

名古屋大学大学院工学研究科マテリアル理工学専攻応用物理学分野  
2013年3月7日15時より 美宅最終講義

# 生物とは何か？

美宅 成樹

これは名古屋大学での私の卒業論文でもあり  
40年の研究者人生の集大成でもあります

# 私がPIになって以降

## 【スタッフ】

片岡 良一  
諏訪 牧子  
園山 正史  
横山 泰範

## 【秘書】

増田珠子  
(数名)  
斉藤 恵子  
三輪 正代  
奥村 智恵子  
梶谷 亜希子  
杉山 由美子  
内古閑 佳奈  
河合 悦子  
山田 裕子  
佐藤 幸代  
山田 いずみ

## 【研究員】

内古閑 伸之  
ROZANOV LEON  
李 雪  
谷口 美恵子

学生数  
231名

学生さん  
関係者の  
みなさん  
どうも  
ありがとう

## 【学生】

1981年  
有賀 修二  
五十嵐 宏  
伊達 健  
藤原 正文

1982年  
加藤 雄一  
加藤 敏代  
鈴木 佐登志  
林 秀敏  
増田 俊男

1983年  
安部 敏男  
伊藤 博康  
青木 厚子  
岡阿彌 靖男  
加賀山 利哉  
日比野 直哉  
星 聡  
渡邊 喜彦

1984年  
片岡 卓治  
西田 穰  
野村 昌史  
平賀 信彦  
森 エリコ

1985年  
幾田 一哉  
石田 麻紀  
江沼 浩一  
早乙女 理  
目 利明  
平野 吉美  
平林 稔也  
安岡 朗男

1986年  
飯塚 真美  
石野 淳  
須田 歩  
堀田 東吾  
牧迫 昭朗  
柳原 憲邦  
吉岡 浩実

1987年  
小田 浩之  
小田嶋 誠治  
菅野 譲  
小林 佐代子  
清水 崇之  
緑川 真吾  
米田 勉

1989年  
阿久津 弘昭  
重松 潔  
広瀬 徳豊  
広瀬 乃里子  
山本 和典

1990年  
穴田 良治  
井関 義幸  
鬼塚 進  
川口 謙一  
斎藤 健  
布 光一朗  
柳田 浩道

1991年  
五十嵐 孝二  
伊藤 義朗  
小沼 秀一  
大導寺 一彦  
桃原 隆昭  
山崎 弘樹  
山本 美信

1992年  
江藤 彰紀  
木村 暢宏  
富井 啓子  
1993年  
石井 健  
斎藤 孝春  
近藤 由美子  
萩原 正明  
広川 貴次  
望月 一人

1994年  
岩楯 由貴  
小嶋 正史  
小松 克江  
小山 洋幸

1995年  
太田 信  
平良 国広  
仲川 宗一  
中山 敏勝  
三宅 裕晃  
宮崎 公宏  
池田 有理

1996年  
稲垣 浩継  
太田 浩也  
木村 篤史  
小嶋 秀明  
謝 文清  
高崎 秀規  
作田 美千子  
吉 佳代子  
渡井 順子

1997年  
門田 幸二  
斎藤 達郎  
笹本 博幸

高澤 文  
豊田 真哉  
中永 みや子  
1998年  
薄葉 恵  
水村 久美子  
大槻 露華  
金刺 義久  
川上 擁一  
五味 雅裕  
作山 孝法  
土屋 千映子

1999年  
今井 秀樹  
上地 潤一  
小野 満夫  
佐々木 貴規  
高江洲 宏智  
高橋 俊哉  
中山 智  
樋口 美作子  
フーラハン美由紀  
松山 愛  
宮崎 浩彰  
吉永 恵美子  
吉松 俊  
渡辺 功一  
和田 真伸

2000年  
青鹿 謙司  
赤澤 史嗣  
今井 賢一郎  
大鷲 笑子  
柯 閏聡  
隅田 美奈子  
後藤 理恵  
坂井 寛子  
住友 栄子  
外崎 真理子

楯石 あい  
田邊 恵司  
辻 敏之  
肥後 大輔  
藤原 豊史  
村井 健太郎  
亀田 妙子  
吉村 珠美

2001年  
朝川 直行  
君島 裕子  
志々木 徹  
鈴木 一恵  
中村 壽秀  
新井田 貴之  
藤澤 豊実  
服部 友裕  
山田 紘子

2002年  
江口 基  
小川 史恵  
亀田 充恵  
斎藤 彩仁  
佐治 祐子  
澤井 康宏  
鈴木 千代  
中澤 智子  
早川 由紀  
檜山 浩徳  
樋口 正和  
平木 ゆう  
福井 啓子  
佐治 毅  
藪内 貴実子  
健太郎

2003年  
青葉 隆紀  
秋本 沙織  
市川 文登

上地 悠紀子  
小野 弘恵  
北井 祐史  
Ghimire, Ganga  
Devi  
崎山 則征  
澤田 隆介  
鈴木 秀幸  
高見 恭子  
船越 政史  
山口 浩信

2004年  
清水 彬生  
白井 啓介  
杉山 浩之  
野瀬 宏  
羽田 成宏  
町山 裕亮

2005年  
蒔田 由布子  
奥田 淳  
単 小遠  
廣澤 幸一朗  
山田 達矢

2006年  
杉山 綾乃  
奥 充弘  
小糸 直希  
榎原 忠朗  
根岸 瑠美  
堀田 尚伸  
松田 郁文  
森山 雄介

2007年  
荒 孝明  
内田 明香  
大久保 信彦  
高橋 雅俊  
三谷 優貴

2008年  
杉本 一晃  
辻 信哉  
東 陽介  
兪 子豊

2009年  
尾崎 聡  
久嶋 誠也  
佐藤 友貴  
古市 勇斗  
宮田 真里  
成重 太助  
谷澤 英樹

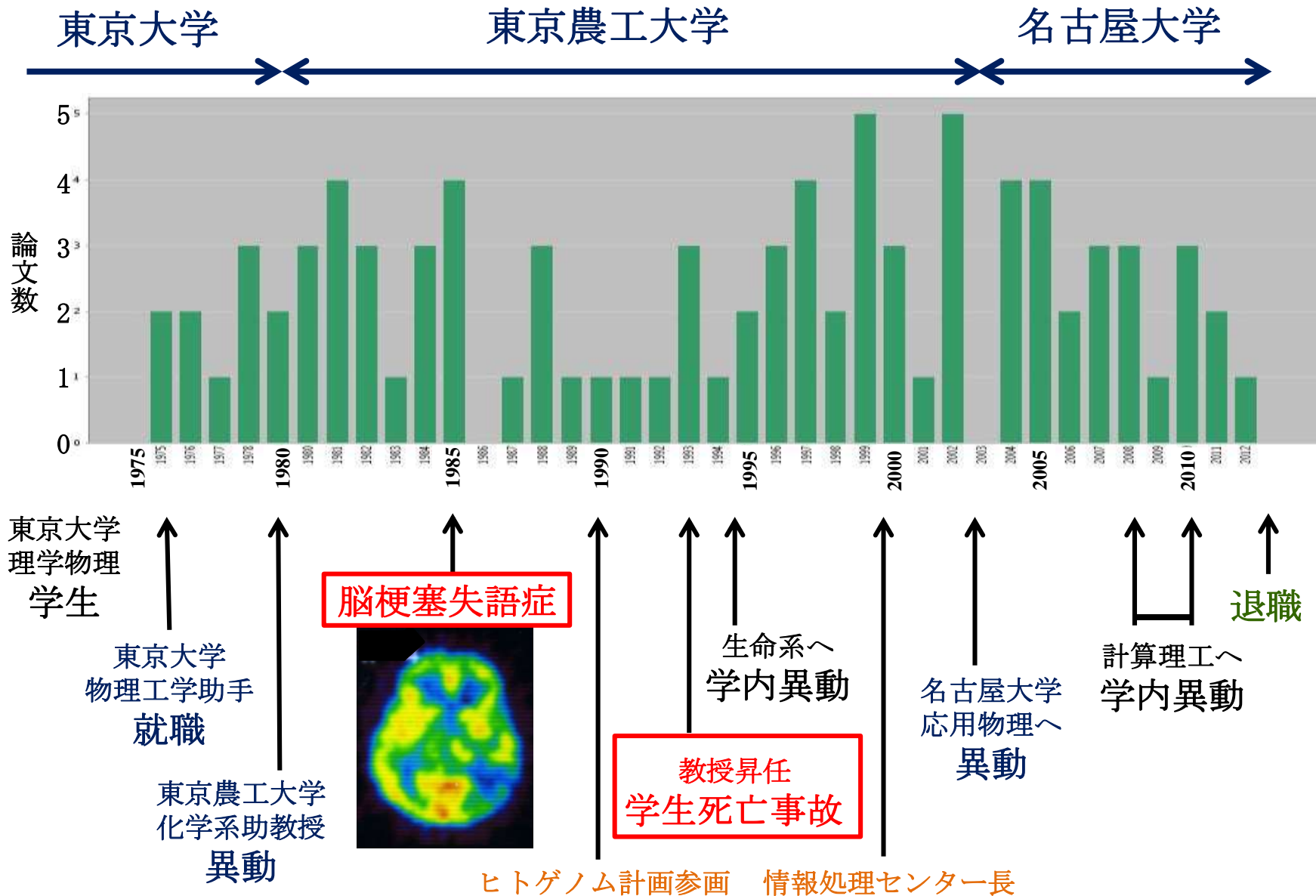
2010年  
鬼頭 琢  
佐久間 基樹  
服部 達哉  
山田 浩輔

2011年  
岩田 智之  
大谷 康郎  
瀬戸口 万里奈  
名倉 俊裕  
日比野 勝俊  
吉川 大樹

2012年  
姉川 真也  
上原 拓  
王 浩然  
政井 良太

現役  
中島 康治  
石上 佳彦  
北川 敦司  
鈴木 満明  
樋口 陽介

# 私の履歴とアクティビティ

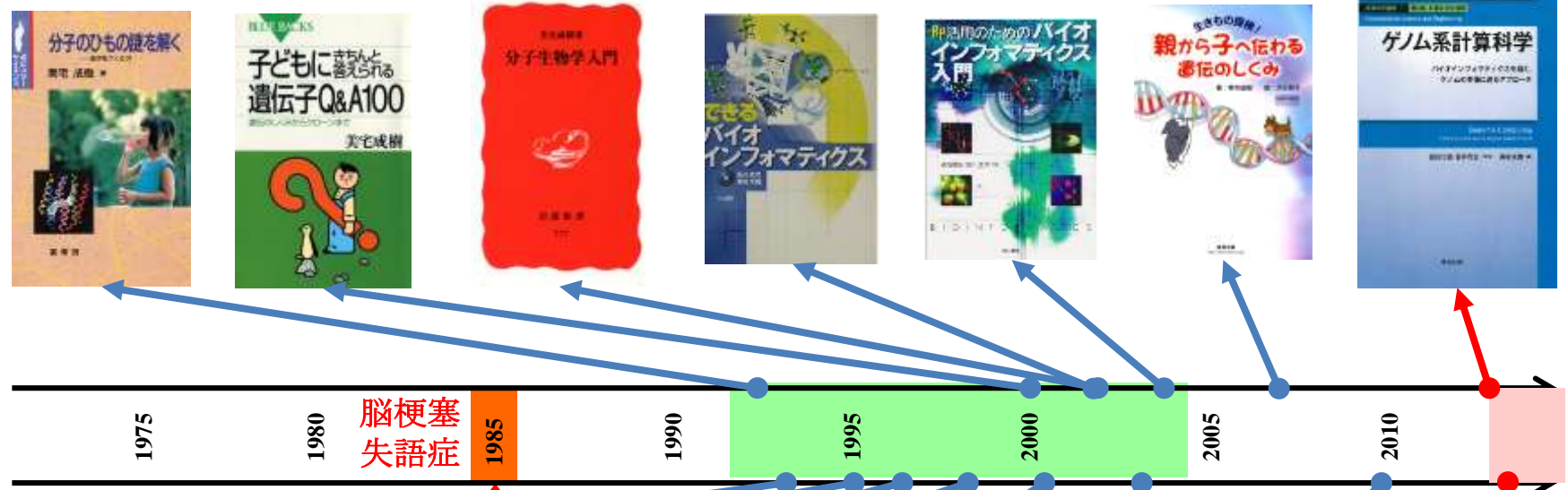


# 私の人生としては……

子供向け

子供向け

2013年1月20日出版

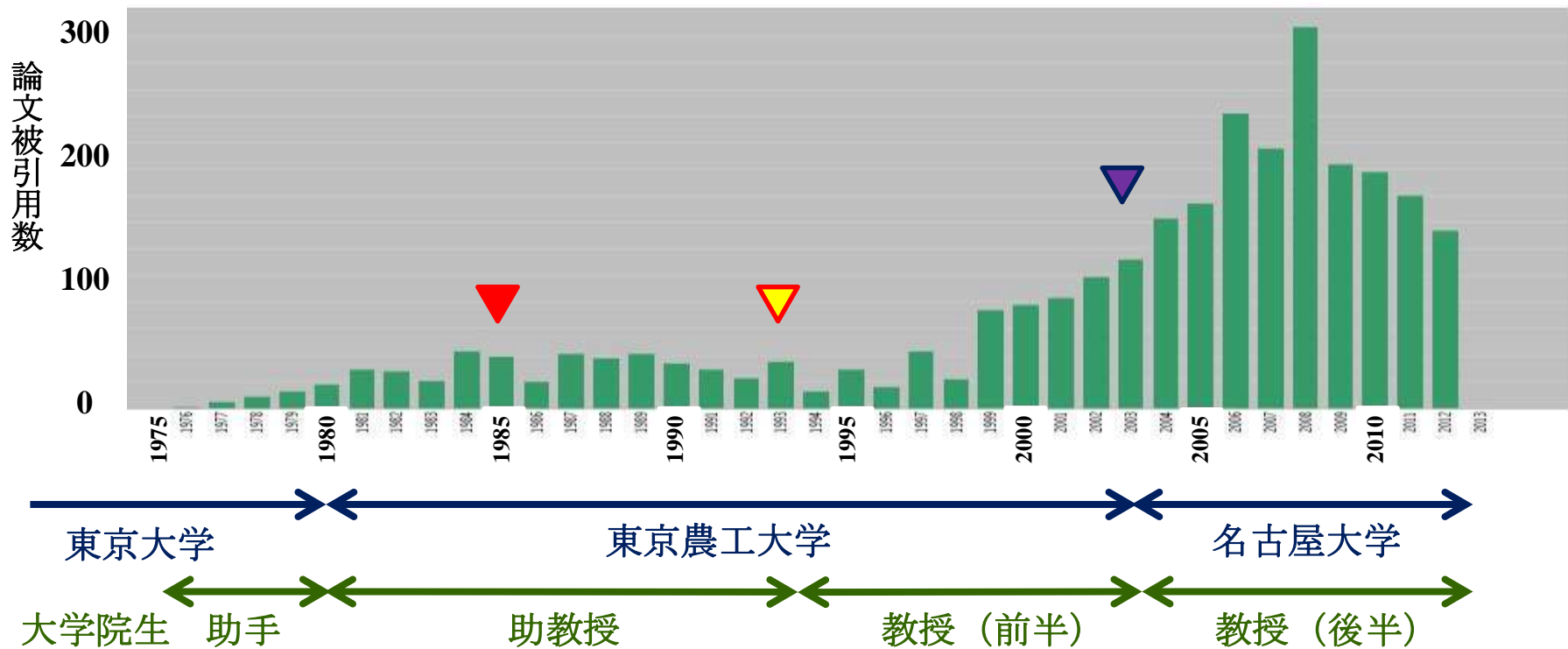
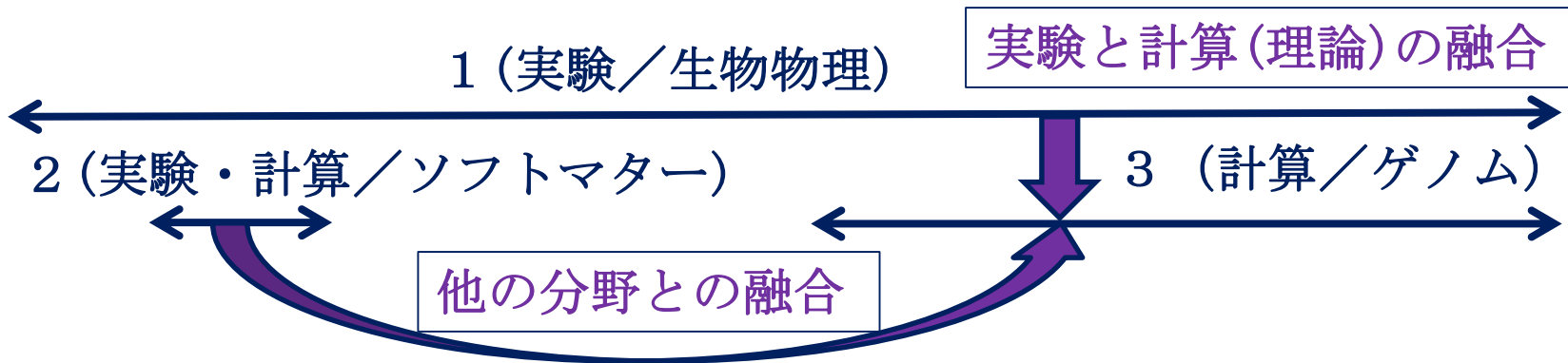


翻訳

2013年3月10日出版

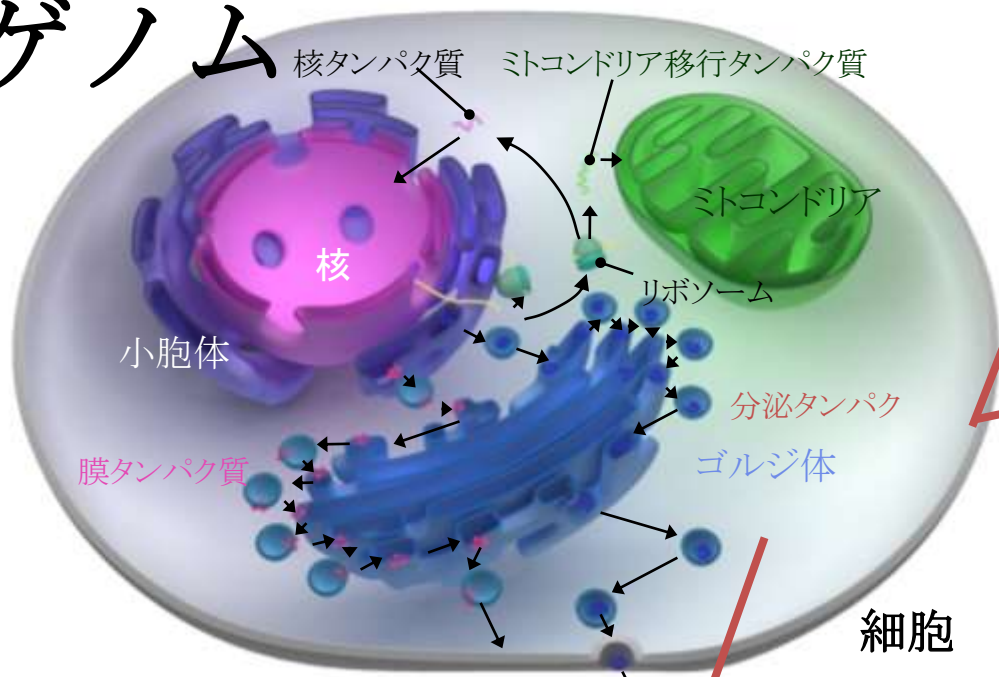
失語症のリハビリのために本の執筆を始めた  
特に英語のリハビリに翻訳は必死にやった

