



Title	Development on Methods to Decipher Timescale Hierarchy in Reaction Networks [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	永幡, 裕
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第12267号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/61723
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Yutaka_Nagahata_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（生命科学） 氏 名 永幡 裕

学 位 論 文 題 名

Development on Methods to Decipher Timescale Hierarchy in Reaction Networks (化学反応ネットワークに埋め込まれた時間階層構造の解読方法の開発)

近年、一分子計測技術の進展、計算機性能の向上、および効率的なアルゴリズム技術の進展により、分子構造変化のネットワークが高い精度で抽出できるようになってきた。例えば、たんぱく質のようにフェムト秒からミリ秒まで階層的な時間スケールをもつ分子の反応ネットワークは、莫大な数のノード（＝構造）とそれらを繋ぐ多様な時間スケールの反応から構成される。このような複雑なネットワークを解読するためには、様々なダイナミクスの階層を抽出する方法を開発する必要がある。例えば長い時間スケールでは、素早く生じる様々な構造変化が総体として1つの状態として振る舞うと考えられる。本研究では、反応ネットワーク上でのそのような反応の前後を分ける遷移状態を新たに定義し、反応時間スケールの階層的な関係を可視化する方法を開発した。開発した方法を電子状態計算で得られたクライゼン転位反応の反応ネットワークに適用し、その有用性を実証した。開発した方法には様々な分野の問題に応用できる汎用性があるが、本論文では、特にたんぱく質のエネルギー地形に関する研究に焦点を当てながら、開発した方法とその意義を述べる。

1990年代初頭、たんぱく質の折り畳みを分子動力学シミュレーションで再現するのが困難であった。この時代、 $3 \times 3 \times 3$ の立方体に折り畳まれた配置を最安定構造とする鎖状に結合（＝ペプチド結合に対応）したビーズ（＝アミノ酸に対応）から構成されるたんぱく質モデルに基づいて、たんぱく質の折り畳み易さとそのエネルギー地形の関係が推察された。1994年 Karplus らは隣接する非結合ビーズ間の相互作用エネルギー値を与えた確率分布にしたがって無作為に抽出して造られた200種のうち、30種は最安定構造に素早く折り畳むことができそれを“（人工）たんぱく質”とした。それら“たんぱく質”に共通した性質として、最安定構造の相互作用エネルギーが他の構造のものに比べ極端に小さく、かつ隣接数が増えるに連れて取りうる構造の数と相互作用エネルギーが減ってゆく漏斗（ファネル）型のエネルギー地形を有していることが判明した。このことから（自発的に折り畳むことができる）たんぱく質は、類似の漏斗型エネルギー地形を有していることが予想されたが、比較的小さな分子でも高次元エネルギー地形を可視化すること自体、困難であった。

1997年、Becker と Karplus は莫大な自由度をもつ系のポテンシャルエネルギー面を可視化する Disconnectivity Graph (DG) と呼ばれる方法を考案した。同方法では、水位を上げるようにエネルギーを上げていくと、各ベイスン（＝窪地）にいる軌道が行き来できる（連結している）ようになるかを問う。同方法は、その可否がベイスン間のサドル（＝尾根の極小点、峠）点エネルギーで決まることを利用して、ベイスン間の非連結具合を可視化する方法である。また、彼らはサドル点エネルギーに代わって活性化自由エネルギーを用いる正準（Canonical）DG も提案した。

一方、2002年 Krivov と Karplus は、平衡状態下でネットワークを二分割する分断面を往来する流れ（＝分断面での平衡反応速度の総和に相当する）が最小、二番目、三番目、…に少なくなる分断面を抽出し、それら分断面の階層関係からエネルギー地形を可視化する遷移（Transition）DG を開発した。遷移 DG はネットワーク上の全ての経路を考慮することに成功したが、重大な欠点を持っていた。分断面を往来する流れはその分断面だけで定まり、二分割された各ベイスンの集合の大きさ（＝たんぱく質の変性状態の安定性に重要と考えられて

いるエントロピー的な安定化の寄与)の情報が欠落している。そのため、二分割の手順において物理的に意味のない分割(=ネットワークの端に存在する、高エネルギーで不安定な状態(の集合)を分割する)が生じ得る。2004年、彼らは二分割される2つの領域内でベイスンの数をできるだけ均等にする解決策を提案したが、この解決策は、最悪、問題を改善しないだけでなく、ノード数による修正の物理的根拠が不明であった。

本研究では、遷移状態概念のネットワークへの拡張とエントロピー効果を取り入れた活性化自由エネルギー地形を可視化するため、大別して2つの方法論を開発した。ネットワーク上の遷移状態と反応時間スケールに基づく可視化方法である。

ネットワーク上の分断面での反応速度定数(反応の時間スケールの逆数、実効的な活性化自由エネルギーと対応)を基にしたDGが無いことに着目して、ネットワークの遷移状態を新たに定義し、それを見つけるためのアルゴリズムを開発した。ベイスン集合内の分布が平衡または定常状態と近似できる場合、その反応速度定数を与えることができる。本研究では、二分割したときに順・逆反応のうち大きい方の速度定数(または遷移確率)がもっとも小さくなる分割、つまり最も行き来がしにくい分断面をネットワークの遷移状態と定義した。このような分割基準は、情報科学において最小コンダクタンスカット(MCC)として知られている。

しかしながら、MCCを求めるアルゴリズムは、ネットワークのノード数が増えるに従って計算時間が指数関数的に増えることが知られている。本研究では、指数関数の底を多くの問題で実効的に下げる事ができるアルゴリズムを開発した。この方法により、後述する23個のノードから成る反応ネットワークで、約60通りの探索(通常は 2^{23} 通り)でMCCを見出すことに成功した。このアルゴリズムを用いることで、与えられたネットワークを分割し、分割で得られた部分ネットワークを更に分割する操作を繰り返すことで、複数のベイスン間をまたぐゆっくりした反応から早い素反応まで階層的に抽出することができる。

また、従来のDGでは、エネルギー面の概形を得ることは出来ても、エントロピー効果を取り入れた、反応の時間スケールを可視化することができなかった。そこで本研究では、速度定数の逆数がベイスン(の集合)から脱出する時間スケールの期待値であることに着目し、反応時間スケールの階層関係を可視化する方法を開発した。この方法の特徴は、DGがエネルギー面に基づく可視化であるのに対して、(実験条件等により決まる)時間スケールと反応ネットワークという、より実際の視点を提供している点である。

開発した方法を電子状態計算で取り出したアリルビニルエーテルのクライゼン転位反応の反応ネットワーク(23のノード(=構造)とそれらを繋ぐ66の素反応)に適用した。その結果、(10のノードと13のノードからなる部分ネットワーク間の反応である)転位反応に対応する速度定数を高精度で見積ることができ、従来用いられていた律速段階(ボトルネック)や、迅速平衡近似を用いて見積もった速度定数ではできなかったエントロピー効果の取り込みに成功した。加えて、時間スケールを変えることで粗視化されたネットワークと開発した方法が与える階層構造が関係していること、転位反応前後それぞれで硬い部分構造が時間階層として取り出せることがわかった。

本研究では、エントロピー効果を取り入れた反応ネットワーク上の遷移状態を提案し、それを用いた時間階層抽出法とその可視化法を開発、電子状態計算で得られた反応ネットワークに適用し、その有用性を実証した。その結果、キネティックスだけでなく、時間スケールを変えることで得られるネットワークの階層構造から分子内の硬い部分立体構造の推移も抽出できることが判明した。