

# AIMaP研究集会から異分野融合共同研究へ

時弘哲治

東京大学大学院数理科学研究科  
附属連携基盤センター

# 2017年度採択 AIMaP研究集会 生命ダイナミクスとその応用：数理科学的アプローチ

**開催日時**                    2017/07/29～2017/07/31  
**開催場所**                    東京大学玉原国際セミナーハウス

7月29日（土）

15:00～16:00 挨拶，自己紹介，グループ分け

16:00～17:00 基調講演①：機械学習と深層学習技術

鈴木大慈（東大・情報理工）

17:00～17:30 問題提起：寄生虫タンデムリピートの免疫学

後藤康之（東大・農学）

17:30～18:00 問題提起：筋分化過程における細胞競合によるシグナルの同期化

伯野史彦（東大・農学）

機械学習を応用した食餌中のアミノ酸バランスと肝臓中の中性

脂質量の関係の解析                    西宏起（東大・農学）

18:00～18:30 **グループワーク課題決定**

# グループワークの1課題（小南友里，東大農）

美味しいお刺身を食べたい



研究集会の集合写真

Article

## A Novel Analysis of the Peptide Terminome Characterizes Dynamics of Proteolytic Regulation in Vertebrate Skeletal Muscle Under Severe Stress

Yuri Kominami <sup>1</sup>, Tatsuya Hayashi <sup>2</sup>, Tetsuji Tokihiro <sup>2</sup> and Hideki Ushio <sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Aquatic Bioscience, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan; komi.yuri@mail.u-tokyo.ac.jp

<sup>2</sup> Department of Mathematical Sciences, Graduate School of Mathematical Sciences, The University of Tokyo, 3-8-1 Komaba, Meguro-ku, Tokyo 153-8914, Japan; thayashi@ms.u-tokyo.ac.jp (T.H.); toki@ms.u-tokyo.ac.jp (T.T.)

A Novel Analysis of the Peptide Terminome Characterizes Dynamics of Proteolytic Regulation in Vertebrate Skeletal Muscle Under Severe Stress  
(ペプチド末端の新規分析による重度のストレス下の脊椎動物の骨格筋におけるタンパク質分解調節のダイナミクスを特徴付け)

Yuri Kominami, Tatsuya Hayashi, Tetsuji Tokihiro, Hideki Ushio

Proteomes 2019, 7, 6; doi:10.3390/proteomes7010006

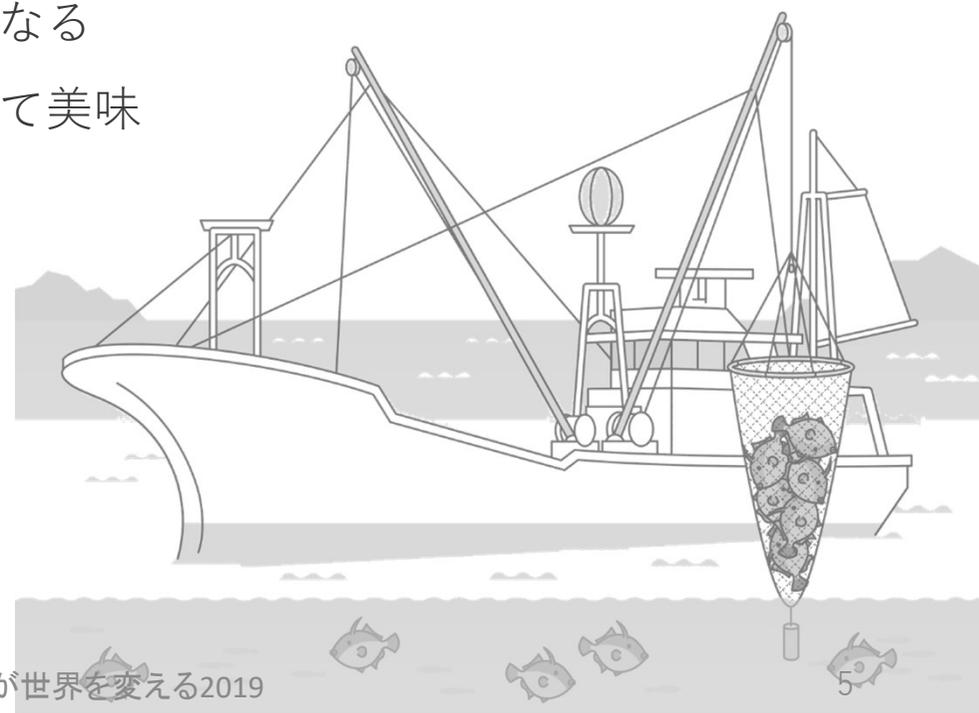
heat shock, growth factor withdrawal, oxidative stress, and infections [1–6]. Apoptosis has also been shown to follow proteolytic events via activated caspases [7]. Appropriate regulations of cellular proteolytic processes are necessary for cell survival. For example, proteolytic dynamics should be drastically altered by cell death, and several studies have shown that impairment of proteolysis is associated with cell mortality [8,9], but comprehensive profiles of dyscontrolled proteolysis, including the dynamics of substrates and proteases, remain unknown.

A specific pattern of sequence at peptide termini has been mainly focused in previous studies related to cellular proteolysis because principal proteases in important cellular events are already identified. Additionally, proteolysis has been pointed out as one of the major post-translational

# 背景

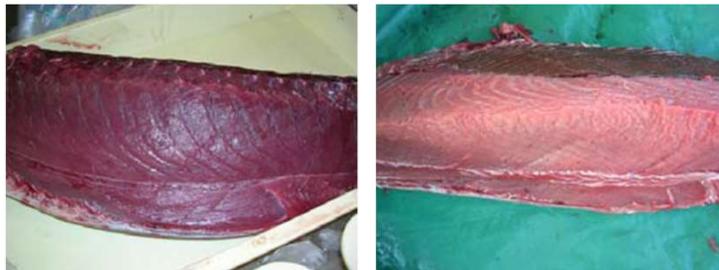
## 大規模漁業は世界的に広く行われている

- ▶ 水揚げ時に魚体が大気に曝される
- ▶ 魚は大気曝露下で苦悶状態になる
- ▶ 一本釣り（神経締め）に比べて美味しくくない



# 背景

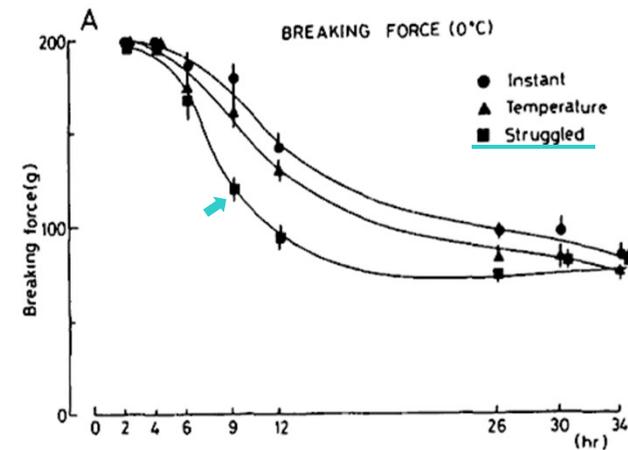
水揚げ時に魚体が大気に曝されると、肉の品質が劣化する



正常

ヤケ肉

(地独) 鳥取県産業技術センター食品開発研究所



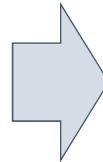
マアジ速筋肉の破断強度 望月ら (1994)