# 私の研究の社会的インパクト

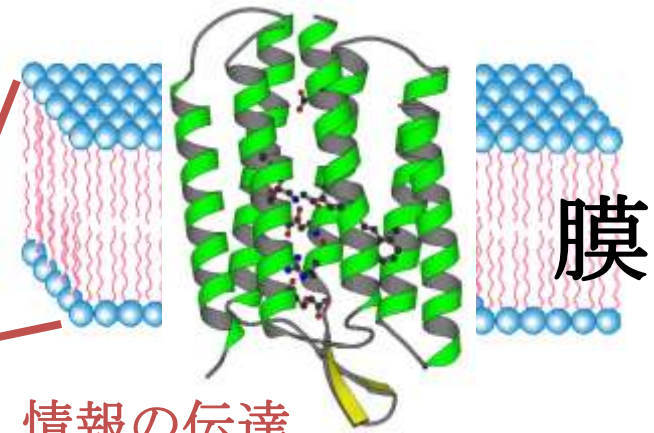


# 膜、柔らかい秩序構造、タンパク質、ゲノム

## ゲノム

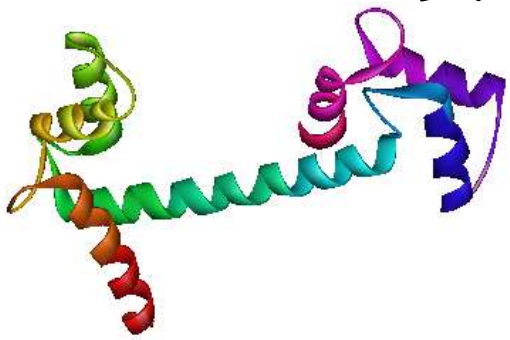


## 膜タンパク質

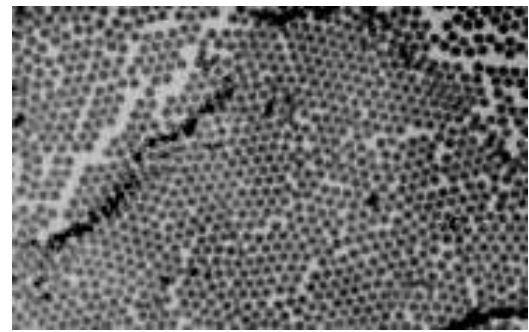


情報の伝達  
物質輸送  
エネルギー変換など

## 水溶性タンパク質



遺伝子制御  
細胞運動  
触媒作用など



## 柔らかい秩序構造

## 私の研究をもう少し分類してみると……

もの (材料)	こと (現象)	ことわり (原因・相互作用)
脂質膜 生体膜 膜タンパク質 水溶性タンパク質 単分散ラテックス DNA ゲノム	臨界現象 弾性・粘性 変性現象 秩序構造形成 遺伝子変異 分子認識	揺らぎ 静電相互作用 疎水性相互作用 両親媒性 粗視化 イカサマのサイコロ 平衡

「生物とは何か？」につながらる、もの、こと、ことわりを研究したが、方法はそれぞれ適切と思うものを選択した

# 大学院時代が研究の方向を決める！

もの（材料）

脂質膜

生体膜

膜タンパク質

水溶性タンパク質

単分散ラテックス

DNA

ゲノム

こと（現象）

臨界現象

弾性・粘性

変性現象

秩序構造形成

遺伝子変異

分子認識

ことわり  
(原因・相互作用)

揺らぎ

静電相互作用

疎水性相互作用

両親媒性

粗視化

イカサマのサイコロ

平衡

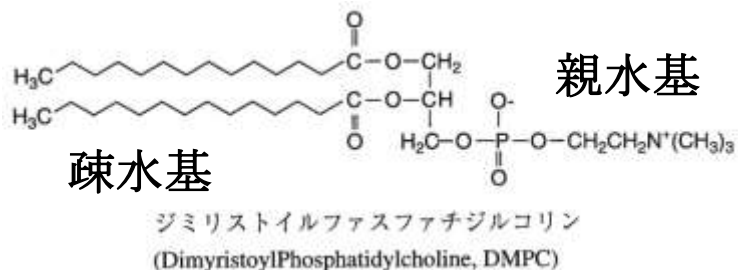
大学院生の時期に生物物理学分野に入り、脂質二層膜の超音波測定を行い、臨界現象（臨界揺らぎ）を観測した



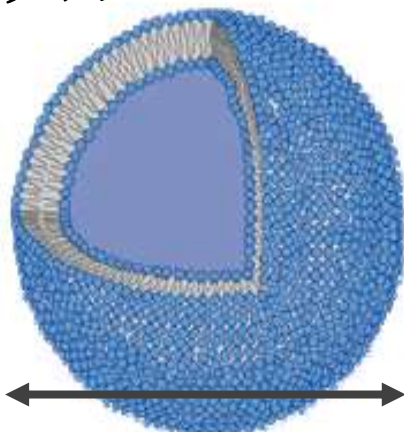
# 超音波で生体物質の熱力学的性質を調べた

## 試料

脂質と水の2成分系ではリポソームと言われる脂質ラメラ構造のマイクロドメインが形成される



## リポソーム

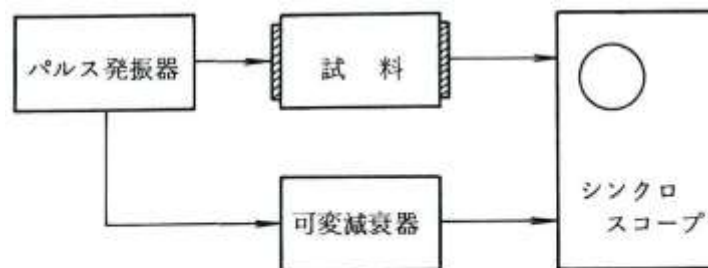


数100nm～数10μm

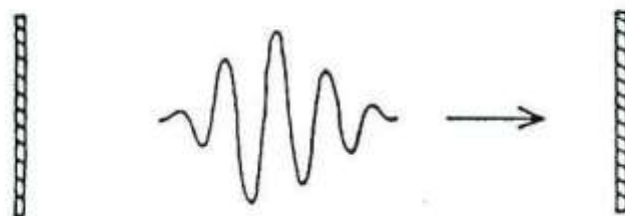
脂質の炭化水素鎖の長さが単一だと、脂質二層膜はゲル-液晶相転移を示す

## 方法

我々が行った超音波測定の実験の原理は単純である。超音波パルスの送波から受波までの時間を測る



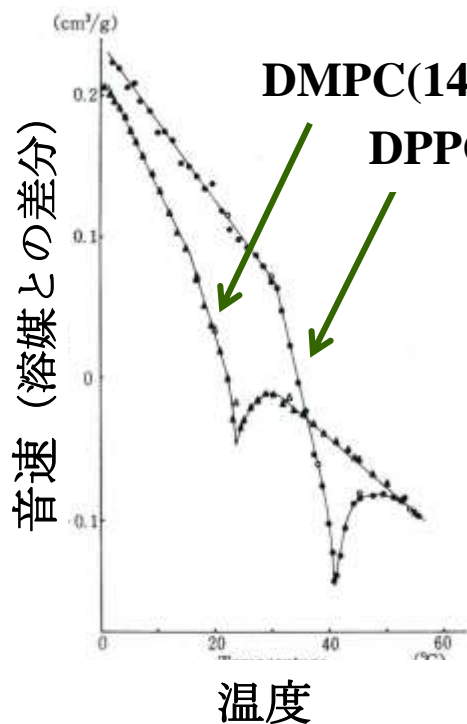
Travelling wave



1500m/sの音速に対して、約1cm/sの精度で測定することができる

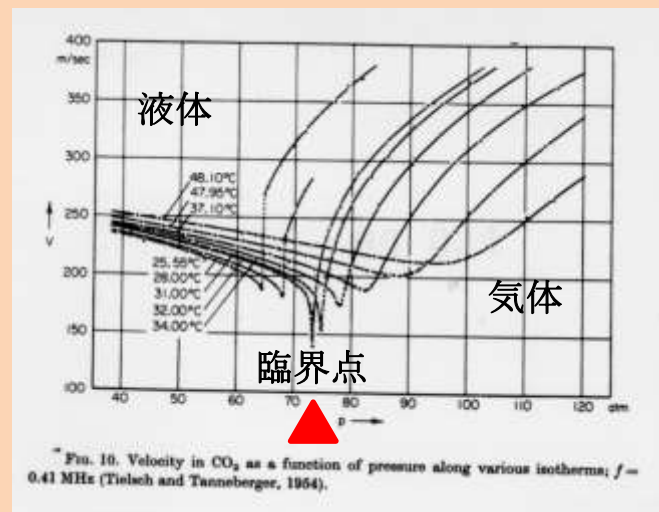
# 臨界現象に特徴的な臨界ソフトニングを観測した

脂質のリポソーム懸濁液で、ゲル - 液晶相転移点近傍で音速の異常な減少を観測した



これは気体 - 液体相転移の臨界点近傍における音速の変化と共通の臨界ソフトニングである

## CO<sub>2</sub>の場合



このデータを取った時 (博士課程3年秋) に、研究者になってもよいかもしいれないと思った

# 超音波の周波数分散を測定し、博士論文を出した

臨界スローイングダウンも観測され  
 臨界指数は-1であった

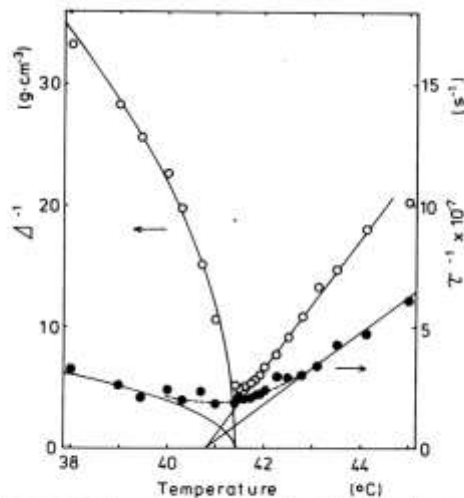


Figure 5 The inverse of the ultrasonic relaxation strength ( $\Delta^{-1}$ ) and the relaxation time ( $\tau^{-1}$ ) are plotted as a function of temperature. The critical exponents for the relaxation parameters were  $-1$  in the liquid crystal phase and  $-0.5$  in the gel phase. [From Mitaku *et al.*, 1983.]

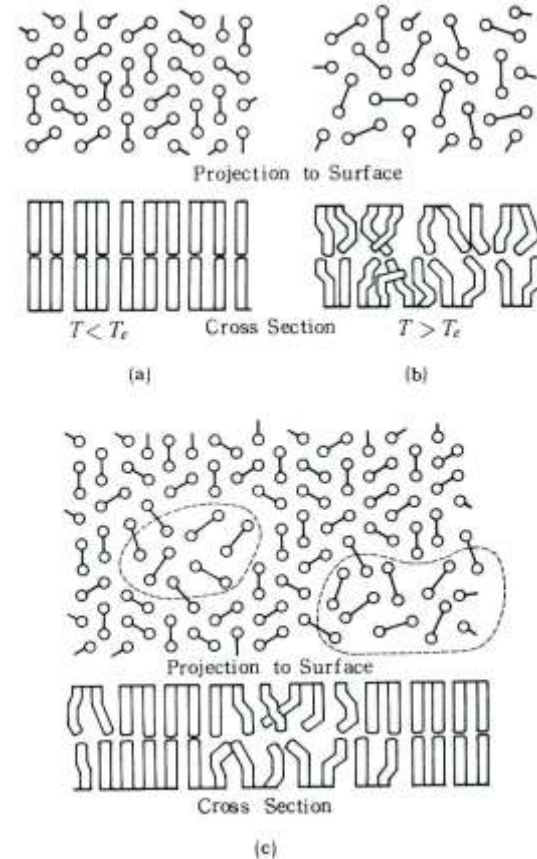


図15 脂質二重膜の相転移のモデル

生体物質でも分子間相互作用があからさまに見えるのだなあ！

ゲル—液晶相転移における異常な臨界揺らぎのイメージ

# 助手の時代、現象に対する見方を学んだ！

もの（材料）

こと（現象）

ことわり  
(原因・相互作用)

脂質膜

臨界現象

揺らぎ

生体膜

弾性・粘性

静電相互作用

膜タンパク質

変性現象

疎水性相互作用

水溶性タンパク質

秩序構造形成

両親媒性

単分散ラテックス

遺伝子変異

粗視化

DNA

分子認識

イカサマのサイコロ

ゲノム

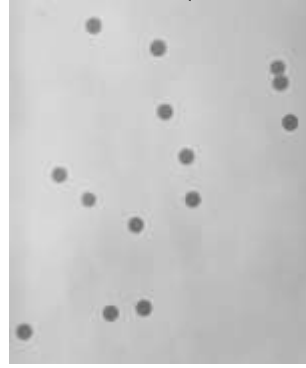
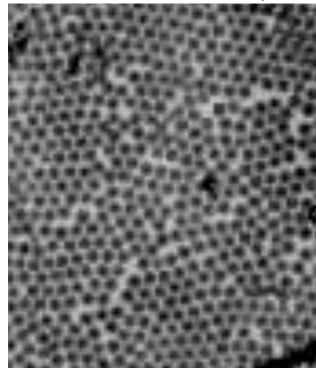
平衡

助手の時代に、単分散ラテックスの粘弾性測定を行い、秩序構造と弾性率の関係から粗視化という見方を学んだ

# 単分散ラテックス秩序構造の粘弾性を調べた

## 試料

イオン交換樹脂で溶媒のイオンを除くと粒子の結晶構造ができる



## 方法

ねじれ振動法でずれ弾性率を測定した

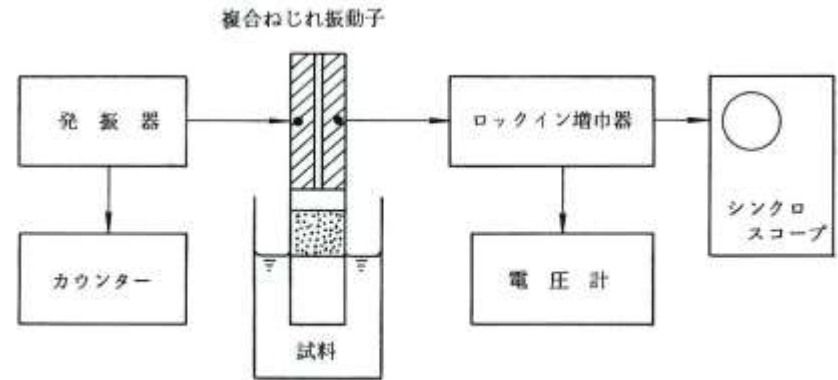
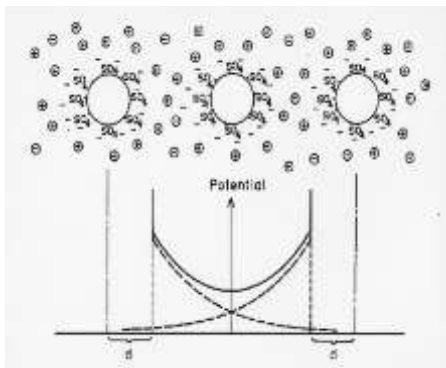


図2 ねじわ水晶振動子法

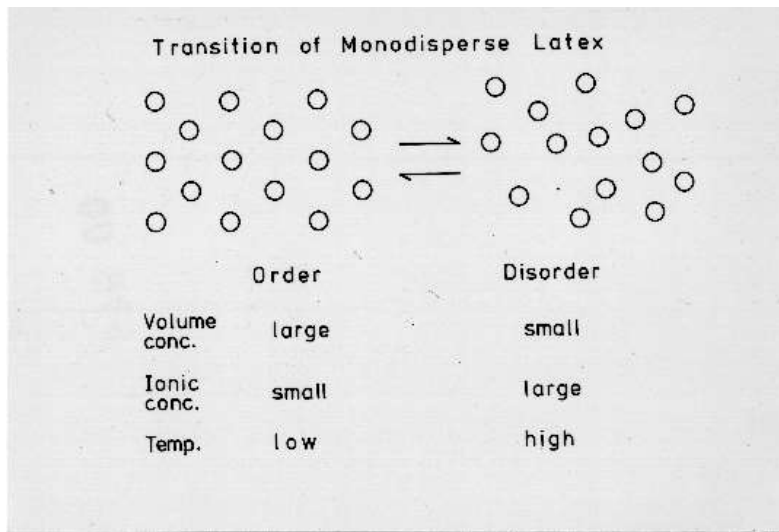
金属などの結晶のずれ弾性率より10桁小さいずれ弾性率を測定できる

# 単分散ラテックス秩序構造の粘弾性を調べた

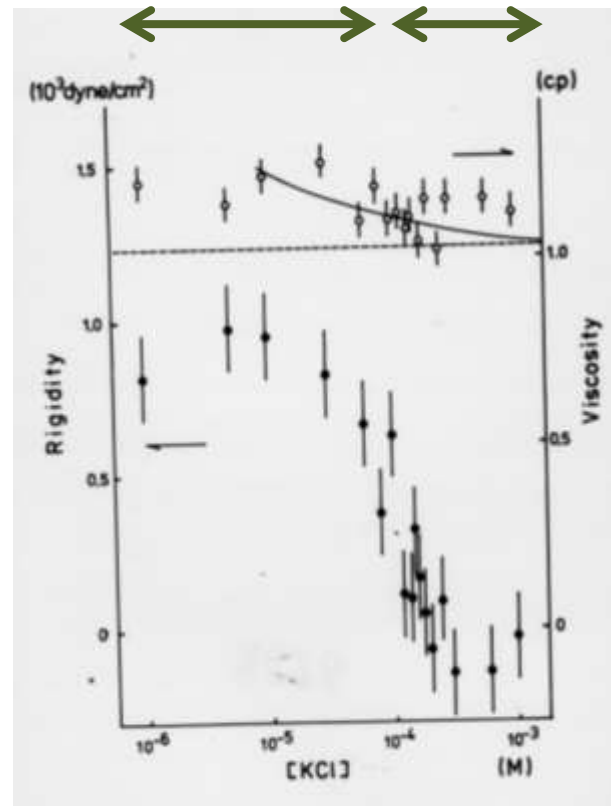
静電斥力による格子の形成



イオン濃度が高い領域では静電斥力が遮蔽され、結晶構造が崩壊する

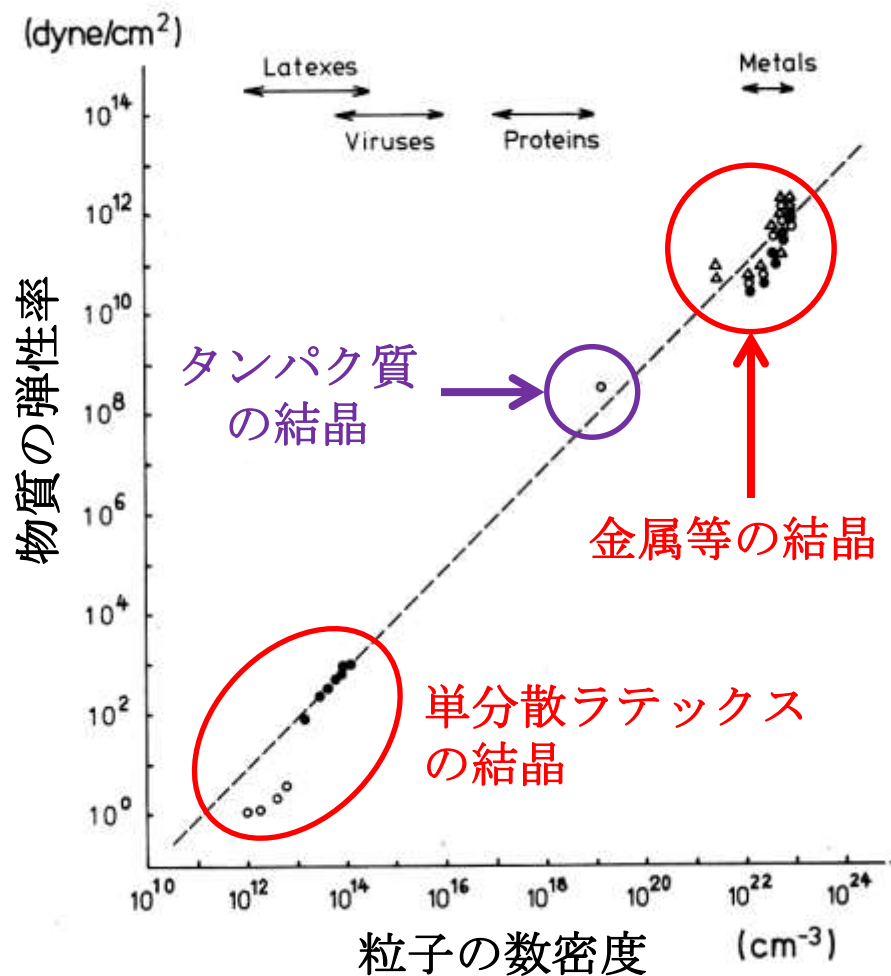


結晶構造 ←→ 融解



イオン濃度が高い領域でずれ弾性率が消失する。単分散ラテックスの秩序構造は格子の間隔が約100nmの結晶である

# 秩序構造の弾性率は粒子の数密度に比例する！



金属等の結晶と単分散ラテックスの結晶は、粒子の数密度が10桁も違うが、弾性率ときれいな比例関係がある。タンパク質の結晶もその比例関係が成立する

結晶を作る相互作用のバランスに関わらず粒子の数密度と弾性率の比例関係が成立する！

粗視化で本質をつかむべし！

# 膜タンパク質のアルコール変性

もの (材料)

