

平成 28 年 6 月 9 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25650044

研究課題名(和文) 分子個性を彫り出すシステム生物学の探求

研究課題名(英文) Exploration of Systems Biology of Molecular Individuality

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：開いているか/閉じているか、結合しているか/離れているか、といった有限個で連続的でない飛び飛びの値をもつ分子の時系列データから、分子の状態をネットワークという表現を用いて客観的に評価し、分子が将来取り得るデータ出力を予想する新しい解析手法を開発することなどに成功した。また、背後のモデルをあらかじめ想定しない汎用なデータ解析手法を開発し、細胞内“エネルギー通貨”であるアデノシン三リン酸(ATP)を合成するタンパク質F1-ATPaseにおける高効率なエネルギー変換の重要な仕組みを解明した。ATPの加水分解反応が反応順序を制御する“鍵”の役割をすることを新規に発見した。

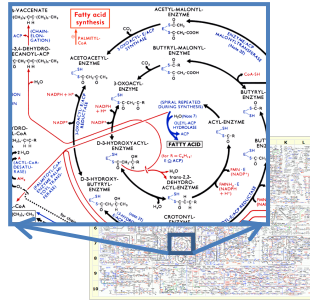
研究成果の概要(英文)：From single molecule finite time series that changes discretely such as opened or closed, (substrate) bound or unbound, we developed a novel analysis method that objectively elucidates the state of molecules in terms of network representation and enables us to predict the future output of the molecular data in time. In addition, by developing a novel data analysis method that does not assume a form of function of likelihood, we revealed the molecular mechanism of efficient energy conversion in F1-ATPase that synthesizes “energy money” inside cell, ATP, and ATP hydrolysis designs the order of reactions.

研究分野：化学物理・生物物理

キーワード：分子個性 情報理論 F1-ATPase ネットワーク 1分子計測 変化点解析

### 1. 研究開始当初の背景

細胞内の代謝反応ネットワークなどの生命動態システムは、通常、各化学成分の濃度を変数とする連立微分方程式として表現される(下図: 大腸菌の代謝ネットワーク <http://web.expasy.org/>)。しかしながら、元来、濃度は統計性が保証されるマクロレベルにおいて成立する概念であり、1細胞レベルで分子の構造の多型性やダイナミクスの多様性などの分子レベルの“個性”を“濃度”として単純化できる保証はない。



近年、単一細胞に内在する mRNA・タンパク質分子数の時間的・集団的ゆらぎが明らかにされ、細胞内のタンパク質には、平均 10 個程度しか存在しないものもあることなどが判明した(谷口ら *Science* 2010)。すなわち、「数の原理」から、分子個性を細胞システムのなかで無視できるとは限らないことを意味する。一方、この 10 年の間、構造多型性(Englishら *Nature Chem Biol* 2006)などの新しい 1 分子由来の現象が示唆されてきたが、生体分子の“個性”がどれくらい生き残っているかを客観的に定量化できる解析理論は皆無であった。

### 2. 研究の目的

観測される時系列情報から背後に潜む系の多次元自由エネルギー地形や(自由エネルギー地形が前提とする局所平衡や詳細つり合いが、有限時間、一分子レベルで成り立たない場合の)非平衡定常状態反応ネットワークなどを彫り起こし、細胞内化学反応ネットワークなどの複雑な生命動態システムにおいて、どれくらい分子個性(=構造の多型性、ダイナミクスの多様性)が生き残り得るのかを定量化し得る解析理論を新たに探求する。統計性、時間スケールの分離を前提としないで、マイクロな分子階層とマクロなシステム階層の相関関係を考察するための汎用な解析基盤の創出を目指す。

### 3. 研究の方法

English らの一分子酵素反応実験(*Nature Chem Biol* 2006)のように、ON/OFF のような二値的な離散時系列データがもつすべての統計的性質(一体分布関数、二体、三体、...、多体相関関数)が与えられたとする(実験で評価可能)。このとき、それらの高次相関のキネティクスを再現する反応ネットワークは原理的に無数に存在する。本研究では、情報理論に基づいて、それらすべての可能な

反応ネットワークのなかで、同等の予測性能をもち、かつ最小な反応ネットワークをデータから忠実に抽出する方法論を新規に開発する。ついで、分子記憶、分子個性の起源をデータ駆動的に抽出された反応ネットワークに基づいて探求する。具体的には、客観性の尺度を新たに導入し、観測されたデータ(統計分布)が保証しない過剰情報量を定義し、その情報量を最小にする反応ネットワークを導出するアルゴリズムを開発する。分子個性(=構造多型性、分子記憶)を一分子酵素反応実験データから抽出される反応ネットワークに立脚して調べる。

