(I) = K(40)*YC(I-3)-K(35)*YC(I)

```

図 2 (2)

```

03370 122 CONTINUE
03380 C  ** OAA **  QC(30) **
03390      DO 123 I=110,112
03400      DF(I) = K(35)*YC(I-3)-K(36)*YC(I)
03410 123 CONTINUE
03420      DF(113) = K(34)*YC(100)-K(36)*YC(113)
03430 C  ** MALATE IN MESOPHYLL **  QC(31) **
03440      DO 124 I=114,117
03450      DF(I) = K(36)*YC(I-4)-K(37)*YC(I)
03460 124 CONTINUE
03470 C  ** MALATE IN VBS-CELLS **  QC(32) **
03480      DO 125 I=118,121
03490      DF(I) = K(37)*YC(I-4)-K(38)*YC(I)
03500 125 CONTINUE
03510      GO TO 99
03520 20 DF(1) = 0.0
03530 99 RETURN
03540      END

```

図2 (3)

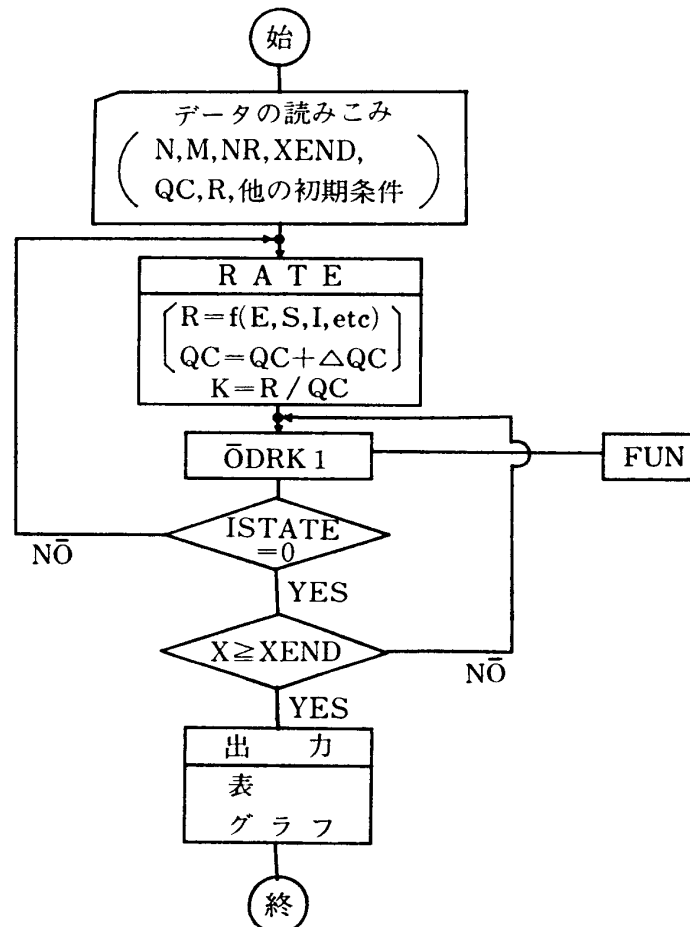


図3 MFS-1A 全体の流れ

```

01130      SUBROUTINE RATE(STEP)
01140      COMMON MODEL,N,M,NR,IT,ISTATE,MT,MG,XEND,SAC02,INL(500,2),
01150      * QC(500),R(1000),K(1000),T(30),XT(30),
01160      * ICT(30),YT(30,2000),QT(30,500),RT(30,1000),SPAT(30,2000),
01170      * MTABLE(100),MGRAPH(100),DQC(500)
01180      REAL K
01190      GO TO (100,200), MODEL
01200      100 IF(ISTATE.EQ.0) GO TO 120
01210 C    PLACE THE DEFINITIONS OF YOUR R'S AFTER THIS CARD
01220 C
01230 C
01240 C
01250 C    PLACE YOUR DEFINITIONS BEFORE THIS CARD
01260      110 DQC(1) = R(20)-R(1)+R(38)/4.0+R(25)/4.0
01270      DQC(2) = R(17)-R(18)-R(21)
01280      DQC(3) = R(1)+R(18)+3.0*R(21)/5.0+R(28)-R(2)-R(32)
01290      DQC(4) = R(2)-R(3)
01300      DQC(5) = R(3)-R(4)
01310      DQC(6) = R(4)-R(6)-R(11)
01320      DQC(7) = R(5)+R(6)-R(7)
01330      DQC(8) = R(7)-R(9)-R(19)
01340      DQC(9) = 4.0*R(9)/6.0-R(10)
01350      DQC(10) = R(8)+2.0*R(9)/6.0+2.0*R(13)/7.0+R(14)-R(15)
01360      DQC(11) = 5.0*R(13)/7.0-R(16)
01370      DQC(12) = R(12)-R(16)
01380      DQC(13) = R(10)+R(11)-R(12)
01390      DQC(14) = R(15)-R(17)
01400      DQC(15) = R(19)+R(30)-R(29)-R(31)
01410      DQC(16) = 2.0*R(21)/5.0-R(22)
01420      DQC(17) = R(22)-R(23)
01430      DQC(18) = R(23)-R(24)
01440      DQC(19) = R(24)-R(25)
01450      DQC(20) = 3.0*R(25)/4.0-R(26)
01460      DQC(21) = R(26)-R(27)
01470      DQC(22) = R(27)-R(28)
01480      DQC(23) = R(29)-R(30)
01490      DQC(24) = R(31)
01500      DQC(25) = -R(33)-R(20)
01510      DQC(26) = R(33)-R(34)
01520      DQC(27) = R(32)+3.0*R(38)/4.0-R(39)
01530      DQC(28) = R(39)-R(40)
01540      DQC(29) = R(40)-R(35)
01550      DQC(30) = R(34)+R(35)-R(36)
01560      DQC(31) = R(36)-R(37)
01570      DQC(32) = R(37)-R(38)
01580      DO 111 J=1,M
01590      QC(J) = QC(J) + DQC(J)*STEP
01600      111 CONTINUE
01610 C
01620 C
01630 C
01640      120 K(1) = R(1)/QC(1)
01650      K(2) = R(2)/QC(3)/3.0
01660      K(3) = R(3)/QC(4)/3.0
01670      K(4) = R(4)/QC(5)/3.0
01680      K(5) = R(5)/QC(5)/3.0
01690      K(6) = R(6)/QC(6)/3.0
01700      K(7) = R(7)/QC(7)/6.0
01710      K(8) = R(8)/QC(5)/3.0
01720      K(9) = R(9)/QC(8)/6.0
01730      K(10) = R(10)/QC(9)/4.0
01740      K(11) = R(11)/QC(6)/3.0
01750      K(12) = R(12)/QC(13)/7.0
01760      K(13) = R(13)/QC(12)/7.0

```

図 4 (1)


```

01770      K(14) = R(14)/QC(5)/3.0
01780      K(15) = R(15)/QC(10)/5.0
01790      K(16) = R(16)/QC(11)/5.0
01800      K(17) = R(17)/QC(14)/5.0
01810      K(18) = R(18)/QC(2)/5.0
