

論文内容の要旨

論文題目 Fluctuations Induced by Population

Smallness of Signaling Molecules

(シグナル分子の少数性による揺らぎ)

氏名 森下 喜弘

ゲノム科学における実験技術の飛躍的な進歩によって、我々は、細胞内遺伝子ネットワークを構成する多くの遺伝子及び遺伝子間制御関係、ネットワークトポロジーといった多様な知見を得ることが可能となった。そのなかでも、とりわけ定量的な実験によって「各シグナル分子の少数性」が明らかにされた。従来の化学反応論では、分子の量を濃度という連続量で記述していたのに対し、実際の細胞内では各シグナル分子はしばしば数個～数百個という大変少量で存在するのである。分子の少数性は遺伝子発現過程をはじめ多くの化学反応系において大きな揺らぎをもたらすため、システムダイナミクスを理解する上での重要な因子の一つとして近年注目されるようになった。

生命システムにおける揺らぎは、概日周期や発生過程、さらにはスイッチや振動子等の機能をもった遺伝子回路の人工的構築といった、ダイナミクスの正確さが要求される状況下ではネガティブな因子として作用する。その一方で、遺伝的に同一な集団における個性の創出といったポジティブな側面も持つ。さらに、ノイジーな環境で細胞が一見正常に動作して見える背後には、揺らぎを積極的に利用した情報処理の可能性が推察される。

本研究では、シグナル分子の少数性による揺らぎに関して、揺らぎの抑制と揺らぎの利用という二つの側面から研究を行った。前者では、特に遺伝子発現過程の揺らぎに注目し、揺らぎの生成メカニズムと抑制方法を提案した。さらに、提案した手法の有効性をより明確にするために、パラメータ依存性や抑制限界を解析的に導出した。また応用例として、人工遺伝子回路（トグルスイッチ）におけるシステム安定性

の向上に貢献しうることを数値解析によって示した。後者では、揺らぎが細胞内情報処理に与える積極的役割を模索するために、多くの生物に共通して現れる構造である **chemical cascade** と **incoherent feed forward loop** に着目し、揺らぎの存在が SN 比やシグナル選択性の向上に大きく寄与し得ることを理論的に明らかにした。

遺伝子発現過程における揺らぎの抑制

各遺伝子から生成されるタンパク質の個数は、しばしば数十個から数百個程度であるため、発現量は平均の周りを大きく揺らぐことが示唆されてきた (図 1)。筆者はまず、転写・翻訳効率比 (以下、TT 比) という指標を導入し、揺らぎの大きさが生成タンパク質の個数と TT 比の二変数によって記述できることを数値的、解析的に示した。特に生成タンパク質の平均個数が一定の場合、揺らぎは TT 比のみによって決定され、TT 比の単調減少関数となることを明らかにした (Morishita and Aihara, 2004)。

また、生成タンパク質分子と細胞内背景分子との相互作用やタンパク質分子自身の多量体化といったヘテロ・ホモ多量体化過程が揺らぎレベルを効果的に抑制し得ることを明らかにした (背景分子: 細胞内巨大分子や DNA 分子)。これは、確率的に変動するタンパク質生成量の平均値からのずれを、多量体化反応が吸収 (補償) し揺らぎが分散されるためである。揺らぎレベルは、多量体化過程における反応速度や解離定数、相互作用しうる背景分子数といった複数のパラメータに大きく依存する。本研究では、ダイナミクスを支配するマスター方程式に対して線形ノイズ近似を適用することで、揺らぎレベルのパラメータ依存性、抑制最適条件、抑制限界を解析的に導出した。

実際、細胞内環境は様々な巨大分子により大変込み合っており (**macromolecular-crowding** と呼ばれる)、細胞内化学反応は希薄溶液内の反応とは異なり、タンパク質のフォールディングの効率や拡散定数・反応定数を変化させるといったことが報告されている。こうした込み合った細胞内状況では、生成タンパク質と背景巨大分子の相互作用は無視できず、**macromolecular-crowding** の新しい一機能として遺伝子発現揺らぎの抑制、細胞内情報処理の安定性の向上が示唆された。同様に、転写因子等のタンパク質は通常細胞内において DNA 分子と非特異的に相互作用していることが知られており、DNA 分子自体が揺らぎを抑制している可能性も示唆された。さらに、タンパク質分子の多量体化は普遍的に見られる現象であり、この過程が揺らぎ抑制の機能を持ち得るという結果は新しい知見である。

