

バイオインフォマティクス：現状と展望

澤 智博*

ヒトゲノム解読（暫定）終了宣言は、記憶に新しいことであろう。ゲノムが解読された後に何が起こるのか、また、それによって医学研究はどう変わって行くのかをバイオインフォマティクス（生命情報学）の視点から考察してゆきたい。ここでは、バイオインフォマティクスの現状を紹介し、その展望について述べる。

バイオ+IT

バイオインフォマティクスという語は、バイオ（生命）とインフォマティクス（情報科学）を複合した造語である。生物学領域で膨大に蓄積され、現在も増え続けるデータに情報科学・技術を適用することで新発見を得る比較的新しい学問領域である。ゲノム解読で得られるものは、ATCGの4つの塩基の羅列からなるデータに過ぎない。32億塩基対（2002年1月現在）あると言われるヒトゲノムデータを手作業で解析することは、ほぼ不可能であることは推察するに難くないであろう。このとき欠かせないのが、コンピュータ及び情報科学である。ITによって、膨大なデータから、情報（information）を抽出し、知識（knowledge）を導き、それを活用するのが、バイオインフォマティクスの研究スタイルである。

4つのome

ある生物の全遺伝子（gene）の集合をゲノム（gen + ome = genome）と呼ぶ。同様にして、全RNA（transcript）の集合を、トランスクリプトーム（transcript + ome = transcriptome）、全タンパク

質（protein）の集合をプロテオーム（prote + ome = proteome）、全代謝因子（metabolite）の集合をメタボローム（metabol + ome = metabolome）と称する。生物学では、この4つのomeの理解が必須であるといえよう。これらomeの解析に必要な条件は、大量のデータを処理しなければならない点であり、自ずとコンピュータ・情報科学の応用が必須となる。ヒトを含めた、幾つかの種のゲノムが解読され、ゲノム解析研究の展望が見えつつある現在、トランスクリプトーム、プロテオーム、メタボロームの研究が急ピッチで進行している。本稿では、便宜的に、この4つのカテゴリーに沿って、バイオインフォマティクスの現状を紹介してゆく。

ゲノムとバイオインフォマティクス

19世紀、チャールズ・ダーウィンは、生物の形態を比較することにより進化論を論じ、生物学に一石を投じた。同様に、今日では、遺伝子の塩基配列を比較することで、生物学の研究が進められている。

2つの塩基配列を比較する際には、塩基配列の全長どうしを比較するグローバルアライメントと塩基配列の一部を比較するローカルアライメントがある（図1）。ローカルアライメントでは、グローバルアライメントで見つけることが困難である、局所的な塩基配列の相似を調べる際に有用である。アライメントの代表的な手法として、ドットマトリックス解析と動的計画法がある¹⁾。

ドットマトリックス解析²⁾は、図2に示したように、2つの塩基配列をそれぞれX軸、Y軸とした、2次元グラフ上に表示する。この解析法の利点は、視覚的に塩基配列のあらゆる組み合わせの類似性を見つけることができることである。しか

*帝京大学市原病院麻酔科学講座
ハーバード大学医学部プリガム病院 Decision System Group(バイオメディカルインフォマティクス)

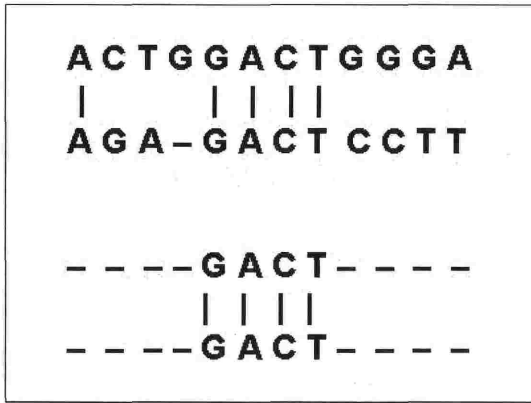


図1 アライメント
 上段：グローバルアライメント，下段：ローカルアライメント

し、個々のアライメントが提示されない点が欠点である。

動的計画法は、グローバル³⁾、ローカルアライメント⁴⁾の両方に適用される。この解析法は、2本の塩基配列の全てのアライメントの組み合わせを考慮し、計算上、最適な解を提示する。動的計画法は、容易なアルゴリズムで、最適なアライメントを得ることができるため、広く普及しているが、全ての組み合わせを計算しなければならないため、計算速度が遅いことが欠点である。

