

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 20 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2011

課題番号：23650115

研究課題名（和文） 生体機能システムの頑健性と適応性の基本原理の探索

研究課題名（英文） Exploration of Fundamental Principle of Robustness and Adaptability of Biological Functional Systems

研究代表者

小松崎 民樹 (KOMATSUZAKI TAMIKI)

北海道大学・電子科学研究所・教授

研究者番号：30270549

研究成果の概要（和文）：

「熱的に揺らぐ環境下において如何にしてシステムが適応し、頑健に機能を生んでいるのか」を実データに基づいて解明するため、任意の確率分布に従うノイズを包含する時系列データから、背後の物理量を客観的に抽出する方法論、および多変数間の高次相関、およびそれを支配する情報理論的モジュール構造を定量化する方法論を新規に開発した。また、一分子酵素反応の動態解析において世界中で最も使われている時系列解析法は間違った解釈を与える可能性が高いことなどを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

To unveil the question of “how can complex systems adapt to the environmental changes and provide functions robustly in a thermal fluctuating world” on the basis of novel data-driven approach, two novel methods are developed: The one can extract the underlying physical quantity from a noisy single molecule time series whose noise is represented in terms of any probability distribution function, and the other can quantify higher order correlation among multivariate variables and identify irreducible information theoretic modular structure. We showed that the most conventionally used data analysis for single molecule biophysics (enzymatic reactions) led us to a physically incorrect interpretation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	1,300,000	390,000	1,690,000

研究分野：数物系科学

科研費の分科・細目：物理学・生物物理・化学物理

キーワード：カオス、生物物理、ネットワーク、情報数理、複雑系

1. 研究開始当初の背景

現代生命科学は構成要素を網羅的に列挙する「分析的・博物学的理解」からシステム全体を捉える「統合的理解」への大きなパラダイムの転換期にある。しかしながら、生命動態システムを理解するうえで、仮説志向（モデル駆動）型アプローチでは、先験的に想定したモデルから到達可能な帰趨を越えることはない。一方、熱揺らぎ下、数 100—数 1000 点の有限点で、かつ遷移回数も（最大で）数 10 点程度しか観測されない 1 分子

時系列データから背後に存在する数理モデルを“掘り起こす”時系列解析理論もいくつか開発されてきた。しかしながら、ミクロとマクロの階層のあいだの隷属原理を越えて、如何に生命システムの構成要素が互いに関係しあい、環境に適応し、機能を頑健に生起し得るのかを考察しえる解析基盤は全く整備されていない。

例えば、酵素反応は、生体内代謝、活性調節、分子認識の仕組みを理解するうえで中心的な役割を果たすことが知られている。近年、

一分子レベルで実際に生起する酵素反応では、各素過程の反応速度定数は酵素分子がもつ多様な構造毎に異なり、酵素反応はゆっくりと変化する酵素分子の多型構造に由来して多様な時間スケールの揺らぎを持つと解釈されている (Dynamic disorder と呼ばれている) (*Nature Chem. Bio.* 2, 87 (2006))。一分子計測は、一分子の振る舞いを観測することができる一方、光子の数揺らぎ、光化学などに由来する様々なノイズを伴う。反面、集団平均に依拠する従来の計測技術では平均化ゆえ S/N 比は抑えられる。そのため、一次元時系列情報からノイズを除去して背後の物理量を同定する客観的な方法論、背後の多元的な情報を抽出する方法論が待望視されている。

2. 研究の目的

生命システムは熱ゆらぎと拮抗しながら、多くの場合、わずか数 $k_B T$ のイベントである生体機能を頑健に生起する一方で、環境の大きな変化に適応する複雑系である。そこでは、揺らぎを伴うメソスコピックな細胞レベルの非平衡性と分子の個別性が重要となるミクロスコピックな化学反応や分子の構造変化が動的に結合している。ゆえに、階層毎に異なる理論体系では、ミクロとマクロをつなぐ生命システムを完全に理解することは困難であり、新しい原理・方法論が必要とされる。本研究課題では「熱的に揺らぐ不定な環境下において、如何にして生命システムがミクロからマクロの階層を通して、環境に適応し、機能を頑健に生み得るのか」を理解するため、情報理論、カオス力学系理論を有機的に統合し、多値的かつ多次元の 1 分子時系列データから生命システムの機能原理を問うための時系列解析理論を検討・開発する。