こと (現象)

ことわり  
(原因・相互作用)

脂質膜

生体膜

膜タンパク質

水溶性タンパク質

単分散ラテックス

DNA

ゲノム

臨界現象

弾性・粘性

変性現象

秩序構造形成

遺伝子変異

分子認識

揺らぎ

静電相互作用

疎水性相互作用

両親媒性

粗視化

イカサマのサイコロ  
平衡

助教授になって研究対象にタンパク質を加えたが、間もなく脳梗塞を患い、ものを壊すと面白いことに気が付いた！

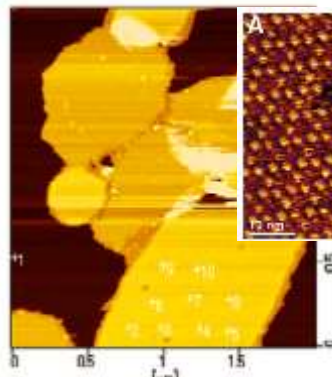


# タンパク質の構造形成を理解するために 変性実験を始めた

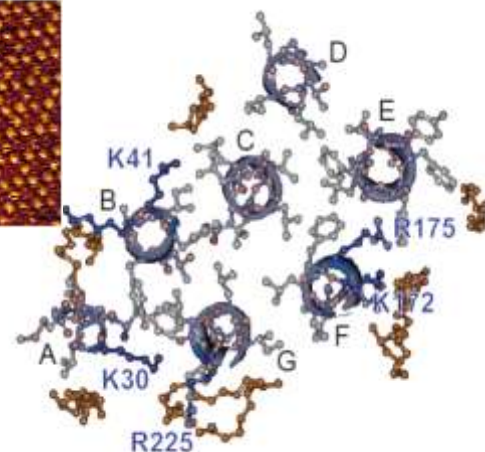
「生物とは何か？」の答えを得るには、タンパク質を理解しなければならない



*Halobacterium salinarum*



Purple membrane

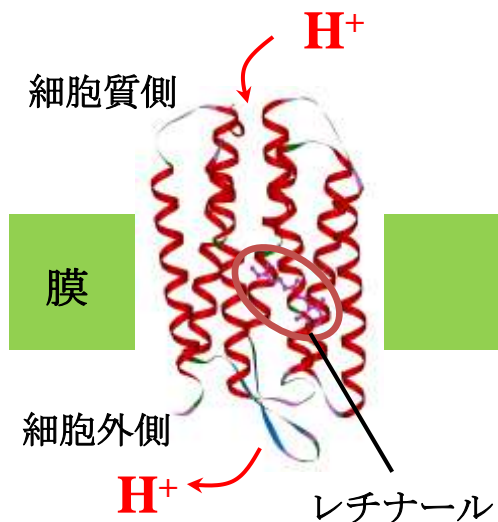


Bacteriorhodopsin

変性実験の最初の研究対象としてバクテリオロドプシンを選択した理由

- (1) バクテリアの培養にあまり気を使う必要がない
- (2) タンパク質として安定である（常温でも長期保存可能）
- (3) 膜タンパク質としては、当時最も多くの情報が得られていた
- (4) 生理的条件下で四次構造（結晶構造）を示し、アミノ酸配列は分子間相互作用の情報も持っている

# バクテリオロドプシンの性質

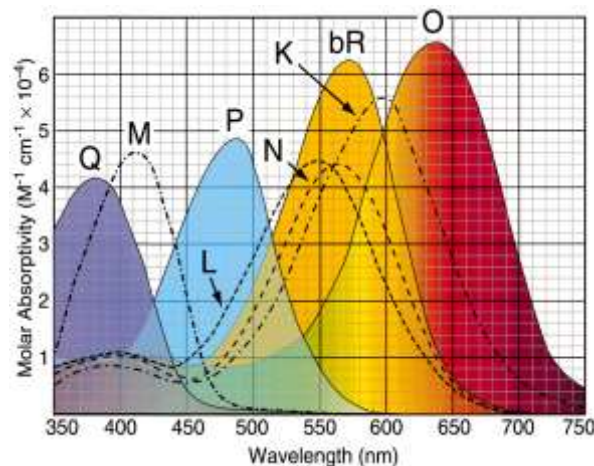
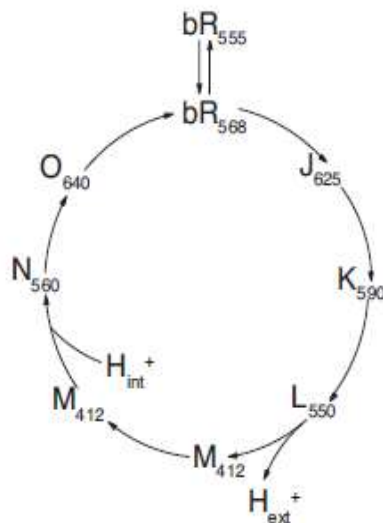
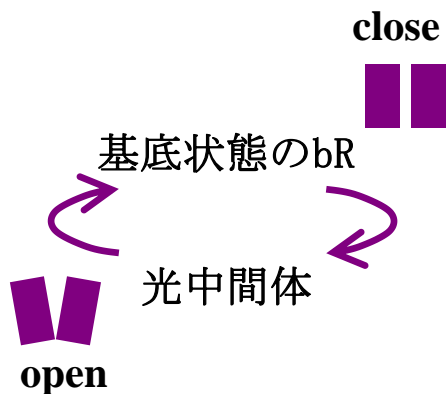


## 【構造的特徴】

- ◆ 7本のヘリックスが膜を貫いた形となっている
- ◆ タンパク質の中心で、色素（レチナール）とシッフ結合している

## 【機能的特徴】

- ◆ 光駆動プロトンポンプ
- ◆ 光サイクルの中間体で色素の周りの電荷分布が変わり、光吸収スペクトルが変化する

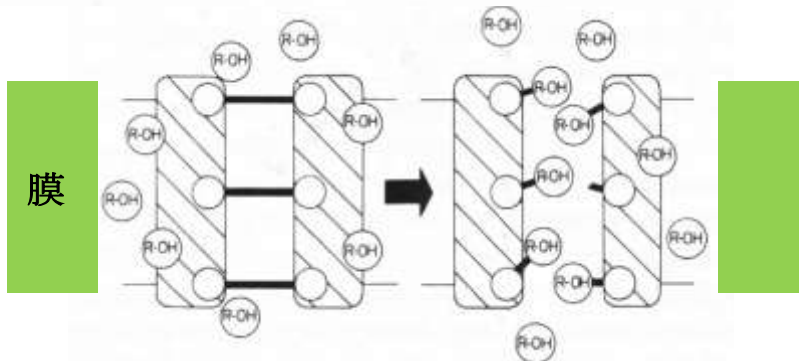
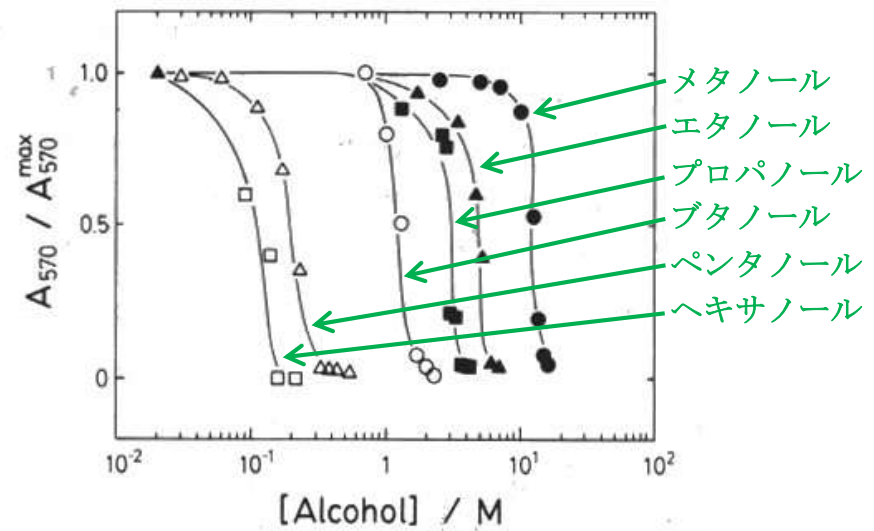
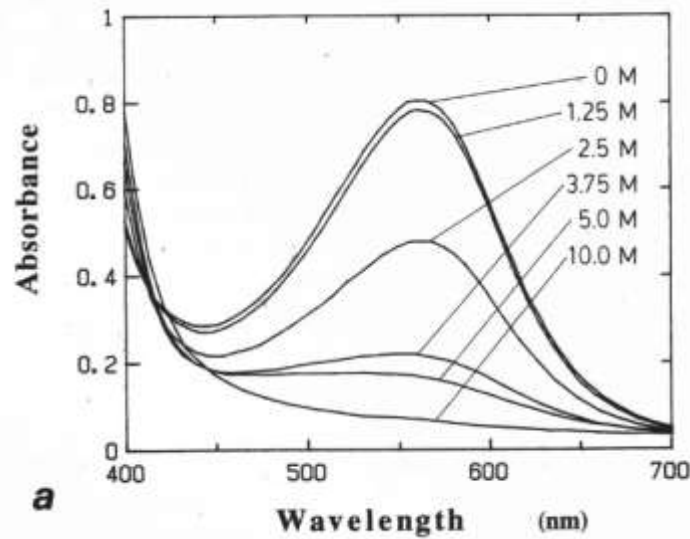


Mak-Jurkauskas et al, 2008

R. R. Birge et.al 1999

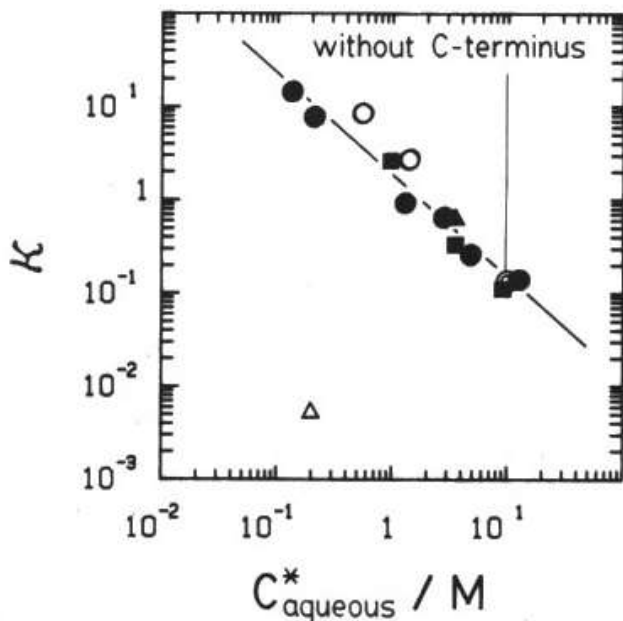
# バクテリオロドプシンのアルコール変性

- ◆ 紫膜（バクテリオロドプシンの二次元結晶の膜）について基底状態での吸収スペクトルを測定し、アルコール変性の度合いを調べた
- ◆ アルコールの炭化水素鎖の長さに対して体系的に変性濃度が変化した



膜に分配されたアルコールの水酸基が膜タンパク質の構造を壊しているように見える！

# 分配係数と溶媒中の変性濃度は反比例する



$$C_{membrane} = K * C_{solvent} = (\text{一定})$$

変性を引き起こす膜内のアルコール濃度は一定である



膜タンパク質の構造安定性を考えるのに、水や膜内疎水性領域などの媒質を塗りつぶした粗視化が有効である

タンパク質まで一般化すると、アミノ酸配列の物性分布の粗視化で、膜タンパク質の物理的な予測が可能ではないかと考えられる

# アミノ酸配列から膜タンパク質の予測

もの (材料)

こと (現象)

ことわり  
(原因・相互作用)

脂質膜

生体膜

膜タンパク質

水溶性タンパク質

単分散ラテックス

DNA

ゲノム

臨界現象

弾性・粘性

変性現象

秩序構造形成

遺伝子変異

分子認識

揺らぎ

静電相互作用

疎水性相互作用

両親媒性

粗視化

イカサマのサイコロ  
平衡

教授になり、本格的ゲノム解析時代に備えて、配列情報からのタンパク質予測分類を可能にするべき時だと思った！

## 粗視化のイメージ

タンパク質でもゲノム全体でも、どう大きく見るかが大事！



著作権の関係で削除しています。

(アンドレカルネイロ)

20枚の小さな絵を詳細に観察しても、全体の絵の姿は分からない！

# 生体部品のタンパク質は多様性と秩序を併せ持っている

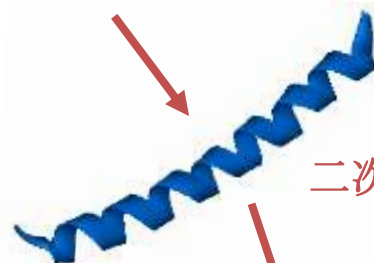
## ゲノム全体

Biological species	Number
ヒト	30,000~40,000
シロイヌナズナ	25,498
線虫	16,384
ショウジョウバエ	14,068
酵母	6,298
大腸菌	4,289
枯草菌	4,100
シアノバクテリア	4,100

個々の  
遺伝子

```
VLSPADKTNVKAAWGKVG AHAGEYGA  
EALERMFLSFPTTKTYFPHFDLSHGS  
AQVKGHGKKVADALTNVAHVDMPN
```

一次構造



二次構造

構造をどう  
粗視化するか？

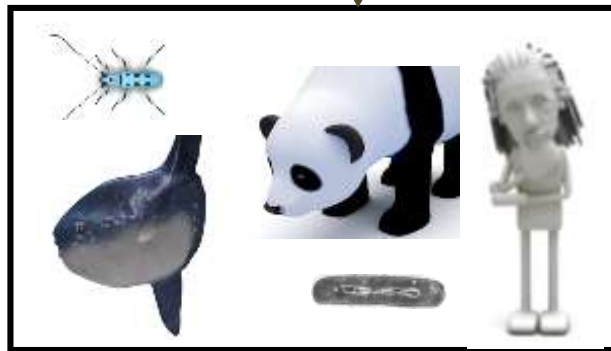


三次構造



四次構造

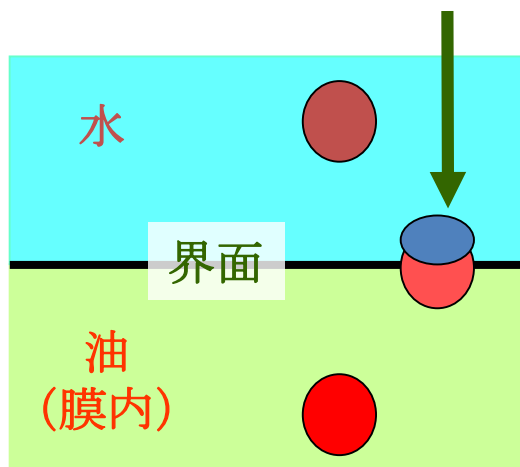
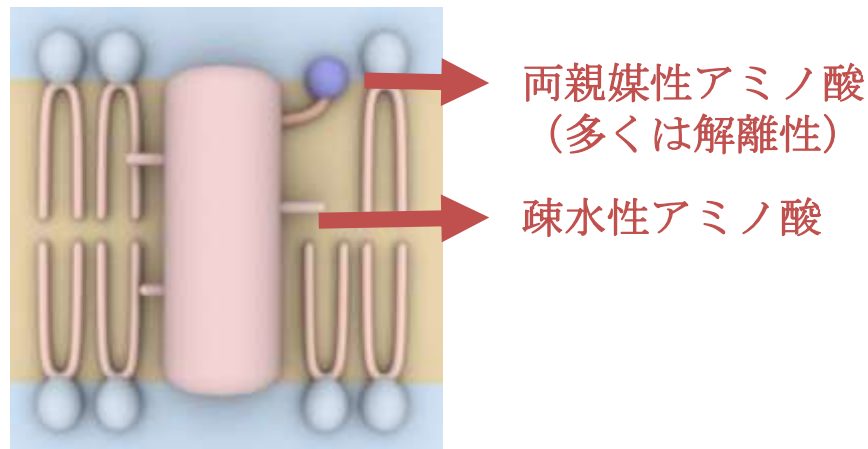
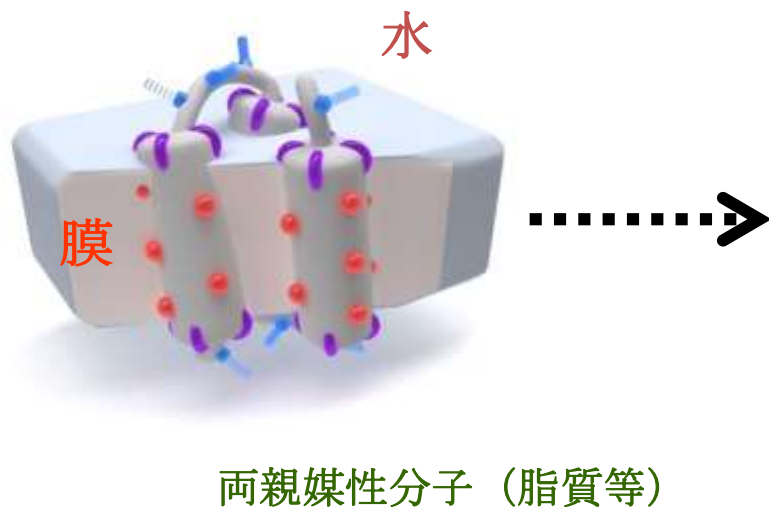
ゲノムををどう  
粗視化するか？



