

研 究 報 告 書

「環境適応に関わる時空間パターン形成現象の分子ネットワーク」

研究期間： 2007 年 10 月～2011 年 3 月

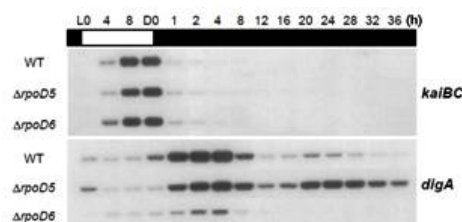
研 究 者： 岩崎 秀雄

1. 研究のねらい

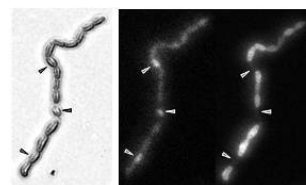
生物は外環境の情報を刻一刻と感知し、場合によっては予測しながら環境に応じて自己の内部環境を調節し、ときに自らの姿さえ変えながら生き延びています。この研究では、こうした生物の在りように着目し、シンプルさと多様性を備えたシアノバクテリアを用いて、主に①一細胞レベルで起こる時間的プログラム、②一個体の内部の細胞間相互作用を含む細胞分化・パターン形成プログラムとその外環境との関わりについて調べました。

2. 研究成果

【時計遺伝子の転写翻訳フィードバックを欠く条件での概日転写リズムの発見】私たちは、従来概日振動の普遍的な振動発生原理と想定されていた時計遺伝子（概日リズムを生じる原因となっている遺伝子群）の転写翻訳フィードバックを欠く条件でも、単細胞性のシアノバクテリア *Synechococcus* の時計蛋白質 KaiC のリン酸化振動は正常に持続することから、酵素反応的蛋白質間相互作用に基づく振動発生様式を見出しています。そこで、時計蛋白質 KaiABC 複合体による概日時計が外界の明暗サイクルに応じてゲノムワイドな転写をどのように調節するのかを調べました。その結果、暗期中では時計遺伝子を含む殆どの遺伝子の発現が停止し、夜明けまでに 8 割以上の mRNA が消失して一見休眠状態になること、それにもかかわらず KaiC リン酸化リズムは持続し、一部の遺伝子発現に時計の影響が及んでいること、その制御にシグマ因子が重要な役割を果たしていること、場合によっては顕著な概日転写リズムが起こることなどを明らかにしました（右図）。これは、「時計遺伝子の転写を欠く条件でも概日時計が転写リズムを駆動できる」という初めての報告です。なお、私たちが見出した「転写翻訳フィードバックを含まない翻訳後修飾レベルの概日リズム」は、しばらくシアノバクテリア固有の現象と看做されがちでしたが、2011 年に入って微細藻類やヒト赤血球の中でも見られる普遍的な現象であることが見出され、真核生物の概日制御の研究にも重要な影響と示唆を与えることが出来ました。



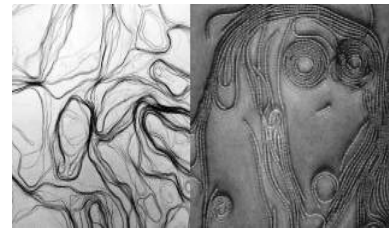
【バクテリアの細胞分化パターンニングの解析】多細胞性シアノバクテリアの *Anabaena* が窒素欠乏条件下で約 10 細胞に 1 つの割合で窒素固定に特化する細胞（ヘテロシスト）を分化する空間パターン形成に着目し、一個体レベルで形態変化や分化制御遺伝子、光合成活性をリアルタイムモニターする観測系を構築し、世界で初めてバクテリアの細胞系譜を作成しました。これにより、分化細胞の位置が初期値に依存することなく細胞間相互作用を介して動的に決定されていく過程を明らかにしました。さらに、従来の常識を覆し、細胞分裂を阻害剤で停止させた状態でも細胞分化が起こることや、その状態ではヘテロシスト間の栄養細胞数は激減するものの物理的な距離はそれほど変化しないことを見出しました（右図）。また、多細胞シアノバクテリアにおいても概日リズムの基礎的な性質を調べる系を立ち上げ、基本的な概日リズム特性が保存されていることを確認し、細胞間同調を解析するための一細胞顕微操作系（マイクロデバイス技術を援用）の開発を行いました。



