

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：12608

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K12092

研究課題名(和文) 合成生物学的に実証可能な隣接細胞間通信系による多細胞アナログ/デジタル計算

研究課題名(英文) Multicellular analog/digital computing with cellular neighbourhood communication validated by Synthetic Biology

研究代表者

山村 雅幸 (Yamamura, Masayuki)

東京工業大学・情報理工学院・教授

研究者番号：00220442

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：自然計算としての合成生物学は、細胞集団をターゲットとできる段階に入った。従来研究は均一に混合された空間構造を持たない細胞集団を小分子で制御する段階にとどまっている。本研究では、合成生物学的に実証可能な細胞集団による計算モデルの提案を試みる。自然の温泉地に形成される微生物マットを題材として取り上げ、光条件をコントロールした複数サンプルを取り、メタゲノム解析を行った。光条件の変化によってマットを形成する微生物の属分布が変化する様子が観察された。

研究成果の概要(英文)：Synthetic Biology meets the stage to treat collective activity of mixed species cells. However, conventional researches stay in the level of controlling homogeneous spatial structure by using small chemicals. We proposed a computational model which can be validated by biological experiments with Synthetic Biology. We selected a layered mat structure of microorganisms in natural hot springs as a testbed. We performed a meta-genome analysis on microbe mats under artificially controlled environment by LED lights. The results show the species composition will be changed according to the strength of the light and suggest a method to control the function of collective activities of mixed species cells.

研究分野：システム生命科学

キーワード：多細胞計算 カスケード 合成生物学 微生物共生系 微生物マット メタゲノム解析 光制御生態系 遺伝子回路 遺伝子回路インピーダンス

1. 研究開始当初の背景

知能情報処理は、自然界の様々な現象を模倣するだけでなく、自然現象そのものを計算資源として利用することで、学問としての守備範囲を広げてきた。これを自然計算 (Natural Computing) と総称する。DNA コンピューティング、分子ロボティクス、合成生物学など、自然計算は日本が世界にプレゼンスを誇れる分野を含んでいる。合成生物学は人工遺伝子回路を細胞に組み込んで望みの機能を実現する新しい生物学として2000年前後から始まった。現在、多細胞生物をターゲットとできる段階に入った。しかし、均一に混合された空間構造を持たない細胞集団を、均一に拡散する小分子によって制御する段階にとどまっている[1][2]。

空間構造を持つ細胞集団の挙動は、これまでピュア・アナログ的またはピュア・デジタル的にモデル化されてきた。チューリングによる反応拡散方程式はピュア・アナログの代表である[3]。発生生物学では、動物の体表の模様などが該当すると言われているが、モデルを厳密に満足する化学物質は発見されていない[5][6]。ピュア・デジタルの代表はセルオートマトンである。細胞の挙動は揺らぎを含むため、これも現実に合致しない。アモルファス計算は素子の故障や誤動作を許す[7][8]。高級プログラミング言語によるため現実の細胞には組み込みにくい。このように、空間構造を持つ細胞集団の挙動のモデル化は不十分であった。

2. 研究の目的

本研究は合成生物学的に実証可能な多細胞計算のモデルを提案する。具体的に、隣接する細胞が分子チャンネルを通じて情報交換する隣接細胞間通信系を用意する。その上で結合振動子を実現し、チューリングパターン様の2次元構造の構築について計算機シミュレーションする。これによって空間構造を持つ細胞集団によるアナログ/デジタル計算の枠組みを提案する。これと同時に生物学的実装の評価実験も試みる。

