

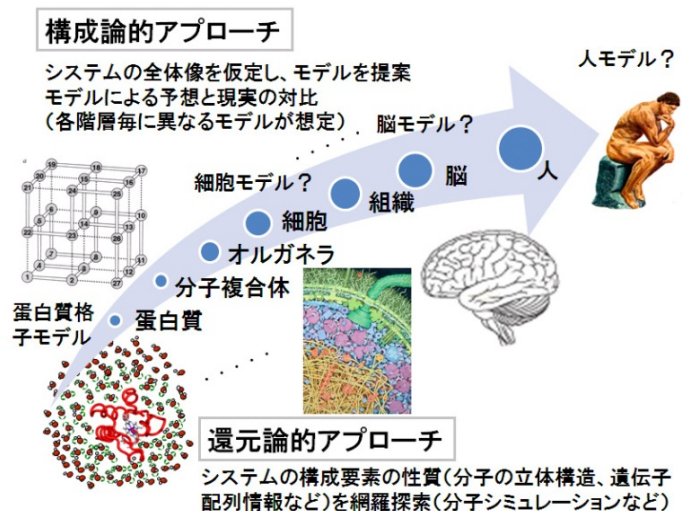
複雑分子系を読み解くための新しい1分子理論

(北大電子研) Chun Biu Li, 小松崎民樹

New molecule theories to decipher complex molecule systems in single molecule biology

(Hokkaido Univ., Research Inst. for Electronic Sci.) Chun Biu Li, Tamiki Komatsuzaki

【序】分子複合体⇒細胞⇒脳などの生命階層において、どこまで分子科学が貢献できるか、は普遍的かつ挑戦的な問いである。飛躍的な計算機性能の向上により、ちょうど蛋白質の折り畳みの計算シミュレーションが不可能であった1970年代に、二次元格子モデルで折り畳みの分子論が試みられたように、細胞内化学反応、細胞分化を模倣する細胞モデルなど新たな試みもなされている。しかしながら、階層毎にモデルを構成するアプローチでは、自然と乖離する可能性は常に存在し、一方で、系が巨大になればなるほど、現実問題として、大きな仮定(例えば、細胞内の蛋白質を質点で近似)なしには、シミュレートすることも極めて困難である。そのような巨大な複雑分子系に対してどのような分子理論的アプローチがあり得るであろうか？ひとつにはシステムの構成要素の性質を参照しつつ、適時、近似を導入しながら、シミュレートする還元論的なアプローチであろう。一分子計測技術等の飛躍的な進展により、「観測」の在り方が大きな変貌を遂げ、サブミリ秒程度の時間分解能で、一分子レベルの大規模構造変形や細胞の分化の経時変化をin vivoで直接観測できるようになってきた[1]。本研究では還元論的なアプローチと構成論的なアプローチを補完する新しい戦略、すなわち、(分子の微環境情報を反映した)1分子時系列データから、背後に存在する(であろう)モデル(細胞モデルなど)を予め規定するのではなく、複雑環境下での分子の“状態”、“状態遷移ネットワーク”、“エネルギー地形”などを彫り起こす実践型の新しい分子理論、に関する我々の最近の研究成果を報告する[2-7]。



【理論】酵素反応におけるDynamic disorderとは一分子レベルにおいて非指数型キネティクスが顕在化することを意味する。非指数型キネティクスは酵素の構造間遷移の時間スケールと $E+S \rightleftharpoons ES \rightarrow E+P$ の反応時間スケールが拮抗する濃度領域で生じる。その濃度領域では、酵素が完全に構造緩和する前に次の反応が生起するため、構造の記憶が反応のキネティクスに影響を及ぼすためである[8]。このDynamic disorderの起源を論じるうえで、観測された時系列そのものから背後に存在する状態遷移ネットワーク、キネティクススキーム(KS)、が抽出できれば、極めて有用な情報を与えるものと期待される。しかしながら、一般に、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クススキーム(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、同等の最大予測性能をもち、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。

端的にいうと、最小のKSを時系列情報から求められる(定常状態分布関数で評価される)すべての高次相関を再現するKSの集合で一番状態数が少ないものとして定義する。更に、最小のKSの集合の中から、観測された時系列データから読み取れる情報を越えて系に対する性質を導入しない

という基準に立って、最も unbiased な KS を定義する。恣意性の強弱を情報理論におけるシャノンのエントロピーに基づいて評価し、最も unbiased な KS を同定する(詳細な説明は当日行う予定)。

