

研究課題別評価

1.研究課題名 共生関係への移行に伴う遺伝子代謝ネットワークの再編成

2.研究者氏名 四方 哲也

ホスト研究員 松山 晋一 (研究期間 2001.4.1 ~ 2003.3.31)

ポスドク研究員 早川 志帆 (研究期間 2002.5.1 ~ 2003.3.31)

ポスドク研究員 東 陽一郎 (研究期間 2000.12.1 ~ 2001.3.31)

3.研究の狙い：

2種生物の共生系形成過程は、1つの生物にとって、過去に全く遭遇したことのない未知の生物が環境に突然現れることから始まる。その際、生物は遺伝子代謝ネットワークを変化させて、もうひとつの未知の生物という新しい環境に柔軟に適応する必要がある。この環境変化は過去に経験したことがないので、それに対応する遺伝的プログラム、または、分子認識機構を生物があらかじめ用意していることはない。前もってプログラムが用意されていない環境変化に対して、どのように遺伝子代謝ネットワークは適応するのであろうか？この問題は、現代社会に存在する様々なネットワークを融合させる際に生じる共通問題である。独立に発達した複数ネットワークを融合するにはどのような仕組みがありえるだろうか？このプロジェクトは、新しい共生系の形成過程の解析から、生物の非線形ネットワークの示す柔軟な環境適応性の基礎的知見を得ることを当初計画とした。

具体的には独立に進化してきた2種の生物、粘菌と大腸菌の新規共生系形成過程を解析した。その結果、1)その形態変化と遺伝子代謝ネットワークの再編成を明らかにした。2)遺伝子代謝ネットワークの再編成(進化、分化、環境適応)で保存される規則として、傾き-2をもつべき乗則が発見された。

さらに、上記の当初計画に加えて、ネットワーク融合に関する上記の疑問に答えるために、より単純で解析が容易な系として大腸菌を用いて、遺伝子代謝ネットワークが安定に融合共生するための論理を探索した。その結果、3)競争関係にある大腸菌を一定環境で進化させると、細胞間相互作用によって共生関係へ移行することが分かった。4)以上の実験をもとに、非線形ネットワークがしめす環境応答機構として、「アトラクター選択」が提案され、大腸菌を用いて、実験的に証明された。

4.研究結果：

以下、結果1)~4)について詳細を記す。

結果1)粘菌と大腸菌の新規共生系形成過程を解析し、その形態変化と遺伝子代謝ネットワークの再編成を明らかにした。

細胞性粘菌は森の木陰で、大腸菌は哺乳類の腸内で独立に進化してきた。この2種類の生物を同じ貧栄養固体培地で培養すると、はじめに大腸菌が少し増え、それを粘菌が食べて成長する。この時点では2種の生物は捕食関係にある。しばらく時間が経過すると、個々の粘菌細胞としては、究極の選択を迫られる。大腸菌を捕食しなければ死んでしまうのだが、すべての大腸菌を食べ尽くせば、餌がなくなって集団全体が絶滅してしまう。実際に、2週間程度で、大腸菌も粘菌も、見か

け上ほとんど絶滅、または仮死状態になる。しかしながら、次に大変興味深い現象が現れる。絶滅が起きたと思われた貧栄養固体培地の上に、ぐずあん状の盛り上がった粘性のあるコロニーが数個現れる。その粘性コロニーを詳しく調べてみると、その中では、大腸菌が培地にはない必須栄養素を粘菌から貰い成長し、成長してきた大腸菌を粘菌が食べて、共に増殖しながら共生しているのである。このぐずあん状の粘性コロニーを分析すると、それぞれの細胞を単独で培養した時には見られない多糖類を大量に合成していることがわかった。また、粘菌はその大きさを半分程度まで縮めていた。大腸菌は繊維状につながっていた。共生系形成前後の大腸菌から、全遺伝子のmRNAを取り出し、アフィメトリックス社のジーンチップを用いて、各遺伝子の発現量を測定した。その結果、ゲノム全体の21%の遺伝子が増加させていた。発現量を減少していた遺伝子はゲノム中の15.6%で、解糖系、DNA RNA 合成系、ストレス対応系であった。大まかには、エネルギーや物質生産を抑えて共生状態になっていた。また、興味深いのは、共生状態になることによって、ストレスから開放されて、より安定な状態に変化しているようであった。