01820      K(19) = R(19)/QC(8)/6.0
01830      K(20) = R(20)/QC(25)
01840      K(21) = R(21)/QC(2)/5.0
01850      K(22) = R(22)/QC(16)/2.0
01860      K(23) = R(23)/QC(17)/2.0
01870      K(24) = R(24)/QC(18)/2.0
01880      K(25) = R(25)/QC(19)/4.0
01890      K(26) = R(26)/QC(20)/3.0
01900      K(27) = R(27)/QC(21)/3.0
01910      K(28) = R(28)/QC(22)/3.0
01920      K(29) = R(29)/QC(15)/6.0
01930      K(30) = R(30)/QC(23)/6.0
01940      K(31) = R(31)/QC(15)/6.0
01950      K(32) = R(32)/QC(3)/3.0
01960      K(33) = R(33)/QC(25)
01970      K(34) = R(34)/QC(26)
01980      K(35) = R(35)/QC(29)/3.0
01990      K(36) = R(36)/QC(30)/4.0
02000      K(37) = R(37)/QC(31)/4.0
02010      K(38) = R(38)/QC(32)/4.0
02020      K(39) = R(39)/QC(27)/3.0
02030      K(40) = R(40)/QC(28)/3.0
02040      GO TO 99
02050      200 R(1) = 0.0
02060      99 RETURN
02070      END

```

図 4 (2)

間区切り点 $T(II)$, $II=1, IT$ や、最初に投与するトレーサー量 $SACO_2$ を与える。

- (2) ついで、与えられた R , QC から K を算出する。
- (3) 次に、`ODRK1` を `CALL` するが、最初は X の最終値を $T(1)$ として与え、非定常状態 (`ISTATE`. `NE`. `0`) の場合には、1 ステップ進行するごとに R , QC の値を変更し、 K を計算し直す。非定常の場合には、 R の変化のしかた、 $R=f(E, S, I, \text{ec.})$ をあらかじめ与えなければならない。
- (4) X が $T(1)$ に達したならば、その時の YC , QC , R , K , の値を後の出力のために保存しておき、 X の最終値を $T(2)$ に変更する。この操作を X が $T(IT)$ に達し、最初に読みこんでいた `XEND` 値になるまでくりかえす。
- (5) X が `XEND` 値に達したならば、 $T(1)$, $T(2)$, ... ごとに保存していた YC 等を出力する。グラフでは、互いの比較が容易なように YC/QC (トレーサーが放射性の場合、比放射能) 値をプロットする。化合物中の C 位置は、グラフでは数字で表わすが、それぞれの数値は 100 分したケタに四捨五入して入れるので、重なり合うことがある。なお、出力すべき化合物は、はじめの初期条件の読みこみの際指定しておく。
- (6) K 値を計算する `RATE` の部分は `SUBROUTI-`

`NE` としている (図 4 参照)。図 4 では、 R の変化関数は与えていない。

- (7) `MFS-IA` では、1 つのモデルで使用するパラメータ数の上限を次のようにとっている。

$$YC(I), DF(I), \quad I=1, N : N \leq 2000, \quad (121)$$

$$QC(J), \quad J=1, M : M \leq 500, \quad (32)$$

$$R(L), K(L), \quad L=1, NR : NR \leq 1000, \quad (40)$$

$$T(II), \quad II=1, IT : IT \leq 30, \quad (30)$$

カッコ内の数字は、図 1 に示した光合成 CO_2 固定系のモデルで使用した数である。

III. 結 果

1. 入力データ

`MFS-IA` では、入力データとして R , QC , $SACO_2$ 等を与えなければならないが、本報告の目的が、このプログラムを使って、トレーサー分布の計算を試みる、ことにあるので、既存のデータを利用し、また、いくつかの仮定をおくことにする。

定常状態を仮定し、各中間代謝物の濃度変化がないと仮定すると、それぞれの中間代謝物について、生成速度の合計と代謝速度の合計が等しくなる。Calvin 回路全体では、 $R(1) \sim R(20)$ に対して 19 の関係式が成立するので、 $R(1)$ から $R(20)$ までの比が一意的に定まる。定常状態における C の流速は、単位的間に 6 の

CO₂ から1のグルコースが生成するものとすれば、図1に示したスキームとの関連がわかりやすいので、R(1)~R(20)については、表2のように定めた。また、計算結果を考察する際の複雑さを減少させる意味で、光呼吸経路のR(21)~R(28)をすべてゼロに、さらに、C4植物におけるCO₂固定経路R(32)~R(40)もすべてゼロとした。なお、Bassham, Kirk (1960)⁷⁾がクロレラで測定した結果によると、CO₂固定速度=15 μmole/分/ml藻体である。

QCについては、Bassham, Shibata ら⁸⁾が *Scenedesmus* (明条件)で測定した値を6/15倍したものを用了。これは、CO₂固定速度を15から6に下げたために、藻体容積(ml)を数字の上で小さくするためである。彼らの測定では、DHAP+GA3Pの合計値を出しているので、それぞれの値は、25°C平衡時の濃度比、DHAP(95.7%)とGA3P(4.3%)から求めた。また、QC(1)は、0.03% CO₂と平衡関係にある水中CO₂濃度を15 μMとして計算して求めた。光呼吸経路およびC4植物のCO₂固定反応経路上の中間代謝物濃度は、今回の計算結果には直接関係しないので、すべて0.01とした。

トレーサー濃度はSACO₂=1000.0とした。これは、たとえば、空気中のCO₂(μmole)あたり1000 dpmのトレーサーが、モデル計算(シミュレーション)の間(今回はXEND=1.0分)、濃度変化することなく供給し続けられたことを意味する。もちろん、パルス方

表2. モデル計算に用いたR. この値は、Calvin回路中間体の濃度変化がないと仮定したときの定常速度に相当する。したがって、この際のCO₂固定速度は6 μmol/分/藻体 mlとなる。モデル計算では、光呼吸経路(R(21)~R(28))、およびC4-植物におけるCO₂固定経路(R(32)~R(40))を、いずれもゼロと仮定した。

単位: μmol/分/藻体 ml.