生物  
システム

# 我々の膜タンパク質予測システムの考え方

膜タンパク質におけるアミノ酸配列の物性分布をどう考えるか？



疎水性インデックス (K-D index)  
Leu, Ile, Val, Met, Phe, Ala

両親媒性インデックスを開発  
Lys, Arg, His, Glu, Gln, Tyr, Trp



## 両親媒性アミノ酸のインデックス

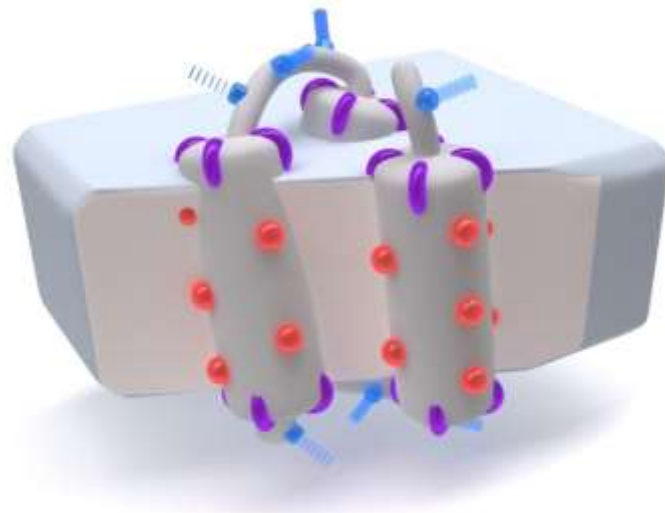
アミノ酸配列から膜タンパク質の予測に用いたパラメータ  
疎水性インデックスと両親媒性インデックス

A.A.	<A>	<A'>	<H>	A.A.	<A>	<A'>	<H>
Lysine (K)	3.7	0	-3.9	Threonine (T)	0	0	-0.7
Arginine (R)	2.5	0	-4.5	Proline (P)	0	0	-1.6
Histidine (H)	1.5	0	-3.2	Glycine (G)	0	0	-0.4
Glutamic acid (E)	1.3	0	-3.5	Alanine (A)	0	0	1.8
Glutamine (Q)	1.3	0	-3.5	Methionine (M)	0	0	1.9
Aspartic acid (D)	0	0	-3.5	Cysteine (C)	0	0	2.5
Asparagine (N)	0	0	-3.5	Phenylalanine (F)	0	0	2.8
Trptophan (W)	0	6.9	-0.9	Leucine (L)	0	0	3.8
Tyrosine (Y)	0	5.1	-1.3	Valine (V)	0	0	4.2
Serine (S)	0	0	-0.8	Isoleucine (I)	0	0	4.5

高精度予測（精度90%）が可能であれば、仮説は正しい  
だろうという考え方で、簡単な仮説を立てた！

# アミノ酸配列の物性分布の粗視化 によってタンパク質の構造を予測 できる良い例：膜タンパク質

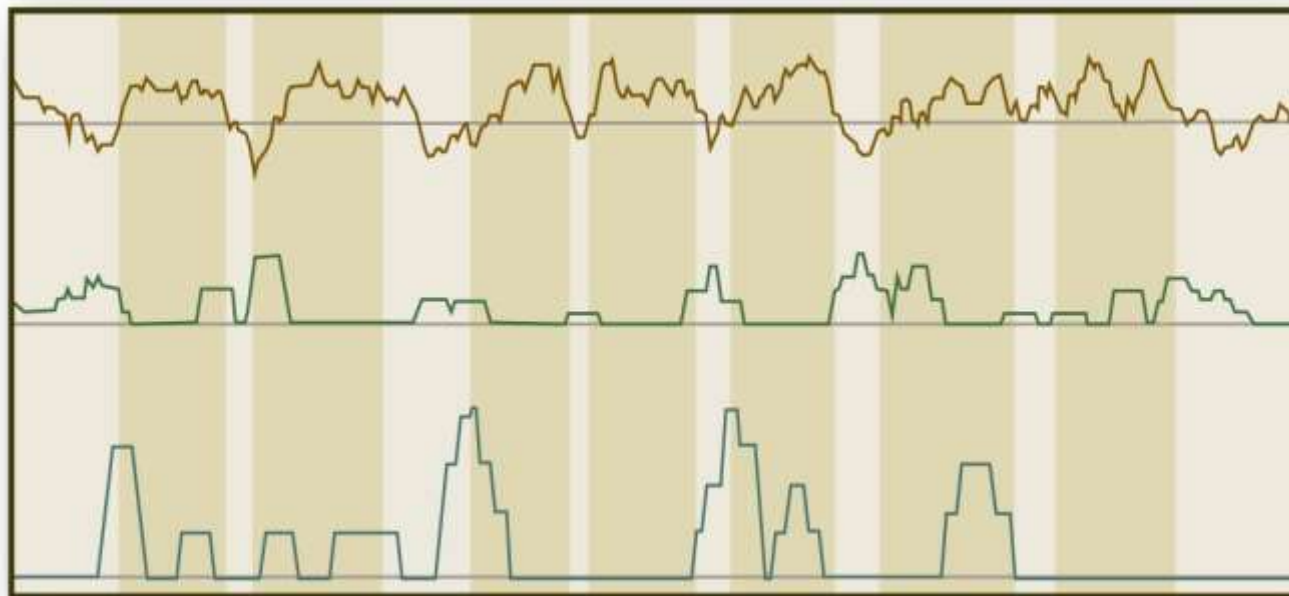
移動平均で部分構造を正確に指定することができる



二次構造  
(ヘリックスとループ)



<疎水性の移動平均>



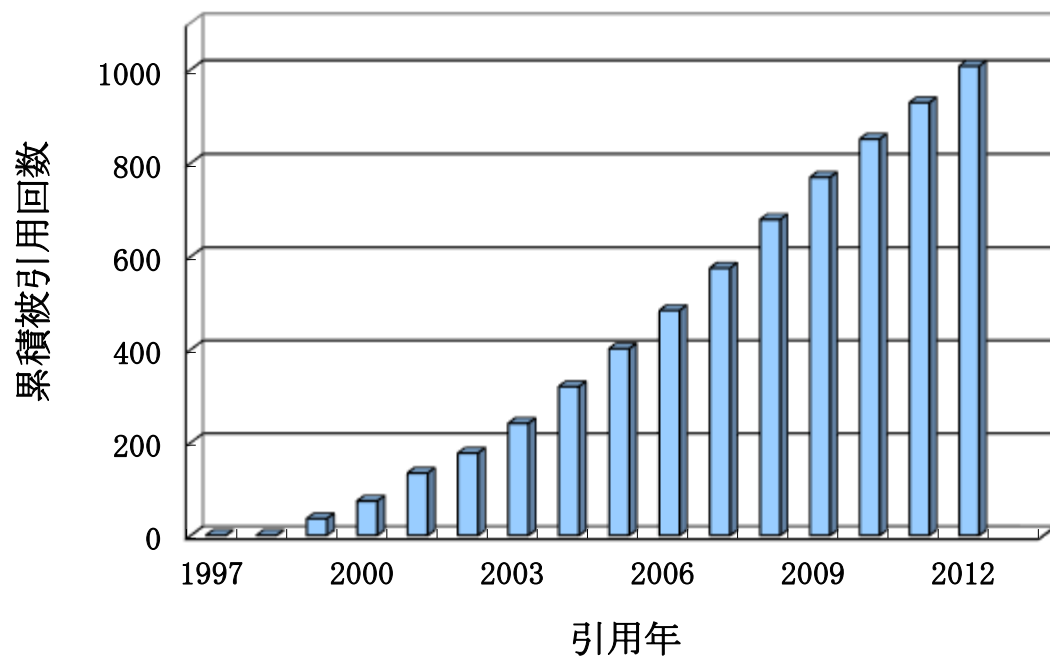
<両親媒性の移動平均1>

<両親媒性の移動平均2>

アミノ酸番号

# 膜タンパク質予測システムSOSUIの特徴

- ◆ 配列の物性分布を粗視化した高精度予測システム(精度95%以上)である
- ◆ システムのアルゴリズムから、未知のアミノ酸配列に対しても高精度である
- ◆ 進化過程を調べるための変異シミュレーションが可能である



SOSUIの論文の被引用数は1000を超えた!

# 生物のゲノムを理解するために……

もの (材料)

こと (現象)

ことわり  
(原因・相互作用)

脂質膜

生体膜

膜タンパク質

水溶性タンパク質

単分散ラテックス

DNA

ゲノム

臨界現象

弾性・粘性

変性現象

秩序構造形成

遺伝子変異

分子認識

揺らぎ

静電相互作用

疎水性相互作用

両親媒性

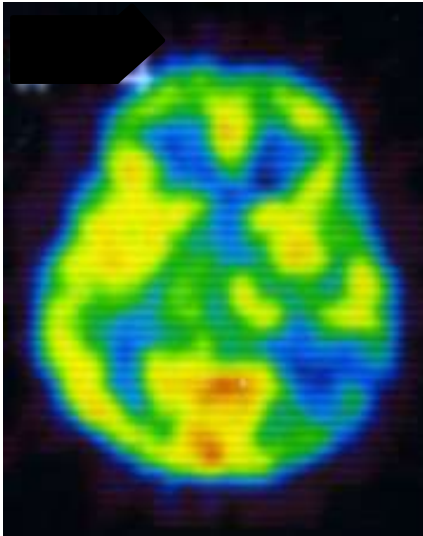
粗視化

イカサマのサイコロ

平衡

名古屋大学に異動し、生物ゲノムの理解のために、DNA配列、アミノ酸配列、構造情報などを組み合わせて解析した

# 生物ゲノムを本当に理解するには 常識的な考えではいけない！



非日常的、非常識的な考えを許容するような脳の回路を作らねばならない！

非日常性の世界に誘う宝塚歌劇に足繁く通った！  
毎回知恵熱が出て、次第に回路ができた……かも

著作権の関係で削除しています。

# 人間の常識 (学者の世論) とは違う自然の論理 (その 1 / 4)

人間の常識 (学者の世論)

自然の論理

サイコロはフェアであるべきである



遺伝子変異のサイコロはイカサマである

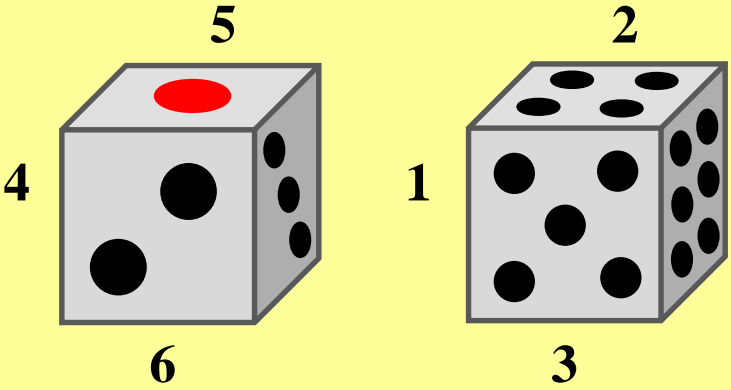
人間の倫理観として、フェアであるべきだという意識がある

しかし、自然にはそのような倫理観は全くない！

自然は遺伝子変異が中立になるように、イカサマのサイコロを振っている！

# DNA塩基配列の変異は、サイコロを振ることに相当する

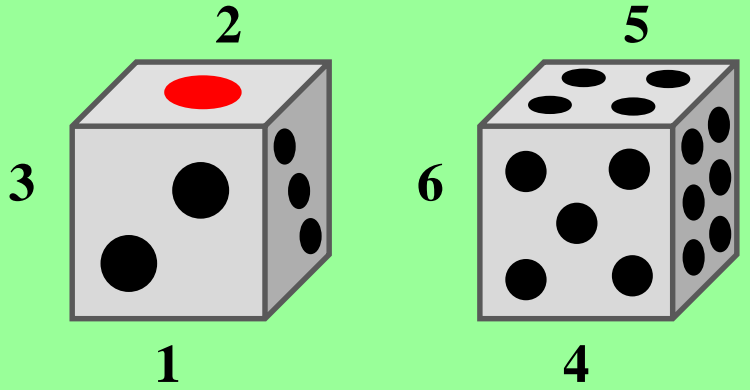
フェアなサイコロ



組み合わせの数  
6通り      6通り

ペア      36通り

イカサマのサイコロ



組み合わせの数  
3通り      3通り

ペア      9通り

100回振ると……、組み合わせの数は  
約  $10^{156}$        $\rightarrow$        **$10^{60}$ 倍**       $\leftarrow$       約  $10^{96}$

# 生物の理解には自然のサイコロのイカサマを見破らねばならない!

$10^{60}$



1京は  $10^{16}$

京コンピュータもイカサマには絶対かなわない

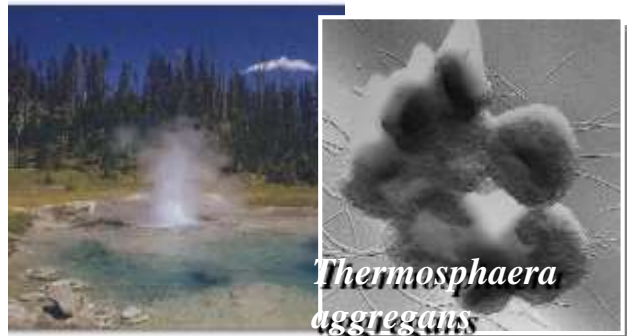
SI接頭辞				
$10^n$	接頭辞	記号	漢数字表記(命数法)	十進数表記
$10^{24}$	<u>ヨタ</u> (yotta)	Y	一 <u>穄</u>	1 000 000 000 000 000 000 000 000
$10^{21}$	<u>ゼタ</u> (zetta)	Z	十 <u>垓</u>	1 000 000 000 000 000 000 000 000
$10^{18}$	<u>エクサ</u> (exa)	E	百 <u>京</u>	1 000 000 000 000 000 000 000
$10^{15}$	<u>ペタ</u> (peta)	P	千 <u>兆</u>	1 000 000 000 000 000 000
$10^{12}$	<u>テラ</u> (tera)	T	一 <u>兆</u>	<u>1 000 000 000 000</u>
$10^9$	<u>ギガ</u> (giga)	G	十 <u>億</u>	1 000 000 000
$10^6$	<u>メガ</u> (mega)	M	百 <u>万</u>	<u>1 000 000</u>
$10^3$	<u>キロ</u> (kilo)	k	千	<u>1 000</u>
$10^2$	<u>ヘクト</u> (hecto)	h	百	<u>100</u>
$10^1$	<u>デカ</u> (deca, deka)	da	十	<u>10</u>
$10^0$	なし	なし	一	<u>1</u>



# 極限環境生物と通常の生物 (バクテリア) の比較

## 極限環境生物の例

### 超好熱菌 (高温環境)



### 好塩菌 (高塩濃度環境)



## 使用したゲノムデータセット

All 537

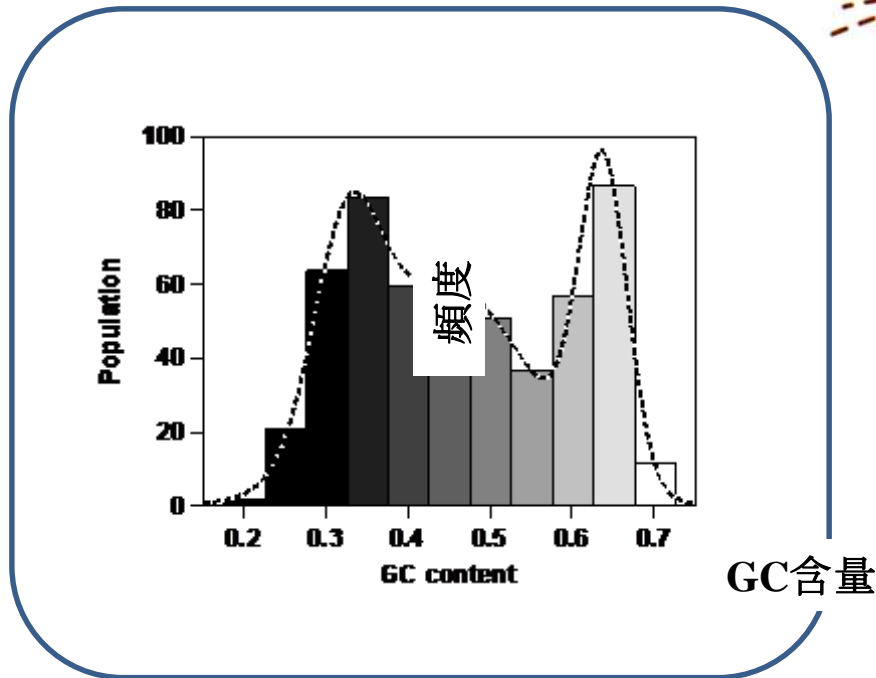
通常環境生物 464  
(非極限環境生物)

## 極限環境生物 73

Acidophile (好酸性)	4
Alkalophile (好アルカリ性)	2
Barophile (好圧性)	1
Halophile (好塩性)	10
Hyper thermophile (超好熱性)	18
Oligotroph (貧栄養増殖性)	3
Psychrophile (好冷性)	7
Radiation resistant (放射線抵抗性)	3
Thermophile (好熱性)	25