3. 研究の方法

情報理論に基づく計算力学、カオス力学系理論に加えて、高次推論、情報工学などで発展してきた諸理論・概念を分野横断的に統合し、「熱的に揺らぐ環境下において如何にして生命システムが適応し、頑健に機能を生んでいるのか」を“(観測ノイズに晒された、短時間長の) 一分子時系列データに基づいて系自身に語らせる”新しい方法論を検討する。具体的には

- (1) 一分子時系列情報から観測ノイズを取り除く統計科学における変化点法などに立脚した新しい情報論的アプローチの開発
- (2) 多値的かつ多次元の 1 分子時系列データからシステムを構成する要素間の従属関係、情報伝達を定量化する方法論の検討。情報幾何学と連結情報量と呼ばれる量のあいだの関係を考察し、情報論的なモジュール構造を同定する。
- (3) 最大エントロピー原理に基づき、一分子

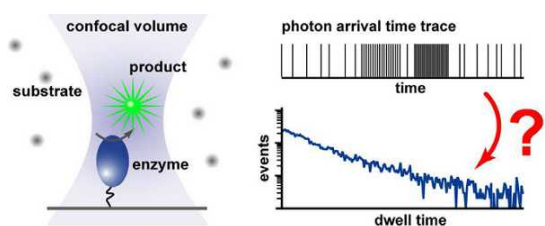
時系列情報から、背後に存在する数理モデル (ネットワーク) を抽出し、それらのあいだの情報伝達と情報伝達を律する経路や重要な状態を同定する。

4. 研究成果

(1) 一分子時系列情報から観測ノイズを取り除く統計科学における変化点法などに立脚した新しい情報論的アプローチの開発

一分子蛍光分光法では、酵素反応における反応過程は、基質分子が酵素分子に結合する「オン」状態、基質分子が酵素分子から離れる「オフ」状態の 2 つの状態間の遷移の時系列データから評価される (下図)。もっともよく使われている状態同定法は、時間軸に沿ったフォトン列をある一定の時間幅でビンニング処理を行って蛍光強度の時系列に変換したのち、適当な閾 (しきい) 値を設定し、その閾値よりも高い (低い) 蛍光強度をもつ時間領域をオン (オフ) 状態と同定する。そして、そのオン・オフ状態の時系列データが有する (多様な時間スケールをもつ) キネティックスから酵素の構造多型性の重要性が提唱されてきた。

本研究では、計算機シミュレーションならびに α -キモトリプシンの一分子観察データに対して、この従来法と (情報理論に依拠する) 変化点解析を適用し、それらの結果を系統的に比較した。その結果、シグナル/ノイズ比が無視できない場合ならびにバックグラウンドノイズが一定でない場合は、従来法は誤った解釈を導く可能性が極めて高いこと、dynamic disorder をもつとされていた α -キモトリプシンにおいては、その存在は実は有意に認められないことなどを新規に明らかにした。



本研究は、一分子動態解析に関して新しい強固な解析手法を提示すると同時に、構造多型性など一分子レベルと集団レベルとの質的な違いを正確、かつ客観的に同定できるものとして期待されている。本研究は、一分子酵素反応の動態解析において、現在、世界中でもっともよく使われている一分子時系列解析方法は間違った解釈を与える可能性が

高いことを示している（本研究成果は『ACS Nano』1月号のハイライトに取り上げられた）。

また、任意の確率分布関数に対するノイズをもつ観測値の時系列データから、背後に存在する物理量を評価する解析理論を新規に開発した。当該理論は、非バイアス度を最大化（＝測定結果から評価された物理量の期待値の、背後に存在する物理量の真値からのズレを最小化）したり、リスクを最小化（＝真値からのズレの期待値）することが可能となり、データのサンプル数に応じて、適時選択することができる。蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）測定する際に得られる光子のパルス列をシミュレートし、背後に存在する色素分子間距離を推定し、これまで提案されてきた情報論的ベニング解析+最尤推定よりも優れていることを示すことに成功した（投稿準備中）。