### 4. 研究成果

(1) 分子の状態をネットワークという表現を用いて表し、分子の時系列データから、ネットワークを構成するノードがどれくらいの数存在し、どのノードとどのノードが強くつながっているかを客観的に評価する数学的手法を開発した。時系列データは一次元の、非常に限定された情報であるため、それらの評価には恣意性が入り込む余地が高いことが知られている。我々は、考え得るすべてのネットワークにおいて、観測されたデータが保証していない情報がどれくらい組み込まれているかを定量化する新しい指標を考案し、その指標を最小化する(データに忠実、かつ最も客観的な)ネットワークを時系列データから抽出するアルゴリズムを開発することに成功した。この手法を一分子酵素反応の一分子計測データ(Englishら *Nature Chem. Bio.* 2006)の解析に適用した。その結果、反応する相手の基質分子の濃度に依存してネットワークが動的に変化し、分子個性の是非が基質濃度に依存すること、最小限の過剰情報量をもつネットワークを導入することによって、どのようなデータを取得すると正しいネットワークに最も近い答えを導き得るかに関する知見が得られることを新規に明らかにした。

(2) 細胞膜上の上皮成長因子受容体(EGFR)とアダプタータンパク質である Ash/Grb2 (Morimatsuら *PNAS*, 2007)の分子認識過程の *in vitro* 再構成系の二値化された一分子時系列データから背後に存在する階層的な状態遷移ネットワークを抽出し、ネットワークの状態、経路に依存して自己相関の時間スケールが不均一であること、EGFR と Ash/Grb2 が解離すると、迎ってきた経路の情報が“消去”されること、などを新規に明らかにした。

(3) 蛍光共鳴エネルギー移動一分子計測では、分子が発する蛍光強度を通して分子の動きの経時変化を観察する。しかしながら、一つの分子が発する蛍光は微弱であり、かつ数百回程度の有限回数しか観測することができないため、有限のサンプル数及び計測そのものに由来する測定誤差を有している。そのため、現在、これらの誤差を正しく評価し背

後に存在する分子の情報の詳細を正しく抽出する解析手法が必要とされている。我々は有限個のサンプルから多数の“観察データ”を擬似的に発生させるブートストラップ法と呼ばれる統計手法を用いて、実験誤差存在下におけるデータの不確かさを定量化し、データの各切片を個々の分子状態に分類し、その分類の確かさを同時に同定するソフトクラスタリングと呼ばれる情報科学的手法を導入した新しい解析方法を開発した。

この新しい手法を中枢神経系における情報の伝達を仲介するタンパク質として知られる AMPA 受容体の蛍光共鳴エネルギー移動一分子計測における時系列データに適用した。基質が結合する AMPA 受容体のドメインが“閉じた構造”で安定であるほど、情報伝達を媒介するカルシウムイオンが細胞膜を横切って移動すると考えられていたが、安定性だけでなく、受容体と基質が結合している際にいくつの異なる分子を有しているか、また、それらの分子状態の間の行き来のしやすさがイオンの膜透過活性に大きく影響していることを明らかにすることに成功した。

(4) ATPase (以下 F1) はアデノシン三リン酸 (ATP) 加水分解に駆動されて回転する分子モーターであり、分子構造変化と複数の中間反応を巧妙に組み合わせることで、効率よく化学エネルギーを回転の力学エネルギーに変換することができる分子機械として知られている。その際に、F1 に結合した ATP (以下、結合 ATP) の加水分解については、反応生成物の結合解離経過と比べて回転に必要なトルク発生への寄与が少なく、放出エネルギーも全体から見ても僅かであり、結合 ATP の加水分解が F1 の反応サイクルのなかでの役割、寄与度については、よくわかっていなかった。本研究では、恣意性をできるだけ挟まない形で、F1 の回転時系列データから回転停止時間とその間の回転角度揺らぎの統計を解析するため、ノイズの性質をできるだけ仮定しない変化点解析とファジークラスタリングを組み合わせた手法を開発した。その手法とマイクロ秒時間分解能での F1 一分子の回転観察を組み合わせ、回転時系列データの回転停止プロセスのキネティクスを詳細に調べた。その結果、結合 ATP 加水分解反応は、トルクやエネルギー発生量が少ないにもかかわらず、回転角度が 20 度ほど変化させることで、リン酸解離反応の反応障壁を大きく減少させていること、すなわち、リン酸解離反応にかけられていた「ロック」を「解除」して (ATP 加水分解 リン酸解離といった) 正しい反応順序を維持するための「鍵」としての役割を担っていることを明らかにすることに成功した。

(5) 反応ネットワークにおいて、あるノードとあるノードを繋ぐ経路の多重性を考慮に入れつつ、ネットワークを縦断する任意の断面のなかから、往来する時間スケールがもっとも遅い断面をネットワークの遷移