結果2) 遺伝子代謝ネットワークの再編成 (進化、分化、環境適応) で保存される規則として、同じ傾きをもつべき乗則が発見された。

共生系前後の大腸菌の遺伝子発現のデータを用いて、各遺伝子の発現量とその頻度の関係を解析した。その結果、臨界点現象など知られる傾き-2のべき乗則が発見された。ここで特筆すべきは、共生系形成過程前後で30%以上の遺伝子の発現量が変化しているにもかかわらず、同じ傾き-2をもったべき乗則が観測されたこと、つまり、共生系形成過程で保存されるルールのひとつとして、べき乗則が見つかったことである。更に、大腸菌だけでなく、酵母、シロイナズナ、線虫、マウス、人などで調べてみると、ほぼ-2のべき乗則を保存しながら、遺伝子代謝ネットワークが分化、進化していることが分かった。このようなべき乗則は、遺伝子代謝ネットワークだけでなく、ほかにも多くの報告があるが、その生成機構については統一的な理解はない。そこで、詳細な機構にとらわれない確率拡散モデルとつかって解析を進めた結果、発現量の大きい遺伝子ほどその変化も大きいという傾向が平均として存在すれば、傾き-2のべき乗則が現れることがわかった。

結果3) 競争関係にある大腸菌を一定環境で進化させると、細胞間相互作用によって共生関係へ移行することが分かった。

大腸菌同士の競争から共存への移行過程を検討した。グルタミン合成酵素遺伝子にランダム変異を加えながら大腸菌を混合培養する。栄養は一定速度で培養槽に流入し、増殖した大腸菌を含めて培養液が一定速度で流出する。これらの変異型大腸菌は、同じえさを食べ、同じ空間を占めるので互いに強い競争関係にある。それらのうち多くは培養中に淘汰されてしまった。しかしながら、強い選択条件下でも1種類になってしまう事はなく、グルタミン合成酵素活性の少し違う大腸菌が共存した。どのようにして、競争関係から共存へ移行したのかを調べるために、数多くの競争実験を行った。その結果、グルタミン合成酵素活性の強い菌から、合成されたグルタミンが漏れ、それがもう一方の菌の増殖に影響を与えていることがわかった。生物個体は自己複製する単体なので、その内部のパラメータ変化は増殖を通して、結果的に利己的に見える。しかしながら、内部パラメータの変化は個体の増殖だけに影響するわけではない。むしろ、やわらかい生体膜を通して栄養が漏れ出したり、死亡破裂して内容物を外部に漏らしたりするので、他個体とも受動的に相互作用が生じてしまう。つまり、完全に利己的であることは不可能なのである。以上の実験結果は、このような不可避免的な生物間相互作用が共生共存に重要な役割を果たしていることを示して

いる。

結果 4) 非線形ネットワークがしめす環境応答機構として、「アトラクター選択による適応応答」が提案され、そのネットワークをもった大腸菌を用いて、実験的に証明された。

共生系形成の初期過程では、1つの生物が、過去に全く遭遇したことのない生物が突然現れるという環境変化に、柔軟に適応する必要がある。この新しい環境変化に対しては、過去の進化過程で発達した遺伝的プログラムは使えない。どのように遺伝代謝ネットワークが再編されるのだろうか？これまでの実験結果を踏まえて、新しい機構、「アトラクター選択による適応応答」を理論的に提案した。非線形な遺伝子代謝ネットワークには複数のアトラクターが存在する。問題は、あらかじめ用意された情報伝達プログラムはなくいかに環境に適応したアトラクターを選択するかである。遺伝子ネットワークを表す非線形方程式の速度係数が細胞の活性に比例していることと測定された遺伝子発現のノイズ項を用いることによって、対称な吸収領域をもつアトラクターから細胞活性を高いものが選択されることが示された。そして、このアトラクター選択による環境適応を実装するために、小型遺伝子代謝ネットワークを構築して大腸菌に導入した。その結果、アトラクター選択による環境変化が理論どおりに起こった。