GOLD v2.0

# DNAの塩基出現確率 を考える



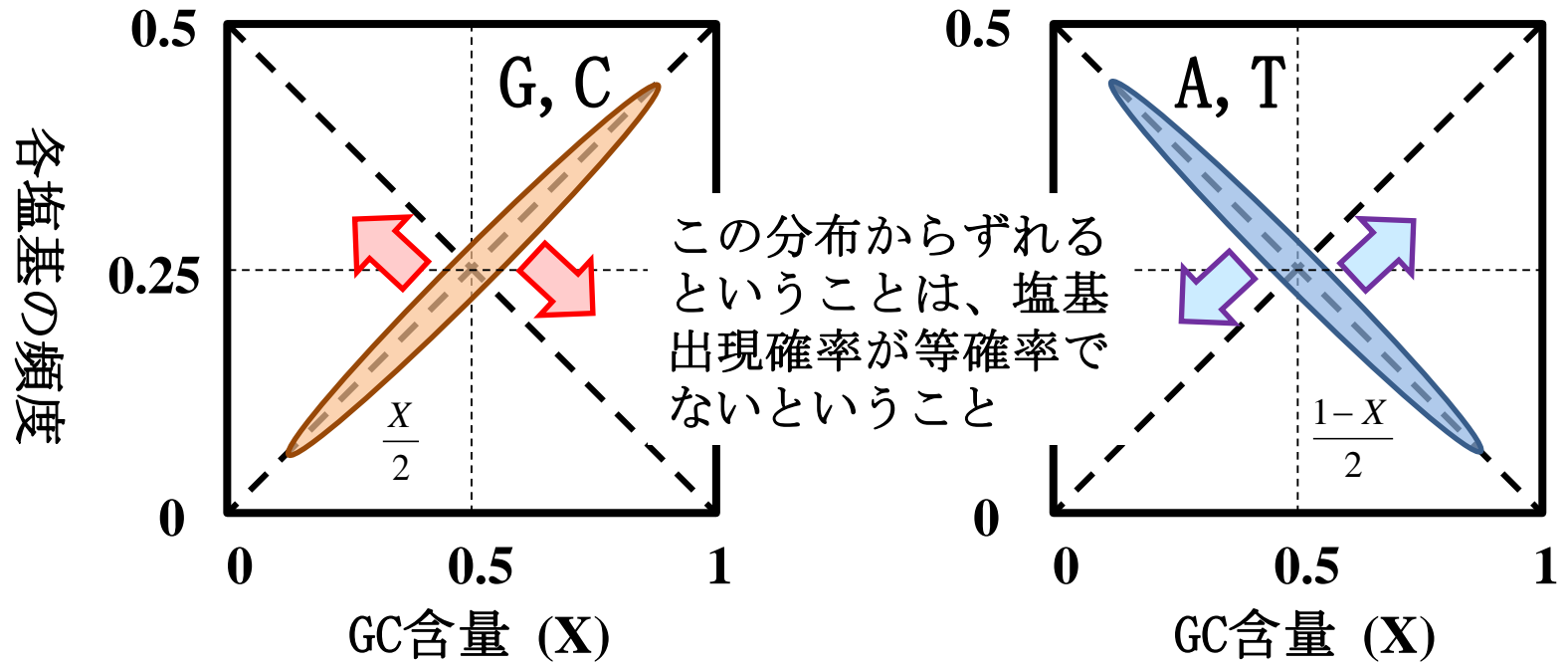
ディー・エヌ・イー  
DNA  
（デオキシリボ核酸）



極限環境微生物も通常の微生物も、ゲノム中ではGC含量は一定だが、生物間では広く分布している

- ◆ A,T,G,Cが完全に無秩序に出現しているか？
- ◆ 極端環境生物では塩基出現確率が異なるか？

# 完全に無秩序な変異によるDNAの塩基出現確率

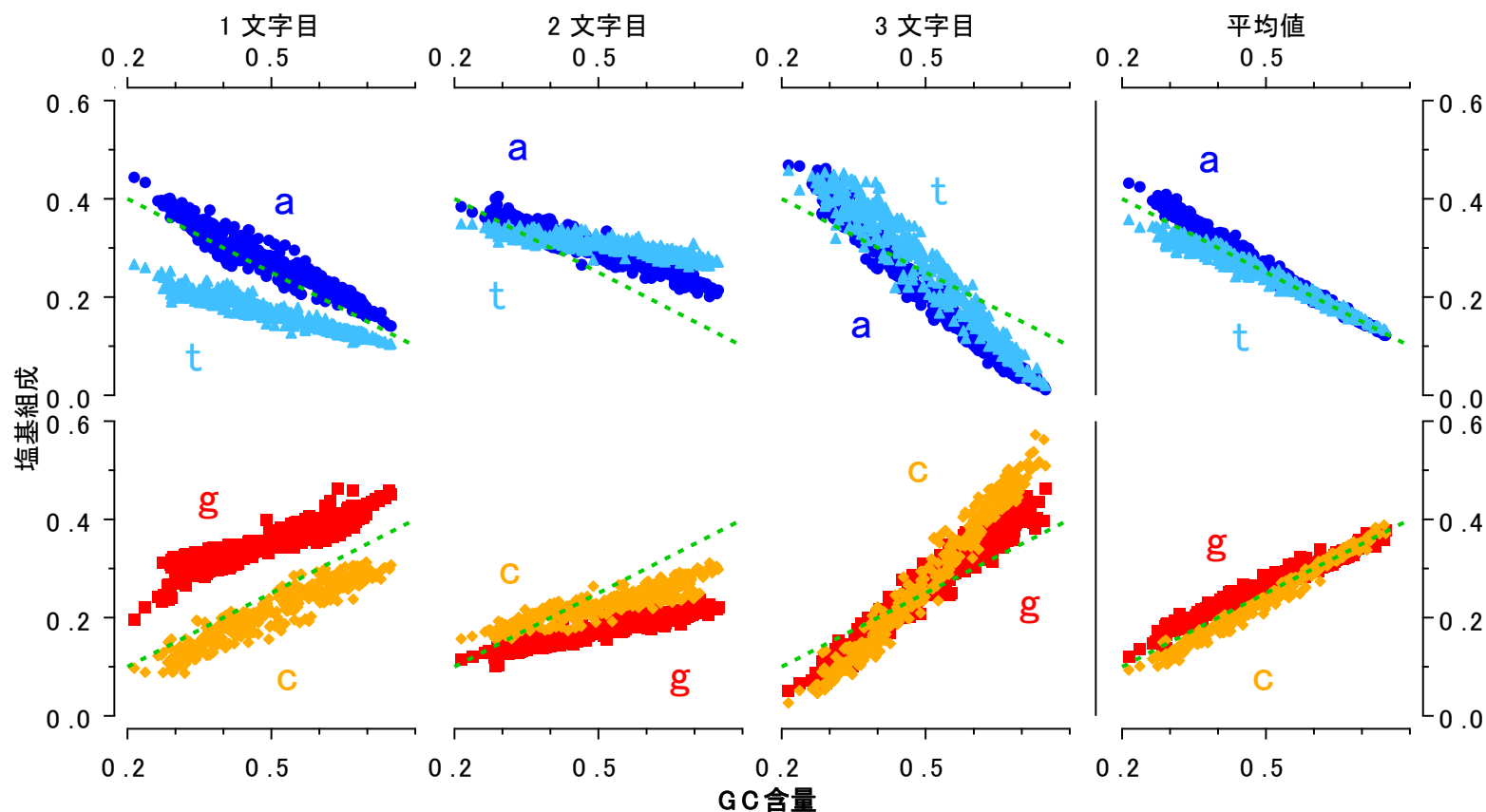


- ◆もし偏りがなければ (フェアなサイコロを振って塩基が決まるならば)、各塩基の頻度は上のような確率となる
- ◆もしずれていれば、DNA塩基配列がイカサマのサイコロによって決まっていると判断される

# 現実の塩基出現確率の分布は、一見完全な無秩序だが コドンの位置によって無秩序から大きくずれている

コドンの各位置における塩基出現頻度のGC含量依存性

## コドンの位置



緑の点線はランダムな塩基配列ゲノム

# イカサマのサイコロの意味へのヒント

遺伝暗号：DNA塩基3文字からアミノ酸1文字への変換の暗号

第2文字目

第1文字目

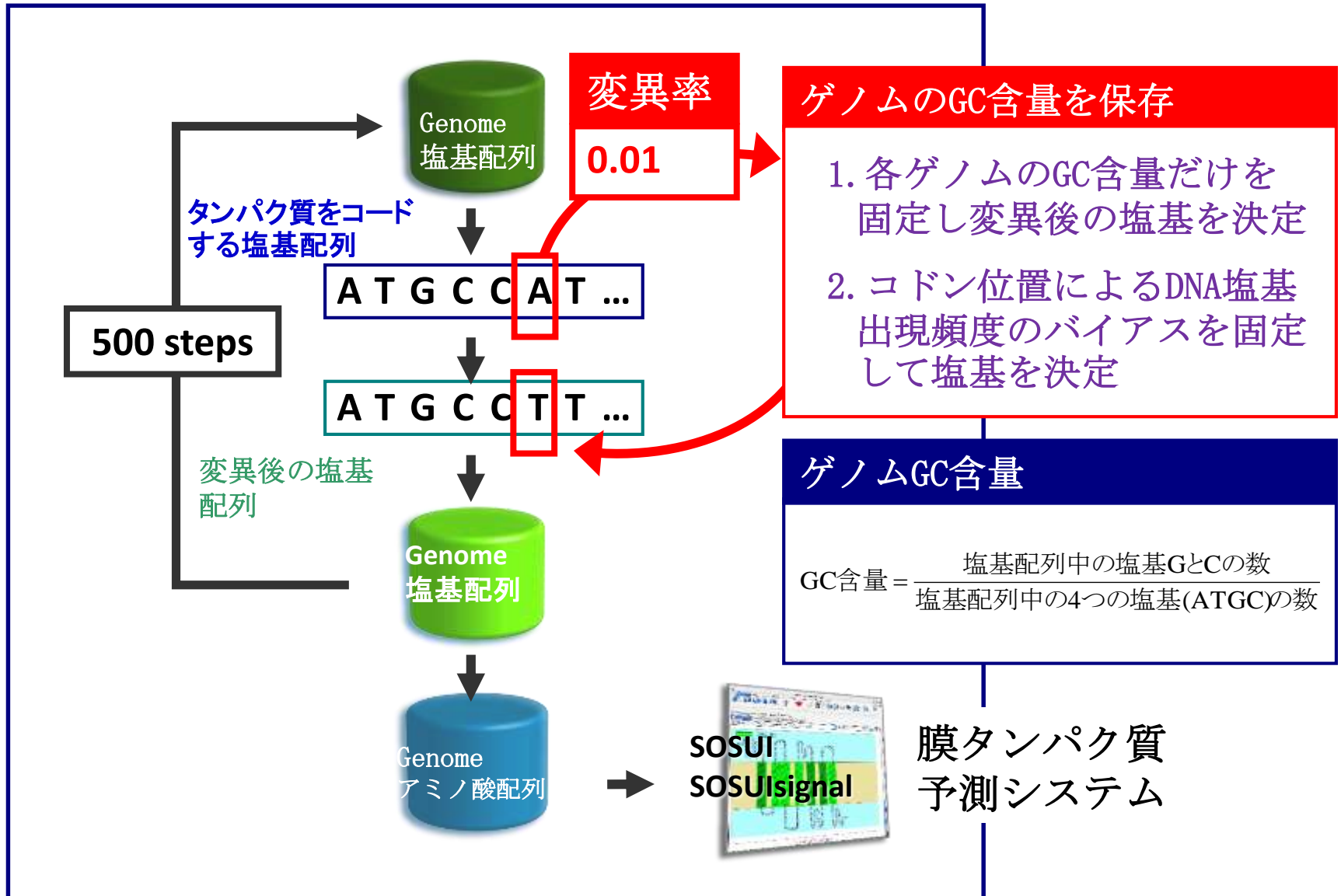
	U (T)	C	A	G	
U (T)	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Leu		Stop	Stop Trp	C A G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
			Gln		C A G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Met		Lys	Arg	C A G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
			Glu		C A G

アミノ酸配列における物性分布を、塩基の出現確率によって制御できることを示している

第3文字目

- Stop, Aromatic  
S-S bond
- Small
- Hydrophobic
- Charged

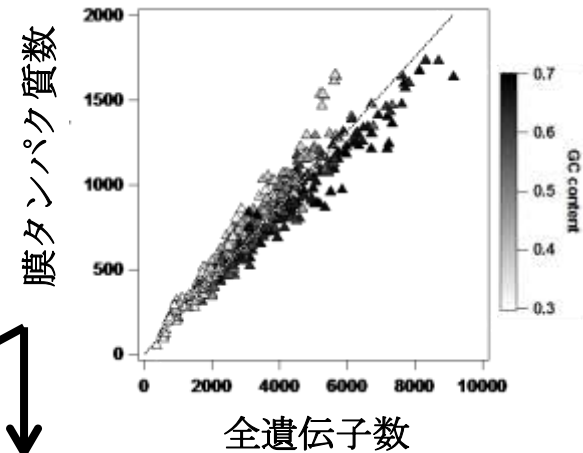
# ランダムな塩基配列シミュレーション



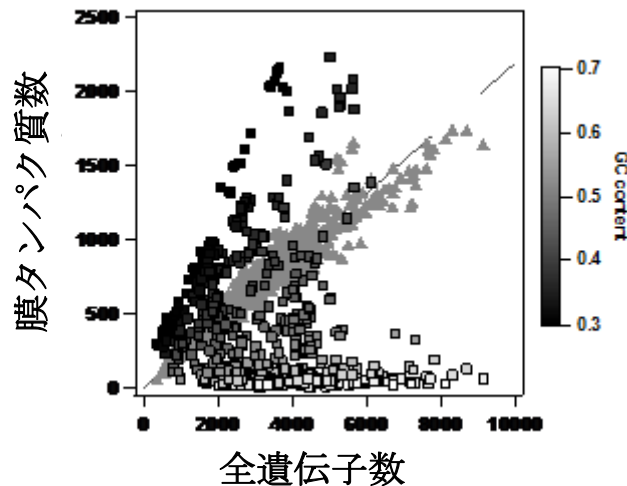
# 遺伝子変異が入ってもタンパク質の分布が変化しない！

DNA塩基配列への大量の変異にも関わらずタンパク質の分布が変わらなければ、生物はロバストになる

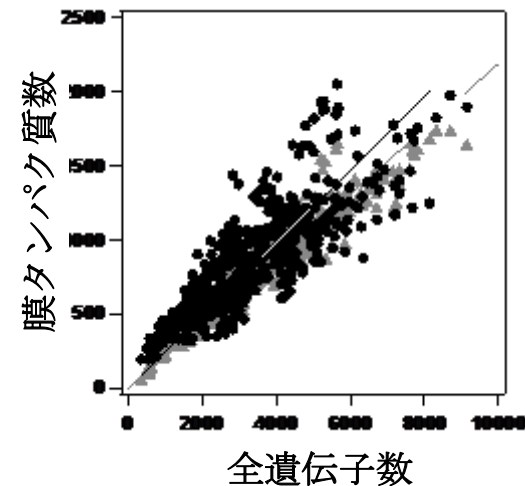
## 0. 現実のバクテリアゲノム



## 1. 塩基出現確率にバイアスがない場合の配列シミュレーション



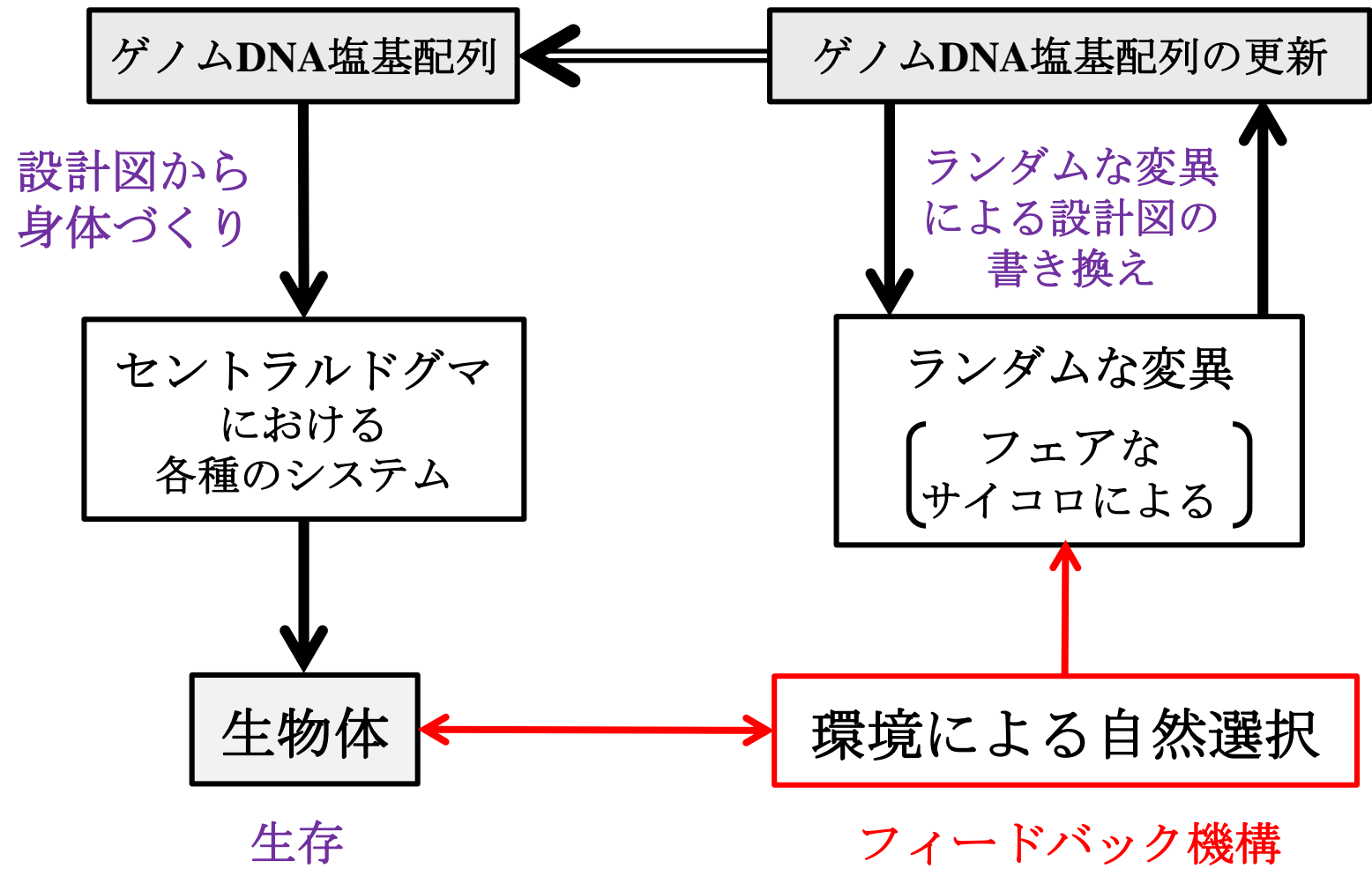
## 2. 塩基出現確率にバイアスがある場合の配列シミュレーション



# 現在の生物学の考え方はフィードバックだが……

【必然性のプロセス】

【偶然性のプロセス】



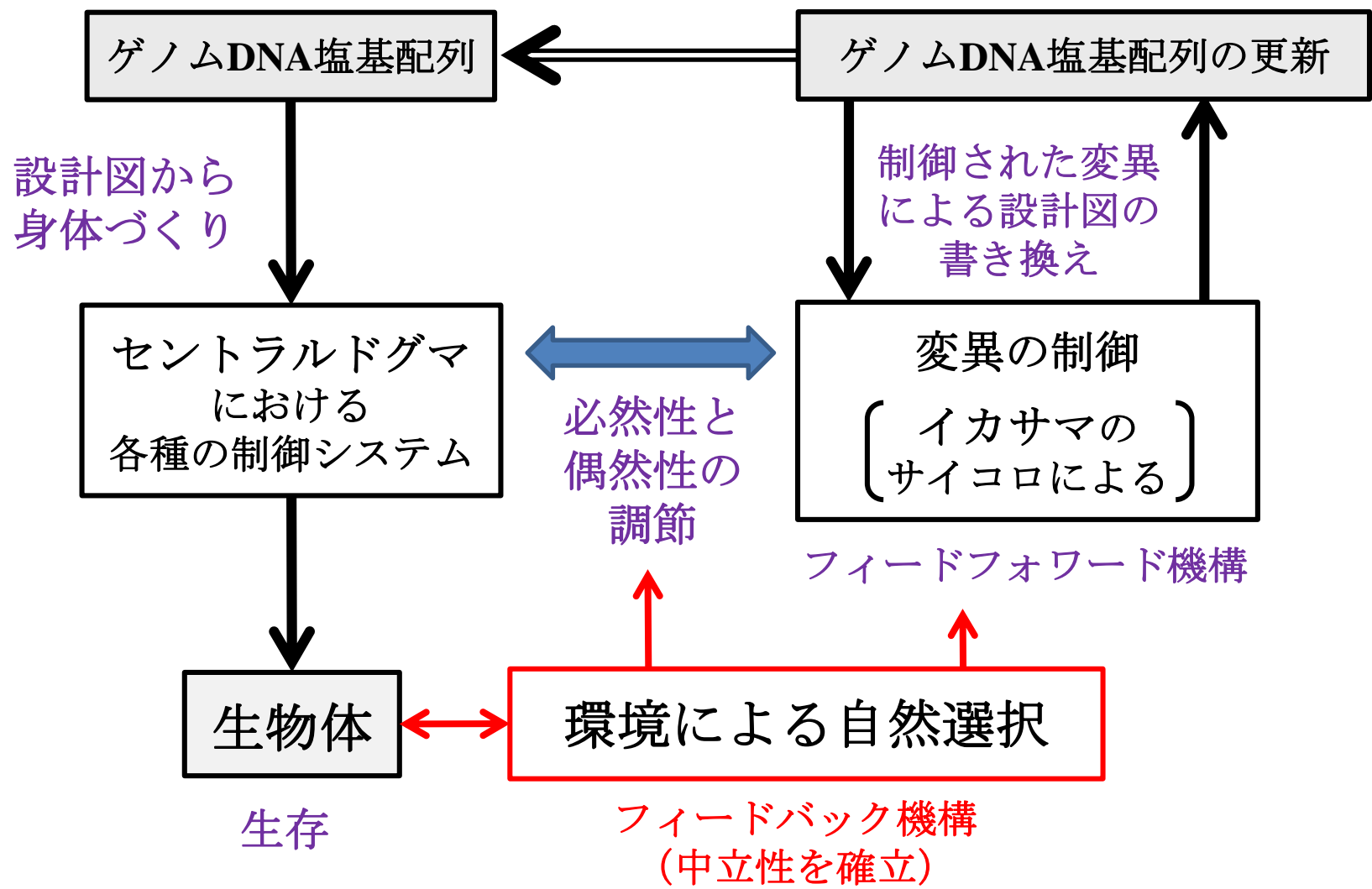
自然選択によるフィードバック機構は組み合わせ爆発からみてありえない



# 本当の生物学の体系への仮説

【必然性のプロセス】

【偶然性のプロセス】



フィードフォワード機構が理解の鍵!