上記の2つの解析法は、2つの塩基配列のアライメントを求めるのに、適した方法である。図3に示した様に、データベースに日々蓄積される遺伝子配列情報は、級数的に増えてつづけている⁵⁾ (2001年12月現在)。このような、膨大なデータの中から、特定の遺伝子配列に最も類似した遺伝子を探し出すことは、上記の方法では困難である。そこで、開発されたのが、FASTA⁶⁾やBLAST (Basic Local Alignment Search Tool)⁷⁾などのアルゴリズムである。これらのアルゴリズムは、あらかじめ設定された目標 (heuristics) に基づいて解析を行うため、計算速度を向上させることができる。解析前に、検索の対象となる配列の長さ (k-tuple^{6,8,9)}) を設定した上で、これに基づいてデータベース内から対象配列を検索する。このため、tuple が長くなると検索速度は自ずと低下する。FASTAとBLASTの主な違いは、FASTAでは、検索対象と同一の配列のみを検索するのに対し、BLASTでは、検索対象に類似した配列も考慮さ

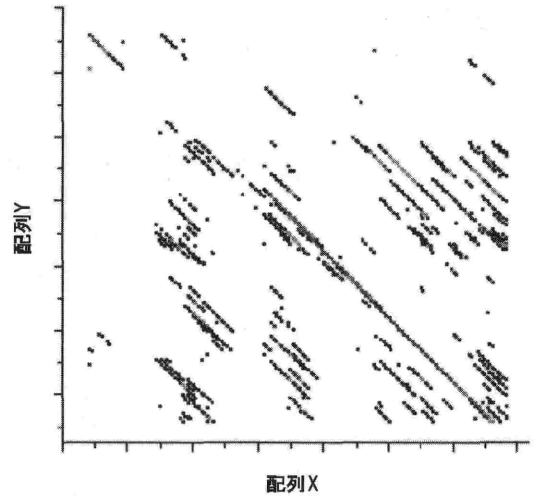


図2 ドットマトリックス解析の例
 ドットマトリックス解析では、2本の配列をそれぞれグラフ上のx軸、y軸に配置する。塩基配列が一致する座標軸に「ドット (点)」を描画する。x、yに共通な塩基配列が連続するときには、ドットは、直線を形成する。

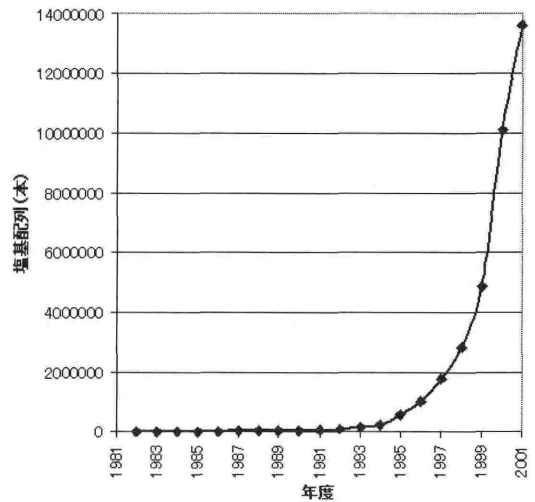


図3 GenBank⁵⁾データベースの年次推移

れる点である。したがって、FASTAの方が検索感度が高く、BLASTの方が検索速度が速いのが特徴である¹⁾。

塩基配列のアライメントを解析する目的の一つに、遺伝子の進化の過程を推測することがある。アライメントの結果に高い類似度 (similarity) があれば、それらの遺伝子は共通の遺伝子から進化した可能性 (ホモロジー) が高くなる。したがっ