オペロン説の提唱以来、分子の結合解離に基づいた if then 型の分子情報伝達を中心にして、生物の機械的側面が多く解明されてきた。一方で、ノイズに対する頑強性や新規環境への柔軟な適応能力などの生物らしさは未探求のまま残されている。今回提案されたアトラクター選択は、生物のノイズに対する頑強さと環境変化に対する柔軟性を同時に満たす。よって、アトラクター選択を他の生物学の分野、特に細胞分化過程などでの細胞間コミュニケーションへ適応すれば、新しい潮流を創出すると期待される。

5. 自己評価：

当初計画にあったように遺伝子発現ネットワークの再編成が観察され（結果 1））、その中で分子生物学上の詳細な知見をこえて普遍的なルールが発見されたことは良かった。ポスドクや研究協力者に感謝したい。一方で、遺伝子網羅的解析装置の使用方法が企業によってたびたび変更されたため、詳細な時系列解析が出来なかったのは残念である。しかし、現在進行中なので今後達成され则认为している。当初計画に無かった結果 3) はアドバイザーによる建設的な批判によって励起された。この成果によって、ズッカーカンドル賞がいただけた。感謝に尽きる。また、結果 4) は、遺伝子網羅的解析装置の問題で困窮していた際に、低自由度観測系を勧めていただいた研究総括に感謝したい。

プロジェクト全体としては、ネットワークの柔軟な応答機構として、if-then-else 型でなく、ノイズに強いアトラクター選択の概念が提出できたことは大きな成果であろう。今後は共生形成過程だけでなく、他の遺伝子代謝ネットワークの応答、さらには情報科学のほかの分野にも、この新しい機構を適応し、システムの柔軟性を探求したい。

6. 研究総括の見解：

異種の遺伝子代謝ネットワークを持つ 2 種の生物集団が共生関係を始める時、ネットワークはどのように再編成されるかを遺伝子解析によって研究した。中でも細胞性粘菌と大腸菌のように通常は捕食関係にある種の間に、また競合関係にあると考えられるグルタミン酵素活性の異なる大腸菌の間に共生関係が成立することを発見した。遺伝子解析によりその理由として究極状態では、

生物は完全には利己的ではなく利他的要素をもっているからであることを明らかにしたことは高く評価できる。また小型遺伝子代謝ネットワークを大腸菌に導入して、共生関係にはいるための経験がない生物が、環境に応じて共生関係を選択するメカニズムを明らかにしたことも評価される。この分野の研究として立派な成果が出始めたので、今後の更なる成果を期待したい。特に死滅よりは共生関係への選択を行うためのアトラクターの条件など、興味深い問題も解決されることを期待したい。

7. 主な論文等：

英論文 :17 件、招待講演 :16 件、学会発表 29 件

受賞 2002.2 Zuckerkandl Prize (The Journal of Molecular Evolution)

2003.8 日本進化学会 研究奨励賞

主な論文

1. Hiroki R. Ueda, Satoko Hayashi, Shinichi Matsuyama, Tetsuya Yomo, Seiichi Hashimoto, Steve A. Kay, John B. Hogenesch & Masamitsu Iino. Universality and Flexibility in Gene Expression from Bacteria to Human. *Proc Natl Acad Sci USA* (accepted)
2. Shin-Ichi Matsuyama, Chikara Furusawa, Masahiko Todoriki, Itaru Urabe and Tetsuya Yomo. Global change in *Escherichia coli* gene expression in initial stage of symbiosis with *Dictyostelium* cells. *Biosystems* (accepted)
3. Sato K, Ito Y, Yomo T, Kaneko On the relation between fluctuation and response in biological systems. (2003) *Proc Natl Acad Sci U S A*. 100(24):14086-90
4. Yomo, T. (2002) Molecular evolution in static and dynamical landscapes. *J. Biol. Phys.*, 28(3): 471-482.
5. Todoriki, M., Oki, S., Matsuyama, S., Ko-Mitamura, E. P., Urabe, I., Yomo, T. (2002) An observation of the initial stage towards a symbiotic relationship. *BioSystems.*, 65:105-112.
6. Kashiwagi, A., Noumachi, W., Katsuno, M., Alam, T. M., Urabe, I., Yomo, T. (2001) Plasticity of fitness and diversification process during an experimental molecular evolution. *J. Mol. Evol.*, 52: 502-509.