## 人間の常識 (世論) とは違う自然の論理 (その 2 / 4)

人間の常識 (学者の世論)

自然の論理

物事は詳細に調べるのが  
良い



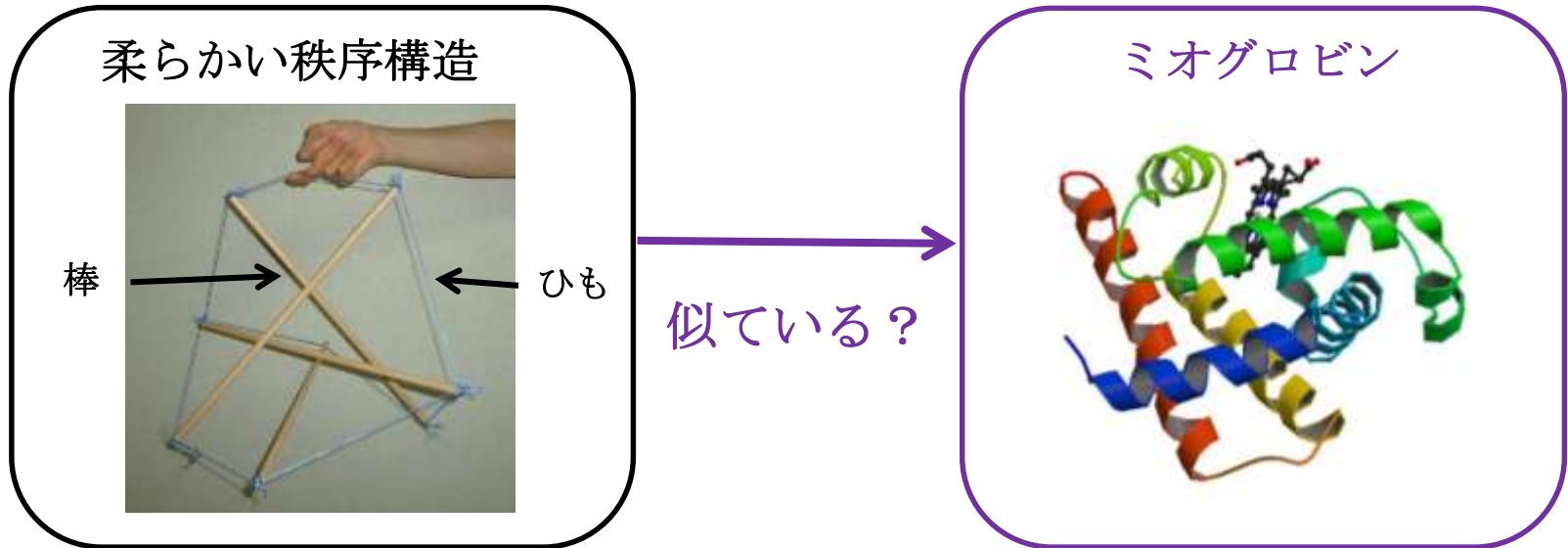
生物の現象によって、適  
切な粗視化が必要である

タンパク質の構造・機能や生物の生き死には、配列  
の変化に対してロバストである。何故か？

自然は生物がロバストになるように、高度な調節を  
しているわけではなく、ただ粗視化しているだけ！

これはタンパク質が柔らかい秩序構造だから可能！

ここで玩具を見ていただくとよいと思う



硬い棒と柔らかいひもの材料は取り替え可能



タンパク質では、配列の物性分布の粗視化が可能

配列の物性の粗視化で分かりやすい例を一つ示す

# アミノ酸配列を素電荷の数値列に変換し自己相関解析

アミノ酸配列

(この配列はSodium channel)

素電荷の数値列

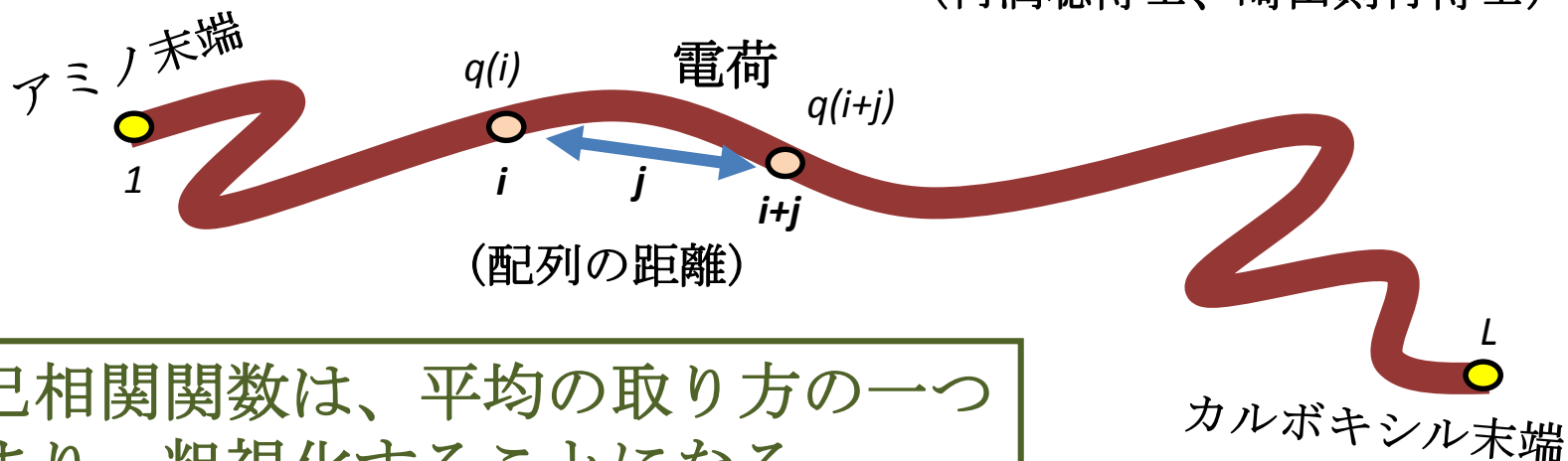
MARPSLCTLVPLGPECLRPFTRESLAAIEQRAVEEEARLQRNKQMEIE  
 EPERKPRSDLEAGKNLPMIYGDPPPEVIGIPLDLDPYYSNKKTFFVLN  
 KGKAIFRFSATPALYLLSPFSVVRGAIKVLHALFSMFIMITILTNCVF  
 MTMSDPPPWSKNVEYTFGTIYTFESLIKILARGFCVDDFTFLRDPWN  
 WLDFSVIMMAYLTFVDLGNISALRTRFRVLRALKTITVIPGLKTIVGA  
 LIQSVKKLSDVMILTVFCLSVFALVGLQLFMGNLRQKCVRWPPFPND  
 TNTTWYSNDTWYGNDRWYGNEMWYGNDSWYANDTWNASHASWAT  
 NDTFDWDAYSISDEGNFYFLEGSNDALLCGNSSDAGHCPEGYECIKTG  
 RNPNYGYTSYDTFSWAFLALFRLMTQDYWENLFLTLRAAGKTYMI  
 FFVVIIFLGSFYLINLILAVVAMAYAEQNEATLAEDKEKEEEFQQMLE  
 KFKKHQEELEKAKAAQALEGGADGPAHGKDCNGSLDTSQGEKG  
 APRQSSGDSGISDAMEELEEAHQKCPPWWYKCAHKVLIWNCCAPW  
 LKFKNIHLIVMDPFVLDGITICIVLNLFLMAMEHYPMTEHFDNVLTV  
 GNLVFTGIFTAEMVLKLIAMPYEFYQGWNFDSIIVTSLVELGLA  
 NVQGLSVLRSFRLLRVFKLAKSWPTLNMLIKIIGNSVGA LGNLTVLA  
 IIVFIFAVVGMQLFGKSYKECVCKIALDCNLRWHMHDFHSLFIVFR  
 ILCGEWIETMWDCEVAGQAMCLTVFLMVMVIGNLVVLNLFALL  
 LSSFSADSLAASDEDGEMNQLIATGRILKLGIFAKAFLGLLHGKILS  
 PKDIMLSLGEADGAGEAGEGETAPEDEKKEPEEDLKKDNHILNHM  
 GLADGPPSSLELDHLNFINNPYLTIQVPIASEESDLEMPTEETDTFSEP  
 EDSKPKPQPLYDGNSSVCSTADYKPEEDPEEQAEENPEGEQPEECFT  
 EACVQRWPCLYVDISQGRGKKWTLRRA CFKIVEHNWFETFIVFMI  
 LLSSGALAFEDIYEQRRVIRTILEYADKVFTYIFIMEMLLKWVAYGFK  
 VYFTNAWCWLDLFLVDVSIISLVANWLGyselGPIKSLRTRLRALRPLR  
 ALSRFEGMRVVVNALLGAIPSIMNVLLVCLIFWLIFSIMGVNLFAGKF  
 YYCINTTTSERFDISEVNNKSECESLMHTGQVRWLVNVKNYDNLVGLG  
 YLSLLQVATFKGWMDIMYAAVDSREKEEQPYEVNLYMYLYFVIFII  
 FGSFFTLNLFIVIIDNFNQKKKLGKGDIFMTEEQKKYYNAMKKLG  
 SKKPQKPIRPQNKIQGMVYDLVTKQAFDITIMILICLNMVTMMVET  
 DNQSQLKVDILYNINMIFIIIFTGECVLKMLALRQYFVTGWNIFDFVY  
 VILSIVGLALSDLIQKYFVSPTLFRVIRLARIGRVLRLIRGAKGIRTLF  
 ALMMSLPALFNIGLLFLVMFIYSIFGMSNFAVYVKKESGIDDMFNFT  
 FGNSIICLFEITTSAGWDGLLNPILNSGPPDCPNLENPGTSVKGDCGN  
 PSIGICFFCSYIISFLIVVNMYIAIILENFNVATEESSEPLGEDDFEMFYE  
 TWEKFDPDATQFIAYSRLSDFVDLQEPLRIAKPNKIKLITLDLPMVP  
 GDKIHCLDILFALTKVELGDSGEMDALKQTMEEKFMAANPSKVSYP  
 ITTTLKRKHEEVCAIKIQRAYRRHLLQRSMKQASYMYRHSHDGSDD  
 APEKEGLLANTMSKMYGHENSSSPSPEEKGEAGDAGPTMGLMPIS  
 PSDTAWPPAPPPGQTVRPGVKESLV

0010000000000-10010001-100000-10100-1-1-1010010100-10-1-10-11  
 1010-10-100100000-1000-1000000-1-10-1000001100000010100010 00  
 1000000000000110001000100000000000000000000-100000100-10000  
 00000-1000100010000-1-100001-100000-10000000000-100-100000001  
 00100100100000000100000000001100-100000000000000000000000000001  
 01001000000-100000000-100000-100000-100000-100000-1000010000  
 00-100-10-10000-1-1000000000-100000000-100100-100-1001001000  
 000000-1000000000010000-100-10000000100010000000000000000000  
 000000000000-100-10000-1-11-11-1-1-100000-1101110-1-10-11010011  
 1-1-10-110100000-100-10-10-100101-100000-10000-11000100000-100  
 00-100-1-10-1-101010000000100110000000000010100010000-1000-10  
 000000000000000-110000-110-1000000000000000-10001000-100-100  
 0000000-1000000000-1000000000001001001001001000000001000000  
 00  
 00  
 00-1-1-10-10000000001010000001000000010100001-100000-10-1000  
 0-100-100-1000-1-1-111-100-1-1-1011-101000-10000-1000000-10-1100  
 000000000000000-1-10-10-1000-1-1-10-100-10-1-1011000000-100000  
 000-10100-1-1-10-1-100-1-100-10-100-1-1000-1000010000000-100001  
 011000011000100-11000-10000000000000000-1-1000-1011001000-100  
 -110000000-1000100000010000000000-10000-1001000000000-1000100  
 100100100100010-100100010  
 000000000-110-100-100010-10-100010000100001000-1000000000000000  
 001000-1000000-101-11-1-10000-1000000000000000000000000000000000  
 -1000001110001-10000-1-10110000011000110010001000100000-10001  
 000-10000000000000000-100-10000010-1000000000000000-10001000  
 0100000000000-100000000000000-1000100000000010010001000010000  
 00000000-100000000000000-10001000000000100100100100100100100  
 100011-1000-1-10000-100000  
 0000-10000000-1000000000000-10-1000-100000010-1000000000000000  
 000000000000000-1000000-1-100-1000-1-1-10-1000-1100-10-1000000  
 00100-100-1000-1001001001010000-1000000-110100-1000001-1000-10  
 0-10-1001000-1-110000001000-1000001111-1-10000100100111000100  
 1000001101-1000-1-100-11-10000000010001-1000000000-1-110-100-1  
 0000000000000-10000000000000100 01-1000



# 全アミノ酸配列からの電荷の自己相関関数を計算してみた

(柯潤聡博士、崎山則行博士)



自己相関関数は、平均の取り方の一つ  
つまり、粗視化することになる

$$AC(j) = \frac{\sum_{k=1}^N \sum_{i=1}^{L(k)-j} [q(i)q(i+j)]}{\sum_{k=1}^N [L(k) - j]}$$

(  $L(k) > j$  )