て、ホモロジーが高ければ、それらの遺伝子の機能が類似している可能性が高いという仮定に基づいて研究が進められる。ただし、この仮定は常に正しいとは限らない点に注意が必要である。例えば、脊椎動物の眼のレンズを構成する zeta-crystallin と大腸菌の代謝酵素である quinone oxidoreductase とは、高いホモロジーを示す¹⁰⁾。これら二つのタンパク質は、共通の遺伝子から進化した可能性が高いが、進化の過程において異なった機能を担うようになったのであろう¹¹⁾。

トランスクリプトームとバイオインフォマティクス

近年、最も注目されている分子生物学における新技術の一つに、マイクロアレイ技術^{12,13)}がある。これによって、数千から数万の遺伝子発現を同時に測定することが可能になった。一方、この技術により生み出されるデータ量は膨大であり、コンピュータなしにデータ解析をすることは不可能である。ここでは、マイクロアレイ技術を中心に、トランスクリプトームレベルのバイオインフォマティクスについて解説する。

マイクロアレイは、ガラススライド（または、相当の物質）上に、数千から数万の測定対象の DNA 片（プローブ）を固定し製作する。ラベルを付けた cDNA サンプルをマイクロアレイ上でハイブリダイズさせることで、遺伝子発現量を測定する。プローブは、合成オリゴヌクレオチド片¹²⁾と cDNA ライブラリ¹³⁾を元にしたものとに大別される。この技術の利点は、大量の遺伝子発現を一度に測定できる点である。ただし、マイクロアレイ作製時に含まれない遺伝子については、当然ながら、その発現も測定できない点に注意が必要である。したがって、トランスクリプトームを完全に測定するには、すべての遺伝子を含んだマイクロアレイの作製が不可欠である。

マイクロアレイのデータは、サンプルとその対照の計測値の比によって示される。一般的には、比の対数（底は 2）を求めてデータとする。つまり、対照と比較して遺伝子発現量に変化がなければ、0 であり、4 倍に増加したときには 2 ($\log_2 4$)、4 分の 1 に低下したときには -2 ($\log_2 1/4$) となる。例えば、1 万個の遺伝子について、10 の異なった実験条件で計測すると、10 万

(1 万×10) のデータが得られる。次に、これら 1 万個の遺伝子の中から、類似した発現パターンを示すものを発見するのが、コンピュータの役割である。

コンピュータを用いたパターン認識法の一つに、機械学習 (machine learning) が応用されている。発現パターンの解析は、機械学習の視点から、マイクロアレイのデータのみから解析する方法 (unsupervised learning: 教師なし学習) と他の生物学的知識を含めた解析法 (supervised learning: 教師付き学習) とに大別できる。マイクロアレイのデータのみを解析する、教師なし学習では、クラスタ解析¹⁴⁾や自己組織化マップ (SOM: self-organizing map)¹⁵⁾が代表例である。一方、教師付き学習では、support vector machine (SVM) の応用例¹⁶⁾がある。

クラスタ解析は、最も普及しているマイクロアレイの解析法である。はじめに、総当り式に、2 個づつ遺伝子発現の類似度を計算する。類似度の計算法には、ピアソン相関係数やユークリッド距離を用いるのが一般的である。総当り式に類似度を計算すると、n 個の遺伝子を含むマイクロアレイデータからは、 $n(n-1)/2$ 個のデータが得られることになる。次に、この計算結果を元にクラスタ解析を行う。クラスタ解析の目的は、類似したものを分類することにある。その方法には、最小距離法、最大距離法、群平均法、k-means 法などがある。

マイクロアレイデータの解析結果を解釈する際に、類似の発現パターンを示す遺伝子群は、類似の機能を有する可能性が高いと仮定する。このとき、既知の遺伝子の発現パターンを元に、未知の遺伝子の機能を類推することができる。また、発現パターンの類似した遺伝子のプロモータ部位を調べることで、プロモータ塩基配列のモチーフの発見につながる^{17,18)}。また、リバースエンジニアリングなどの手法を用いて、遺伝子制御ネットワークの推測が試みられている¹⁹⁾。

