

# 研究報告書

## 「環境適応から解き明かす代謝ネットワークの設計原理」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 21 年 10 月～平成 25 年 3 月

研究者: 竹本 和広

### 1. 研究のねらい

代謝とは生体内で行われる一連の化学反応であり、それはしばしばネットワーク(代謝ネットワーク)として表現されます。生物は、長い進化過程において代謝系を変化させることで様々な代謝物を合成し、環境に適応してきました。このような代謝物組成の決定や代謝ネットワークの形成に働く原理を明らかにすることは、適応進化の理解や生命現象の制御において重要です。しかしながら、その設計原理は代謝ネットワークの複雑性のため依然として不明瞭です。本研究では、代謝ネットワークを定量的に再現する単純な数理モデルを構築し、データ解析を通して代謝ネットワークの形成機構や環境との相互作用に関する様々な知見を抽出することを目指しました。

### 2. 研究成果

#### (1) 概要

代謝ネットワークは酵素による化合物の変換をモデル化したものであり、様々な側面から代謝を解析・モデル化することができます。本研究では代謝の形成と適応に注目し、いくつか課題に分割して解析・モデル化に取り組みました。

まず化合物に注目し、「どの生物がどの代謝物をもつのか」という代謝物種間分布の構造を明らかに、その構造の獲得機構をモデル化しました。

次に酵素に注目し、熱ショックタンパク質のひとつである GroEL の要求性と代謝ネットワークの位置には特徴的な分布パターンがあることを見出しました。比較ゲノム解析も併せると、GroEL が代謝ネットワークを拡張させるという興味深い仮説を得ることができました。

最後に、代謝ネットワーク全体に注目し、環境との相互作用を議論しました。このために生育環境の多様なアーキアの代謝情報と生態情報を収集・整理しました。このデータを用いて、広く支持されるモジュール性の環境変動性仮説に例外があることをデータ解析から示しました。これと並行して、代謝ネットワーク構造を記述する数理モデルを構築し、環境変動性を仮定しない場合でもモジュール性が再現されうること示しました。これらの結果は環境変動性仮説に疑問を投げかけます。そこで本研究で得られた最新の代謝情報を用いて、この仮説を再検証しました。結果として、環境変動性仮説は結論づけられず、環境相互作用のひとつのパラダイムに再考の余地があることを示しました。

#### (2) 詳細

研究テーマ A「代謝物種間分布における特徴的なパタンの発見とそれを記述する数理モデルの構築」

代謝物種間分布とは「どの生物がどの代謝物を持つか」を記述し、一般に二部グラフとして

表現されます。生物は環境に応じて特異的な代謝物を利用・合成していると考えられているため、この分布を考えることは重要です。ここでは例として、植物における二次代謝物の一種であるフラボノイドに注目しました。これらの代謝物は例えば昆虫の誘引と防御に関連しており、結果として、植物は環境に応じて特異なフラボノイドを持つと考えられています。

データ解析の結果、代謝物種間分布には、不均一性(生物がもつ代謝物の数や、代謝物の種間での保存度は正規分布で記述できない)、入れ子構造(ある生物の代謝物組成は他の代謝物の部分集合である傾向)やモジュール構造(特定の代謝物をもつ生物種がいくつかのグループに分けられる傾向)といった特徴的なパターンがあることを見出しました。この構造パターンの起源を説明するための簡潔なモデルを与えました。形質(この場合、代謝物組成)の継承と分岐といった一般的な進化過程から、不可避免的にこのような不均一な分布パターンが生成されていることを示しました(論文 1)。