R(1)	6.0	R(13)	14.0
R(2)	36.0	R(14)	6.0
R(3)	36.0	R(15)	20.0
R(4)	15.0	R(16)	10.0
R(5)	9.0	R(17)	30.0
R(6)	9.0	R(18)	30.0
R(7)	18.0	R(19)	6.0
R(8)	6.0	R(20)	6.0
R(9)	12.0	R(29)	3.0
R(10)	8.0	R(30)	0.0
R(11)	6.0	R(31)	3.0
R(12)	14.0		

表3. モデル計算に用いたQC. この値はBassam, Shibata (1956)⁸⁾らが *Scenedesmus* を明条件で培養したときの測定値をもとに一定の補正を加えたものである(本文参照)。

単位: μmole/藻体 ml.

QC(1)	0.006	QC(17)	0.01
QC(2)	0.102	QC(18)	0.01
QC(3)	0.13	QC(19)	0.01
QC(4)	0.0008	QC(20)	0.01
QC(5)	0.0036	QC(21)	0.01
QC(6)	0.0804	QC(22)	0.01
QC(7)	0.0016	QC(23)	1.00
QC(8)	0.048	QC(24)	0.10
QC(9)	0.0008	QC(25)	0.01
QC(10)	0.034	QC(26)	0.01
QC(11)	0.034	QC(27)	0.01
QC(12)	0.072	QC(28)	0.01
QC(13)	0.0024	QC(29)	0.01
QC(14)	0.034	QC(30)	0.01
QC(15)	0.05	QC(31)	0.01
QC(16)	0.01	QC(32)	0.01

式でトレーサーを与えることも可能である。

2. 出力例

計算結果の1部を表4および図5に示した。この例では、XEND=1.0分とし、この間に30の出力指定点を選んでいく。表4では、このうち10点のみを出力させている。図5では、表4のSPECIFIC ACTIVITY欄の数値をグラフ化している。Calvin回路でトレーサーの分布していく順序を化合物間で比較することができる。

図5(a)~(e)をみてわかることは、トレーサーにより一番早く標識されるのは、当然のことながら、PGAの1位の炭素であり、この位置の標識は、GA3P, DHAPの1位炭素へ移り、ついで、FDPの4, 3位に移っている。また、RUDPでは、3位がもっとも早く立ち上がり、ついで1, 2位、そして5, 4位となっている。

これらの標識パターンを大まかにみれば、従来の実験データと合うように見えるが、よくみれば、きわめて重要なくいちがいのあることがわかる。この点については、次項で考察することにする。

IV. 考 察

Calvin回路における、CO₂からの標識パターン問題は、この回路の提出された頃、大きな論争のあっ

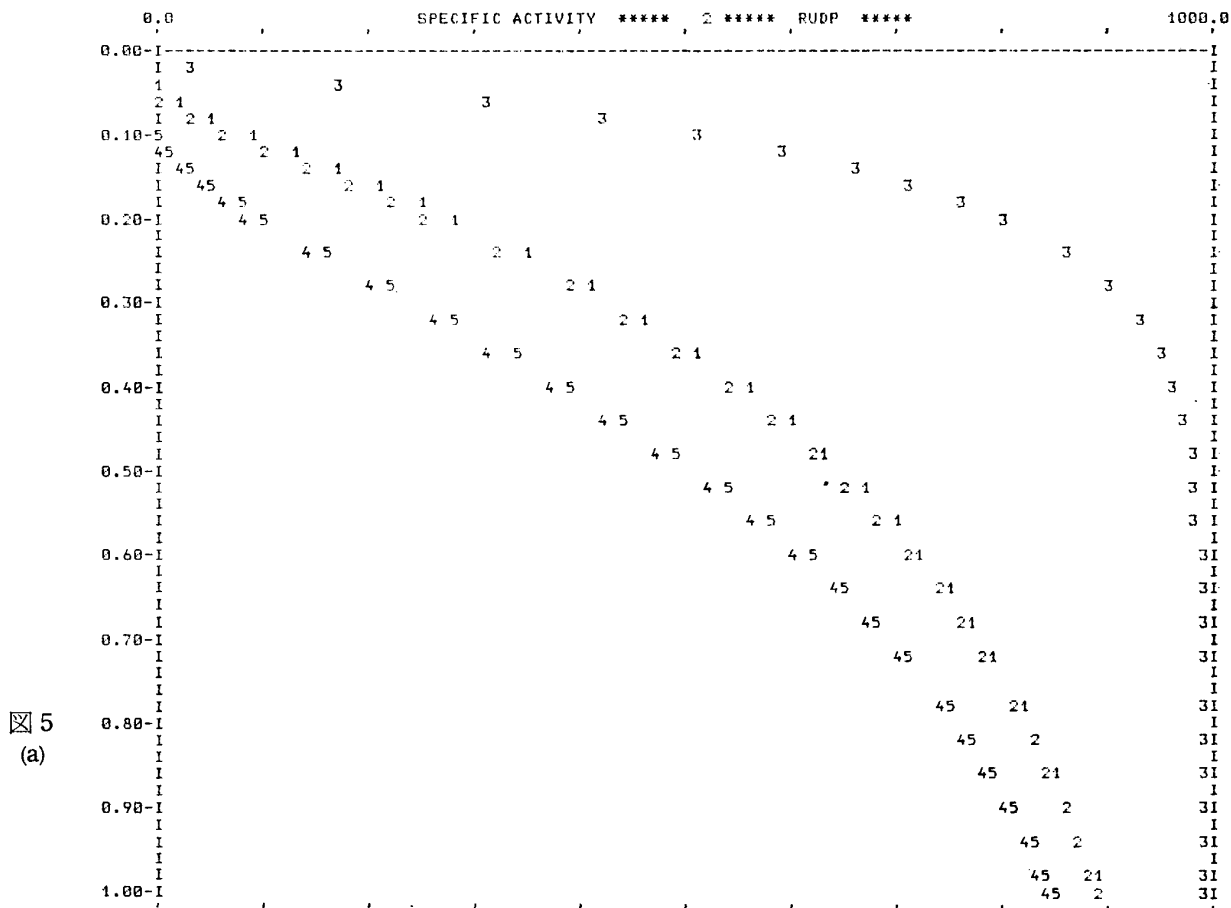


図 5 (a)

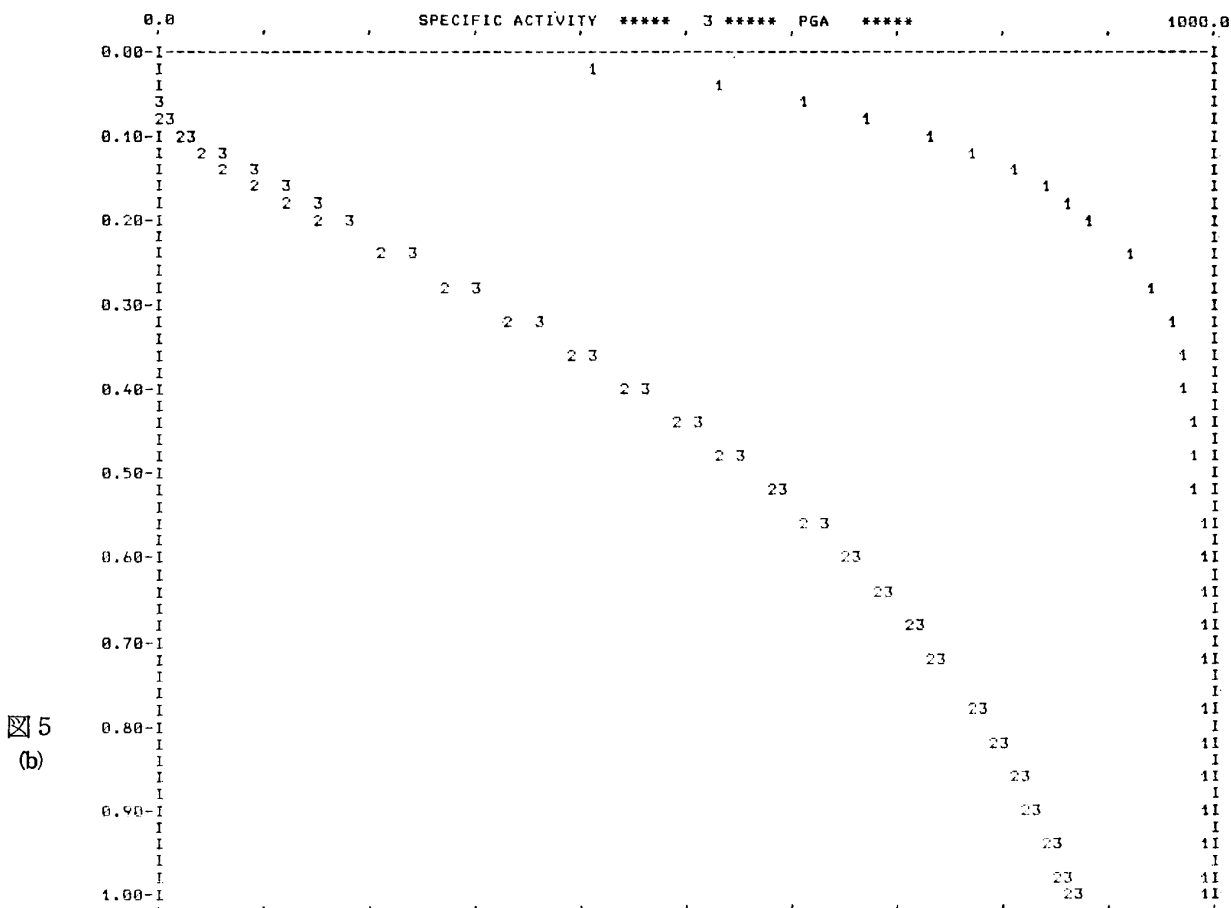


図 5 (b)

図 5 (c)

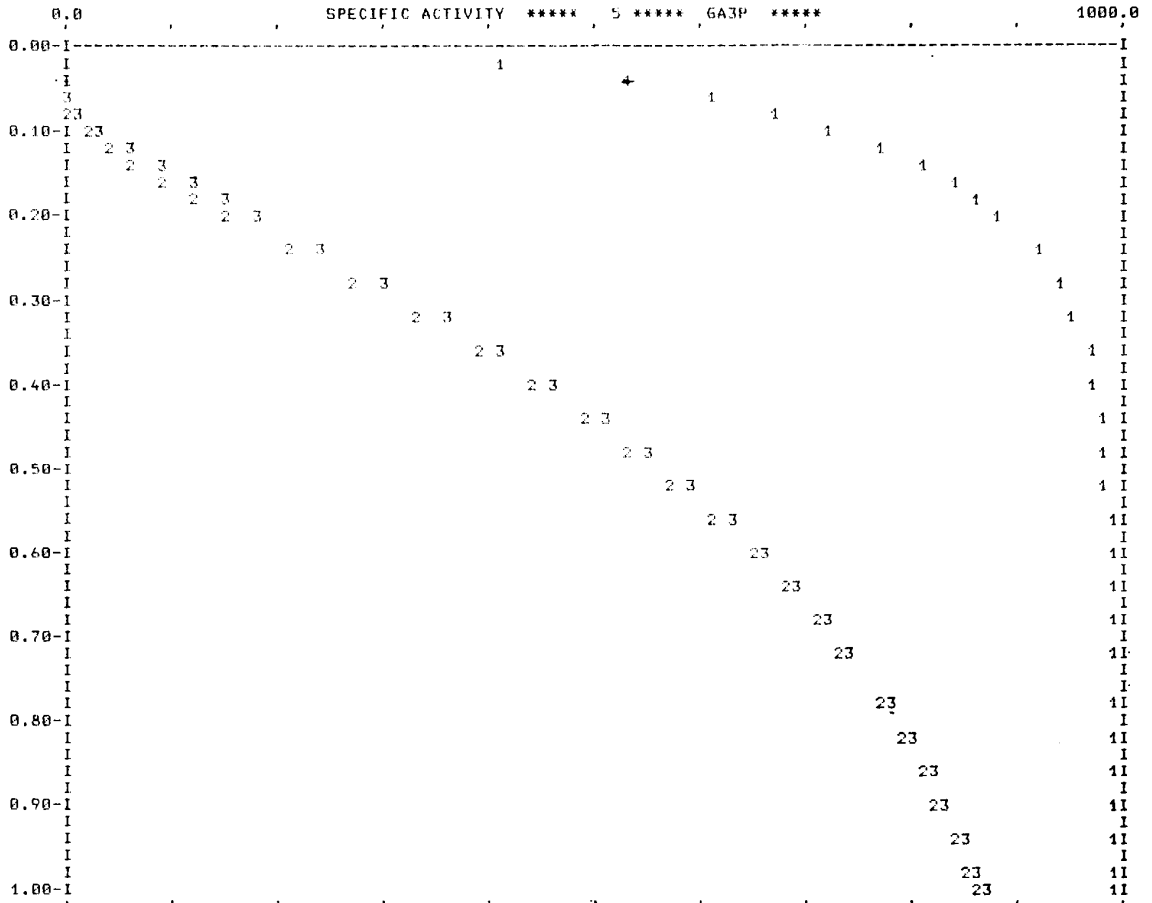
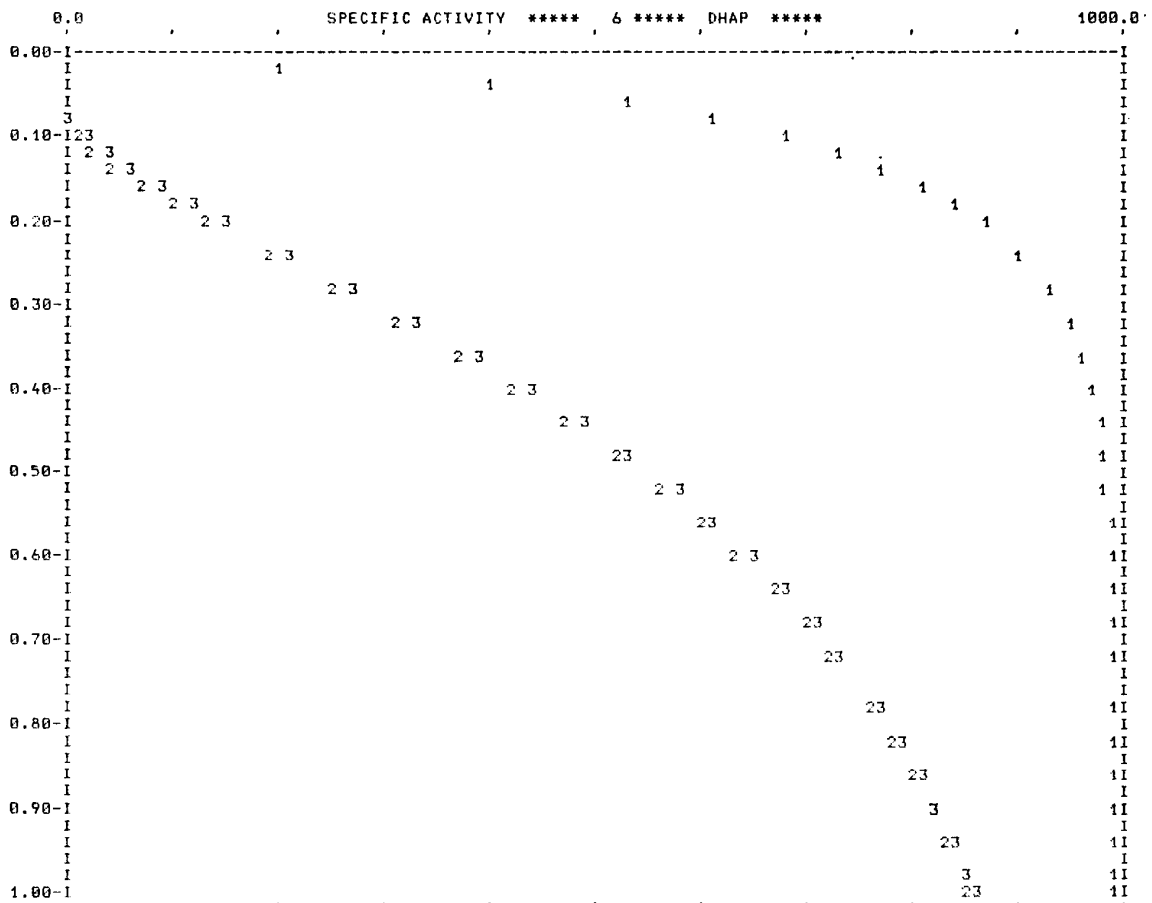


図 5 (d)



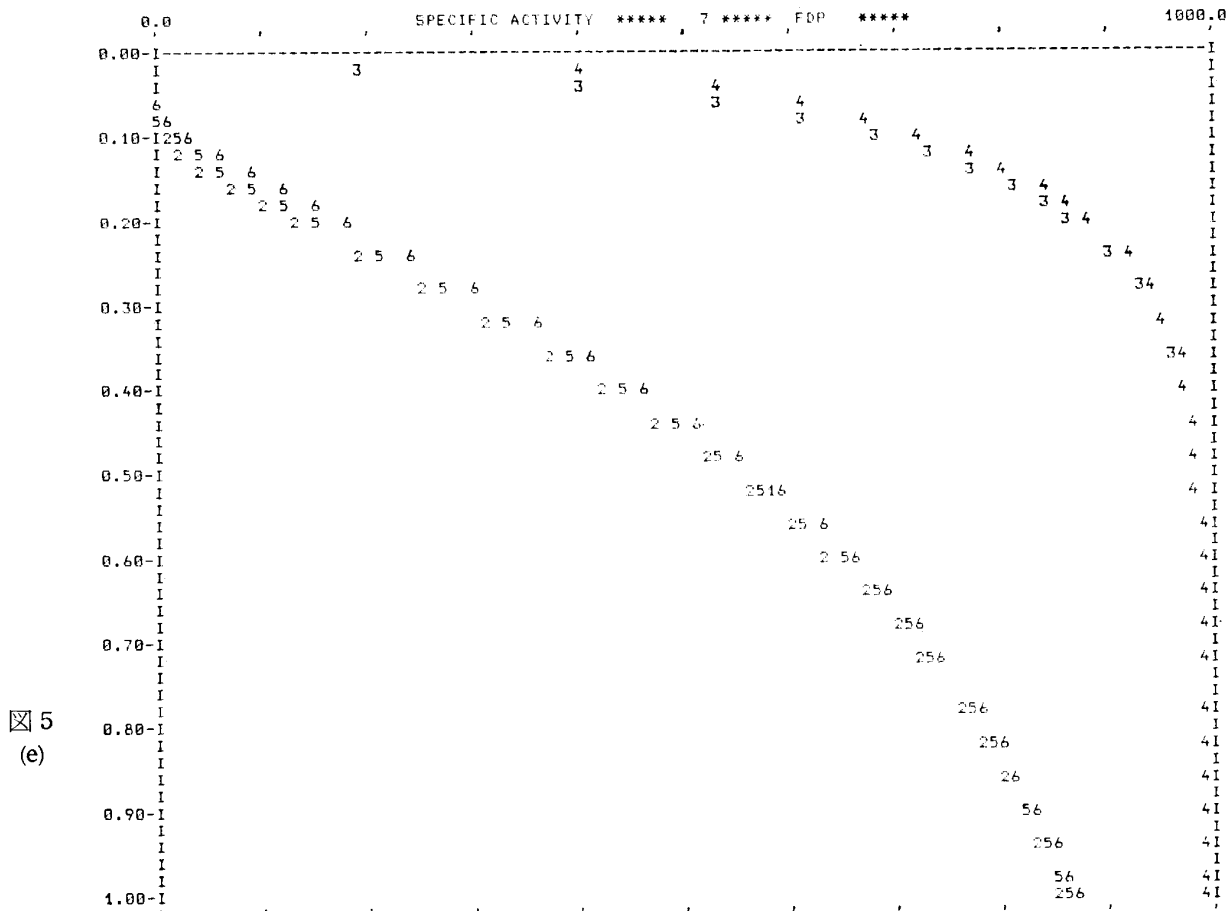


図 5
(e)

た問題である⁹⁾。その主要な論点は、生成した糖の分子内での ^{14}C 分布の非対称性の問題である。表 5 は、糖分子中の ^{14}C 分布の非対称性を示す、Gibbs¹⁰⁾ の実験データであるが、C-3 に比べて C-4 が常に高く、また、C-2,1 に比べて C-5,6 が常に低いことがわかる。