プロテオームとバイオインフォマティクス

近年、細胞内の全タンパク質を同時に解析するプロテオーム研究が脚光を浴びている。一方、個々のタンパク質についても、アミノ酸配列、立体構造、機能、相互作用など多くの情報が必要である

ため、まだ個別のタンパク質についても研究の余地がある。2002年1月現在、アミノ酸配列のデータ数が10万個を超える (SWISS-PROT)²⁰⁾のに対し、立体構造のデータは1万7千余に止まる (PDB)²¹⁾。日々増え続けるアミノ酸配列のデータに比較して、立体構造の解析が追いつけない状態にあり、逆に、アミノ酸配列から立体構造を予測することは、重要であることが理解できる。ここでは、タンパク質の構造予測とバイオインフォマティクスの関係について述べる。

タンパク質は、熱力学的環境が変化すると変成するが、環境がもとに戻るとその立体構造も復元されることは、1954年、ノーベル科学受賞者である Christian Anfinsen によって示された²²⁾。つまり、タンパク質のアミノ酸配列は、立体構造の構築に必要なすべての情報を含んでいることになる。したがって、アミノ酸配列のみから熱力学的環境をコンピュータ上でシミュレートすることで立体構造が予測可能であることをこの事実は示しているのである。このように、アミノ酸配列のデータだけを利用して、立体構造を予測する方法を、*ab initio* 予測という。残念ながら、*ab initio* 予測は、現在のところあまり成功を収めていない。一方、既に存在する立体構造のデータを加味して、未知の立体構造を予測する方法を知識ベース (knowledge base) 予測と呼ぶ²³⁾。

説明するまでもなく、タンパク質はアミノ酸の配列により構成されるので、ゲノム分野でのアライメント解析法がここでも応用できる。つまり、既知のアミノ酸配列、立体構造のタンパク質に、未知のタンパク質のアミノ酸配列をアライメントすることでその構造を予測するのである。アライメント解析の際に、注意しなければならない点は、タンパク質では、グローバルアライメントの類似度が高くなくても、個々のモジュールドメインの配列の類似度が高い可能性がある点である^{24, 25)}。このような場合には、ローカルアライメントやマルチプルアライメントが効果的な手段である。

マルチプルアライメントは、名前に示されている通り、3本以上のアミノ酸配列をアライメント解析する方法である¹¹⁾。そのアルゴリズムにおいては、2本の配列をアライメントするより複雑なものが要求される。例えば、動的計画法を用いて100個のアミノ酸からなるタンパク質を2本だけ

アライメント解析するときには、 $100^2=10^4$ の組み合わせを考慮すればよい。しかし、5本のアライメントでは、 100^5 、すなわち 10^{10} の組み合わせとなり、要求されるコンピュータの計算能力は飛躍的に増加する¹⁾。ここでは、マルチプルアライメントのアルゴリズムの解説は割愛するが、代表的なアプリケーションプログラムには、CLUSTALW²⁶⁾、MSA²⁷⁾、PRALINE²⁸⁾などがある。

アライメント解析により、立体構造を予測する試みがなされる他に、タンパク質の二次構造・三次構造といった個々の問題を取り扱う研究者もいる。 α ヘリックス、 β シートなどの二次構造は、アミノ酸配列に依存する割合が比較的大きい。二次構造の予測には、特定のアミノ酸の出現率を統計処理によって予測する Chou-Fasman 法²⁹⁾や GOR 法³⁰⁾がある。機械学習による方法も研究されており、ニューラルネットワークや最近隣法 (nearest neighbor) などが応用されている。

ニューラルネットワークは、脳の神経モデルにヒントを得て開発された。数学的に定義されたニューロンを複数相互接続させた階層構造を持つ。これを、既知のアミノ酸配列データを用いてパターン認識力をトレーニングする。トレーニングされたニューラルネットワークは、未知のタンパク質の二次構造を予測することができるようになる。これまでに数々の応用例が報告され³¹⁻³³⁾、予測的中率は70%を超える報告もある^{34, 35)}。

