

令和元年5月28日現在

機関番号：82401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2018

課題番号：15K12146

研究課題名(和文)生物画像シミュレーションのための計算システムの構築とその応用

研究課題名(英文)Bioimage simulation and its applications

研究代表者

渡部 匡己(Watabe, Masaki)

国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・研究員

研究者番号：70599480

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：生体分子結合プロセスにおける協同性は、高分子、経路、細胞および生物のシステムレベルの特性に現れる集団的挙動を達成するために重要な生物学的機構として知られている。近年におけるデータサイエンスの技術の進歩は、協同性を測定する際の統計的不確実性を減らすことはできるが、測定過程から生じる系統的な不確実性の特定は、しばしば非経験的なため同定が非常に難しい。本研究では、生細胞イメージングシステムや画像処理方法が起因となる系統的な不確実性を定量的に評価するための包括的な方法を提案し、このような系統的誤差が、生体分子結合プロセスにおける協同性の計測から得られるデータの解釈に強く影響する一例を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

詳細な生物画像シミュレーションが実現することで、生物イメージングを行なう前にシステムを定量的に設計・評価・予想することができるようになる。具体的には、以下のことが将来的に実現できることを期待できる。[1] 理論モデルの予想・評価・修正、[2] 計測系の精度の評価・予想、[3] 系統的な効果・不確実性の評価・予想、[4] 実験計画と計測機器の設計・評価・改善・予想、[5] 試料の特性に合わせた特化型計測系の開発、などなど想像力は尽きない。本研究では、特に[3]の「計測における系統誤差の評価」を実現した。

研究成果の概要(英文)：Cooperativity in biomolecular binding processes represents a primary and highly general mechanism for achieving the collective behaviour that emerges in systems-level properties of macromolecules, pathways, cells and organisms. Recent progress in robotics and automated techniques for sampling and analyzing complex biological data can reduce statistical uncertainties (or errors) in measuring cooperativity. An identification of the systematic uncertainties that arise from inaccuracy in the measurement processes, however, requires a non-empirical approach. Here, we propose a comprehensive method to quantitatively evaluate the systematic variances computed not only from a computer simulation of live-cell imaging systems, but also image processing and pattern recognition algorithms for biological images. We then demonstrate that such non-statistical variances can affect our biological interpretation of cooperativity in a binding system of interest.

研究分野：生物物理

キーワード：生物画像シミュレーション 全反射顕微鏡 レーザー走査型共焦点顕微鏡

1. 研究開始当初の背景

生物学における主要な科学的活動は、実験データから法則やパターンを抽出することだけでなく、さまざまな実験的知識から導き出された生物学的モデルを実験的に検証することでも成り立っている。この2つの科学活動を繰り返すことで、さまざまなモデル候補の確認や反論することが可能になる。これらのモデルの検証の結果を科学的に表現するために重要なのが、実験プロセスから生じる不確実性の客観的評価と定量化だと考えられている。エラー解析は、そのような不確実性の数値化し、実験結果の妥当性と信頼性を確立することを可能にする。

近年のデータサイエンスにおける自動技術やロボット工学の発展により、生細胞の生物学的特性の測定における統計的な不確実性（または誤差）を大幅に減らすことが可能になっている。しかし、生細胞の測定プロセスにおける実験データの取得と分析などの不正確さから生じる系統的な不確実性の定量的評価については無視されることが多い。これは、測定された生物学的特性の誤った識別と解釈を引き起こす可能性があり、大きな問題となっている。例えば、複雑な形状の膜で囲まれた小胞体やゴルジ体などの細胞内コンパートメントによって課される幾何学的な不確実性は、FRAP実験技術における分子運動性および細胞内コンパートメント間の連結性の計測に誤った解釈をもたらす可能性を持っている。また、生体分子ネットワークモデルにおける構造上の不確実性も、様々なモデル候補の実験的識別に影響を与えていると考えられている。