細胞内恒常性の破綻 ⇒ タンパク質変性 ⇒ 品質劣化  
(体温上昇, 組織内pH低下)

# 背景

## 大気曝露時の魚類骨格筋

- ▶ 細胞内恒常性の破綻
- ▶ タンパク質分解の亢進？

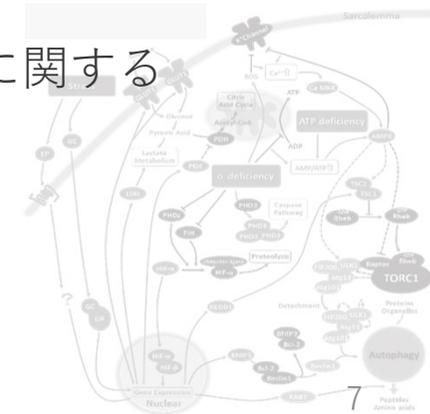


## 魚肉の品質劣化

- ▶ 軟化
- ▶ 保水性の低下
- ▶ 変色
- ▶ 酸味



大気曝露時の魚類骨格筋組織におけるタンパク質分解に関する  
詳細はほとんど明らかにされていない



# 目的

大気曝露時の魚類骨格筋組織におけるタンパク質分解動態を明らかにする



タンパク質変性だけでなく、ペプチドーム解析によってプロテアーゼ（たんぱく質分解酵素）の寄与を調べ、被分解タンパク質の情報を網羅的に得る

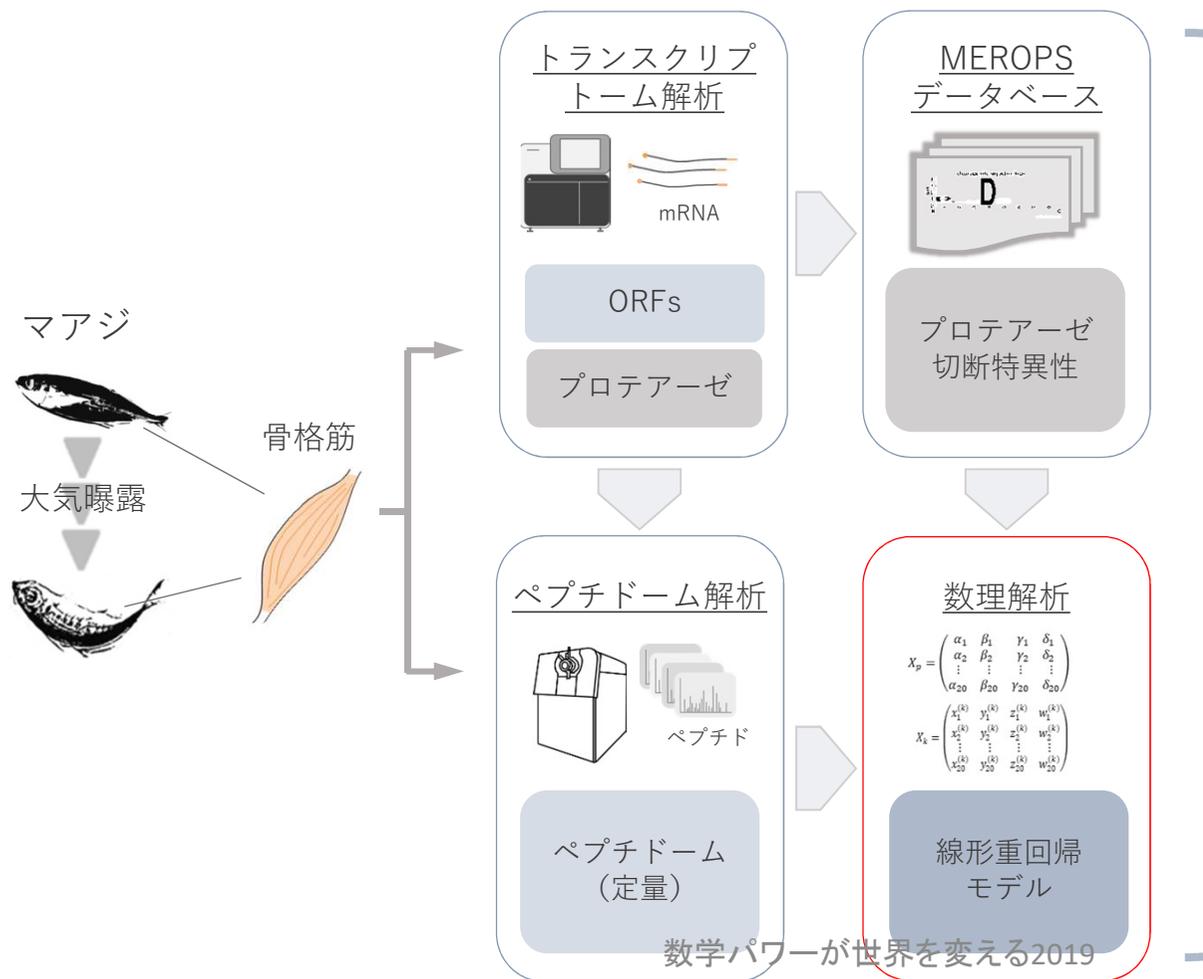
# 試料

マアジ *Trachurus japonicus*



# 方法

マアジのゲノムやプロテオームは公開されていない



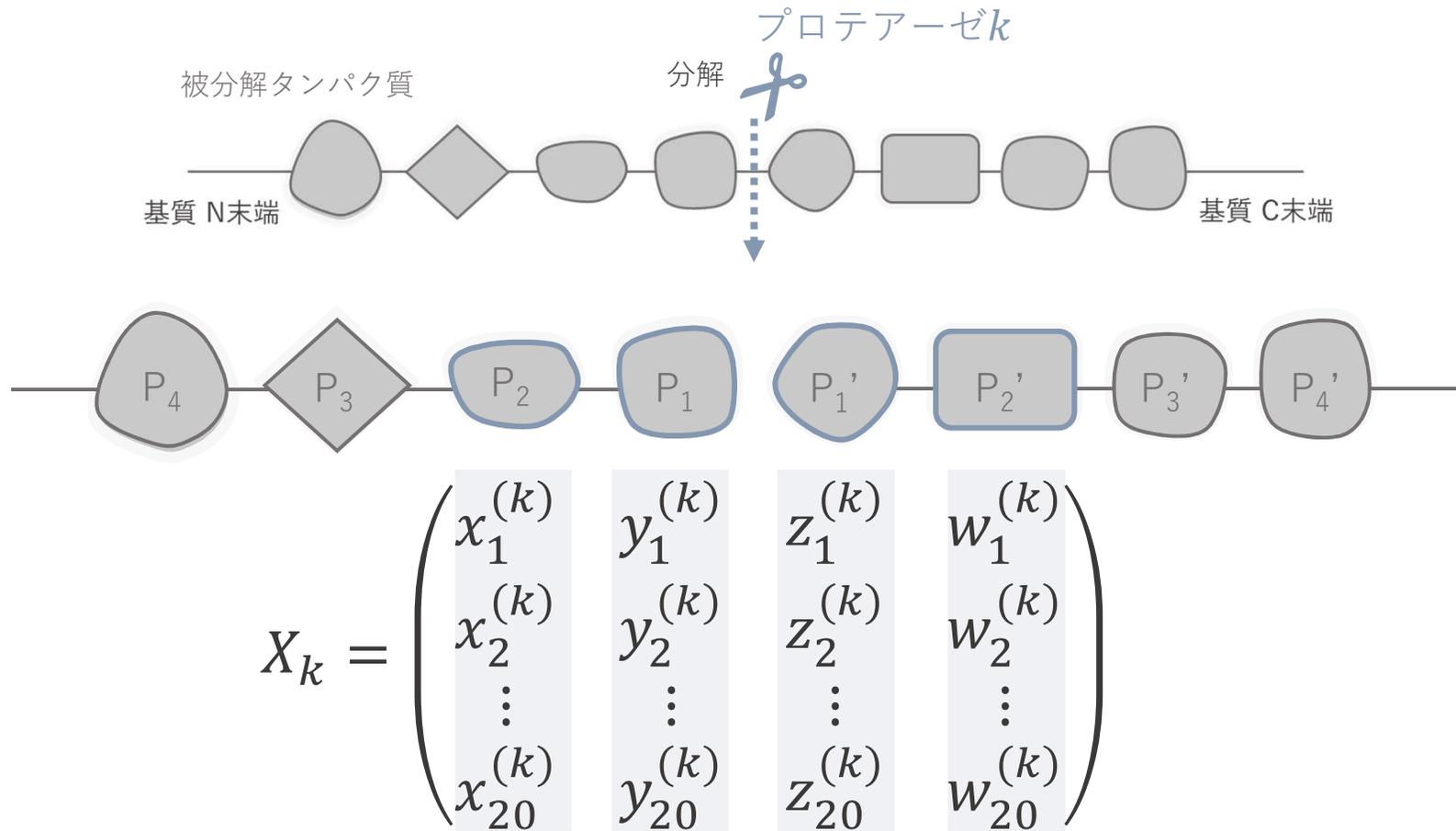
## タンパク質分解動態

- ▶ 被分解タンパク質の量的変動
- ▶ タンパク質分解の動的制御状態

Table 3  
Contribution parameters of proteases in proteolysis calculated through the present linear regression model.

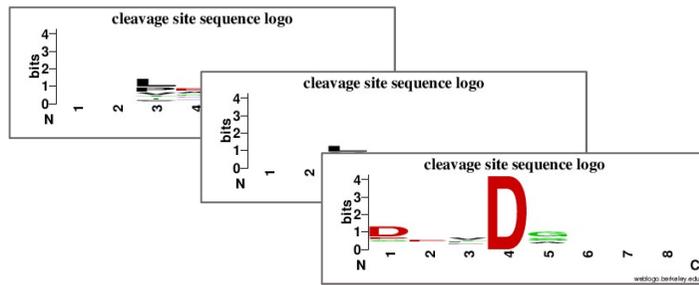
CC	Decap (10 <sup>3</sup> )	ArEx1 (10 <sup>3</sup> )	ArEx5 (10 <sup>3</sup> )	ArEx10 (10 <sup>3</sup> )
3.4.11.2	0.369	1.462	1.480	3.228
3.4.11.3	0.099	0.532	0.507	1.196
3.4.11.7	0.123	0.753	0.623	2.020
3.4.11.9	0.196	1.100	0.905	1.625
3.4.11.10	16789.286	26906.951	964.725	9206.894
3.4.11.21	0.215	0.795	0.962	2.976
3.4.14.1	0.097	0.562	0.543	1.443
3.4.14.2	0.090	0.614	0.732	1.612
3.4.14.4	0.240	1.833	1.594	2.811
3.4.14.6	0.068	0.406	0.495	1.095
3.4.14.9	43.699	17229.873	17086.342	5303.405
3.4.15.1	143184.543	131701.766	123567.400	86127.767
3.4.16.2	22143.607	56964.305	59056.980	74549.651