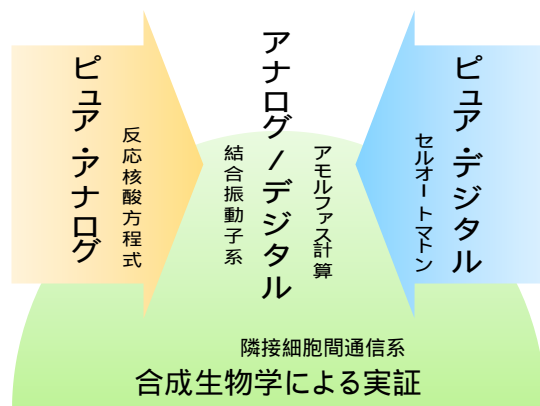


図1 多細胞計算の概念図

空間構造を持つ細胞集団による機能実現は合成生物学のモデルとして新規である。また、実証可能なモデルの提案は、数理研究として新規である。提案されたアナログ/デジタル計算は、信頼性の低い素子群を用いて信頼できる機能を実現するひとつの典型例となりうるため、将来における工学的な有用性も期待できる。特に、iPS細胞を中心に急速に発展しつつある再生医療分野では、空間構造を持つ細胞集団の秩序だった制御は不可欠な技術となることが予想される。

3. 研究の方法

本研究では数理モデル構築および計算機シミュレーションを主とし、次の3つの方向から同時並行的にアプローチする。各サブ課題にはそれぞれ専門の連携研究者からの知識提供と協力を求める。(1) 2次元隣接細胞通信系における結合振動子の挙動のシミュレーションを行う。リプリッシレータを想定し、隣接関係や物質輸送にはなるべく単純なモデルを用いて、位相差によるチューリングパターンの再現を目指す。(2) 2次元隣接細胞通信系におけるアモルファス計算のシミュレーションを行う。既存のアモルファス計算が移植可能か検討すると同時に、誤動作・故障耐性セルオートマトンが構築可能か検討する。(3) 2次元隣接細胞通信系の生物学的実装の評価実験を行う。生物学実験は実装可能性の評価実験の範囲とし、1~2のシミュレーション結果の実装までは求めない。最終的に多細胞アナログ/デジタル計算の理論的枠組みとしてまとめる。

【平成27年度】

(1) 2次元隣接細胞通信系における結合振動子の挙動のシミュレーション：アナログ計算からのアプローチである。合成生物学的実装を視野において研究を進める。
 (1a) 発振子の遺伝子回路として、リプリッシレータ[1]を想定する。遺伝子数を3個から1個に削減した単純化版も検討対象とする。モデル上、振動はサイン波で近似する。
 (1b) 隣接関係のトポロジーとして格子から始める[9]。通信分子は転写調整タンパク質を想定する。分子輸送の挙動は単に濃度比例とするなどなるべく単純にモデル化する。
 (1c) レポーター遺伝子回路の動作を検討する。結合振動子系の位相差パターンはそれだけでは観察できないため、光等の外部振動入力との論理積によってパターンを可視化する。光入力のセンサー処理には標準的な Cph8-OmpR 回路を想定する。
 (1d) PC クラスタを用いてシミュレーションする。
 (2) 2次元隣接細胞通信系におけるアモルファス計算のシミュレーション：デジタル計算からのアプローチである。生物学的実装にはあまりこだわらずに研究を進める。

(2a)チャンネルで輸送しうる分子の種類や量の制限を緩和する。現在知られている合成生物学の素子がすべて利用可能とする。複数の素子がクロストークなしに共存しうるとする。

(2b)既存のアモルファス計算の適用例[8]が、どの程度移植可能かを検討する。

(2c)PC クラスタを用いてシミュレーションする。

(3) 2次元隣接細胞通信系の生物学的事業の評価実験：合成生物学の生物学実験からのアプローチである。

(3a)高度な技術を要せずに利用可能な培養細胞およびチャンネルタンパク質の候補を検討する。動物細胞とコネキシンを第一候補とする。

(3b)遺伝子回路を組み込まない状態で2次元培養細胞シートの構築を試みる。

(3c)チャンネルタンパク質の培養細胞への導入を試みる。

【平成28年度】

(1) 2次元隣接細胞通信系における結合振動子の挙動のシミュレーション

(1a)数理モデルを遺伝子回路の挙動に忠実となるように詳細化することを検討する。チューリングパターンの形成のためには、モデルの忠実さは本質的ではないことが予想される。