2. 研究の目的

本研究では、上記のような様々な系統的な不確実性の影響を定量的に評価するために、生物画像シミュレーションを用いた方法を提案する。具体的には、生細胞上面膜の受容体タンパク質のリガンド結合を観察するように設計された遮光照明蛍光顕微鏡システムのシミュレーションモジュールを構築し、系統的な不確実性が受容体の結合プロセスにおける生物共同性の誤認につながることを示した。

3. 研究の方法 [論文①]

一般に、系統的な不確実性は、画像処理によって再構築された特性がモデルの真の特性から一方向にシフトさせます。特に重要なのは、実験構成の感度と限界を超える系統的な差異を定量化することにある。ある性質が再構成プロセスを通じて十分に修復された場合、真の性質は変化しないままであり、生物学的解釈にはあまり影響を及ぼすことはない。しかし、再構成プロセスが真の特性を十分には再構築できなかった場合は、再構成された特性は真の特性とは異なる可能性があり、それによって生物学的解釈に強い影響を及ぼし、特性の誤認識につながる。

系統的な不確実性を適切に数値化するために、実験システム全体を近似的に表すモデルシミュレーションを構築する必要がある。生細胞イメージング技術を用いた生物学的計測は、一般に、様々な自然法則ならびに、生化学／物理学の原理から構成され、各計測プロセスのモデルは、モデルパラメータ空間の限られた範囲内でシミュレートすることができる。モデル・シミュレーション研究には、分子蛍光と光学装置のための物理シミュレーションや、生物現象の説明と予測を目的としたシステム生物学シミュレーションなどがある。これらのモデルシミュレーションを実験システム全体にほぼ対応する統一モデルシミュレーションに統合する。この統一モデルを利用することで、潜在的なイメージングや画像処理の結果に影響を与えるモデルパラメータを探索することが可能になる。

具体的には、生物顕微鏡システムを用いた生物計測を支配する広範囲の生化学的および物理的パラメータを扱うための、生物画像シミュレーションのフレームワークを提案した[論文②]。シミュレーションモジュールは、照明システム、時空間細胞モデル、蛍光物理、画像形成プロセス、検出器の5つのから構築され、アウトプットとして計算顕微鏡画像を生成する。本研究では、このフレームワークを利用して、全反射蛍光顕微鏡、遮光照明蛍光顕微鏡、レーザー走査型共焦点顕微鏡のシミュレーションモジュールを実装した。これらのシミュレーションモジュールは、実際の蛍光顕微鏡システムを使用して得られた実際のデジタル画像を厳密に表す顕微鏡写真を生成するように設計されている。

4. 研究成果 [論文①]

上記で提示した方法は、蛍光顕微鏡を使用した協同的結合測定における系統的な不確実性を数値化することを可能にする。具体的には、遮光照明蛍光顕微鏡シミュレーションのモジュールを用いて、「細胞膜の上面におけるリガンド誘導性受容体の二量体形成モデル」の

一分子観測データにおける生物共同性の特定に影響する系統誤差の評価を行った。評価結果の要約を図1に示した。

生物的共同性は、一般的にスキッチャードプロットの凹面に見ることができる。単純結合 (Simple binding) では、再構築されたスキッチャードプロットは、協調性を示さない直線を示し、分析手順による共同的特性の復元の成功を意味する。二量体形成 I (Dimer formation I) における正の共同性を表す凹状の下向き曲線もまた、この分析によってよく保存されている。しかしながら、二量体形成 II (Dimer formation II) におけるスキッチャードプロットの凹面は、再構成プロセスによって侵害されているのがわかる。真のスキッチャードプロットは、負の共同性を表す凹状の上向き曲線としてよく特徴付けられているが、再構成されたプロットは、正の共同性を示す。スキッチャードプロットの定性的解釈は、二量体形成 II における協同性の誤認を意味する。