細胞分裂阻害下でのヘテロシスト形成：左から明視野、分化遺伝子 *hetR* の発現（GFP 蛍光）、光合成活性（フィコビリリン蛍光）

【運動性シアノバクテリアのコロニーパターン形成】

動性の多細胞シアノバクテリアの個体群が見せる動的で複雑なコロニーパターン(次図)に着目し、タイムラプス撮影や流体力学的な解析手段を用いてその動的なパターン形成過程を観察し、環境・栄養依存性や細胞間協調作用などについても解析しました。その結果、特に



Geitlerinema と呼ばれるバクテリアで見出したリング状のコロニーパターン形成と非常に安定な運動軌道構造安定化には、個体レベルの振動運動、粘液を介した協調的並進運動、出来るだけ交差を避ける性質などが関与するとの仮説を導きました。

3. 今後の展開

このさがけ研究では、細胞内で時間情報を生成する概日リズム、細胞間連絡を用いて個体内で空間的な分化パターンニングを起こすヘテロシスト分化、そして個体間相互作用を介する高次の集団行動としてのコロニーパターン形成という、それぞれに特徴のある時空間パターン形成現象を扱いました。今後は、一見異なる現象に見えるこれらのパターン形成現象を貫く物理学的・数理的性質を炙り出していくことが重要であると考えています。また、生物学的に重要なことは、これらの空間パターン形成は、いずれも環境適応型であるはずだ、という点に特徴があります。自然条件下あるいは生態学的特性を踏まえ、こうしたパターン形成の生理学的・生態学的意義を含めて記述する「生命システムの原理の解明」をさらに求めていきたいと考えています。そのために着目しているのは、これらのパターン形成は、いずれも特定の刺激やパラメータ(生理的には環境条件など)に応じてその振る舞いが変わる一種の相転移現象を見せる、ということです。相転移の近傍において、それぞれの系でどのような変化が起こっているのかを、分子レベルにせよマクロレベルにせよ定量的に観測、記載することで、別個に見える現象を、共通した視座に基づいて類型化することを目指したいと思っています。

4. 自己評価

当初の目標は、概日転写リズムを生じる機構と細胞分化パターンダイナミクスの解析でした。前者については、概日転写リズムを生じる条件について当初想定していなかった「転写翻訳フィードバックを欠く条件での転写リズム」の発見や、シグマ因子の関与などが明らかになり、出力系についてはかなり理解が進むとともに新たな課題が浮かび上がってきたと考えています。細胞分化パターンについても、計画通り細胞系譜解析を行い、細胞分裂と分化に関わる新たな知見や分化促進因子の遺伝子発現パターンについて知られていなかった知見を得ることが出来ました。その間、マイクロデバイス工学を援用した観測系の開発など、技術開発も試み、それによって細胞系譜解析が効率化しました。しかし、一方で当初目標としていたバクテリアの一細胞レベルの顕微操作技術の開発は想定以上に困難であることがわかり、期間中の完成は叶いませんでした。しかしながら、その過程で得られた経験的知見は多く、デバイスが完成した際に得られる研究の幅の広がりには明らかなため、反省を踏まえつつさらにシステム開発に尽力していきたいと思います。また、当初は想定していなかったプロジェクトとして、コロニーパターン形成に関わるダイナミクスの解析も始めています。これは、さがけ研究を通じて、「システムを理解すること」には階層性はある意味で障害にならず、むしろ階層性を超えて様々な生命現象を見渡せる視座を学んだことから来ています。そして、それが可能なのは出来るだけシンプルな体制をもつバクテリアならではのことで、さらに生態環境における複雑な生命の営みに迫る上で、より高次の集団パターンの振る舞いの理解は概日リズムや細胞分化の研究にもフィードバックしうると考えたためでもあります。単に発散するのではなく、「より面白く深い研究」を目指して、テーマをある程度絞りながら研究を続けて行きたいと思っています。