Calvin, Bassham¹¹⁾ は、糖分子の C-3 と C-4 との差は、主に GA3P と DHAP との異性化反応の平衡が不完全なため、と説明しているが、この反応の平衡時には、GA3P (4.3%) \rightleftharpoons DHAP (95.7%) となるため、糖の C-3 に入るべき DHAP の C-1 は、その比較的に大きな pool で希釈され、その結果、C-4 に入るべき GA3P の C-1 よりも ^{14}C 濃度が下がる、と考えた方がより合理的である。すなわち、C-3 と C-4 との差は、Calvin, Bassham がいうように Triose-P 間の平衡の不完全さのためではなく、むしろ、平衡の完全さのためと考えるべき現象である。事実、GA3P と DHAP とは平衡濃度にあり、トレーサーはそれぞれの pool 内で瞬時にかくはんされると仮定した、今回のシミュレーションにより FDP 中の C-4 は常に C-3 より高くなっているのである。

ところで、糖分子内の ^{14}C 分布の非対称性を示す実験データのもつ、より重要と思われる点は、C-3 と

C-4 との関係とは逆に、C-2,1 が常に C-5,6 より高くなる点である。このことは、糖分子中の C-1,2,3 と C-4,5,6 とは、それぞれ、同じ行動をしていないことを意味する。もし、糖分子中の C-3 が DHAP の比較的大きい pool で希釈されるのであれば、同じだけ C-2,1 も希釈され、その結果、C-5,6 よりも ^{14}C 分布は小さくならなければならない。今回のシミュレーション結果では、FDP 中の C-2,1 は C-5,6 よりも常に小さくなっている。もちろん、FDP 中のトレーサー分布パターンは、他の中間体濃度の影響を受けるが、C-1,2,3 と C-4,5,6 がそれぞれ同じ行動をとる限り、上述した事情は変わらない。

Kandler ら¹²⁾ は、糖分子内の ^{14}C の非対称性を説明するため、PGA を経過しない炭水化物生成を提案しているが、生体内での ^{14}C の流れをそのまま反映しているはずのトレーサー実験データを、Calvin 回路によって説明しきれないことは事実のようである。

以上みてきたように、複雑な回路をなす代謝経路において、物質の流れを、metabolic map をながめながら、頭の中で追跡することは、大変困難な作業である。すでに確立されていると信じられている代謝系についても、生体内での物質の流れを反映するデータを

表 4 (a)

***** 2 ***** RUDP *****		***** TRACER DISTRIBUTION *****				
X	ICOUNT	*****				
0.020	74	0.2211E-01	0.2651E-02	0.4094E+01	0.7335E-06	0.1110E-04
0.080	275	0.6205E+01	0.3616E+01	0.4378E+02	0.1715E+00	0.4100E+00
0.140	476	0.1873E+02	0.1524E+02	0.6815E+02	0.2889E+01	0.4271E+01
0.200	682	0.3008E+02	0.2699E+02	0.8255E+02	0.9406E+01	0.1163E+02
0.320	1086	0.4836E+02	0.4605E+02	0.9558E+02	0.2707E+02	0.2963E+02
0.440	1491	0.6199E+02	0.6027E+02	0.9988E+02	0.4417E+02	0.4638E+02
0.560	1896	0.7216E+02	0.7087E+02	0.1013E+03	0.5823E+02	0.5997E+02
0.680	2300	0.7974E+02	0.7878E+02	0.1018E+03	0.6914E+02	0.7047E+02
0.820	2772	0.8619E+02	0.8550E+02	0.1019E+03	0.7858E+02	0.7954E+02
0.940	3177	0.9020E+02	0.8969E+02	0.1020E+03	0.8451E+02	0.8523E+02
***** POOL SIZE *****		***** SPECIFIC ACTIVITY *****				
X	ICOUNT	*****				
0.020	0.1020E+00	0.2168E+00	0.2599E-01	0.4013E+02	0.7191E-05	0.1088E-03