3.4.16.5	0.464	1.708	2.396	3.642
3.4.17.10	1.265	3.276	3.729	7.994
3.4.18.1	967913.322	63612.273	49497.762	40622.536
3.4.19.12	0.468	0.676	0.625	1.086
3.4.21.26	0.085	0.607	0.679	1.717
3.4.21.53	0.609	2.892	5.186	8.953
3.4.21.69	0.117	0.627	0.684	2.416
3.4.21.75	0.316	284.013	2.964	2.686
3.4.21.92	0.102	0.471	0.573	1.107
3.4.22.1	21.171	16.541	37.708	10.212
3.4.22.15	8.113	6.092	6.464	9.341
3.4.22.36	0.119	0.562	0.584	1.267
3.4.22.38	0.329	1.469	1.469	3.916
3.4.22.62	0.274	1.531	1.519	3.266
3.4.22.64	116274.172	70004.030	147060.627	130137.697
3.4.22.66	0.112	0.490	0.517	1.267
3.4.22.68	0.118	0.514	0.560	1.371
3.4.22.69	0.118	0.505	0.541	1.366

# 線形重回帰モデル

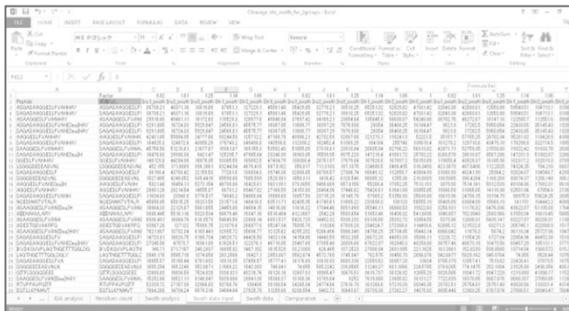


# 線形重回帰モデル

## MEROPSデータベース



## ペプチドーム



## プロテアーゼ基質特異性

$$X_k = \begin{pmatrix} x_1^{(k)} & y_1^{(k)} & z_1^{(k)} & w_1^{(k)} \\ x_2^{(k)} & y_2^{(k)} & z_2^{(k)} & w_2^{(k)} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ x_{20}^{(k)} & y_{20}^{(k)} & z_{20}^{(k)} & w_{20}^{(k)} \end{pmatrix}$$

## ペプチドーム末端配列特性

$$X_p = \begin{pmatrix} \alpha_1 & \beta_1 & \gamma_1 & \delta_1 \\ \alpha_2 & \beta_2 & \gamma_2 & \delta_2 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ \alpha_{20} & \beta_{20} & \gamma_{20} & \delta_{20} \end{pmatrix}$$