5. 研究総括の見解

環境により影響を受ける概日リズムを独創的な視点でシアノバクテリアを観察することで、今まで知られていない現象を次々に見出している点を高く評価している。興味深い現象も見出しているが、少しテーマが分散している印象も受けるので、焦点を絞ることを考える必要がある。

6. 主要な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. H. Asai, S. Iwamori, K. Kawai, S. Ehira, J. Ishihara, K. Aihara, S. Shoji, H. Iwasaki (2009) "Cyanobacterial cell lineage analysis of the spatiotemporal <i>hetR</i> expression profile during heterocyst pattern formation in <i>Anabaena</i> sp. PCC 7120" <i>PLoS ONE</i> , 4(10): e7371
2. H. Ito, M. Mutsuda, Y. Murayama, J. Tomita, N. Hosokawa, K. Terauchi, C. Sugita, M. Sugita, T. Kondo, H. Iwasaki (2009) "Cyanobacterial daily life with Kai-based circadian and diurnal genome-wide transcriptional control in <i>Synechococcus elongatus</i> " <i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i> , 106:14168-14173
3. H. Tozaki, T. Kobe, K. Aihara, H. Iwasaki (2008) "An attempt to reveal a role of a transcription/translation feedback loop in the cyanobacterial KaiC protein-based circadian system by using a semi-synthetic method" <i>Int. J. Bioinform. Res. Appl.</i> , 4: 435-444
4. S.R. Mackey, JS. Cho, Y. Kitayama, H. Iwasaki, G. Dong, S.S. Golden (2008) "Proteins found in a CikA-interaction assay link the circadian clock, metabolism, and cell division in <i>Synechococcus elongatus</i> " <i>J. Bacteriol.</i> , 190: 3738-3746
5. A. Seki, M. Hanaoka, Y. Akimoto, S. Masuda, H. Iwasaki, K. Tanaka (2007) "Induction of a group 2 sigma factor, RpoD3, by high light and the underlying mechanism in <i>Synechococcus elongatus</i> PCC 7942" <i>J. Biol. Chem.</i> , 282: 36887-36894
6. 岩崎秀雄 「バイオメディア・アート: 美学的見地から観た合成生物学の可能性」(2010) 『科学』2010 年 7 月号 747-754 頁(岩波書店)

(2) 特許出願

研究期間累積件数: 0 件

(3) その他(主要な学会発表、受賞、著作物等)

Invited Review Articles:

Iwasaki H (2009) "A posttranslational chemical circadian oscillator in cyanobacteria" *Systems Biology: The Challenge of Complexity* (Eds. Nakanishi, S., Kageyama, R., Watanabe, D), Springer

Iwasaki H (2009) "Factors involved in transcriptional output from the Kai-protein-based circadian oscillator" *Bacterial Circadian Programs* (Eds. J. Ditty, S. Mackey, C.H. Johnson), Springer

国際会議での招待講演(主要なもののみ)

H. Iwasaki "From cyanobacteria to synthetic cells: their time, shape and art" *SymbioticA Interanational Symposium on "Unruly Ecology: Biodiversity and Art"* (2010.11.27, Perth, Australia)

H. Iwasaki "Systems Analyses on Cyanobacterial Spatio-Temporal Pattern Formations and Responses to Light-Dark Cycles" *AESF-EMBO Symposium "Molecular Bioenergetics of Cyanobacteria: Towards Systems Biology Level of Understanding"* (2008.4.3 Sant Feliu, Spain)



H. Iwasaki "Spatio-Temporal Pattern Formation in Cyanobacteria: From Rhythms to Morphogenesis" *American Society for Cell Biology* 年次総会 (2007.12.5 Washington DC)

受賞

- ・文部科学大臣表彰若手科学者賞(2008)
- ・9th Spiral Independent Creators Festival ハワード・リクター賞(2008)
- ・日本ゲノム微生物学会学術奨励賞(2011)