0.080	0.1020E+00	0.6083E+02	0.3545E+02	0.4292E+03	0.1681E+01	0.4019E+01
0.140	0.1020E+00	0.1836E+03	0.1494E+03	0.6681E+03	0.2833E+02	0.4188E+02
0.200	0.1020E+00	0.2949E+03	0.2646E+03	0.8093E+03	0.9222E+02	0.1140E+03
0.320	0.1020E+00	0.4741E+03	0.4515E+03	0.9371E+03	0.2654E+03	0.2905E+03
0.440	0.1020E+00	0.6078E+03	0.5909E+03	0.9792E+03	0.4330E+03	0.4547E+03
0.560	0.1020E+00	0.7074E+03	0.6948E+03	0.9931E+03	0.5708E+03	0.5880E+03
0.680	0.1020E+00	0.7818E+03	0.7724E+03	0.9977E+03	0.6778E+03	0.6909E+03
0.820	0.1020E+00	0.8450E+03	0.8383E+03	0.9993E+03	0.7704E+03	0.7798E+03
0.940	0.1020E+00	0.8843E+03	0.8793E+03	0.9997E+03	0.8285E+03	0.8356E+03

表 4 (b)

***** 3 ***** PGA *****		***** TRACER DISTRIBUTION *****				
X	ICOUNT	*****				
0.020	74	0.5456E+02	0.3193E-03	0.3135E-02		
0.080	275	0.8892E+02	0.1553E+01	0.2933E+01		
0.140	476	0.1061E+03	0.9661E+01	0.1263E+02		
0.200	682	0.1162E+03	0.2104E+02	0.2440E+02		
0.320	1086	0.1255E+03	0.4458E+02	0.4773E+02		
0.440	1491	0.1285E+03	0.6491E+02	0.6748E+02		
0.560	1896	0.1295E+03	0.8100E+02	0.8298E+02		
0.680	2300	0.1298E+03	0.9330E+02	0.9480E+02		
0.820	2772	0.1300E+03	0.1039E+03	0.1049E+03		
0.940	3177	0.1300E+03	0.1105E+03	0.1113E+03		
***** POOL SIZE *****		***** SPECIFIC ACTIVITY *****				
X	ICOUNT	*****				
0.020	0.1300E+00	0.4197E+03	0.2456E-02	0.2411E-01		
0.080	0.1300E+00	0.6840E+03	0.1195E+02	0.2256E+02		
0.140	0.1300E+00	0.8158E+03	0.7431E+02	0.9712E+02		
0.200	0.1300E+00	0.8940E+03	0.1619E+03	0.1877E+03		
0.320	0.1300E+00	0.9650E+03	0.3429E+03	0.3671E+03		
0.440	0.1300E+00	0.9884E+03	0.4993E+03	0.5190E+03		
0.560	0.1300E+00	0.9962E+03	0.6231E+03	0.6383E+03		
0.680	0.1300E+00	0.9987E+03	0.7177E+03	0.7292E+03		
0.820	0.1300E+00	0.9996E+03	0.7990E+03	0.8073E+03		
0.940	0.1300E+00	0.9999E+03	0.8500E+03	0.8562E+03		

表 4 (c)

***** 5 ***** GA3P *****		***** TRACER DISTRIBUTION *****				
X	ICOUNT	*****				