状態として定義し、既存の遷移状態理論を複数の素反応から構成される、より複雑なネットワーク系へ拡張することに成功した。

## 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 13 件)

S. Tsubawa, N. Hervieux, O. Hamant, A. Boudaoud, R. S. Smith, C.B. Li and T. Komatsuzaki, Extracting subcellular fibrillar alignment with error estimation: Application to microtubules, *Biophysical Journal*, 査読有, 110, 2016, 1836-1844, DOI: 10.1016/j.bpj.2016.03.011

C.B. Li, H. Ueno, R. Watanabe, H. Noji, T. Komatsuzaki, ATP hydrolysis assists phosphate release and promotes reaction ordering in F1-ATPase, *Nature Communications*, 査読有, 6, 2015, 1-9, DOI: 10.1038/ncomms10223

Y. Nagahata, S. Maeda, H. Teramoto, T. Horiyama, T. Taketsugu, and T. Komatsuzaki, Deciphering Time Scale Hierarchy in Reaction Networks, *The Journal of Physical Chemistry B*, 査読有, 120, 2015, 1961-1971, DOI: 10.1021/acs.jpcc.5b09941

J. N. Taylor, C.B. Li, D. Cooper, C. F. Landes and T. Komatsuzaki, Error-based Extraction of States and Energy Landscapes from Experimental Single-Molecule Time-Series, *Scientific Reports*, 査読有, 5, 2015, 9174-1-9174-9, DOI: 10.1038/srep09174

H. Yaginuma, S. Kawai, K. V. Tabata, K. Tomiyama, A. Kakizuka, T. Komatsuzaki, H. Noji, H. Imamura, Diversity in ATP concentrations in a single bacterial cell population revealed by quantitative single-cell imaging, *Scientific Reports*, 査読有, 4, 2014, 6522-1-6522-7, DOI: 10.1038/srep06522

B. Shuang, D. Cooper, J. N. Taylor, L. Kisley, J. Chen, W. Wang, C.-B. Li, T. Komatsuzaki, C. F. Landes, Fast Step Transition and State Identification (STaSI) for Discrete Single-Molecule Data Analysis, *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 査読有, 5, 2014, 3157-3161, DOI: 10.1021/jz501435p

T. Sultana, H. Takagi, M. Morimatsu, H. Teramoto, C.B. Li, Y. Sako, and T. Komatsuzaki, Non-Markovian properties and multiscale Hidden

Markovian Network Buried in Single Molecule Time Series, The Journal of Chemical Physics, 査読有, 139, 2013, 245101-1-245101-12, DOI: 10.1063/1.4848719

Y. Matsunaga, A. Baba, C.B. Li, J. Straub, M. Toda, T. Komatsuzaki and R. S. Berry, Spatio-temporal hierarchy in the dynamics of a minimalist protein model, The Journal of Chemical Physics, 査読有, 139, 2013, 215101-1-215101-13, DOI: 10.1063/1.4834415

C.B. Li and T. Komatsuzaki, Aggregated Markov Model Using Time Series of Single Molecule Dwell Times with Minimum Excessive Information, Physical Review Letter, 査読有, 111, 2013, 058301-1-058301-5, DOI: 10.1103/PhysRevLett.111.058301

S. Kawai, D. Cooper, C. F. Landes, H. D. Mootz, H. Yang, and T. Komatsuzaki, Numerical Construction of Estimators for single-molecule fluorescence measurements, The Journal of Physical Chemistry B, 査読有, 117, 2013, 8061-8074, DOI: 10.1021/jp402328m

[学会発表](計 75 件)

T. Komatsuzaki, "Toward deciphering cell individuality in systems biology", Symposium #137 Life at Small Copy Numbers (The 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies), 2015 年 12 月 20 日, Hawaii, USA

T. Komatsuzaki, "Energy landscapes and conformation network learned from single molecule time series", Symposium #121 Deciphering molecular complexity from protein functions to cellular network (The 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies), 2015 年 12 月 15 日, Hawaii, USA

T. Komatsuzaki, "Single Molecule Biophysics: How can One Dig the Underlying Network from Noisy and Short Time Series?", International Conference on "Challenges in Data Science: a Complex Systems Perspective", 2015 年 10 月 14 日, Torino, Italy

小松崎 民樹, 「1 分子時系列データから解読するエネルギー地形とネットワーク」, 「データ駆動科学の新展開」ミニ研究会, 2015 年 9 月 24 日, 北海道大学百年記念会館大会議室(北海道札幌市)

T. Komatsuzaki, "A kinetic disconnectivity graph to decode

timescale hierarchy buried in reaction networks", Chemistry and Dynamics in Complex Environments, 2015 年 6 月 23 日, Telluride, CO., USA