【結果と考察】 図1にEscherichia coli 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。(a)-(d)に一分子酵素反応実験の概略を、(e)には蛍光発光する生成物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時系列を示している。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している。(f)は異なる基質濃度 $[S]$ におけるターンオーバー時間のLog-linearヒストグラムを示しており、基質濃度 $100 \mu\text{M}$ では非指数型キネティクスに移行することが分かる。(g)は $50 \mu\text{M}$ および $100 \mu\text{M}$ におけるDwell timeの自己相関関数を示しており、 $100 \mu\text{M}$ では、顕著な分子記憶が存在することが分かる。(h)はデータ駆動的に抽出された $50 \mu\text{M}$ および $100 \mu\text{M}$ におけるKSを示している。現在のターンオーバーサイクルの「状態」(円)およびその状態からの遷移(矢印)を黒の実線で、前回および次回のサイクルのものを灰色の実線で表している。円の面積は相対的な滞在確率の大きさ、矢印の太さは遷移確率の大きさを反映している。また、ここでは、簡単のために、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。(f)および(g)における実線はこれらのKSから求められた解析解を意味しており、基質濃度依存の実験データを忠実に再現していることが分かる。データ駆動的に再構成されたKS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)の起源を論じるうえで、背後に存在する状態と状態間の遷移の繋がりに関する重要な情報を提供するものである。

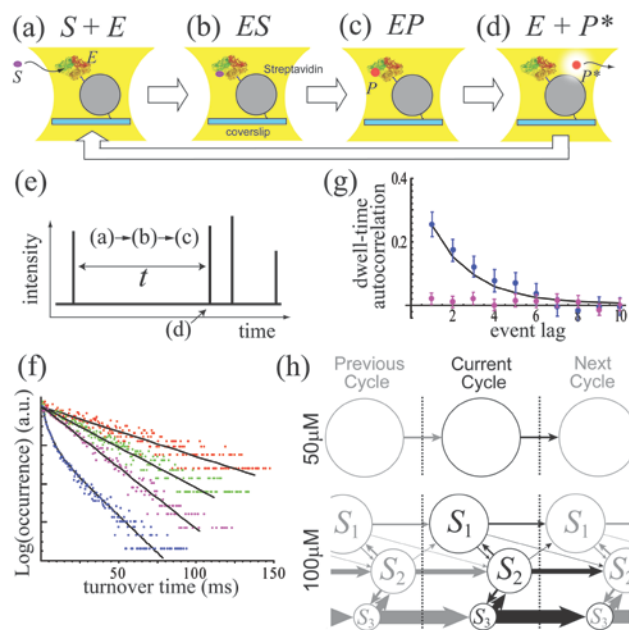


図 1: バースト時系列から構成された、一分子酵素反応ターンオーバー実験における最小かつ最大予測性能をもつ unbiased KS。(a)-(d) 一分子酵素反応実験の概略(S : 基質, E : 酵素, ES : 酵素-基質対, EP : 酵素-生成物対, P^* : 蛍光を発する生成物)。(e) 蛍光強度のバースト時系列。(f) 異なる基質濃度 $[S]$ におけるターンオーバー時間のLog-linear ヒストグラム: $[S]$ (red: $10 \mu\text{M}$, green: $20 \mu\text{M}$, purple: $50 \mu\text{M}$, blue: $100 \mu\text{M}$)。ドットが実験値、実線が KS から求められた解析解。(g) $[S]=50 \mu\text{M}$ および $100 \mu\text{M}$ 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) $[S] = 50 \mu\text{M}$ および $100 \mu\text{M}$ 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、前回および次回のサイクルのものを灰色の実線で示している。

【参考文献】

1. "Single Molecule Biophysics: Experiment and Theory" *Adv. Chem. Phys.* **146** ed. by T. Komatsuzaki, S. Takahashi, M. Kawakami, H. Yang & R. Silbey, John-Wiley & Sons, Inc.(2012)
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", **第二次先端ウォッチング調査:融合領域の創生「高次分子システムのための分子科学:実験と理論の挑戦」**, 公益社団法人日本化学会学術研究活性化委員会編 31-34 (2012)
3. Kamagata K, Kawaguchi T, Iwahashi Y, Baba A, Fujimoto K, Komatsuzaki T, Sambongi Y, Goto Y & Takahashi S, *J. Amer. Chem. Soc.* **134**, 11525 (2012).
4. Baba A & Komatsuzaki T, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **13**, 1395 (2011).
5. Li CB, Yang H, & Komatsuzaki T, *J. Phys. Chem. B*, **113**, 14732 (2009)
6. Li CB, Yang H, & Komatsuzaki T, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **105**, 536 (2008).
7. Baba A & Komatsuzaki T, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **104**, 19297 (2007).
8. English BP, Min W, van Oijen AM, Lee KT, Luo G, Sun H, Cherayil BJ, Kou SC, & Xie XS. *Nat. Chem. Bio.*, **2**, 87 (2006)