以上の様に、バイオインフォマティクスにおけるタンパク質の立体構造の解析技術は、急速な進歩を遂げている。しかし、構造解析が多くの課題を抱えているのも確かである。その理由の一つに、アミノ酸配列からは、一義的に構造は決定されるが、特定の構造を持つタンパク質のアミノ酸配列は、一義に決定されないという点である。PDBに保存されている立体構造データは1万7千余あるが、それらの立体構造は、数百の構造の組み合わせでできている。つまり、アミノ酸配列の多様性に比較して、立体構造は少ない種類の組み合わせから構成されているのである。この点に注目した解析法の一つに立体構造のスレッドがある。

スレッドの目的は、アミノ酸配列と関係なく、立体構造の類似度に注目して未知のタンパク質の立体構造を予測することにある³⁶⁻³⁸⁾。スレッドでは、既知の立体構造に、未知のタンパク質を重

ね合わせて解析する。このとき、熱力学的なエネルギーレベルが最小となり、構造的に安定であるかどうかに着目する。そのため、信頼度の高いスレッドを行うには、熟練が必要である。現在、スレッドをコンピュータによって自動化するアルゴリズムが開発されてきているが、それらは高い処理能力を要求することが多い。

メタボロームとバイオインフォマティクス

生物は、種々の化学反応の複合体とみなすことができる。基質、酵素、代謝産物などを「要素」とし、それらの関係を「二項関係」(binary relation)とみなすと、複数の二項関係の集合はネットワークを構成する²³⁾。ここで、ネットワークを数学的にグラフとみなすことで、グラフ理論を応用しメタボロームの解析をする試みがなされている。このとき、「要素」は、グラフの「点」(vertex)であり、「二項関係」は、「辺」(edge)と仮定される。グラフ理論の主な応用目的は、グラフの構造と経路の解析である。複数のグラフ同士を比較することで、その代謝経路の類似性を検討することができる。また、グラフの経路解析により、一見無関係に思われる複数の分子の共通項や新たな経路の発見につながる可能性がある。

これまで、生化学実験から、個々の代謝反応を数学的に記述しようとする試みがなされてきた。酵素の速度反応論における、種々の数式は、その代表例といえよう。バイオインフォマティクスでは、複数の生化学反応を、同時にコンピュータ上で解析する。これにより、代謝の複雑な経時的変化をシミュレートすることができ、様々なモデルが提案されている^{39~41)}。この手法は、赤血球の代謝シミュレーションで、成功を収めている^{42~44)}。問題点としては、数学モデルが、生化学実験から得られる酵素のカイネティクスなど、各種パラメータに依存するため、モデルの精度が、それに左右されることである。

フラックスバランス解析 (FBA: flux balance analysis) は、代謝フラックスを計算上最適にすることで生化学反応を解析する方法である。フラックスとは、単位時間に単位面積を通過して通過する物質の量を指す。FBAの利点は、酵素反応のパラメータにモデルが依存しない点である。FBAでは、化学量 (stoichiometry) と細胞内

外の物質の出入りをもとに、代謝フラックスを算出する。ただし、このとき得られる解は、単一ではなく、解空間として求められるため、線形計画法 (linear programming) を適用して最適解を得ようという試みもある。E.coliを使用したモデルでは、目的関数 (objective function) に、細胞の成長を取り入れた報告がなされている⁴⁵⁾。

In silico の世界へ

物理、化学を代表とする科学は、これまで研究対象を細かく分解し、それら断片を分析する還元主義の立場が主流であった。生物学においてもこれは例外ではない。細胞を分解し、それを構成する部品である遺伝子、タンパク質などを詳細に研究することで新しい知見を得てきたのである。しかし、近年のバイオテクノロジーの飛躍的向上によって、得られたデータは膨大な量となりつつあり、それらすべてのデータを十分生かしていかないのも事実である。これまで蓄積されたデータを元に、部品を再構成してコンピュータ上に生物を再現し、新たな実験系とすることができる可能性が出てきた。このような実験系は、in vitro でも、in vivo でもない、in silico の系となる。In silico が、他の実験系に比較して最も有利な点は、実験系が時間と空間を超越する点である。すなわち、現実世界で行われる、in vitro, in vivo の系は、共に時間的、空間的制約があるが、in silico では、その制約を受けない。このため、今日まで不可能であった研究が可能となるのである。

