

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02532

研究課題名（和文）個体集団における状態転移機構の解明

研究課題名（英文）Studies on understanding the mechanism for collective behavioral transitions

研究代表者

杉 拓磨（Takuma, Sugi）

広島大学・統合生命科学研究所（理）・准教授

研究者番号：70571305

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、湿度上昇に対し、秩序パターンが崩壊し、最終的に大部分の線虫が運動を停止した凝集塊を作ることを見出した。この凝集塊の観察を続けると、静止した線虫集団が無秩序に運動を再開するのではなく、数秒のうちに一齐に運動状態へ転ずる現象が再現よく観察された。この集団全体が静から動へ転移する様子は、ミツバチが外敵に対して行うシマリングという威嚇行動や鳥の群れの外敵に対する水面からの羽ばたきなど自然界で多く見られる時間軸上の自己組織化現象である。これらでは通常、集団全体として外部刺激に反応しやすい臨界状態に近いことが知られる。したがって、本状態転移の分子神経機構の一端を本研究にて明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

集団の振る舞いが最も多様かつ複雑で魅力的な個体集団レベルでは、行動遺伝学的解析が可能なモデル動物の集団の実験系に乏しく、秩序生成機構の理解を妨げてきた。ランダムに振る舞うミクロな要素は、相互作用して自己組織的にマクロな秩序を生み出すことにより単独の要素とは異なる振る舞いを示す。これまで自己組織化メカニズムに関しては、拡散する情報伝達因子に焦点が当てられてきた。しかし多様かつ複雑な個体集団の自己組織的現象については未解明な点が多く、自然科学の多くの分野に共通する核心的な問いであることから、本研究は波及効果は高いと考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, I found that the orderly pattern collapses in response to increased humidity, and eventually the majority of the nematodes form aggregates that have ceased to move. Subsequent observation of this agglomeration revealed that the nematode population did not resume movement in a disorderly manner, but instead shifted simultaneously to a state of movement within a few seconds. This transition of the entire population from static to dynamic is a phenomenon of self-organization on a time axis that is often observed in nature, such as the threatening behavior of honeybees (shimmering) against an external enemy or the flapping of wings of a flock of birds from the water surface against an external enemy. In these cases, the population as a whole is usually known to be close to a critical state in which it is likely to respond to external stimuli. Thus, we have clarified a part of the molecular neural mechanism of this state transition in this study.

研究分野：生物物理学

キーワード：線虫 集団行動

1. 研究開始当初の背景

自然現象の多くは多要素からなる集団の時空間的な秩序形成の上に生じる。熱力学第二法則に抗うように見える集団の秩序生成については自己組織化現象として物理学では統計物理学などで調べられ、生物学でも盛んに研究されてきた。例えば臓器は細胞レベルの集団の代表的な例であり、その形成機構は盛んに研究されている。外部刺激にばらばらに応答するバクテリアが集団では一定数以上で応答する機構はクオラム・センシングと呼ばれる。個体レベルでは鳥や魚の群れが方向を揃えて移動し、外敵に遭遇するとバケツリレーのように情報を伝え、数秒間で一斉に方向を変え逃避する。群衆は自然と通路で互いに逆向きとなる歩行者の流れを作る。これらの現象は通常、リーダーが個々のメンバーを統制するのではなく自律分散的に生じる。そのため共通する問いとして「単独ではばらばらに運動したり、無秩序に応答する個体や細胞が、どのように集団で同じ方向に移動したり時間的にタイミングを合わせて応答するようになるのか」が研究されてきた。この秩序生成機構を理解するためには単独と集団でいる時の違いを調べる必要がある。細胞集団レベルではバクテリア等の集団実験系が確立されている。しかし集団の振る舞いが最も多様かつ複雑で魅力的な個体集団レベルでは、行動遺伝学的解析が可能なモデル動物の集団の実験系に乏しく、秩序生成機構の理解を妨げてきた。

また、ランダムに振る舞うマイクロな要素は、相互作用して自己組織的にマクロな秩序を生み出すことにより単独の要素とは異なる振る舞いを示す。これまで自己組織化メカニズムに関しては、拡散する情報伝達因子に焦点が当てられてきた。例えば、形態形成で、個々の細胞がいかに自分の位置を知り別々の器官へ発生するのかという問いは、近年仮想的だったモルフォゲンが同定され、分子実体が明らかになりつつある。また魚類の模様の等間隔パターンと Turing によって提案された反応拡散系を結びつける研究は盛んである。一方、人間を含む個体集団の方向やタイミングを合わせた秩序立った振る舞いは複雑であり、拡散因子に関するメカニズム以外の自己組織化機構も予想される。