# 線形重回帰モデル

- ▶ ペプチドームの末端配列特性 $X_p$ を基質特異性 $X_{k_n}$ の線形和で表す
- ▶ 制約条件の下で最小二乗法（評価関数 $Z$ ）により $(f_{k_1}, f_{k_2}, \dots, f_{k_N})$ の組を求める
- ▶  $(f_{k_1}, f_{k_2}, \dots, f_{k_N})$ はタンパク質分解の動的制御状態の特徴量

$$\begin{pmatrix} \alpha_1 & \beta_1 & \gamma_1 & \delta_1 \\ \alpha_2 & \beta_2 & \gamma_2 & \delta_2 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ \alpha_{20} & \beta_{20} & \gamma_{20} & \delta_{20} \end{pmatrix} = \sum_{n=1}^N f_{k_n} \begin{pmatrix} x_1^{(k_n)} & y_1^{(k_n)} & z_1^{(k_n)} & w_1^{(k_n)} \\ x_2^{(k_n)} & y_2^{(k_n)} & z_2^{(k_n)} & w_2^{(k_n)} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ x_{20}^{(k_n)} & y_{20}^{(k_n)} & z_{20}^{(k_n)} & w_{20}^{(k_n)} \end{pmatrix}$$

$$\sum_{n=1}^N f_{k_n} = 1 \text{ and } f_{k_n} \geq 0 \text{ (} 1 \leq n \leq N \text{)}$$

$$Z := \sum_{i=1}^{20} \left( \sum_{n=1}^N x_i^{(k_n)} f_{k_n} - \alpha_i \right)^2 + \sum_{i=1}^{20} \left( \sum_{n=1}^N y_i^{(k_n)} f_{k_n} - \beta_i \right)^2 + \sum_{i=1}^{20} \left( \sum_{n=1}^N z_i^{(k_n)} f_{k_n} - \gamma_i \right)^2 + \sum_{i=1}^{20} \left( \sum_{n=1}^N w_i^{(k_n)} f_{k_n} - \delta_i \right)^2$$

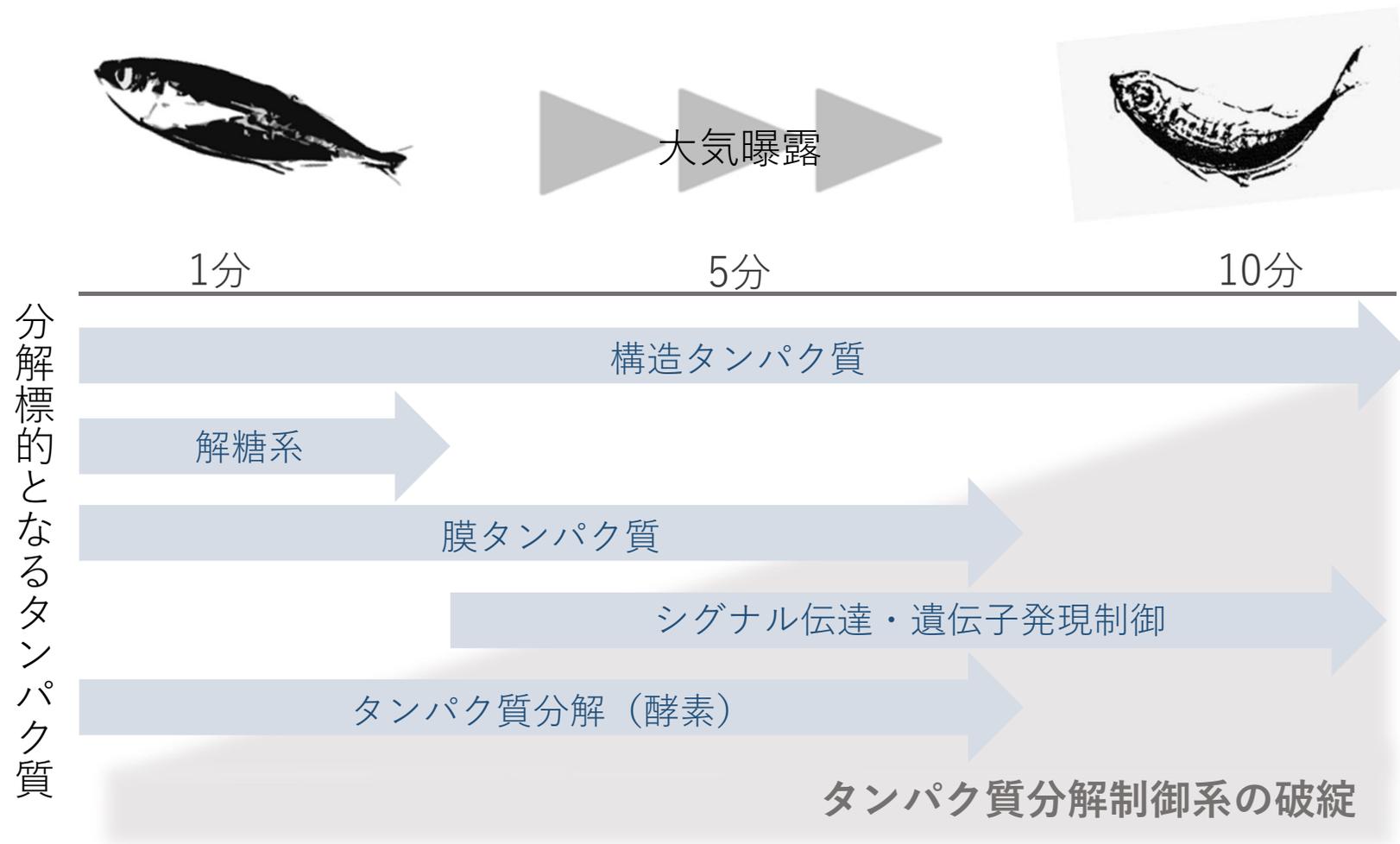
# タンパク質分解の動的制御状態

## タンパク質分解制御ダイナミクス

- ▶ Decapのペプチドームの末端配列特性は約7種のプロテアーゼで記述可能
- ▶ AirEx10では個々のプロテアーゼの寄与度が増加
- ▶ タンパク質分解制御系の破綻