その先にあるもの

In silico を舞台にした、バイオインフォマティクス領域の先には、何が待っているのだろうか。コンピュータ上に細胞が構築された後には、当然ながら、多細胞生物の細胞同士のネットワーク、つまり組織の研究が待っている。そして、in silico の臓器、さらには、個体の研究が展開されるであろう。つまり、より多くの要素を取り入れ、より複雑なネットワークの再構築が求められるのである。例えば、脳の働きは、個々の神経細胞の研究や遺伝子の研究からは成果が得られにくい、つまり、epigenetic な要素が多分にあると考えられ、それらをモデルに統合しなければならない。これは、麻酔・集中治療に代表される、生体

の急性反応の研究領域でも同様なことが言えるであろう。in silico で生体のプラットフォームが完成すると、それを利用して、侵襲や薬物による生体反応とその制御の研究は、飛躍的に進むものと思われる。バイオインフォマティクス研究が急速な発展を遂げる今日、我々医学者も in silico で研究を進める日が来るであろう。

文 献

- 1) Mount D : Bioinformatics: Sequence and genome analysis, Cold Spring Harbor, NY, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001
- 2) Gibbs A, McIntyre G : The diagram, a method for comparing sequences. Its use with amino acid and nucleotide sequences. *Eur J Biochem* 16 : 1-11, 1970
- 3) Needleman S, Wunsch C : A general method applicable to the search for similarities in the amino acid sequence of two proteins. *J Mol Biol* 48 : 443-453, 1970
- 4) Smith T, Waterman M : Identification of common molecular subsequences. *J Mol Biol* 147 : 195-197, 1981
- 5) GenBank : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>.
- 6) Pearson W, Lipman D : Improved tools for biological sequence comparison. *Proc Natl Acad Sci U S A* 85 : 2444-2448, 1988
- 7) Altschul S, Gish W, Miller W, et al : Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* 215 : 403-410, 1990
- 8) Lipman D, Pearson W : Rapid and sensitive protein similarity searches. *Science* 227 : 1435-1441, 1985
- 9) Wilbur W, Lipman D : Rapid similarity searches of nucleic acid and protein data banks. *Proc Natl Acad Sci U S A* 80 : 726-730, 1983
- 10) Gonzalez P, Rao P, Zigler JJ : Organization of the human zeta-crystallin/quinone reductase gene (CRYZ). *Genomics* 21 : 317-324, 1994
- 11) Baxevanis A, Ouellette B : Bioinformatics: A practical guide to the analysis of genes and proteins, 2nd ed, New York, NY, Wiley-interscience, 2001
- 12) Lockhart D, Dong H, Byrne M, et al : Expression monitoring by hybridization to high-density oligonucleotide arrays. *Nat Biotechnol* 14 : 1675-1680, 1996
- 13) Schena M, Shalon D, Davis R, et al : Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science* 270 : 368-369, 1995
- 14) Eisen M, Spellman P, Brown P, et al : Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95 : 14963-14968, 1998
- 15) Tamayo P, Slonim D, Mesirov J, et al : Interpreting patterns of gene expression with self-organizing maps: methods and application to hematopoietic differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96 : 2907-2912, 1999
- 16) Brown M, Grundy W, Lin D, et al : Knowledge-based analysis of microarray gene expression data by using support vector machines. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97 : 262-267, 2000
- 17) Hughes J, Estep P, Tavazoie S, et al : Computational identification of cis-regulatory elements associated with groups of functionally related genes in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Mol Biol* 296 : 1205-1214, 2000
- 18) Roth F, Hughes J, Estep P, et al : Finding DNA regulatory motifs within unaligned noncoding sequences clustered by whole-genome mRNA quantitation. *Nat Biotechnol* 16 : 939-945, 1998
- 19) Liang S, Fuhrman S, Somogyi R : Reveal, a general reverse engineering algorithm for inference of genetic network architectures. *Pac Symp biocomput* : 18-29, 1998
- 20) SWISS-PROT : <http://kr.expasy.org/sprot/>.
- 21) PDB : <http://www.rcsb.org/pdb/>.
- 22) Anfinsen C : Studies on the Gross Structure, Cross-Linkages, and Terminal Sequences in Ribonuclease. *Journal of Biological Chemistry* 207 : 201-210, 1954
- 23) Kanehisa M : Post-genome Informatics, New York, NY, Oxford University Press, 2000
- 24) Baron M, Norman D, Campbell I : Protein modules. *Trends Biochem Sci* 16 : 13-17, 1991
- 25) Doolittle R, Bork P : Evolutionarily mobile modules in proteins. *Sci Am* 269 : 50-56, 1993
- 26) Thompson J, Higgins D, Gibson T : CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res* 22 : 4673-4680, 1994
- 27) Lipman D, Altschul S, Kececioglu J : A tool for multiple sequence alignment. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86 : 4412-4415, 1989
- 28) Heringa J : Two strategies for sequence comparison: profile-preprocessed and secondary structure-induced multiple alignment. *Compt Chem* 23 : 341-364, 1999
- 29) Chou PY, Fasman GD : Prediction of the secondary structure of proteins from their amino acid sequence. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol* 47 : 45-148, 1978
- 30) Garnier J, Osguthorpe D, Robson B : Analysis of the accuracy and implications of simple methods for predicting the secondary structure of globular proteins. *J Mol Biol* 120 : 97-120, 1978
- 31) Cohen F, Abarbanel R, Kuntz I, et al : Secondary structure assignment for alpha/beta proteins by a combinatorial approach. *Biochemistry* 22 : 4894-4904, 1983
- 32) Cohen F, Abarbanel R, Kuntz I, et al : Turn prediction in proteins using a pattern-matching approach. *Biochemistry* 25 : 266-275, 1986
- 33) Presnell S, Cohen B, Cohen F : A segment-based approach to protein secondary structure prediction. *Biochemistry* 31 : 983-993, 1992
- 34) Rost B, Sander C : Improved prediction of protein secondary structure by use of sequence profiles and neural networks. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90 : 7558-7562, 1993
- 35) Rost B, Sander C : Combining evolutionary information and neural networks to predict protein secondary structure. *Proteins* 19 : 55-72, 1994
- 36) Bryant S, Lawrence C : An empirical energy function for