一方、ネガティブフィードバックによって揺らぎを抑制し得るという実験結果 (Becskei and Serrano, 2000) に対し、以上と同様な確率解析を行った結果、フィードバックによる揺らぎ抑制の効果は一部のパラメータ領域内においてのみ得られることを示し、解析的にその条件を導出した。

本研究で行った定量的な評価は、実際に人工遺伝子モジュールを構築する際に最適な構成要素を選択する上で非常に重要な理論的指標となると考えられる。また応用例として、上述した遺伝子発現の揺らぎ抑制方法がシステムレベルでの安定性の向上に有効であることを、トグルスイッチモデル (Gardner et al., 2000) に適用することで示した。この系は決定論解析では双安定な系であり、二つの安

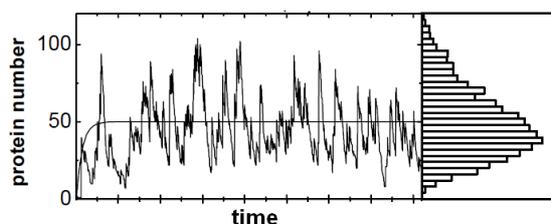


図 1 遺伝子発現の時系列

定平衡点間を外部入力によって切り替えることでスイッチ機能が実現される。しかし、mRNA やタンパク質の個数が少ないというより現実的な状況下では、個々の遺伝子の発現の揺らぎによって、システムの状態は片方の平衡点（近傍）にとどまることができず両平衡点間を自発的に遷移してしまう（図2（左））。一方、図2（右）から分かるように、各遺伝子の TT 比の増加や、標的タンパク質と特異的に結合するノイズ抑制因子の付加によって、平衡点の安定性を著しく増加させることが可能となる。こうした性質は人工的に制御可能なスイッチを構築する上で必要不可欠であり、提案した抑制方法がシステムのロバスト性・信頼性の向上に有効であることを示している。

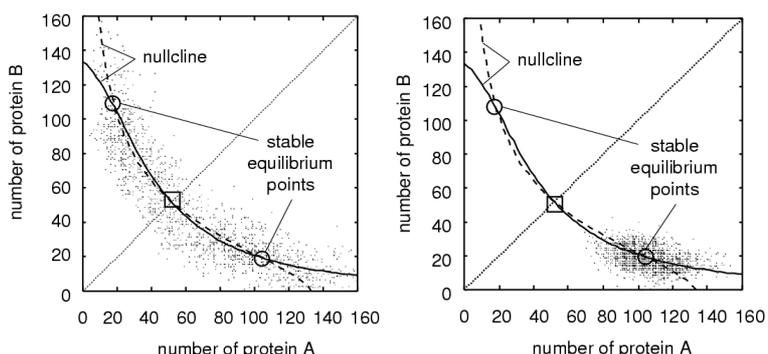


図2：相平面内におけるシステムの状態遷移
 (左) 抑制手法適用前
 (右) 抑制手法適用後 (TT 比の増加, ノイズ抑制因子の付加)

細胞内情報処理における揺らぎの利用

人工的な遺伝子回路の設計といった工学的側面から見た場合、上述したようにシステム構成要素の揺らぎを抑制することは大変重要な問題となる。しかしその一方で、実際の細胞内において各シグナル分子が少数であるという事実は、少数性に起因した揺らぎを抑えるためのメカニズムの存在、あるいは揺らぎの積極的な利用といったことを推測させる。本研究では、揺らぎが細胞内情報処理に積極的な役割をもちうることを、普遍的に見られる二つのモジュールにおいて明らかにした。

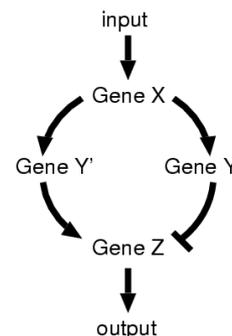


図3 IFFL

[Incoherent feed forward loop]

Incoherent feed forward loop (IFFL) は、大腸菌、酵母をはじめ、多細胞生物における概日周期や四肢の発生といった様々な生物や状況で見られるネットワークモチーフである（図3）。このモチーフの特徴は、適当な条件下において特定の入力バンドに対する選択的な応答を実現できるという点である（図4：入出力曲線；決定論解（黒）及び確率モデルにおける平均（赤・青））。分子の少数性による揺らぎによって応答が増幅され、入力に対する選択性が增加することが分かる。応答の増幅は決定論解におけるピーク付近でのみ顕著に見られ、両端では決定論解に漸近する。増幅のメカニズムは、システムを構成する化学反応系の非線形性による、揺らぎに対する応答の非対称性である。したがって応答の増幅の程度は揺らぎの大