0.020	74	0.1499E+01	0.7680E-05	0.7732E-04		
0.080	275	0.2459E+01	0.4221E-01	0.8002E-01		
0.140	476	0.2935E+01	0.2658E+00	0.3477E+00		
0.200	682	0.3217E+01	0.5807E+00	0.6738E+00		
0.320	1086	0.3474E+01	0.1233E+01	0.1320E+01		
0.440	1491	0.3559E+01	0.1796E+01	0.1867E+01		
0.560	1896	0.3586E+01	0.2242E+01	0.2296E+01		
0.680	2300	0.3595E+01	0.2583E+01	0.2624E+01		
0.820	2772	0.3599E+01	0.2876E+01	0.2906E+01		
0.940	3177	0.3599E+01	0.3059E+01	0.3082E+01		
***** POOL SIZE *****		***** SPECIFIC ACTIVITY *****				
X	ICOUNT	*****				
0.020	0.3600E-02	0.4163E+03	0.2133E-02	0.2148E-01		
0.080	0.3600E-02	0.6830E+03	0.1173E+02	0.2223E+02		
0.140	0.3600E-02	0.8151E+03	0.7382E+02	0.9660E+02		
0.200	0.3600E-02	0.8937E+03	0.1613E+03	0.1872E+03		
0.320	0.3600E-02	0.9649E+03	0.3424E+03	0.3666E+03		
0.440	0.3600E-02	0.9885E+03	0.4989E+03	0.5186E+03		
0.560	0.3600E-02	0.9962E+03	0.6227E+03	0.6379E+03		
0.680	0.3600E-02	0.9987E+03	0.7174E+03	0.7289E+03		
0.820	0.3600E-02	0.9997E+03	0.7989E+03	0.8071E+03		
0.940	0.3600E-02	0.9999E+03	0.8498E+03	0.8560E+03		

***** 6 ***** DHAP *****

X ICOUNT TRACER DISTRIBUTION

0.020	74	0.1648E+02	0.2039E-04	0.2403E-03
0.080	275	0.5020E+02	0.4707E+00	0.9860E+00
0.140	476	0.6300E+02	0.4394E+01	0.6028E+01
0.200	682	0.7036E+02	0.1104E+02	0.1307E+02
0.320	1086	0.7709E+02	0.2564E+02	0.2762E+02
0.440	1491	0.7930E+02	0.3855E+02	0.4019E+02
0.560	1896	0.8004E+02	0.4886E+02	0.5013E+02
0.680	2300	0.8028E+02	0.5676E+02	0.5773E+02
0.820	2772	0.8036E+02	0.6357E+02	0.6426E+02
0.940	3177	0.8039E+02	0.6783E+02	0.6835E+02

POOL SIZE SPECIFIC ACTIVITY

0.020	0.8040E-01	0.2050E+03	0.2536E-03	0.2989E-02
0.080	0.8040E-01	0.6243E+03	0.5855E+01	0.1226E+02
0.140	0.8040E-01	0.7836E+03	0.5466E+02	0.7498E+02
0.200	0.8040E-01	0.8751E+03	0.1373E+03	0.1626E+03
0.320	0.8040E-01	0.9588E+03	0.3189E+03	0.3436E+03