EC	Decap (10 <sup>6</sup> )*	AirEx1 (10 <sup>6</sup> )*	AirEx5 (10 <sup>6</sup> )*	AirEx10 (10 <sup>6</sup> )*
3.4.11.2	0.359	1.462	1.480	3.235
3.4.11.3	0.099	0.532	0.507	1.196
3.4.11.7	0.123	0.753	0.823	2.020
3.4.11.9	0.196	1.108	0.905	1.625
3.4.11.18	15765.285	26908.651	984.725	9298.894
3.4.11.21	0.215	0.785	0.962	2.016
3.4.14.1	0.097	0.582	0.543	1.443
3.4.14.2	0.090	0.614	0.732	1.512
3.4.14.4	0.240	1.833	1.594	2.811
3.4.14.5	0.066	0.406	0.495	1.065
3.4.14.9	43.669	17722.873	17886.147	5383.409
3.4.15.1	143184.543	131701.768	123587.400	86127.757
3.4.16.2	22143.607	55994.305	99695.980	74549.551
3.4.16.5	0.464	1.708	2.396	3.642
3.4.17.10	1.285	3.276	3.729	7.194
3.4.19.1	98791.372	63612.273	49907.782	48622.538
3.4.19.12	0.488	0.678	0.625	1.089
3.4.21.26	0.085	0.607	0.679	1.717
3.4.21.53	0.509	2.892	5.186	8.053
3.4.21.59	0.117	0.827	0.684	2.413
3.4.21.75	0.316	284.013	2.984	2.898
3.4.21.92	0.102	0.471	0.573	1.107
3.4.22.1	21.171	15.541	37.706	10.212
3.4.22.15	5.113	5.092	5.464	9.341
3.4.22.36	0.119	0.552	0.584	1.367
3.4.22.38	0.329	1.489	1.499	3.919
3.4.22.52	0.274	1.331	1.519	3.269
3.4.22.54	119274.172	70004.030	147060.627	136137.597
3.4.22.55	0.112	0.490	0.517	1.267
3.4.22.56	0.118	0.514	0.550	1.371
3.4.22.60	0.118	0.505	0.541	1.368
3.4.22.61	0.114	0.516	0.543	1.358
3.4.22.62	0.193	0.829	0.871	1.965
3.4.23.5	12785.261	39093.871	79.590	12.453
3.4.24.11	553723.869	426272.349	469100.711	408343.329
3.4.24.19	2.034	2.159	6.200	11253.248
3.4.24.24	0.120	0.660	0.744	1.600
3.4.24.56	2.662	76328.053	9.014	23901.811
3.4.24.59	0.776	2.808	2.865	4.376
3.4.24.64	0.448	2.233	3.329	6.147
3.4.24.71	14.348	38893.757	38050.636	159672.177
3.4.24.80	0.119	0.624	0.692	1.620
3.4.24.81	0.278	1.330	2.194	5.179
3.4.24.86	0.565	3.612	7.551	11.486
3.4.25.1019	34234.362	53125.236	53539.123	36586.355

# タンパク質分解動態

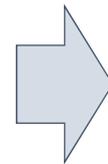


# 結論と考察

大気曝露時のマアジ骨格筋組織では

- ▶ シグナル伝達関連タンパク質も分解される
- ▶ タンパク質分解制御系が破綻する

- ▶ 細胞内恒常性の破綻
- ▶ 制御系の破綻による  
タンパク質分解の亢進



- ▶ 軟化
- ▶ 保水性の低下
- ▶ 変色
- ▶ 酸味

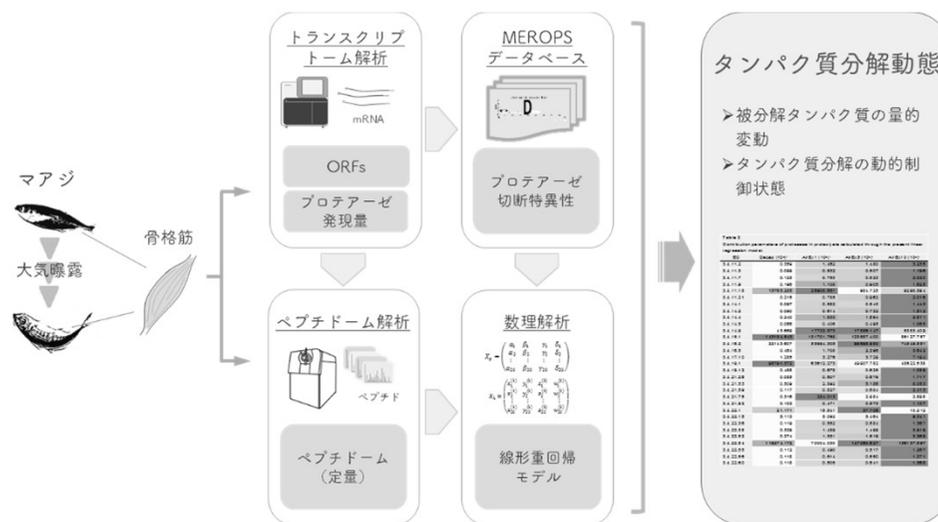


**結論：**大気曝露時のタンパク質分解制御系の破綻も魚肉の品質劣化の一因として考えられる。（大気暴露によってタンパク質分解が暴走すると、組織が破壊されて歯応えが悪くなる、さらに酸味や苦味ができるペプチドが増えて美味しくなくなる）

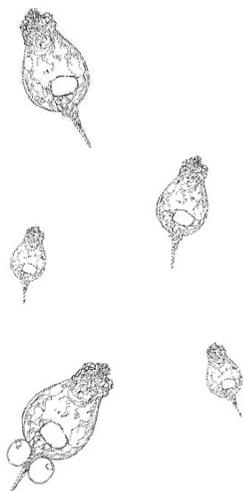
# 結論と考察

**結論：**トランスクリプトーム解析とペプチドーム解析を合わせた新たなアプローチを提案した

- ▶ いわゆる熟成や調理による美味しさの科学的な解析にも応用できる
- ▶ 他の非モデル生物にも応用可能（例えば、国産豚とイベリコ豚ではペプチドームの末端配列特性が全く異なる。）



# バッチ培養におけるシオミズツボウムシの 個体数変動を離散的に考える



大橋 遼<sup>1</sup>, 小南友里<sup>2</sup>, 林 達也<sup>1</sup>, 穂坂秀昭<sup>1</sup>

1 東京大学大学院数理科学研究科

2 東京大学大学院農学生命科学研究科

# ワムシとは

---

シオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis*

---

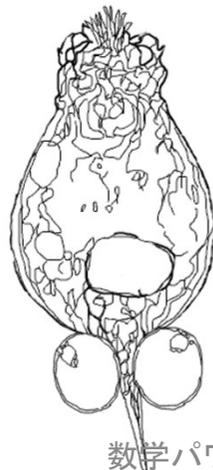
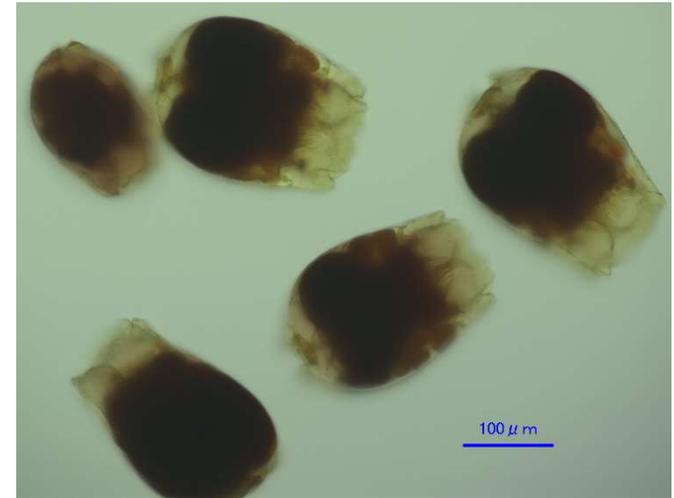
門 輪形動物門

生活域 汽水

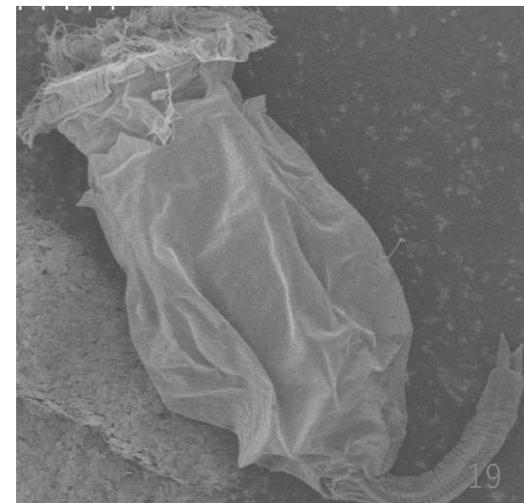
生殖方法 単・両性生殖

世代時間 約24時間

---

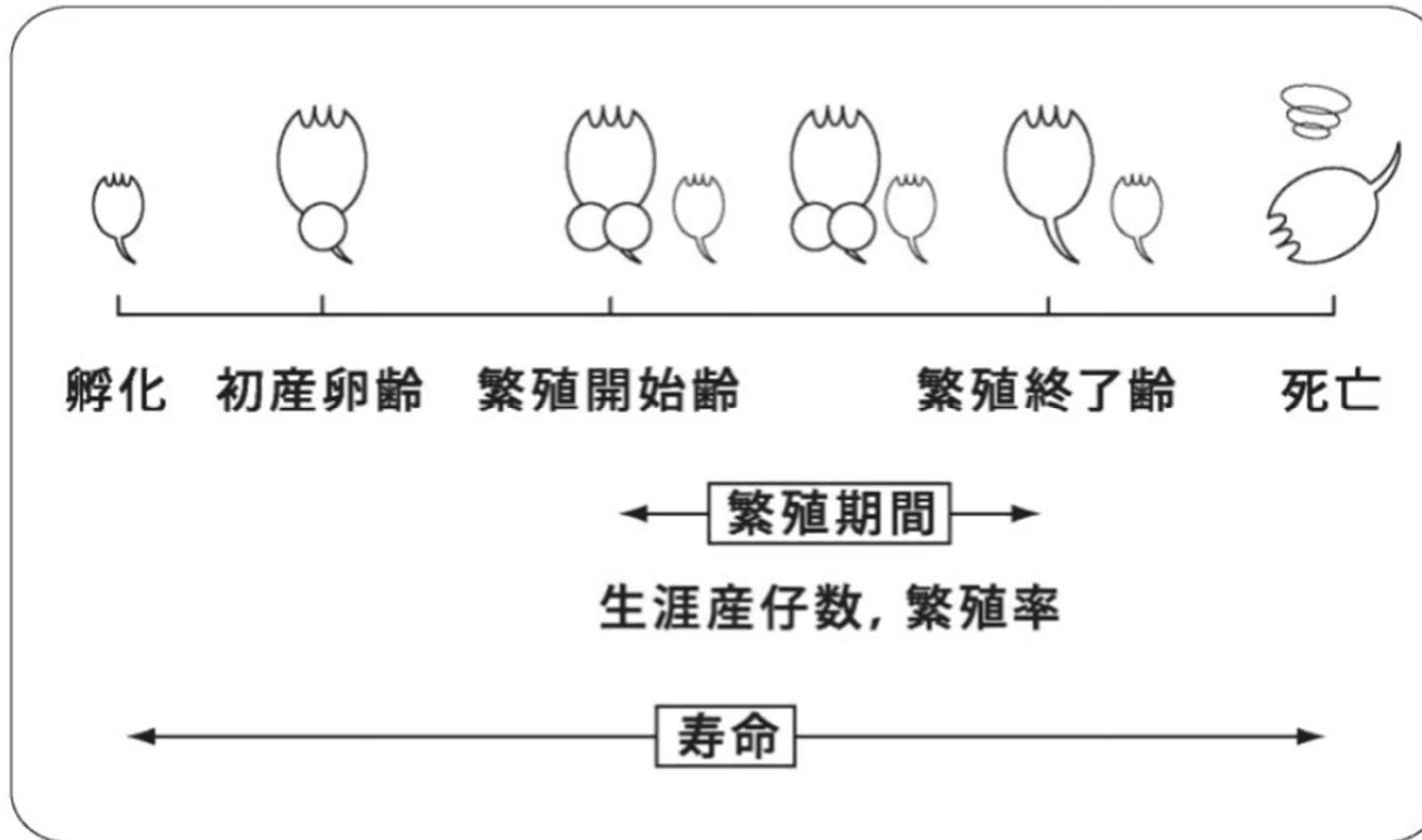


数学パワーが世界を変える2019



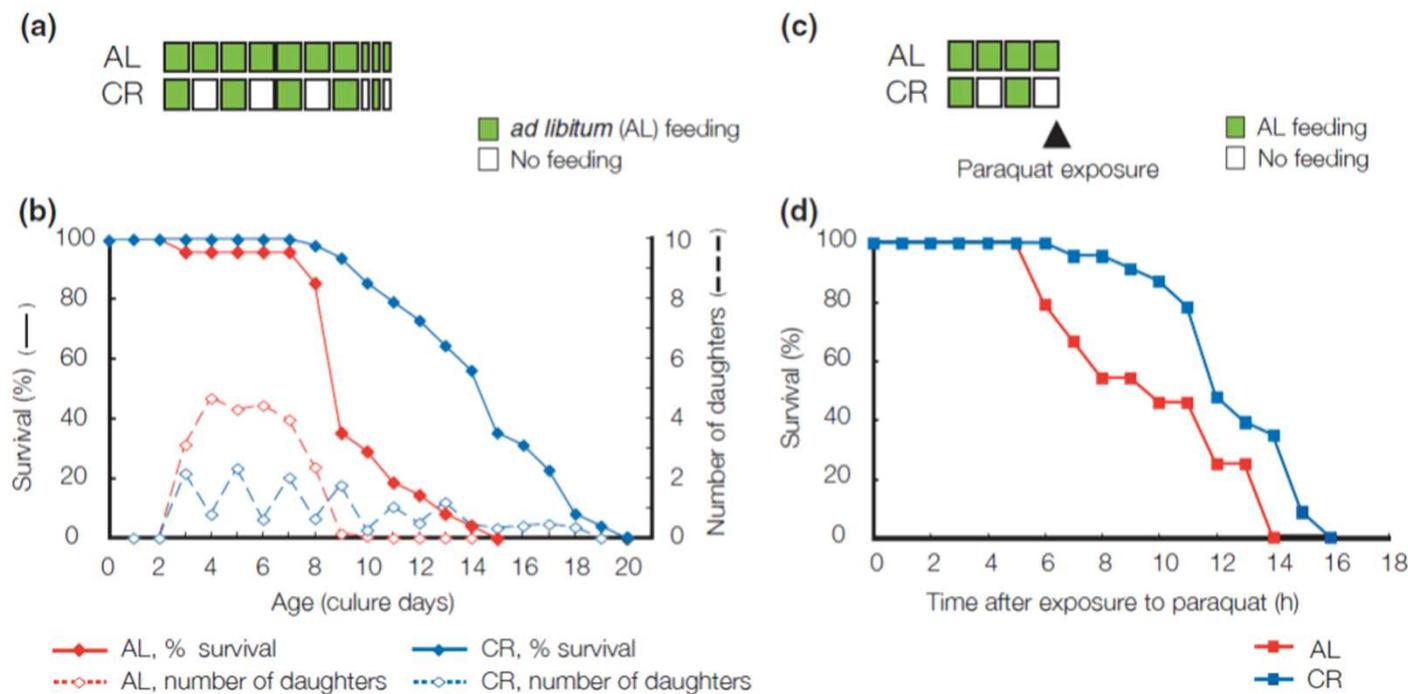
19

# 単性生殖世代のワムシの生活史



吉永龍起, 2010

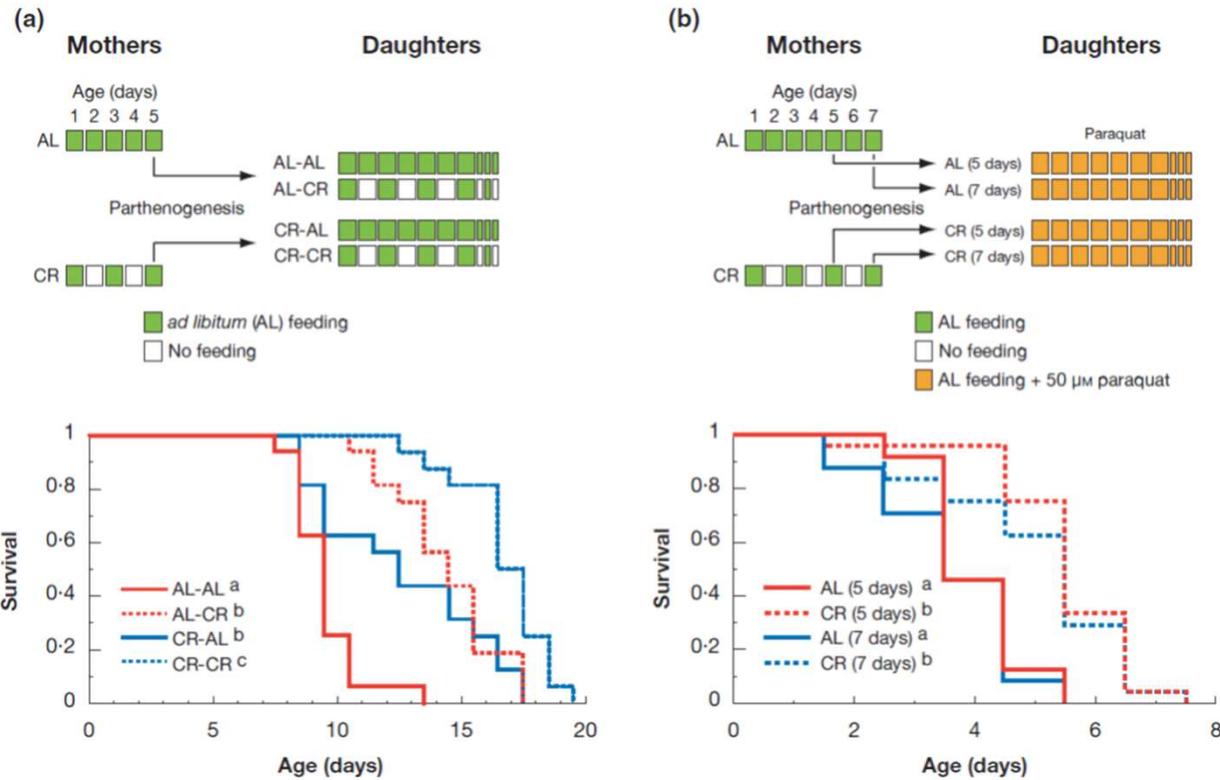
# ワムシもカロリー制限で長生きする



カロリー制限下で培養したワムシのほうが寿命が長く、酸化ストレス耐性が高い

Kaneko *et al.*, 2011

# カロリー制限下で生まれた娘も長生きする



カロリー制限下で生まれた娘ワムシは飢餓ストレスに強く、寿命が長い

Kaneko *et al.*, 2011

# 初号機モデル

- パラメータを多く設定し，様々な培養条件に対応可能に！
- ワムシに対し次の状態を考慮
  - ▶ 親と自分自身の飢餓状態  
(Ad Libitum[AL] or Calorie Restriction[CR])
  - ▶ 産まれてからの日数

$X_{AC}(t, a)$ :

時刻 $t$ において $a$ 歳のAL状態ワムシから産まれたCR状態のワムシ数

$X_{AA}(t, a)$ なども同様

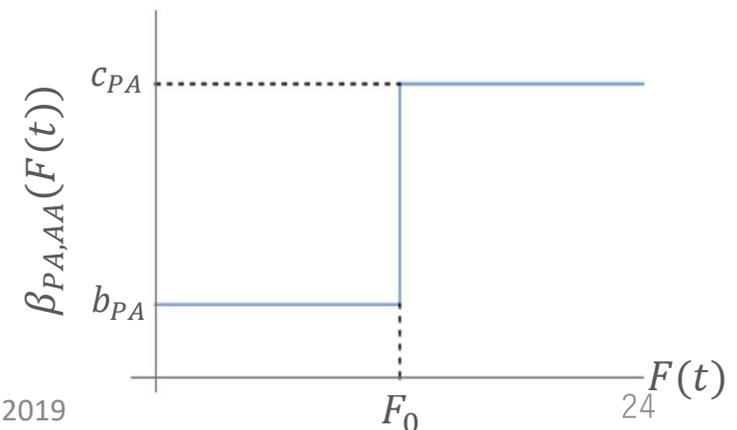
# 初号機モデル：出生

AA状態の仔ワムシ(0才)の出生について

$$X_{AA}(t+1,0) = \sum_{a=a_0}^{a_l[AA]} \beta_{AA,AA}(F(t)) X_{AA}(t,a) + \sum_{a=a_0}^{a_l[CA]} \beta_{CA,AA}(F(t)) X_{CA}(t,a)$$

状態PQのワムシは $a_0$ 才から $a_l[PQ]$ 才まで産卵する

- $\beta_{PA,AA}(F(t))$ : 状態PAの親がAの子を産む割合
- $F(t)$ : 一匹当たりの摂餌量
- $F_0$ : 飢餓状態を判定する閾値