- threading protein sequence through the folding motif. *Proteins* 16 : 92-112, 1993
- 37) Fetrow J, Bryant S : New programs for protein tertiary structure prediction. *Biotechnology (N Y)* 11 : 479-484, 1993
- 38) Jones D, Thornton J : Potential energy functions for threading. *Curr Opin Struct Biol* 6 : 210-216, 1996
- 39) Barkai N, Leibler S : Robustness in simple biochemical networks. *Nature* 387 : 913-917, 1997
- 40) Liao J : Modelling and analysis of metabolic pathways. *Curr Opin Biotechnol* 4 : 211-216, 1993
- 41) Palsson B, Lee I : Model complexity has a significant effect on the numerical value and interpretation of metabolic sensitivity coefficients. *J Theor Biol* 161 : 299-315, 1993
- 42) Jamshidi N, Edwards J, Fahland T, et al : Dynamic simulation of the human red blood cell metabolic network. *Bioinformatics* 17 : 286-287, 2001
- 43) Lee I, Palsson B : A Macintosh software package for simulation of human red blood cell metabolism. *Compt Methods Programs Biomed* 38 : 195-226, 1992
- 44) Mulquiney P, Kuchel P : Model of 2,3-bisphosphoglycerate metabolism in the human erythrocyte based on detailed enzyme kinetic equations: computer simulation and metabolic control analysis. *Biochem J* 342 : 597-604, 1999
- 45) Edwards J, Ibarra R, Palsson B : In silico predictions of *Escherichia coli* metabolic capabilities are consistent with experimental data. *Nat Biotechnol* 19 : 125-130, 2001