研究結果の詳細は、論文①に詳しく記載してあるので、そちらを参考にしてください。

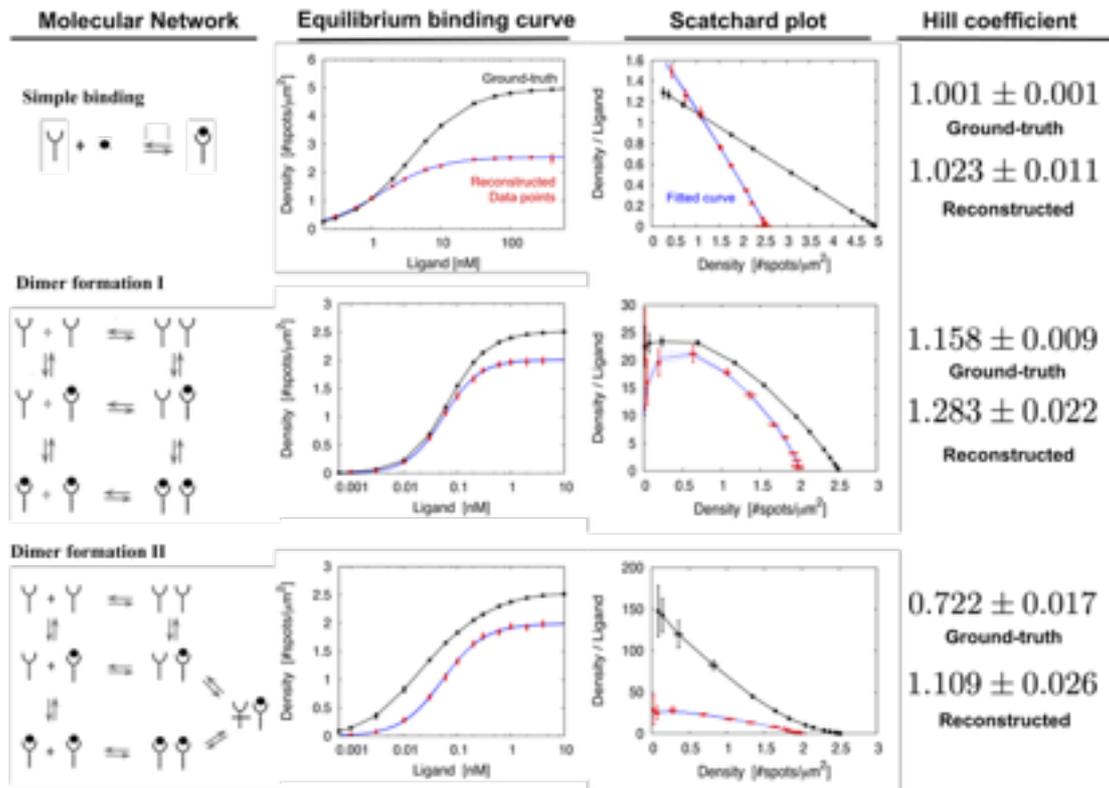


図1：左の列に示した3つの分子ネットワークモデルの系統的誤差について評価した。ヒル係数の最適値と統計的不確定性 (1σ)を右端の列に示した。また、平衡結合曲線およびスキッチャードプロットを中央の列に示した。赤と黒の線は、再構築されたデータと実際のデータを表しており、青い実線は最適曲線を示します。再構成されたヒル係数 (Reconstructed Hill-coefficient) は、真のヒル係数 (Ground-true Hill-coefficient) と比較される。ヒル係数が1未満 ($n < 1$)である場合、受容体システムは負の協同性を示す。 $n > 1$ であれば、協同性は正である。 $n = 1$ の場合、共同性はない。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 2 件)

① M. Watabe, S. N. V. Arjunan, W. X. Chew, K. Kaizu and K. Takahashi, “An application of bioimage simulation: cooperative binding measurement” arxiv:q-bio.QM 1802.10080 (2018). 査読無

② M. Watabe, S. N. V. Arjunan, S. Fukushima, K. Iwamoto, J. Kozuka, S. Matsuoka, Y. Shindo, M. Ueda, and K. Takahashi, “A computational framework for bioimaging simulation”. PLoS ONE 10, e0130089 (2015). 査読有

〔学会発表〕 (計 件)

〔図書〕（計 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

○取得状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。