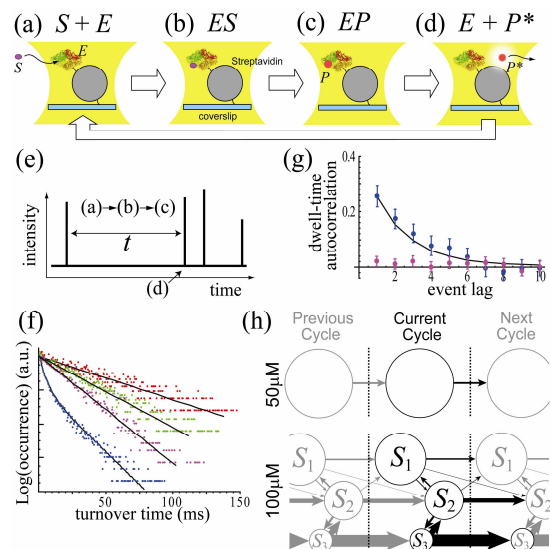
(2) 多値的かつ多次元の1分子時系列データからシステムを構成する要素間の従属関係、情報伝達を定量化する方法論の検討。

多変量からなる複雑な系に対して、背後に存在する力学方程式などが未知の状況のもと、限られた多変量データから如何にして背後に存在する変数のあいだの（高次相関などの）階層的従属関係を推論することができるかという問いは、生物物理において最重要課題のひとつである。情報理論に基づく連結情報量と呼ばれる手法を用いて、マイクロ変数の結合確率が与えられたときに、それらの変数のあいだの階層的従属関係、どのような場合に、全結合確率のエントロピーがべき集合を構成する複数の変数群のエントロピーに分解できるか、換言すると、全体の挙動が構成要素の局所的挙動の単なる“和”で評価できるか否か、に関する基礎理論を構築した。情報理論的なモジュール構造と呼ぶべきもので、時系列データから構成される局所平衡・詳細釣り合いを前提としない、状態空間の階層的遷移ネットワークの解析に今後適用できるものと期待される（応用数学国際会議で招待講演）。

(3) 一分子時系列情報から、背後に存在する数理モデル（ネットワーク）の抽出手法の開発

近年の一分子実験の進展は、酵素の触媒反応における1分子レベルでの酵素-基質相互作用の実時間測定を可能とした。ミカエリス・メンテン反応におけるDynamic disorderとは(e.g. *Nat. Chem. Bio.*, 2, 87 (2006))、

1分子レベルでは、酵素の構造間遷移の時間スケールと（基質濃度で制御される） $E+S \leftrightarrow ES \rightarrow E+P$ の反応時間スケールが拮抗する濃度領域が存在し、そこでは、非指数型キネティクスが顕在化するというものである。下図(e)に示すようなdwell-time時系列データが与えられたとき、自己相関関数などのキネティクスを再現するキネティックスキーム(KS)は原理的に無数に存在する。換言すると、dwell-time時系列データの統計的な相関情報からKSを一義的に同定することができない。我々は「すべての可能なKSのなかで、同等の予測性能をもち、最小かつ客観的(unbiased)なKSをデータから抽出する方法論を新規に開発した。下図にEscherichia coli



図：バースト時系列から構成された、一分子酵素反応ターンオーバー実験における最小で予測性能が高くunbiasedなキネティックスキーム(KS)。(a)-(d) 一分子酵素反応実験の概略(S: 基質, E: 酵素, ES: 酵素-基質対, EP: 酵素-生成物対, P*: 蛍光を発する生成物)。(e) 蛍光強度のバースト時系列。P* が共焦点領域に存在している間だけ光子が観測される。バースト間の“dark” dwell time t は触媒反応のターンオーバー時間に対応する。(f) 異なる基質濃度[S]におけるターンオーバー時間のLog-linearヒストグラム:[S] (red: 10 μ M, green: 20 μ M, purple: 50 μ M, blue: 100 μ M)。ドットが実験値、実線がKSから求められた解析解。(g) [S]=50 μ M および 100 μ MにおけるDwell time自己相関関数。実線がKSから求められた解析解。(h) [S] = 50 μ M および 100 μ MにおけるKS。現在のターンオーバーサイクルの状態およびその状態からの遷移を黒の実線で、前回および次のサイクルのものを灰色の実線で示している。ここで、各状態からの遷移のうち、自分自身への状態遷移は省略している。