$q=+1$  for R, K and H

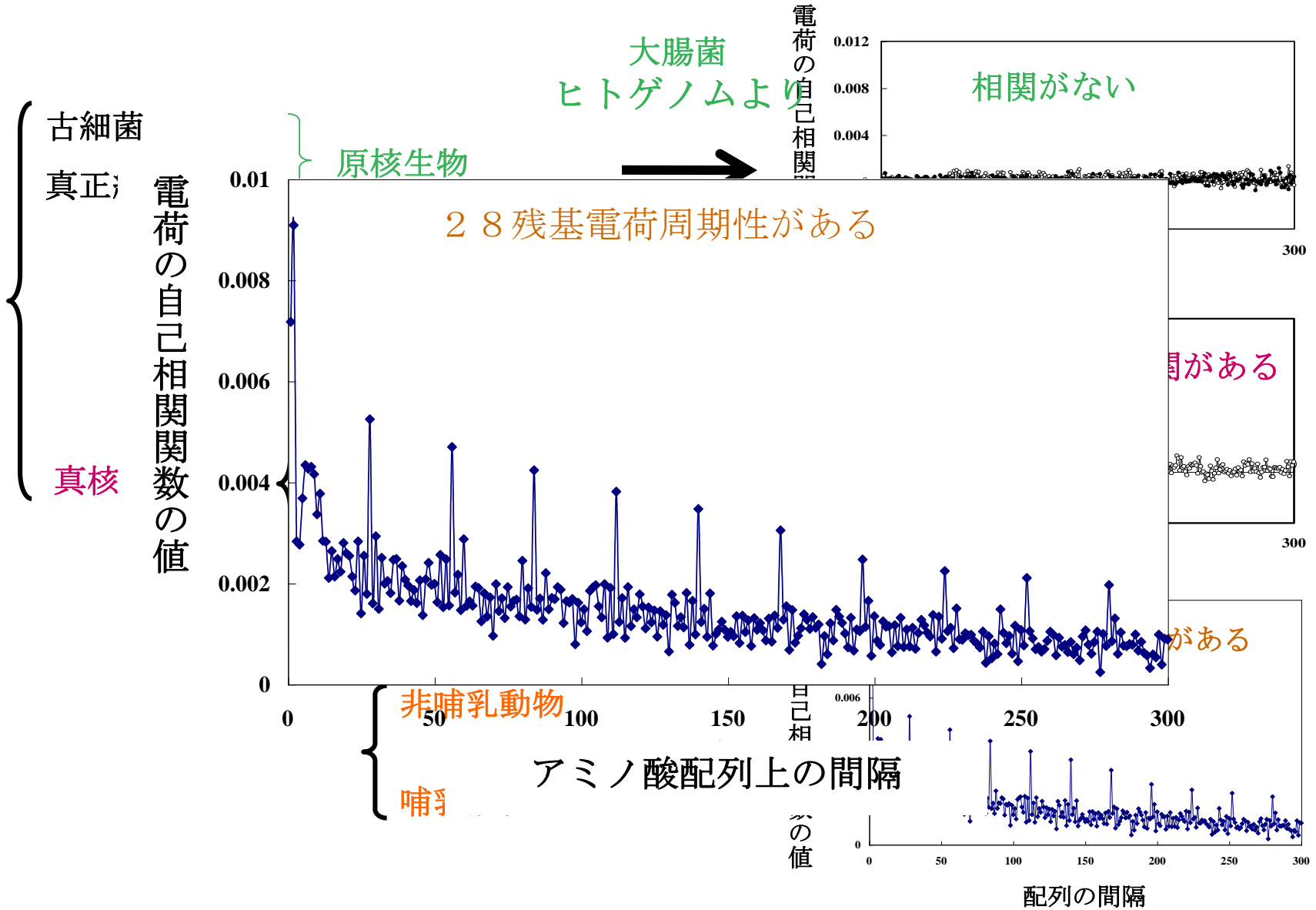
$q=-1$  for D and E

$q=0$  for G, A, V, L, I, M, F,  
Y, W, T, S, P, C, N and Q

同じ電荷の組み合わせが多いと、この値が正になる

周期的に電荷が出現すると、グラフにピークが見られる

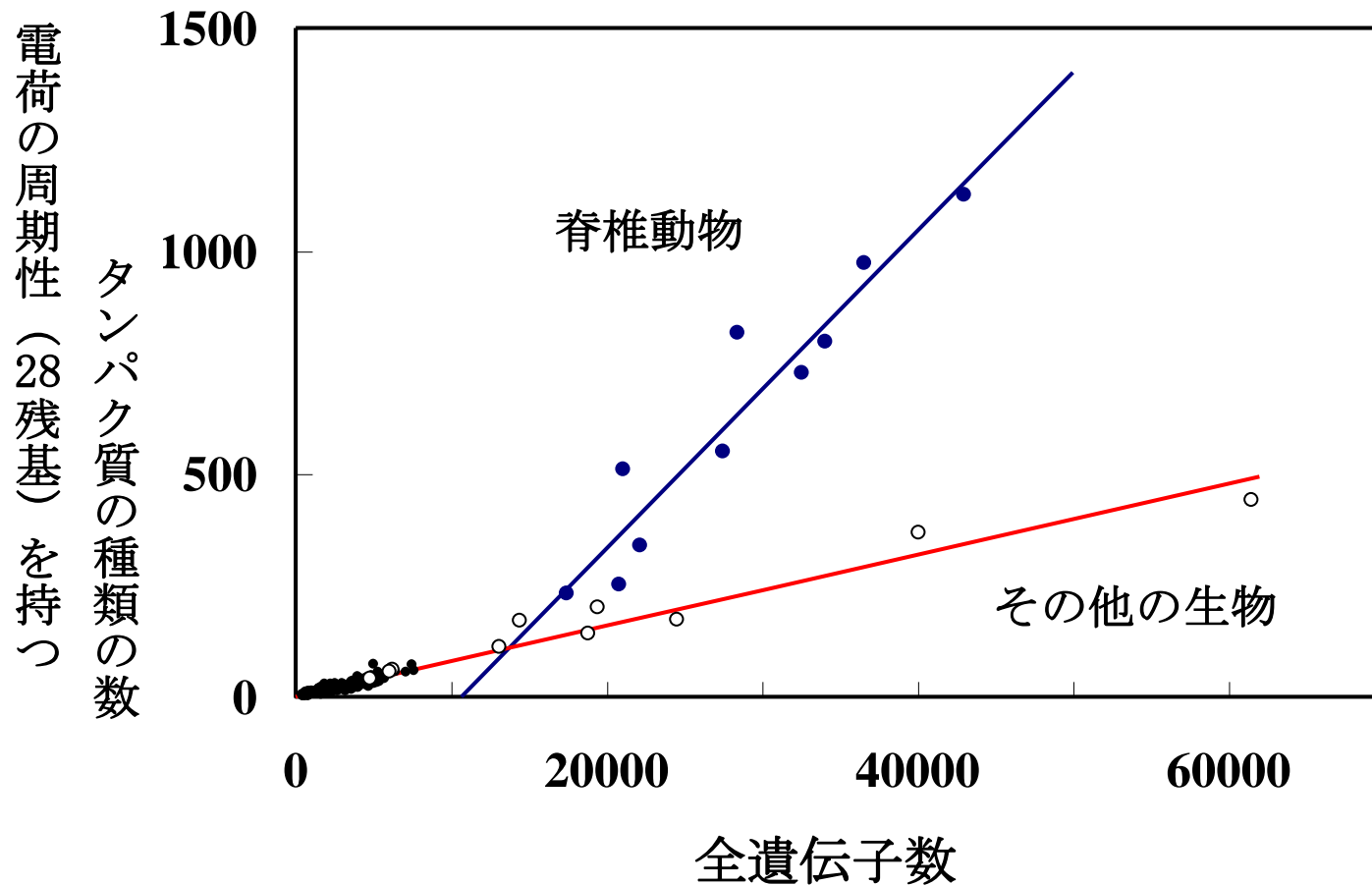
# 生物ゲノムからの全アミノ酸配列の電荷自己相関関数



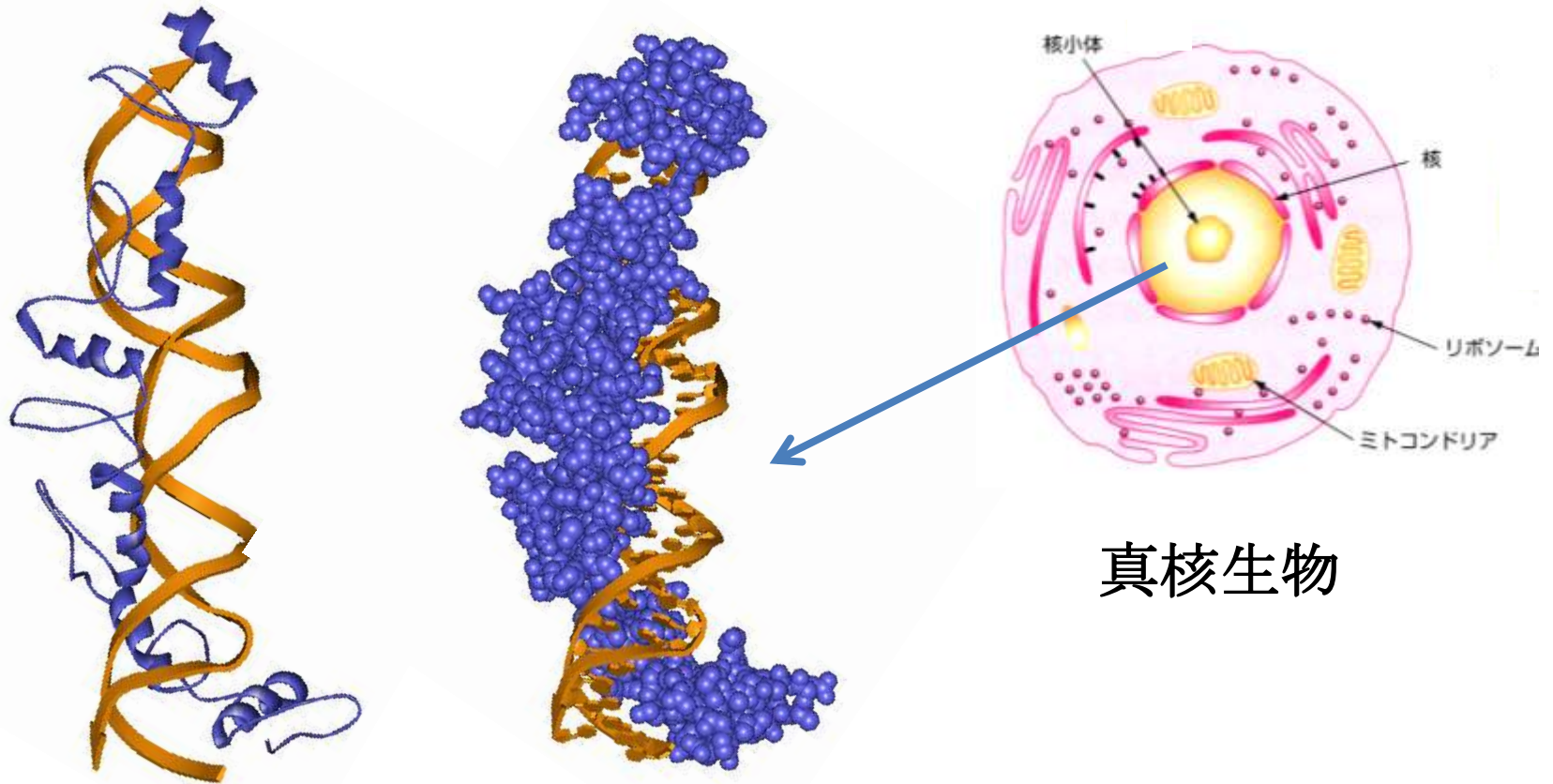
# 脊椎動物のゲノムにだけ、このタイプのタンパク質が多い

R. Ke, S. Mitaku et al., J. Biochem., **143**, 661-665, 2008

N. Sakiyama, S. Mitaku et al., CBI Journal, **7(3)**, 69-78, 2007



## 遺伝子制御のタンパク質 (Zinc finger protein)



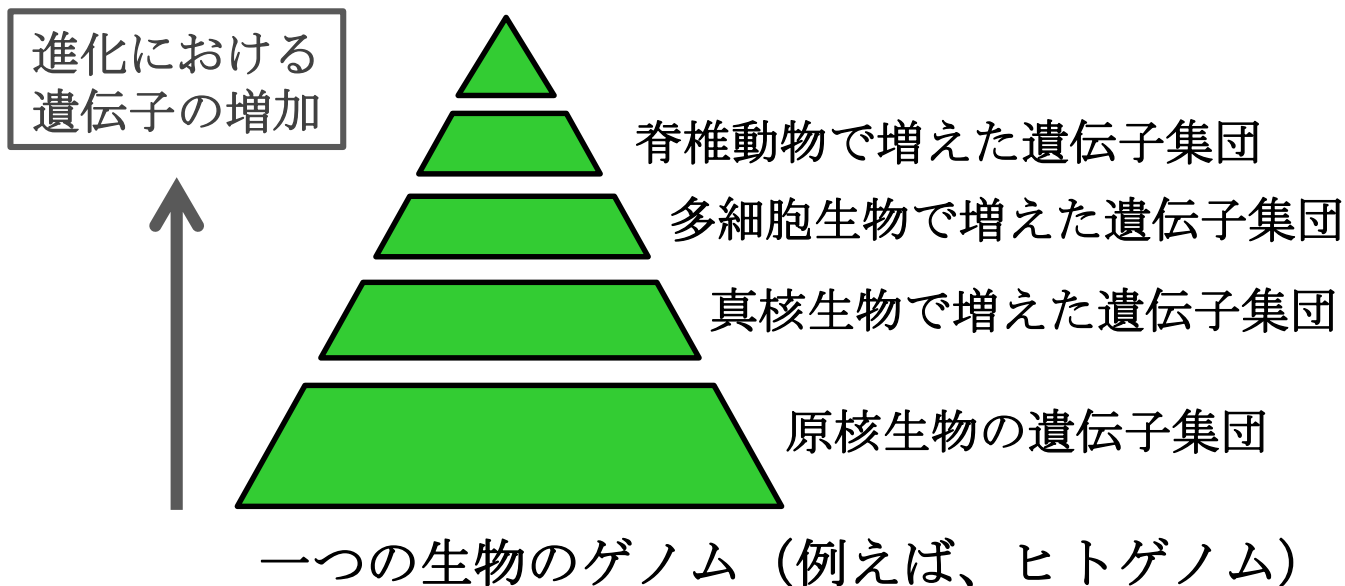
真核生物

DNAに結合するジンクフィンガータンパク質は正電荷を帯びている。その多くに28残基の鋭い周期性があった。

注目すべきことは、物理的性質と進化が関係していることである



《生物のゲノムは、大きく進化するたびに、それに対応する遺伝子集団が増加してきた》という考えは自然で、それを明らかにすることがヒトゲノム計画の目標の一つでもあった。



配列の検索による従来法では、遺伝子の一部しか明らかにならない本来配列の物性分布を調べ、ゲノムの全ての遺伝子を解析すべき！

この仕事のポイントは、新たな生物集団が生まれるとき、遺伝子集団の数ではなく割合が増えていることである！

# 人間の常識（学者の世論）とは違う自然の論理 （その3 / 4）

人間の常識（学者の世論）

自然の論理

生物は複雑で平衡状態などではない



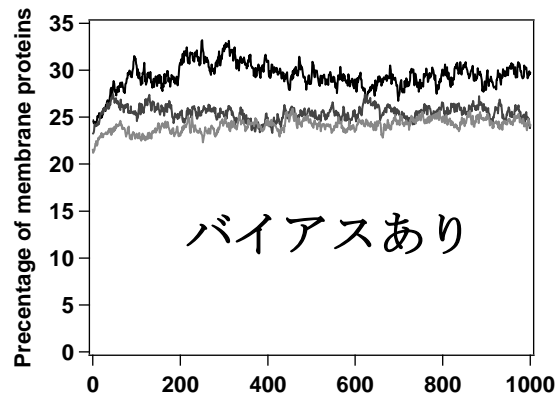
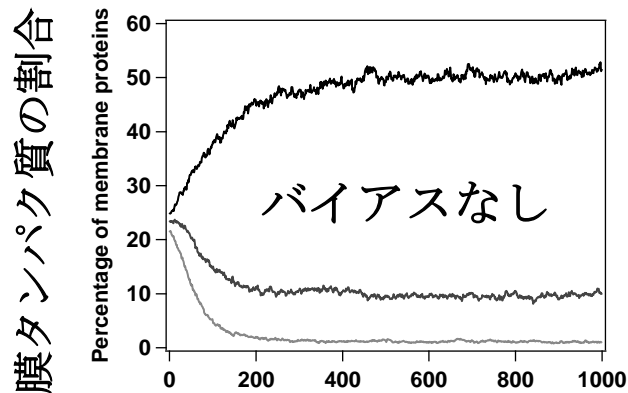
生物は遺伝子変異によるタンパク質世界の平衡状態である

平衡状態という概念は、物理の熱平衡状態よりもっと広い概念である

生物は、DNA塩基配列のランダムな変異によって変化し、タンパク質の世界で平衡状態になっている

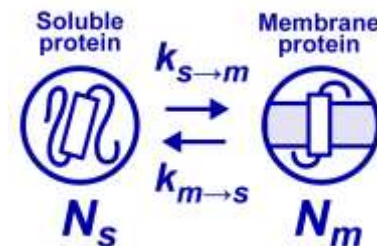
# タンパク質集団における平衡

膜タンパク質の割合はO(N)の速さで収束する！

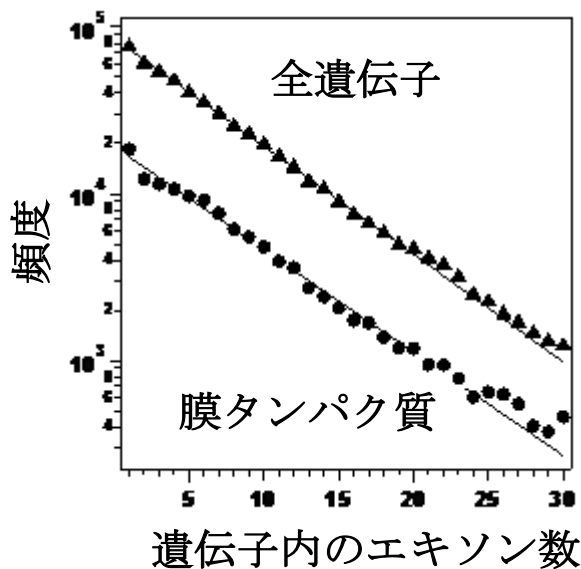


変異導入のステップ数 (1ステップは100塩基に1変異)

DNA塩基配列に対する変異によるタンパク質の性質の変換



エクソン数分布は平衡を示唆する指数分布になる



$$E_1 \xrightleftharpoons[k^-]{k^+} E_2 \xrightleftharpoons[k^-]{k^+} \dots \xrightleftharpoons[k^-]{k^+} E_j \xrightleftharpoons[k^-]{k^+} E_{j+1} \xrightleftharpoons[k^-]{k^+} \dots$$

平衡状態に達しているとする

$$\frac{\langle E_j \rangle}{\langle E_1 \rangle} = \left( \frac{k^+}{k^-} \right)^{j-1} : \text{指数分布}$$

割合が一定というのは状態の平衡を意味している

# 人間の常識 (学者の世論) とは違う自然の論理 (その4 / 4)

人間の常識 (学者の世論)

自然の論理

大事なもの (アミノ酸)  
は保存される



保存されないことが非常  
に大事な現象もある

免疫系のタンパク質集団は、1億種類もの抗原を認識することができると考えられている。多様な配列によって、多様な分子を認識する物理的メカニズムを理解しなければならない

これは免疫系だけではなく、すべてのタンパク質による分子認識の問題につながるが、配列の保存性の解析では全く歯が立たない問題である

配列の検索、モチーフなどは「大事なものは保存される」という論理に基づく解析方法である

位置番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
遺伝子A	C	A	C	a	a	a	c	g	A	G	A
遺伝子B	C	A	C	a	t	g	g	-	A	G	T
遺伝子C	C	A	A	t	c	t	a	-	A	G	A
遺伝子D	G	A	C	c	g	c	t	-	A	G	A
遺伝子E	C	A	C	a	c	t	-	-	A	G	A

これは本当に役立つ良い方法である

しかし、保存されないことが大事な場合もある

分子認識は、結合部位がそれぞれ異なるからこそ、その働きに意味がある

## 配列情報から分子認識をどう扱えばよいか？

$$\text{(分子認識)} = \text{(結合性共通配列)} + \text{(特異的配列)}$$



物性分布として共通

- ◆ この基本的考え方に基づけば、まず結合性共通配列を明らかにすることが大事である

(結合性共通配列) をシグナル、(特異的配列) をノイズと見て、多くの分子認識部位を重ねてみればよい

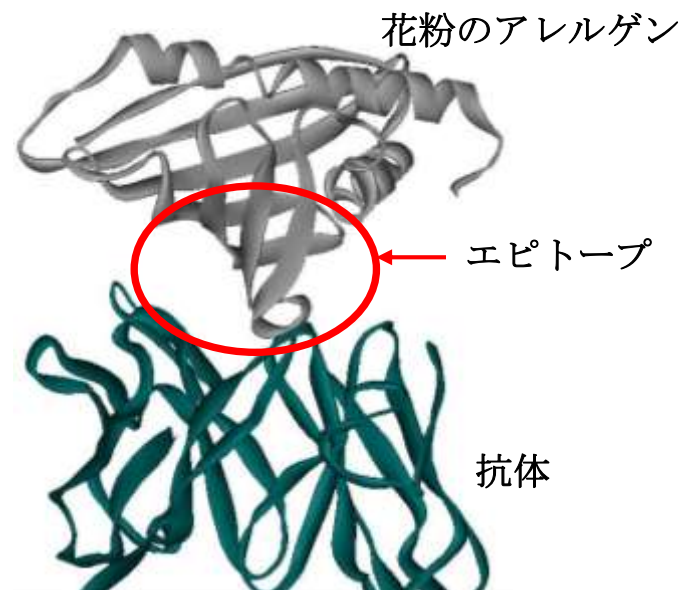
# アレルゲンにはこの問題に適切な配列断片がある

- (1) アレルゲンおよび非アレルゲンのアミノ酸配列のデータベースを解析に用いた

Datasets	No. of sequences	Databases
ALG	663	Allermatch [15]
NEG	539	A. Zornet, et al. [14]
Epitope	57	SDAP [16], Allergen Database [17], ProtAll [18]