T. Komatsuzaki, "Energy Landscapes learned from Single-Molecule Time-Series: Dimensionality and Disconnectivity Graph", The Complexity of Dynamics and Kinetics from Single Molecules to Cells, 2015 年 6 月 15 日, Telluride, CO., USA

T. Komatsuzaki, "Energy landscapes derived from single molecule spectroscopy and complex networks", Architecture, dynamics, and functionality of molecular Biosystems, 2015 年 3 月 31 日, The Institute for Molecular Science(愛知県岡崎市)

T. Komatsuzaki, "A kinetic disconnectivity graph to decode

timescale hierarchy buried in reaction networks", XIXth International Workshop on Quantum Systems in Chemistry, Physics and Biology, 2014 年 11 月 16 日, New Taipei City, Taiwan

C.B. Li and T. Komatsuzaki, "Challenges in Understanding Complex Systems at the Single Molecule Level", New Challenges in Complex Systems Science, 2015 年 10 月 25 日, Nishiwaseda Campus, Waseda University(東京都新宿区)

小松崎 民樹, 「少数性の生物学において顕在化する分子個性」, 日本物理学会 2014 年秋季大会, 2014 年 9 月 9 日, 中部大学春日井キャンパス(愛知県春日井市)

T. Komatsuzaki, "Energy landscapes learned from time series and networks", Energy Landscapes: From Single Molecules to Soft Matter, 2014 年 8 月 20 日, Durham, UK

T. Komatsuzaki, "Energy Landscapes Constructed From Single-molecule Time Series And Reaction Networks", Macromolecular dynamics: structure, function and diseases, 2014 年 6 月 27 日, Beijing, China

T. Komatsuzaki, "Energy Landscapes Constructed From Single-Molecule Time Series and Reaction Networks", The 2014 Les Houches - TSRC Protein Dynamics Workshop, 2014 年 5 月 21 日, Les Houches, France

小松崎 民樹, 「分子個性(Dynamic disorder): 一分子生物学から生まれた新しい概念?」, 第 2 回バイオ単分子研究会, 2013 年 11 月 10 日, つなぎ温泉紫苑(岩手県盛岡市)

小松崎 民樹, 「分子イメージングから要素間の高次相互作用の定量化に向けて」, 第 51 回日本生物物理学会年会, 2013 年 10 月 29 日, 国立京都国際会館 (京都府京都市)

小松崎 民樹, 「Dynamic Disorder 再考: 解析の虚実」, 研究会「理論と実験」2013, 2013 年 10 月 11 日, 広島大学理学部 (広島県東広島市)

T. Komatsuzaki, "Revisiting Energy Landscape, Timescale, Coarse-Graining", Chemistry and Dynamics in Complex Environments, 2013 年 6 月 27 日, Telluride, CO., USA

小松崎 民樹, 「データ駆動型モデリングと一分子動態解析における虚実」, 日本顕微鏡学会第 69 回学術講演会, 2013 年 5 月 22 日, ホテル阪急エキスポパーク (大阪府吹田市)

〔図書〕(計 1 件)

Thomas Peacock, George Haller : 小松崎民樹 訳, 丸善出版株式会社, パリテイ 11 月号「ラグランジュ協同構造 流体の流れに隠れた骨格」, 2013, 80(4-12)

〔その他〕

ホームページ等

北海道大学電子科学研究所、分子生命数理研究分野ホームページ

<http://mlns.es.hokudai.ac.jp/>

プレス発表 ノイズを含むデータから分子の状態とそれらのネットワーク。。。

[http://www.hokudai.ac.jp/pr/150318\\_es\\_pr.pdf](http://www.hokudai.ac.jp/pr/150318_es_pr.pdf)

ノイズを含むデータから分子の状態とそれらのネットワーク。。。

<http://www.es.hokudai.ac.jp/result/2015-03-18-mlns/>

Novel method developed to extract...

<http://www.oia.hokudai.ac.jp/blog/novel-method-developed-to-extract-molecular-states-and-their-network-from-noisy-single-molecule-time-series-data/>

回転分子モーターF1-ATPase の化学-力学エネルギー変換における ATP 加水分解反応の役割解明!

<http://www.es.hokudai.ac.jp/result/2015-12-18-mlns/>

Single Molecule Chemo-mechanics...

<http://www.oia.hokudai.ac.jp/blog/31871/>

## 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) 連携研究者

李 振風 (LI Chun-Biu)

北海道大学・電子科学研究所・准教授  
研究者番号 : 90397795

河合 信之輔 (KAWAI Shinnosuke)  
北海道大学・電子科学研究所・特任助教  
研究者番号 : 90624065