(1b)ジレスピーの方法による確率過程シミュレーションを試みる。細胞の個体差や分子の少数揺らぎの影響を調べる。パターンの頑健性・時間安定性に影響があると予想される。

(1c)PC クラスタを用いてシミュレーションする。

(2) 2次元隣接細胞通信系におけるアモルファス計算のシミュレーション

(2a)前年度とは別のアプローチとして、確定動作のセルオートマトンから始めて、集団としての挙動が誤動作・故障にどれほど耐性を示すか調べる。

(2b)PC クラスタを用いてシミュレーションする。

(3) 2次元隣接細胞通信系の生物学的事業の評価実験

(3a)チャンネルタンパク質を組み込んだ培養細胞による2次元シートを構築する。この段階に進めるかどうかは前年度の実験結果に依存する。

(3b)もし、実験が速やかに進展したならば、結合振動子系の構成要素の組み込みを順次試みる。本研究では生物学実験は実装可能性の評価実験の範囲とし、サブ課題1~2のシミュレーション結果の完全実装までは目標としないものとする。

最終的にサブ課題1~3の結果を典型例として一般化し、多細胞アナログ/デジタル計算の理論的枠組みとしてまとめる。

4. 研究成果

(1) シミュレーションモデルの提案：当初計画の通りにアナログ計算からのアプローチとしての、2次元隣接細胞通信系における結合振動子の挙動のシミュレーションは完成した。一方、デジタル計算からのアプローチとしてのアモルファス計算、および生物学的事業実験は困難であることがわかった。このため、自然界の温泉地に見られる微生物マットをテストベッドとすることに決め、その非平衡解放系モデリングとシミュレーションを行うこととした。

(2) 微生物共生系の実験：合成生物学的に実証可能な多細胞計算のモデルとして、微生物共生系を取り上げ、数理モデルを構築するとともに、温泉に生じる微生物マットを対象として光入力による制御を加えたマット形成実験を行った。長野県中房温泉でのフィールド実験を行った。実験可能な気候条件を満たす季節が限られており、1シーズンでは十分なデータ数が得られなかった。微生物マットを構成する微生物の属分布に光条件の違いに応じた変化が生じることまでは確認できたが、統計的に有意とは言えない状況にあった。このため、研究期間を延長して次のシーズンに追加データを取得した。メタゲノム解析の結果、光条件の変化によってマットを形成する微生物の属分布が変化する様子が観察された。

(3) 人工遺伝子回路のカスケードに関する理論的考察：関連課題として合成生物学において、人工遺伝子回路のカスケードにより複雑なシステムを構築する場合に求められる留意事項について理論的に考察した。人工遺伝子回路の要素回路を細胞内でカスケード接続する際には、電子回路等と同様にハイインピーダンス入力/ローインピーダンス出力の配慮が必要であることが分かった。

<引用文献>

[1] Garcia-Ojalvo J, Elowitz M B, Strogatz S H, "Modeling a synthetic multicellular clock: Repressilators coupled by quorum sensing," PNAS 101:30, 10955-10960 (2004).

[2] Sekine R, Yamamura M, Ayukawa S, Ishimatsu K, Akama S, Takinoue M, Hagiya M, Kiga D, "Tunable synthetic phenotypic diversification on Waddington's landscape through autonomous signaling," PNAS 108:44, 17969-17973 (2011).

[3] Turing A M, "The Chemical Basis of Morphogenesis," Philosophical Transactions of the Royal Society, 237:B.641, 37-72 (1952).

[4] Young D A, "A Local Activator-Inhibitor Model of Vertebrate Skin Patterns," Mathematical Biosciences, 72, 51-58 (1984).