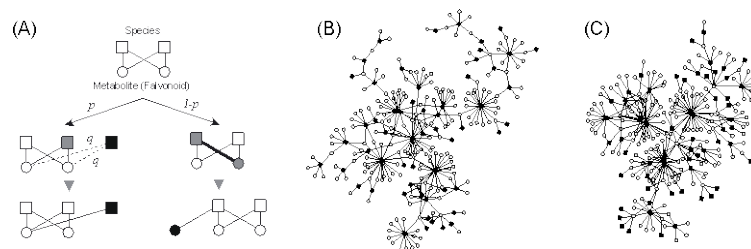


図1 モデルの概念図(A)、実データ(B)とモデル(C)における代謝物種間分布の比較

#### 研究テーマ B「シャペロニン GroEL を介した代謝ネットワーク拡張仮説の提唱」

シャペロニンとはタンパク質の折り畳みを手助けするタンパク質(シャペロン)の一種で、大腸菌由来の GroEL がよく調査されています。近年、この GroEL によって折り畳みが手助けされるタンパク質(GroEL 基質)が網羅的に同定され、それらの多くは代謝酵素です。これは GroEL が代謝系において重要な意味を持つことを示唆しますが、その詳細は不明でした。

そこで、代謝系における GroEL の役割を考察する第一歩として、GroEL 基質の代謝ネットワーク上での分布を調査しました。すると、折り畳みに GroEL を必要とする酵素(タンパク質)は GroEL を全く必要としないそれに比べて、代謝ネットワークの周辺(外側)に分布することが分かりました(図2A)。この分布傾向はタンパク質存在量など、タンパク質固有の性質から単純に説明することができないため、別の解釈が必要となります。

比較ゲノム解析から、GroEL を必要とする酵素は(必要としないそれに比べ)種間での保存度が低く、それらは比較的最近になって獲得された(進化的に新しい)ことが示唆されました。これらの結果から、GroEL によって酵素の多様性が促進され、結果として代謝ネットワークが拡張されたという仮説が導かれます。この GroEL によるネットワーク拡張を考えると先の GroEL 基質分布傾向は簡単に説明できます(図2B)。

GroEL を含むシャペロンが進化を促進させる(多様性をもたらす)役割を果たすという仮説は幾つかの先行研究によって実験的に示されています。今回提案した仮説はこれらの実験結果によって支持され、これはシャペロンが代謝の進化に関与するより具体的な形になります。

研究成果は論文 2 で報告しました。

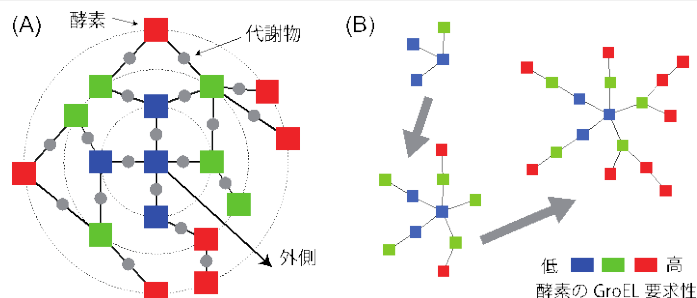


図2 大腸菌の代謝ネットワークにおける GroEL 基質酵素の特徴的な分布パタン（A）とその獲得メカニズムの仮説（B）。

研究テーマ C「代謝ネットワーク構造を記述する数理モデルの構築と環境相互作用理解への応用」

環境適応を考える場合、アーキアはとても興味深いドメインです。なぜなら生育環境とても多様だからです。例えば、生育温度に注目すると、多くの生物は常温で最もよく成育しますが、アーキアには 100℃以上の極限環境で最もよく成育する生物が多く存在します。

これまで、アーキアはその特殊性からその生体情報は未知でしたが、近年遺伝子操作系が確立したことにより、飛躍的に理解が進んでいます。そこで、文献調査から、アーキアの代謝経路を整理し、代謝情報を大幅にアップデートしました。加えて、生育条件（生育温度、生育 pH、酸素要求性など）についても整理を行いました。

これらのデータを用いて、代謝ネットワークと環境の相互作用におけるある仮説について議論しました。

一般に「生育環境の広さ（環境変動性）は代謝ネットワークのモジュール性を増加する」という仮説が広く支持されています。これは「システムの目的の変化（つまり生育環境の広さ）がモジュール性をもたらす」という先行する理論研究に触発されています。更に、バクテリアの代謝ネットワークのデータ解析からもそれを支持する先行研究も存在します。