- (2) アレルゲンと非アレルゲンのアミノ酸配列を比較し、アレルゲンだけに出現する断片を抽出した

- (3) アレルゲンだけで出現する断片を中心として、周りにアミノ酸がどのような頻度で出現するかを調べた



カバ花粉とIgG抗体との複合体  
PDBID: 1FSK

# アレルゲンだけに見られる配列断片 (AUF)の周りのアミノ酸分布 (Asakawa *et al.*, 2010)

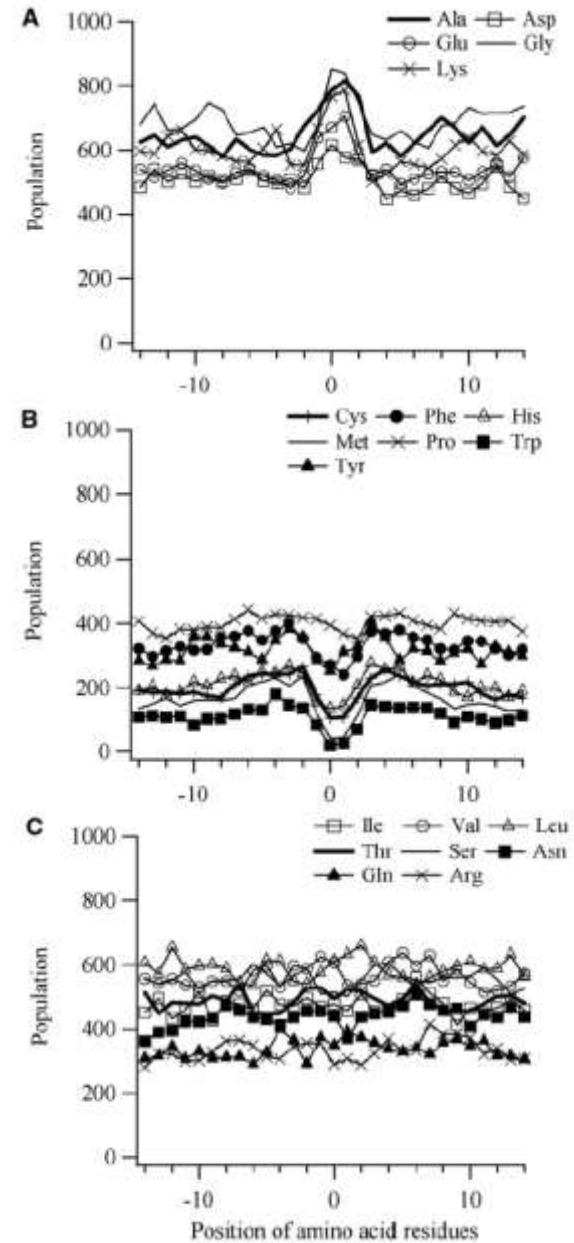
配列断片の周辺のアミノ酸分布には、  
3つのパターンがあった

(A) ホワイトノイズに相当する一定の  
頻度に加えて、中心にピークがある  
分布

(B) ホワイトノイズに相当する一定の頻  
度に加えて、中心に谷がある分布

(C) ホワイトノイズに相当する一定の頻  
度にだけの分布

ホワイトノイズの部分を除くと……

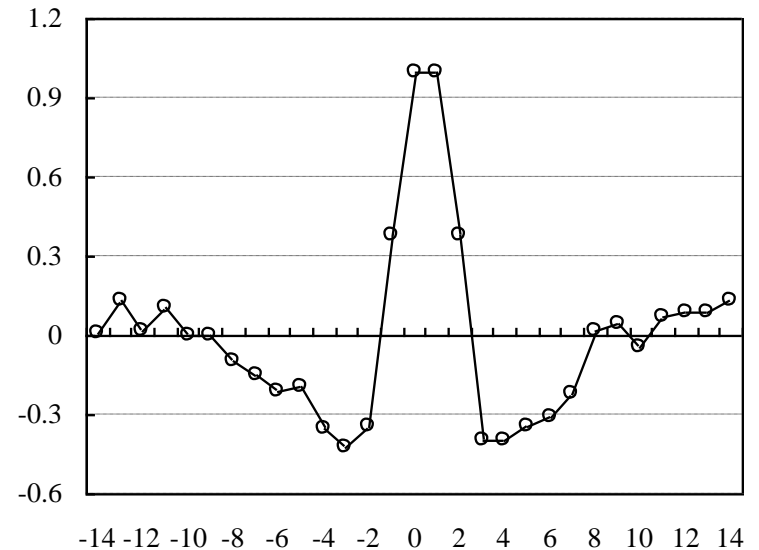




## アレルギー特異的配列(AUF) 周辺の特徴的アミノ酸分布

- ◆ 中心のピーク：電荷を持ったアミノ酸 (D, E, K) と小さいアミノ酸 (G, A)
- ◆ 中心の谷：芳香族のアミノ酸 (F, W, Y, H) とイオウを持つアミノ酸 (M, C)、イミノ酸 (P)

$f(j)$

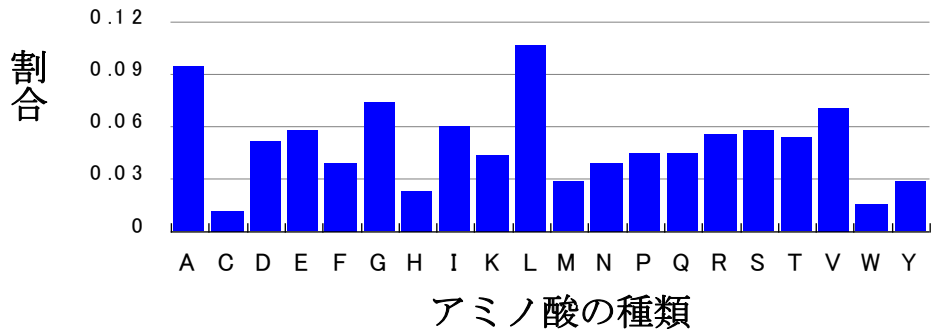
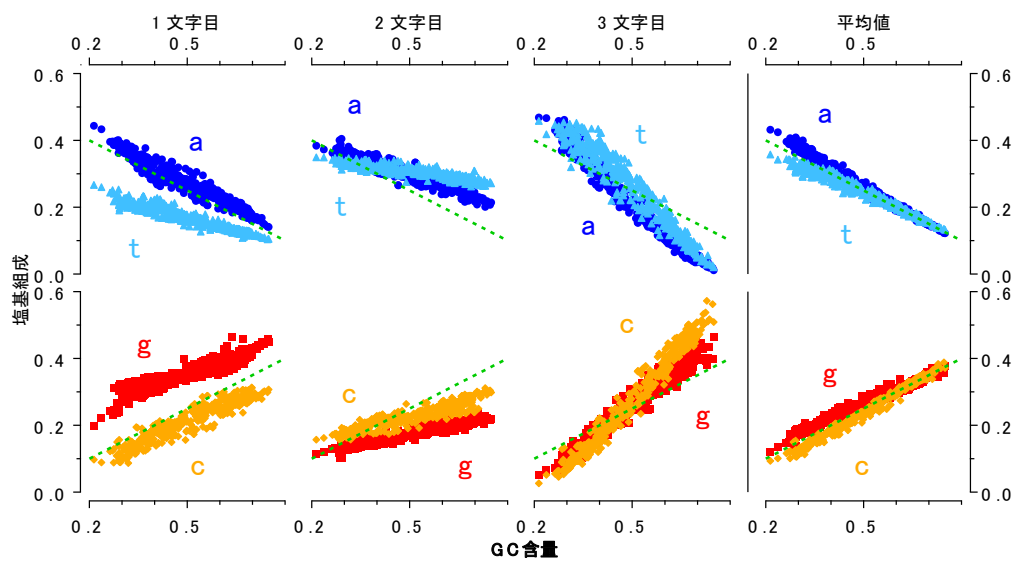


## アレルギー特異的アミノ酸分布のインデックス (AUFインデックス)

$A(i)$

positive weight		negative weight		no weight	
D	170.0	M	-201.5	I	0.0
E	224.5	W	-161.0	V	0.0
A	238.5	F	-159.0	L	0.0
G	253.5	C	-158.5	T	0.0
K	285.0	Y	-152.0	S	0.0
		H	-141.0	N	0.0
		P	-90.0	Q	0.0
				R	0.0

# えっ！ 分子認識の結合性共通配列と遺伝暗号のイカサマサイコロと同じ特徴を？！



第2文字目

	U (T)	C	A	G	
U (T)	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Leu		Stop	Stop	A
C	Leu	Pro	His	Arg	U
			Glu		A
A	Ile	Thr	Asp	Ser	U
	Met		Lys	Arg	A
					G
G	Val	Ala	Asn	Gly	U
			Gln		A
					G

第1文字目

第3文字目

## 分子認識の予測に使えるインデックスが開発された

カバ花粉のアレルゲンのエピトープ (赤) はアミノ酸配列から計算した中間疎水性のAUFピーク (青) とよく一致する

実験からのエピトープ



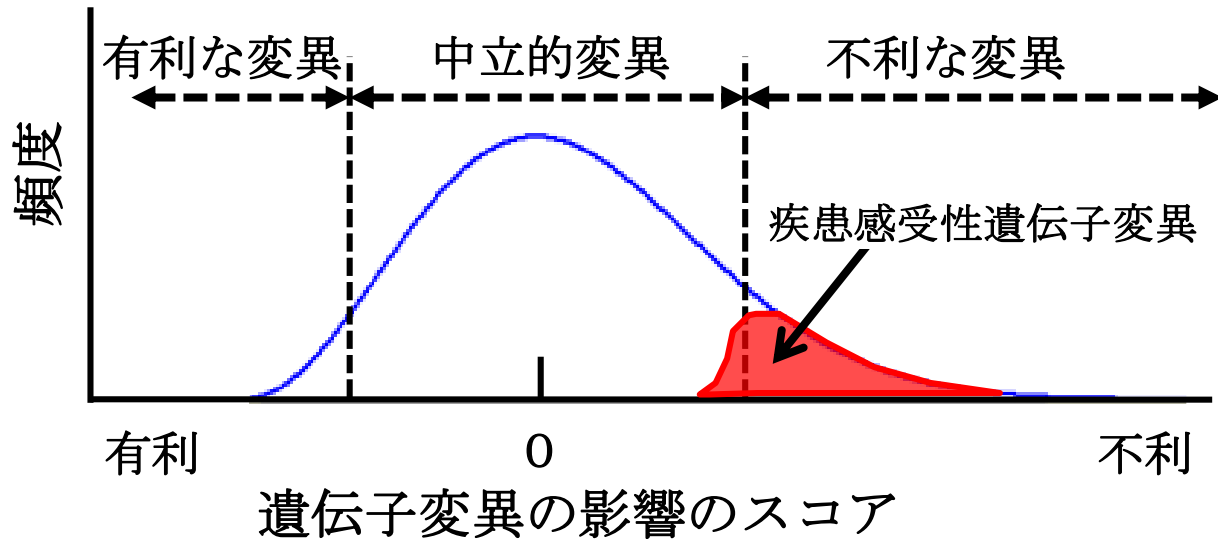
配列の分子認識部位予測



(カバ花粉のアレルゲン)

## 私たちの社会に関わること

遺伝子変異の平衡分布を有利-不利の軸で見ると



疾患感受性遺伝子変異のデータベースは遺伝子変異の平衡分布を明らかにするための重要な材料を与え、医学に役立つはずである

さらに研究を進めればよいのだが、話はここまで！

# まとめ1

今日の最終講義は本（3月10日出版）にまとめました  
読んでもらえれば幸いです



# 科学者のあり方としては……

原理 その1  
遺伝子変異はイカサマのサイコロによるランダムな配列の変化である

勉強

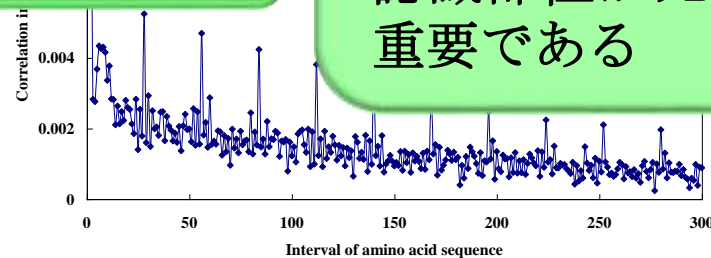
原理 その2  
生物ゲノムやタンパク質の全体像を理解するには、問題の粗視化が重要である

原理 その3  
生物界のゲノムはランダムなDNA塩基配列の変異でできており、それをタンパク質の世界で見ると平衡状態になっている

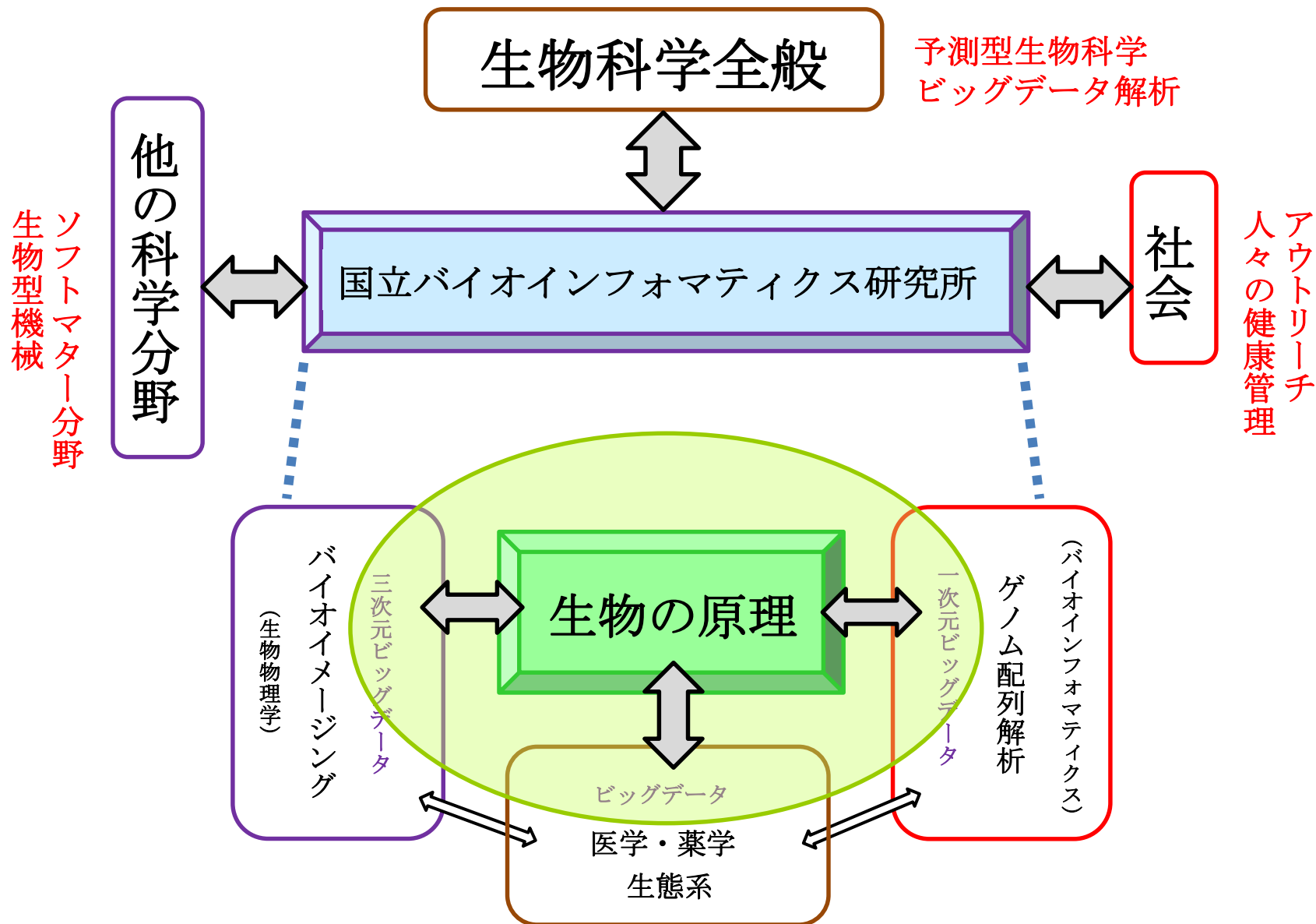
脳の回路の形成 想

生物の原理

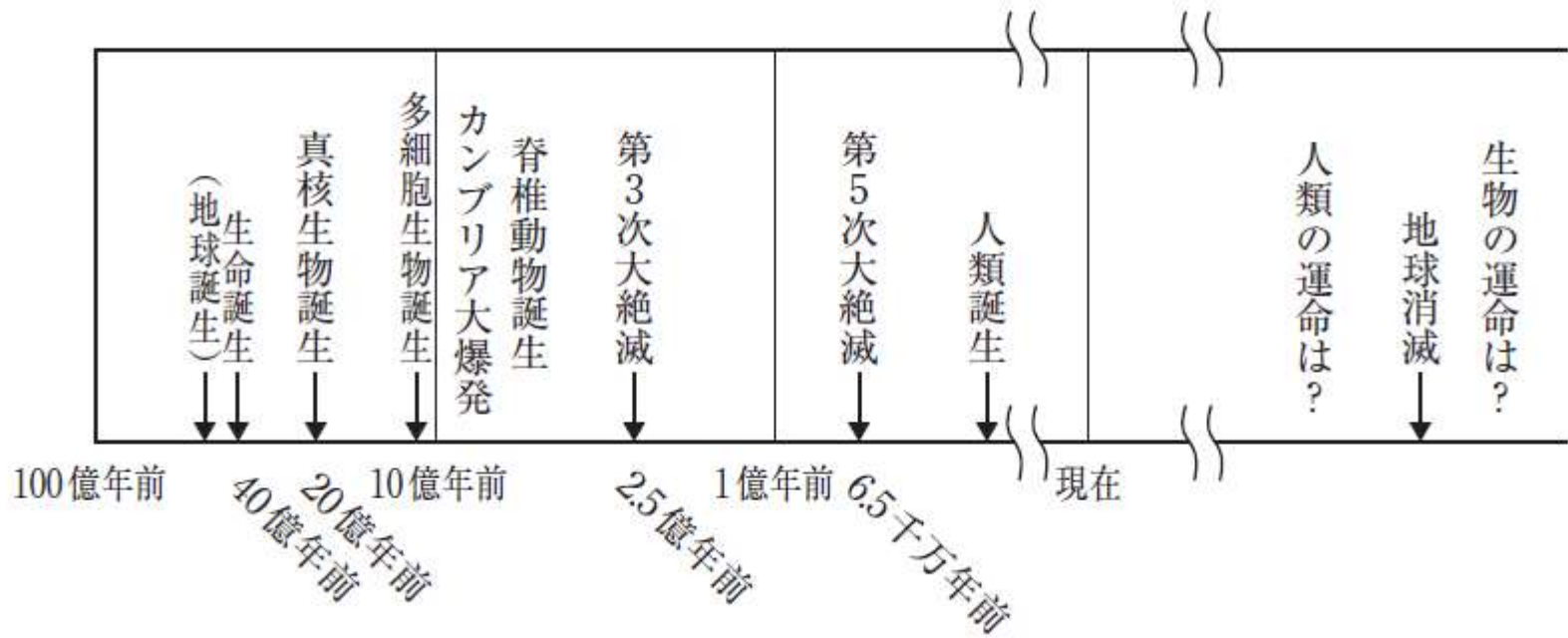
原理 その4  
生物では、配列上保存されていない分子認識部位が死活的に重要である



# 近未来としては……



# より先の未来としては……



10万年後に人類は地球上にいればよいのだが！



名古屋大学の皆様

10年間どうもありがとうございました！

私の妄想に付き合ってくれた関係者の皆様  
どうもありがとうございました！

今後ともよろしく申し上げます ♡