- [5] Kondo S, Miura T, "Reaction-Diffusion Model as a Framework for Understanding Biological Pattern Formation," *Science* 329, 1616-1620 (2010).
- [6] Sheth R, Marcon L, Bastida M F, Junco M, Quintana L, Dahn R, Kmita M, Sharpe J, Ros M A, "Hox Genes Regulate Digit Patterning by Controlling the Wavelength of a Turing-Type Mechanism," *Science* 338, 1476-1480 (2012).
- [7] Abelson H, Allen D, Coore D, Hanson C, Homsy G, Knight T, Nagpal R, Rauch E, Sussman G, Weiss R, "Amorphous Computing," MIT AI Memo 1665 (1999).
- [8] Beal J, Sussman G, "Biologically-Inspired Robust Spatial Programming," MIT AI Memo 2005-001 (2005).
- [9] Kori H, Kuramoto Y, Jain S, Kiss I Z, Hudson J, "Clustering in Globally Coupled Oscillators Near a Hopf Bifurcation: Theory and Experiments," *Physical Review*, E 89, 062906 (2014).
- [10] Nakajima M, Ito H, Kondo T., "In vitro regulation of circadian phosphorylation rhythm of cyanobacterial clock protein KaiC by KaiA and KaiB," *FEBS Letters* 584, 898-902 (2010).
- [11] Kumar N M, Gilula N B, "The Gap Junction Communication Channel," *Cell* 84, 381-388 (1996).
- [12] Moritani Y, Nomura S M, Morita I, Akiyoshi K, "Direct integration of cell-free-synthesized connexin-43 into liposomes and hemichannel formation," *FEBS Journal* 277, 3343-3352 (2010).

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計2件)

Akifumi Nishida, Ryoji Sekine, Daisuke Kiga, and Masayuki Yamamura, High-frequency noise attenuation of a two-component system responding to shortpulse input, *Proc. of The 7th international conference on Computational Systems-Biology and Bioinformatics (CSBio2016)*, 1, 2016, 28-35 査読有

Akifumi Nishida, Vera Thiel, Mayuko Nakagawa, Shotaro Ayukawa, and Masayuki Yamamura, 13(1), Effect of light wavelength on hot spring microbial mat biodiversity, 2018, *PLoS One*, e0191650, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191650> 査読有

〔学会発表〕(計5件)

西田暁史, 中川麻悠子, 鮎川翔太郎, 山村雅幸, 光波長制御による微生物マット相互作用の解明, 日本微生物生態学会 第31回大会, 2016年10月22日~2016年10月25日, 横須賀市文化会館

西田暁史, 中川麻悠子, 鮎川翔太郎, 山村雅幸, Control of microbial mat community by light wavelength, 「細胞を創る」研究会9.0, 2016年11月21日~2016年11月22日, 早稲田大学

西田暁史, 山村雅幸, 硫黄サイクルに関わる微生物共生系の再構成に向けたシミュレーション, 第2回デザイン生命工学研究会, 2017年3月21日, 東京工業大学

西田暁史, 山村雅幸, 光受容細菌を介した微生物共生系の制御, 第3回デザイン生命工学研究会, 2018年

Takefumi Moriya, Tomohiro Yamaoka, Yuki Wakayama, Shotaro Ayukawa, Zicong Zhang, Masayuki Yamamura, Shinji Wakao, and Daisuke Kiga, Molecular competition by downstream reporter genes in synthetic genetic circuits, The 16th Annual Meeting of Japanese society for Bacteria, 2017年

〔図書〕(計1件)

山村雅幸, 木賀大介, 第2章 合成生物学 (小林聡、萩谷昌己、横森貴編 ナチュラルコンピューティングシリーズ 第0巻 自然計算へのいざない), 近代科学社, 2015, 210ページ

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等: 該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山村雅幸 (YAMAMURA, Masayuki)
東京工業大学・情報理工学院・教授
研究者番号: 00220442

(3) 連携研究者

鈴木 泰博 (SUZUKI, Yasuhiro)
名古屋大学・情報科学研究科・准教授
研究者番号: 50292983

野村 慎一郎 (NOMURA, Shin-ichiro)
東北大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授
研究者番号: 50372446

伊藤 浩史 (ITO, Hiroshi)
九州大学・芸術工学研究科 (研究院)・講師
研究者番号：20512627

関根 亮二 (SEKINE, Ryoji)
独立行政法人理化学研究所・発生・再生科学総合研究センター・再構成生物学研究ユニット研究員
研究者番号：70730232