β -galactosidaseの一分子酵素ターンオーバー実験により得られたdwell-time時系列データに対する我々の方法論を適用した結果を示す。

この解析結果を通して、我々は様々な基質濃度に対する一分子酵素反応の分子記憶、非指数型キネティクス (dynamic disorder) の起源をデータ駆動的に再構成されたKSに基づいて議論することが可能となる。例えば、基質濃度100 μ Mでは、顕著な分子記憶が存在するが、データ駆動的に構成されたKSは自己相関関数を再現する。また、対応する反応ネットワークも基質濃度依存的に変化している (現在、投稿中)。

本研究の成果は、イオンチャネルなどにも適用できその応用範囲は広く、生体機能システムの頑健性と適応性の基本原理を探索する有用な解析手法として期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計3件)

- ① Tatyana Terentyeva, Hans Engelkamp, Alan Rowan, Tamiki Komatsuzaki, Johan Hofkens, Chun Biu Li, Kerstin Blank, "Dynamic Disorder in Single Enzyme Experiments: Facts and Artifacts" ACS Nano 6 (1), 346-354(2011)、査読有
- ② Naoki Miyagawa, Hiroshi Teramoto, Chun-Biu Li and Tamiki Komatsuzaki, "Decomposability of Multivariate Interactions" Complex Systems 20, 165--179(2011)、査読有
- ③ Naoki Miyagawa, Hiroshi Teramoto, Chun-Biu Li and Tamiki Komatsuzaki, "Spatial Heterogeneity of Multivariate Dependence" AIP Conference Proceedings "International Conference of Numerical Analysis and Applied Mathematics 2011" 1389, 991 (2011)、査読有

[学会発表] (計7件)

- ① 宮川尚紀, 寺本央, 李振風, 小松崎民樹 : 「大域的パターンの連結情報量とその分解可能性」、日本物理学会第67回年次大会、関西学院大学西宮上ヶ原キャンパス (兵庫県) (2012年3月27日)
- ② 小松崎民樹 : 「1分子実験を読み解くための新しい実践型分子理論を目指して」、日本化学会第92春季年会「第2次先端ウォッチング 高次分子システムのための分子科学: 実験と理論の挑戦」、慶応大学 (神奈川県) (2012年3月26日)

- ③ 宮川尚紀, 寺本央, 李振風, 小松崎民樹 : 「階層構造をつくる多変数確率過程の数理」、分子科学討論会(札幌)2011、札幌コンベンションセンター (札幌市) (2011年9月21日)
- ④ T. Komatsuzaki, "Mining" an effective Energy landscape of a protein from single molecule time series Telluride Workshop on Protein Dynamics, Telluride Intermediate School(USA) (August 1 2011)
- ⑤ T. Komatsuzaki, "How can we "mine" effective energy landscapes of proteins from single molecule time series in the violation of local equilibrium and detailed balance?" Telluride Workshop on Exploring energy landscapes, from single molecules to mesoscopic models, Telluride Intermediate School(USA) (July 25 2011)
- ⑥ T. Komatsuzaki, "Digging" single molecule time series to "mine" the underlying effective energy landscape" Telluride Workshop on Single Molecule Dynamics, Telluride Intermediate School(USA) (June 27 2011)
- ⑦ T. Komatsuzaki, "Mining State Space Network from Single-Molecule Time Series" Telluride Workshop on Complexity of Kinetics and Dynamics in Many Dimension, Telluride Intermediate School(USA) June 20 (2011)

[その他]

ホームページ等

<http://pubs.acs.org/doi/pdfplus/10.1021/nn2050328>

<http://www.es.hokudai.ac.jp/result/item.html?id=18>

http://www.hokudai.ac.jp/bureau/topics/pdf/120206_es.pdf

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小松崎 民樹 (KOMATSUZAKI TAMIKI)

北海道大学・電子科学研究所・教授

研究者番号: 30270549

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし