

平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 補助事業名：創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業（生命動態システム科学推進拠点事業）
2. 補助事業課題名：複雑生命システム動態研究教育拠点
3. 研究開発代表者：国立大学法人 東京大学・教授・金子邦彦
4. 研究開発の成果

①細胞のホメオスタシスと適応性の論理の解明

(1-1) 多様な環境における動的生存戦略—ゆらぎにもとづく適応の解明

(a)超長期1細胞計測を用い、様々な定常環境条件下での大腸菌の成長動態のゆらぎの計測を進めた。特に世代時間の平均と分散には線型関係があることを発見、さらにこの線型関係が、その種が到達できる原理的な最大成長率を規定している可能性を示唆する結果を発表した (Hashimoto, ..., Kaneko, Wakamoto et al, *PNAS*, 2016)。

(b)バクテリアの抗生物質耐性とゆらぎの研究 (Wakamoto et al, *Science*, 2013) を推進し、ゆらぎが大きく、その変動の時間スケールが遅いと生存するものが増えることを示し、揺らぎによる生存適応を確証した。さらに、理研 QBiC の古澤らと共同で、薬剤濃度とクローン集団内の細胞生死運命の関係を調べ、集団の増殖と死を分ける最小増殖阻止濃度付近で生死運命の系列依存性が強くなることを明らかにした。また抗生物質に対する応答の1細胞計測を効率化するため、多数の細胞株の薬剤応答を同時に計測可能な新たな1細胞計測デバイスの性能を高めた。

(c)過去の患者のデータベースを使用して、より短い PSA 時系列データから、患者固有の前立腺癌間欠的ホルモン療法の数理モデルのパラメータをテラーメードに推定する手法を開発した (Hirata et al., *PLoS One*, 2015)。

(1-2) 成長相および生死を判定する細胞状態論の構築

(a)細胞状態論の構築に向けて、増殖する細胞の反応系と熱力学を結ぶ理論を進めた。指数成長、ドーマント状態、細胞死の相転移を示す細胞モデルの構築を行った。特に、栄養状態の枯渇とともに自己触媒過程が維持できなくなり、多様な成分が遅く成長する状態への転移の理論を構築した。また、栄養が不足すると多様な成分を持ちながら遅く増えていく状態へと転移することを明らかにした (Kamimura, Kaneko, *J. Systems Chemistry*, 2015)。

(b)生物振動子の例をとって、周期のホメオスタシス (Hatakeyama, Kaneko, *FEBS Lett.*, 2014) と 位相の敏感性の間に互恵関係が成り立つことを示した。 (Hatakeyama, Kaneko. *Phys. Rev. Lett.* 2016)。

(1-3) 自発的な膜変形運動のアトラクター遷移現象と、細胞形状の多様性の解明

(a)細胞状態論の構成的確認のため人工複製細胞構築を進めた。このための蛍光染色技術、マイクロ流路デバイスの研究を進め、数百個のリボソームの時空間発展を多変量解析した (風山、手島、大崎、竹内、豊田、特願 2015-114720, Kazayama et al, *Analytical Chemistry* 2016)。これまでに開発した微細加工技術を利用して、単一細胞内部を任意の角度から高解像度観測するデバイスや単一細胞操作デバイス (Teshima et al. *Adv. Mater.* 2014, *Small* 2014) 開発し、それを進めて、粘菌を単一細胞レベルで捕捉するためのマイクロ流体デバイスを開発した。

(b)細胞運動調節の適応的応答の体系的動態解析にむけて、粘菌細胞で見出した応答の整流作用、勾配検出機構 (Nakajima, et al; *Nature Communications*, 2014) が免疫細胞などでも成り立つことを確認した。また、遺伝子発現やアポトーシスを自由自在に光操作する分子プローブの (Nihongaki et al. *ACS Chem. Biol.*, 2014) 機能を大幅に向上させた光スイッチタンパク質を開発し、細胞内シグナル伝達に関係した様々なタンパク質の機能を自由自在に光操作できることを実証 (Kawano et al. *Nature Commun.*, 2015)、ゲノム上の遺伝子発現を光操作する技術 (Nihongaki et al. *Chem. Biol.*, 2015)、「ゲノム編集」を光操作する技術 (Nihongaki et al. *Nature Biotechnol.*, 2015) を開発した。

(1-4) 細胞応答の情報統計熱力学

(a)情報熱力学を一般化し、大腸菌の走化性のシグナル伝達の解析へと応用し、大腸菌内のフィードバックループにおける情報流と、走化性の頑健性の間の関係を、定量的に明らかにした (Ito, Sagawa, *Nature Communications* 2015)。

(b)増殖のゆらぎ、適応度とセンシングによる情報量の間に成り立つ普遍的な関係を明らかにした。 (Sughiyama, et al. *Phys. Rev. E*, 2015, Kobayashi, Sughiyama *Phys. Rev. Lett.*, 2015, Sughiyama, Kobayashi 2015, *arXiv:1509.06448*)。