しかしながら、アーキアにおいては環境変動性が低い（限定された場所でしか生きることができない）ため、上記の仮説は適用できないことを見出し、むしろ生育温度や栄養要求性などの単純な生育条件によって説明できることを明らかにしました（論文 3；図 3A も参照）。

この結果はシステムの目的の変化（ある生物の生育環境の広さ）がモジュール性の獲得に必要な場合があることを示唆しています。そこで、システムの目的の変化の仮定しない（中立に成長する）ネットワークモデルを提案し、様々な生物種（アーキア、バクテリア、真核生物）の代謝ネットワークのモジュール性が単純な進化過程からも再現されうることを定量的に示しました（論文 6；図 3B も参照）。

これらふたつの結果は、広く支持されている「環境変動性が生体分子ネットワークのモジュール性を増加させる」という仮説に疑問を投げかけます。そこで、整理した代謝情報を用いて、この仮説を再検証しました（投稿中）。結果として、環境変動性と代謝ネットワークの間に正の相関は結論づけられず、上記の仮説を支持することは難しいことを示しました。更に、先行研究で報告された正の相関は利用可能な代謝情報の欠損（データの精度）に由来することを示し、代謝ネットワークと環境の相互作用についてはより慎重な議論が必要であることを主張

しました。

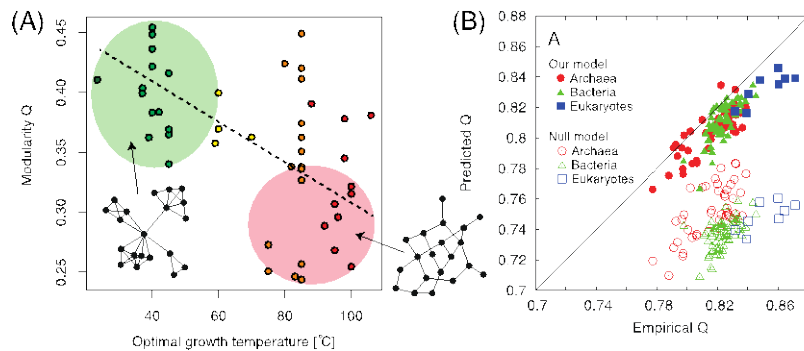


図3 (A)最適生育温度と代謝ネットワークのモジュール性スコア(Q 値)の負の相関、(B)モデルと実ネットワークにおけるQ 値の比較

### 3. 今後の展開

代謝ネットワークの形成と環境相互作用について、数理モデルとデータ解析の側面から取り組んできました。上記の成果については個別の論文の他に総説(論文4)や書籍の中(論文6)で周辺研究と共にまとめ、今後いくつかの展開を考えています。

研究テーマ A におけるモデルは様々な二部関係に応用できる可能性があります。KNAPSAcK Family では化合物とその生理活性など、様々な階層での二部関係が利用可能です。これらの二部関係の構造を調査し、その形成メカニズムを記述することで、遺伝型から表現型までをつなぐ数理モデルの構築を目指したいと考えています。

研究テーマ B においては、シャペロニン GroEL の基質に関する新たな仮説を導くことができました。この仮説を確かめるための実験が開始されており、実験的な側面からも GroEL(加えて、より一般的なシャペロン)の生体システムにおける役割をより明確にする予定です。

研究テーマ C に関しては、未発表の結果を発表した後、開発した手法を発展させ、更に広義の生物-環境相互作用についても研究を行います。代謝ネットワークの形成や適応、そして動態を理解するためには、生育環境だけではなく、種間の相互作用も考える必要があるからです。特に、多様な生物種の代謝ネットワーク膨大な情報から、生物-環境相互作用を理解しやすいかたちで抽出・定量化するための解析基盤の確立し、環境・医学分野でのより現実的な応用につなげたいと考えています。