0.440	0.8040E-01	0.9864E+03	0.4795E+03	0.4999E+03
0.560	0.8040E-01	0.9955E+03	0.6077E+03	0.6235E+03
0.680	0.8040E-01	0.9985E+03	0.7060E+03	0.7180E+03
0.820	0.8040E-01	0.9996E+03	0.7907E+03	0.7993E+03
0.940	0.8040E-01	0.9998E+03	0.8437E+03	0.8501E+03

表4 (d)

***** 7 ***** FDP *****

X ICOUNT TRACER DISTRIBUTION

0.020	74	0.3949E-05	0.3238E-06	0.3167E+00	0.6576E+00	0.2792E-05	0.2909E-04
0.080	275	0.1910E-01	0.9063E-02	0.9958E+00	0.1090E+01	0.1825E-01	0.3480E-01
0.140	476	0.1188E+00	0.8644E-01	0.1252E+01	0.1303E+01	0.1170E+00	0.1533E+00
0.200	682	0.2589E+00	0.2184E+00	0.1399E+01	0.1429E+01	0.2568E+00	0.2981E+00
0.320	1086	0.5485E+00	0.5089E+00	0.1534E+01	0.1544E+01	0.5466E+00	0.5854E+00
0.440	1491	0.7988E+00	0.7662E+00	0.1578E+01	0.1581E+01	0.7972E+00	0.8289E+00
0.560	1896	0.9968E+00	0.9719E+00	0.1593E+01	0.1594E+01	0.9956E+00	0.1020E+01
0.680	2300	0.1148E+01	0.1129E+01	0.1598E+01	0.1598E+01	0.1147E+01	0.1166E+01
0.820	2772	0.1278E+01	0.1265E+01	0.1599E+01	0.1599E+01	0.1278E+01	0.1291E+01
0.940	3177	0.1360E+01	0.1350E+01	0.1600E+01	0.1600E+01	0.1359E+01	0.1369E+01

POOL SIZE SPECIFIC ACTIVITY

0.020	0.1600E-02	0.2468E-02	0.2024E-03	0.1980E+03	0.4110E+03	0.1745E-02	0.1818E-01
0.080	0.1600E-02	0.1194E+02	0.5664E+01	0.6224E+03	0.6815E+03	0.1141E+02	0.2175E+02
0.140	0.1600E-02	0.7426E+02	0.5402E+02	0.7825E+03	0.8143E+03	0.7311E+02	0.9582E+02
0.200	0.1600E-02	0.1618E+03	0.1375E+03	0.8745E+03	0.8931E+03	0.1605E+03	0.1863E+03
0.320	0.1600E-02	0.3420E+03	0.3181E+03	0.9586E+03	0.9647E+03	0.3416E+03	0.3659E+03
0.440	0.1600E-02	0.4993E+03	0.4789E+03	0.9860E+03	0.9883E+03	0.4983E+03	0.5180E+03
0.560	0.1600E-02	0.6230E+03	0.6072E+03	0.9955E+03	0.9961E+03	0.6223E+03	0.6375E+03
0.680	0.1600E-02	0.7177E+03	0.7056E+03	0.9985E+03	0.9987E+03	0.7171E+03	0.7287E+03
0.820	0.1600E-02	0.7990E+03	0.7904E+03	0.9996E+03	0.9996E+03	0.7986E+03	0.8069E+03