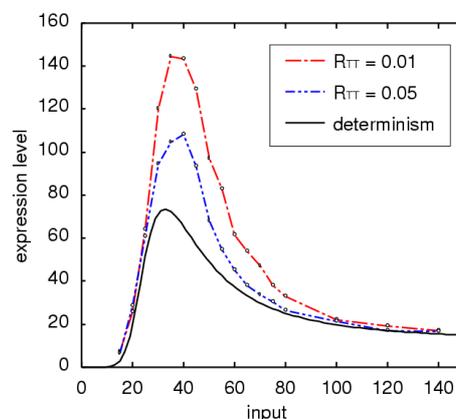


図4 入出力曲線

小に大きく影響を受ける (図4 赤線: 揺らぎ大, 青線: 揺らぎ小).

[Chemical cascade]

M 段からなる触媒反応の連鎖を考える (図5). 各分子集団のサイズ (個数) は N で与えられる. また, 各分子は活性と不活性の二状態をとり, 集団 $j+1$ の不活性分子は集団 j の活性分子によって活性化されるものとする. こうしたシステムは, 実際にはリン酸化やメチル化といった酵素反応の連鎖等に対応する. ここで, 入力としては矩形型の二値入力を用い, 入力強度をその時間幅 τ によって与えた.

集団サイズ N が小さい ($10^0 \sim 10^2$) 場合, システムの応答が決定論解から大きくずれることを数値解析によって明らかにした. 決定論解との違いを, 矩形パルス入力に対する最大応答の平均と決定論における最大応答の比 R によって評価した. R と集団サイズ N , カスケードステージ j の関係を図6に示す. ここで, $R > 1$, $R < 1$ は決定論解と比べて増幅, 減衰を表す. 増幅と減衰は, (N, j, τ) の3パラメータによって決まり, 特に各入力強度 τ に対して, カスケードを通じてシグナルを増幅するのに最適な集団サイズが存在するという興味深い結果を得た.

応答の増幅・減衰は, SN 比の向上に貢献しうることが予想される. 図7は, 入力強度 τ の大小で区別された, シグナル τ_s (赤) とノイズ τ_n (青) の混合入力に対する応答を示す. サイズ N が小さい場合 ($N=20$ (左)), シグナルの増幅とノイズの減少によって SN 比が顕著に増加することが分かる. この効果は N の増加によって失われ, 決定論解析で得られる値に漸近する.

以上の結果から, シグナル分子の少数性による揺らぎは, 細胞内情報処理に様々な影響を与えることが予想され, 今後ネットワークダイナミクスを理解する上での重要な因子となることが示唆される.

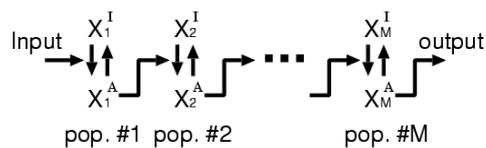


図5 Chemical cascade

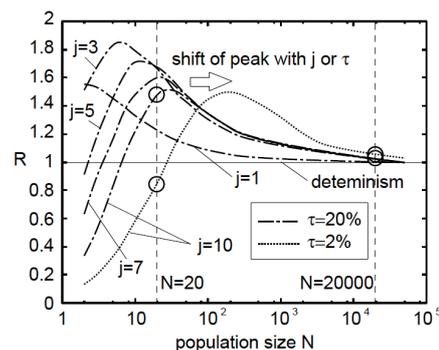


図6 R と N, j の関係

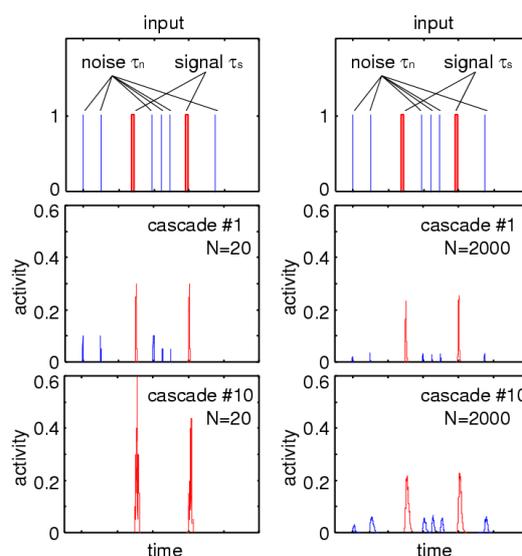


図7 混合入力に対する応答