②多細胞システムの集団的安定性の論理の解明

(2-1) 細胞の動態と相互作用による細胞分化理論の実験検証、理論の展開および再構成系構築

細胞分化理論モデルに遺伝子発現ダイナミクスで発現量の違いが epigenetics に不可逆な分化として固定されることを示した(Miyamoto, Furusawa, Kaneko, *PLoS Comp. Biol.* 2015)。多細胞系の実験を行うプラットフォームとして、単一細胞を任意の位置・方向で制御して配置できるデバイスを開発した(Yoshida et al., *Adv. Healthc. Mater.* 2016)。

(2-2) 細胞の集団運動ダイナミクス

(a)粘菌細胞内の興奮波と運動の関係(Taniguchi, Ishihara, ..., Sawai, *PNAS* 2013)に関してはアクチンフィラメントと接着因子との相互作用と、細胞の集団的動態との関係の解析にむけ、必要となる基質面の条件検討、接着因子の精製と生化学的なアッセイを進めた。細胞型により走化性と細胞間の追従運動能力の差があることをデバイス内での運動測定によって見出し、このことと形態形成に関わる集団運動との関連を解析した。

(b)脊索動物の初期胚から後期胚までの大規模遺伝子発現情報を取得し、大きく異なる環境に広く適応放散した動物でも、極めて類似した発生システムが維持されていることを明らかにした。また、多階層力学系により、多細胞生物の起源を議論し(Kaneko, in *Multicellularity*, 2016)、多細胞生物の起源の理論を状態が分化して共生関係にいたるといしくみで定式化した(Yamagishi et al 投稿中)。

③ゲノム・エピゲノムのダイナミクスと表現型可塑性

(3-1) ゆらぎと表現型可塑性、細胞適応の関係

(a)大腸菌の薬剤耐性遺伝子発現株を利用し、高濃度の薬剤投与下での適応進化プロセスを1細胞レベルで計測し、薬剤耐性がエピジェネティックな情報として記憶され、薬剤のない環境に長時間置かれると失われることを見出した。

(b)抗体遺伝子の人工進化を多段階で実施し、軽鎖と重鎖それぞれで異なる抗原を認識する「二重特異性抗体」を迅速に作製することに成功した(Murayama et al., *Int. Q-Bio meeting*, 2016)。二重特異性抗体は第3世代の高機能抗体医薬に利用可能であり、医薬としての利用価値が高い。遺伝子発現の可塑性/ロバストネスに関しては、ストレス応答時の長鎖非コード RNA(lncRNA)転写や遺伝子発現の「時系列遺伝子発現解析ツール」を新たに構築した。これにより、分裂酵母のストレス応答性 lncRNA を複数新たに同定し(Oda et al., *Gene Cells* 2015)、これらの lncRNA 転写が下流遺伝子の発現に正のフィードバック制御をもたらす機構を解明した(Takemata et al., *Nucleic Acids Res.*, 2016)。

(3-2) 発現状態の分化と固定化

(a)昆虫(オオツノコクヌストモドキ)の *de novo* RNA-Seq を実施し、発生時の環境変化による表現型可塑性の鍵を握るエピゲノム変換因子のリストを完成し表現可塑性が顕著に表れる性選択形質にヒストン脱アセチル化酵素 HDAC の摂動影響が特異的に生じる現象を明らかにした(*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, リバイス中)。また、発生初期の栄養環境の違いがエピゲノム修飾を通じて成体の表現型に影響を及ぼすことを示した。(Ozawa et al., *Zool. Sci.* 2015)。

(b)より複雑な発生過程の進化を調べるために、脊索動物の代表的な分類群から8種を選び、発生時系列における大規模遺伝子発現プロファイリングを開始した。また複雑な進化と発生の関係を調べるシミュレーションを行ない、多くの場合、進化-発生間に対応関係があることを発見、理論的に説明した(Kohsokabe, Kaneko, *J. Exp. Zoology B*, 2016)。

(3-3) 遺伝情報のゆらぎの人為的拡大による構成的解析

(a)トランスクリプトーム・エピゲノム等の時系列解析に関しては、リカレンスプロットが元の時系列データのほとんどの情報を含んでいることの証明を与えた(Hirata et al., *Int. J. Bif. Chaos*, 2015)。加えて、高次元時系列データを数理モデル化するために重心座標の手法を用いて、概日リズムを生成しているシロイヌナズナの葉の間の結合強度を特徴づけた(Hirata et al., *Chaos*, 2015; Takahashi et al., *Cell*, 2015)。2016年に特許出願も行った。

(b)細胞の定常成長を仮定し、増殖速度や発現の対数の変化に対して全遺伝子発現変化に対して共通の比例関係がなりたつことを理論的に確立しこの理論を QBiC の古澤力らとともに大腸菌実験で検証した(Kaneko et al, *Phys. Rev. X*, 2015)。さらに進化実験、理論でも検証した(Furusawa, Kaneko. *J Royal Society Interface*, 2015)。