0.940	0.1600E-02	0.8499E+03	0.8435E+03	0.9998E+03	0.9999E+03	0.8496E+03	0.8558E+03

表4 (e)

表5. 光合成産物（多糖類のグルコース残基）の分子内における ¹⁴C 分布の非対称性 (C-4 の ¹⁴C 比活性を100とした相対値)

反応時間 (秒)	炭素原子の位置					
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>						
5	5.0	5.4	73	100	0.8	0.8
10	5.2	5.4	80	100	1.5	2.4
20	14.0	12.0	86	100	8.5	9.6
30	20.0	17.0	86	100	14.0	18.0
<i>Anacystis nidulans</i>						
5	5.6	1.6	55	100	0.9	0.9
10	9.3	5.5	68	100	0.8	2.1
20	18.0	8.0	77	100	3.9	9.0
30	26.0	21.0	73	100	11.0	19.0

(Gibbs¹⁰⁾)

とり、既知の反応系を組み合わせたシミュレーション実験と比較検討する作業は必要と思われる。

今回は、定常状態を仮定し、しかも特定のデータを用いた1回だけの計算であったが、今後、調節系を組みこみ、非定常状態の解析ができるようになれば、既知の知識を整理する武器としても、この種の作業は有用ではないかと思われる。

(1982年7月8日受理)

文 献

- 1) Chance, B., Garfinkel, D., Higgins, J., and Hess, B.: *J. Biol. Chem.*, 235, 2426 (1960).
- 2) Garfinkel, D., Garfinkel, L., Pring, M., Green, S. B., and Chance, B.: Computer applications to biochemical kinetics. *Ann. Rev. Biochem.* 39: 473-498. (1970).
- 3) 林 勝哉, 坂本直人 (編著): 酵素反応のダイナミックス. 学会出版センター. (1981).
- 4) Atkins, G. L.: Multicompartment models for biological systems. Methuen & Co., LTD.

- (1969).
- 5) 竹葉 剛：マルチコンパートメント解析による代謝回転率の測定. 京府大学術報告(理学・生活) 28号 A 1-16. (1977).
 - 6) FACOM FORTRAN SSL II 使用手引書(科学用サブルーチンライブラリ, 99SP-0050-4). 富士通 (1979).
 - 7) Bassham, J. A. and Kirk, M.: *Biochim. Biophys. Acta*, 43: 447 (1960).
 - 8) Bassahm, J. A., Shibata, K., Steenberg, K., Bourdon, J., and Calvin, M.: *J. Am. Chem. Soc.* 78: 4120 (1956).
 - 9) 高宮 篤：炭酸同化の経路. 蛋白質・核酸・酵素 10:1415-1438 (1965).
 - 10) Gibbs, M.: Photosynthetic mechanisms of green plants. Nat. Acad. Sci., Nat. Res. Council, U.S. (1963).
 - 11) Calvin, M. and Bassahm, J. A.: The photosynthesis of carbon compounds. W. A. Benjamin, Inc., New York (1962).
 - 12) Kandler, O. and I. Liesenkoetter: Mechanism of photosynthesis. *Proceedings of Vth International Congress of Biochemistry, Moscow*, 6: 326 (1963).