### 4. 自己評価

生体分子ネットワークと環境の相互作用について議論してきました。兼ねてから指摘されていた代謝データ(特にアーキアの)の不備を改善することで、その理解が一層進みました。「モジュール性の環境変動性仮説」を適用例にして議論を進め、データ解析の側面からも数理モデルの側面からも興味深い結果を得ることができました。特に、環境変動性仮説に対して建設的に問題提起できたことは大きな成果であると考えています。それというのも、代謝ネットワークの環境変動性仮説は広く支持され、それに基づいて環境相互作用が議論されているからです。この結果は、多くの先行研究に再考を迫る成果です。

代謝物種間分布に関しては、他の階層における二部関係にも応用が可能であると考えています。事実、送粉系ネットワークにも適用可能であることを示しており、様々な階層における二

部関係(例えば、薬剤-標的タンパク質、化合物-生理活性)に応用できる数理モデルを構築できたと考えています。

更に、予想外の発展もあり、研究テーマ B が加わりました。環境適応のひとつである熱ショック応答の関連から、シャペロニン GroEL(熱ショックタンパク質のひとつ)と代謝ネットワークの進化について、新しい視点から仮説を導くことができました。この結果から、実験グループに新しい方向性を示すことができ、実験検証にもつながりました。実験的な証拠が得られれば更にインパクトのある成果につながります。

## 5. 研究総括の見解

適応進化の痕跡が深く刻まれている代謝ネットワークは、遺伝子、酵素、化合物が複雑に絡み合っているが、その設計原理は未だ明らかになっていない。本研究は、代謝ネットワークの形成機構や環境との相互作用を生命情報学と数理モデルを駆使して解明することを目指した。まず、代謝物の種間分布に注目して、入れ子構造やモジュール構造などの特徴的なパターンを見出し、それを説明する有用なモデルを構築した。次いで、代謝ネットワークにおいて広く支持されてきた環境変動性仮説に対し、アーキアにおいてはその仮説が適用できないことを明らかにした。さらに、様々な生物種の代謝ネットワークのモジュール性が環境変動によらない単純な進化過程を記述する数理モデルを用いて定量的に説明できることを示したことは優れた成果であり高く評価できる。また、環境適応の一つである熱ショックタンパク質シャペロニン GroELに関心を広げ、これが代謝ネットワークの進化に積極的に寄与することを明らかにしたことも評価できる。

## 6. 主な研究成果リスト

### (1) 論文(原著論文)発表

- |  |
|--|
| 1. Takemoto, K. Global architecture of metabolite distributions across species and its formation mechanisms. <i>Biosystems</i> . 2010, 100, 8-13   |
| 2. Takemoto, K., Niwa, T. and Taguchi, H. Difference in the distribution pattern of substrate enzymes in the metabolic network of <i>Escherichia coli</i> , according to chaperonin requirement. <i>BMC Systems Biology</i> . 2011, 5, 98. |
| 3. Takemoto, K. and Borjigin, S. Metabolic network modularity in Archaea depends on growth conditions. <i>PLoS ONE</i> . 2011, 6, e25874   |
| 4. Takemoto, K. Current understanding of the formation and adaptation of metabolic systems based on network theory. <i>Metabolites</i> . 2012, 2, 429-457  |
| 5. Takemoto, K. and Oosawa, C. Modeling for evolving biological networks. In <i>Statistical and Machine Learning Approaches for Network Analysis</i> (eds. Dehmer, M. and Basak, S.C.), John Wiley & Sons, 77-108 (2012)                   |
| 6. Takemoto, K. Metabolic network modularity arising from simple growth processes. <i>Physical Review E</i> . 2012, 86, 036107   |

### (2) 特許出願

研究期間累積件数:0件

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

学会発表(口頭)

Takemoto, K. The effect of growth conditions on metabolic network modularity in prokaryotes. The 13th International Conference on Systems Biology (ICSB2012), 34 (20 August 2012, Toronto, Canada).

受賞

The Eighth Asia Pacific Bioinformatics Conference Best Poster Award (2010年1月)