# 初号機モデル：遷移と死亡

$t$ 日目,  $a$ 歳

$t + 1$ 日目,  $a + 1$ 歳



AA

死亡

$\mu$



AA

$\nu$

$\nu$



AC

$\mu$

死亡



AC

親がCの場合も同様

# 初号機モデル：遷移と死亡

$$\begin{aligned} & X_{AA}(t+1, a+1) - X_{AA}(t, a) \\ &= -\mu_{AA}(a, D(t))X_{AA}(t, a) && : \text{死亡} \\ &\quad - \nu_{AA \rightarrow AC}(F(t))X_{AA}(t, a) && : \text{遷移} \\ &\quad + \nu_{AC \rightarrow AA}(F(t))X_{AC}(t, a) && : \text{遷移} \end{aligned}$$

ここで

- $\nu_{AA \rightarrow AC}(F(t))$ : AA  $\rightarrow$  AC に遷移する割合
- $\mu_{AA}(a, D(t))$ : AA の  $a$  才での死亡率
- $D(t)$ : 個体密度を考慮した死亡増加率

# 初号機モデル：環境

- $D(t) = \gamma D(t-1) + d \sum_{P,Q} \sum_a X_{PQ}(a, t)$

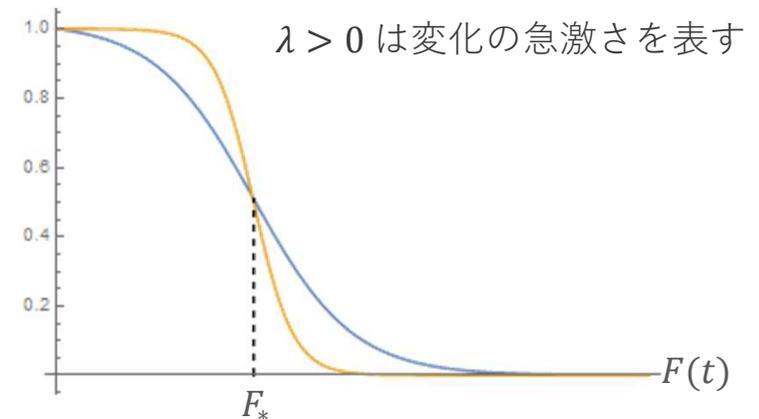
死亡増加率は各状態/年齢の個体数と前日値 $\gamma D(t-1)$ （汚れぐあい）に依存

- $\mu_{PQ}(a, D(t)) = \mu_{PQ}(a) + D(t)$

死亡率は年齢と汚れに依存

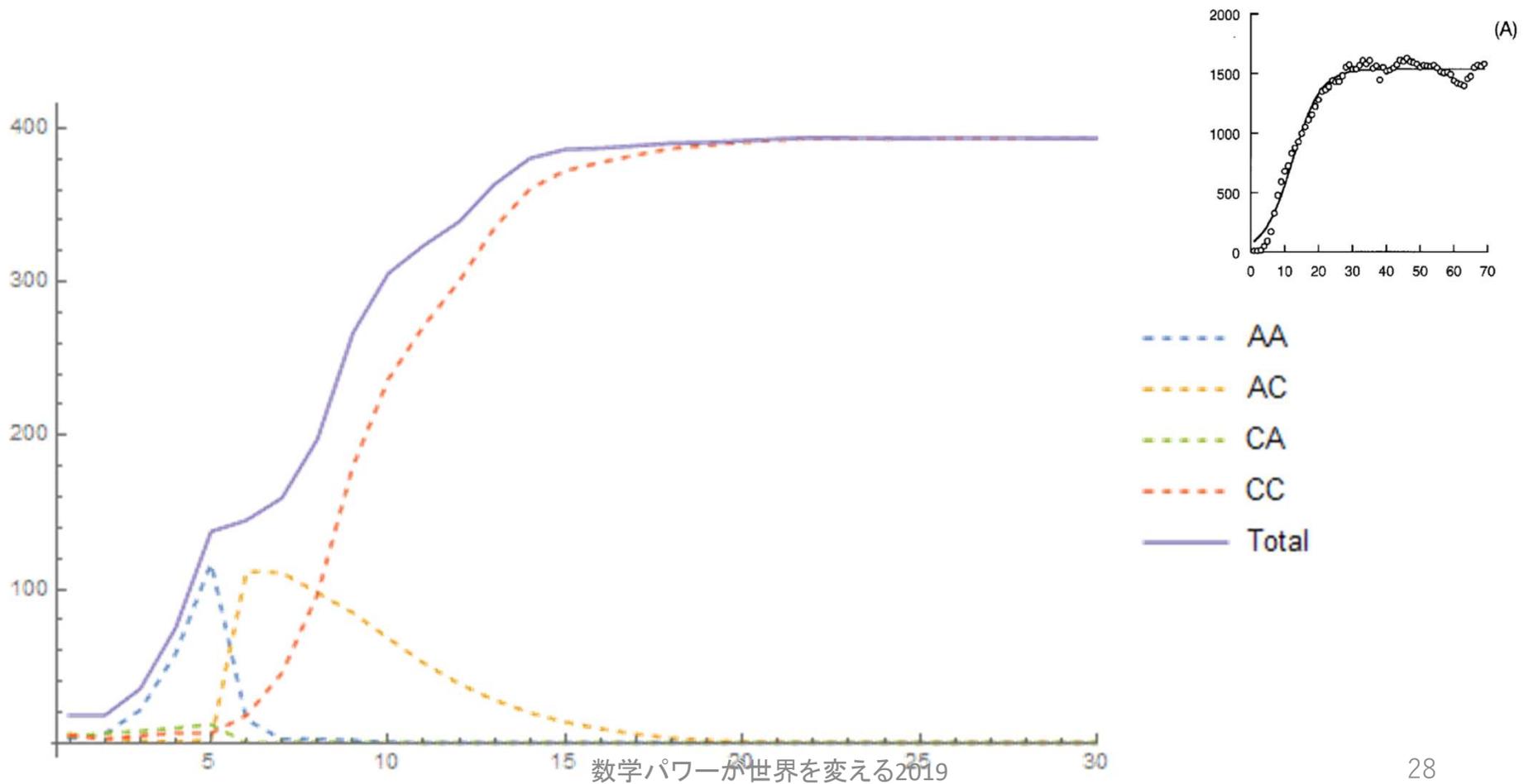
- $\nu_{AA \rightarrow AC}(F(t)) = \frac{1 - \tan(\lambda(F(t) - F_*))}{1 + \tanh \lambda F_*}$

遷移率は摂餌量に対しシグモイド的に依存



# 初号機モデル：シミュレーション

例) 前の時刻の汚れの残り具合  $\gamma = 0$ , 給餌量が一定の場合



# 初号機モデル：課題と展望

- $F_0$ （飢餓状態を判定する閾値）の推定  
Immunoblotting, Q-PCRとか？
- 摂餌量（クロレラ消費量）の測定
- 詳細なワムシの生存時間の測定
- 個体識別ができれば…

# 最後に：異分野融合研究におけるハードル

## 言葉がわからない

「トランスクリプトーム解析を行ってORFを予測し，演繹的にタンパク質データベースを作成してリファレンスとし，ペプチドーム解析から定量ペプチドームデータを得ます。」

## 文化の違い

TeX か Word か

某紙からの掲載不可理由「この研究は生き物に対する虐待である」

などなど

**目標が同じなら，なんとかなります**