自然現象の多くは集団の秩序形成から生じることから、自己組織化現象は学術分野問わず研究されてきた背景がある。しかし多様かつ複雑な個体集団の自己組織的現象については未解明な点が多く、自然科学の多くの分野に共通する核心的な問いと考えた。

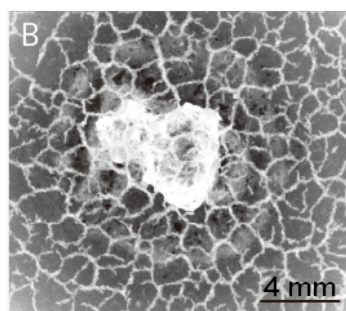
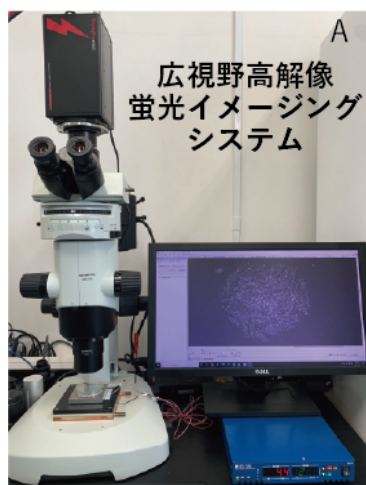


図1. 本研究の概略. (A) 線虫集団を1個体解像度で観察可能な高性能 CMOS カメラと顕微鏡. (B) 明視野観察. 中央の白部分はドッグフード培地.

2. 研究の目的

本研究では、①神経回路レベルと②分子レベルの解析により状態転移を駆動する分子神経機構を理解する。さらに *C. elegans* を捕食することが知られる線虫 *P. pacificus* に着目し (Bento

et al. 2010 他)、③状態転移の生物学的意義を理解する。以上、独自に見出した線虫集団の分子神経機構とその意義の理解を目的とした。

3. 研究の方法

線虫集団の状態転移を制御する分子神経的状态の解析は、生物集団の秩序生成機構を理解する良いモデル実験系と考えた。さらに研究代表者は自由に動く線虫の神経活性を非侵襲に計測するライブイメージング技術の開発により、接触や振動などの力学刺激応答を担う神経回路機構の解析を試みた。この独自の技術により線虫集団の状態転移機構の解析が可能と考えた。

4. 研究成果

本研究代表者は最近、線虫 *C. elegans* の集団実験系の構築に成功した。通常、線虫の飼育は大腸菌を餌として用いるが、大腸菌の消費とともに線虫の増殖は停止する。そこで、新たな実験系では大腸菌の代わりに栄養に富むドッグフード培地を用いることにより線虫を大量増殖させることに成功した。この線虫集団の実験系を用いた準備段階の研究から、疎な環境に比べ、集団形成により静止状態の線虫が力学刺激に反応性が高く運動状態に変化しやすくなることが示されていた。通常、疎な環境下の線虫はぜん動運動によりそれぞれがばらばらな方向へ進む。しかし、線虫集団が密度の閾値を超えたときに鳥や魚の群れと共通するメカニズムでネットワーク状の秩序パターンを形成し、乾燥耐性を獲得することを示した(図1)。さらに本研究では、湿度上昇に対し、秩序パターンが崩壊し、最終的に大部分の線虫が運動を停止した凝集塊を作ることを見出した。この凝集塊の観察を続けると、静止した線虫集団が無秩序に運動を再開するのではなく、数秒のうちに一斉に運動状態へ転ずる現象が再現よく観察された。この集団全体が静から動へ転移する様子は、ミツバチが外敵に対して行うシマリングという威嚇行動や鳥の群れの外敵に対する水面からの羽ばたきなど自然界で多く見られる時間軸上の自己組織化現象である。これらでは通常、集団全体として外部刺激に反応しやすい臨界状態に近いことが知られる。

この現象を図1Aのシステムにより、さらに高時間分解能で転移過程の観察を行った結果、凝集塊外側で運動する1個体の線虫が凝集塊内側の静止状態の線虫に衝突して運動を誘起し、その運動が隣接する線虫に雪崩のように伝播していき、全線虫が一斉に運動状態へ転じる状態転移現象が示された。一方、疎な環境では、静止状態の線虫が運動状態の線虫に衝突されても運動状態に変化する割合は数10%程度であった。つまり疎な環境に比べ、集団環境では、静止状態の線虫が力学刺激に反応性が高く運動状態に変化しやすいため、運動状態が途切れることはなく連続的に全線虫へ伝播することが示された。接触や振動など力学刺激に応答する神経回路(以下、力覚応答回路)を構成する神経細胞は同定されており、介在ニューロンAVAに発現するAMPA受容体 *glr-1* 遺伝子の発現量がこの回路の応答性を制御することが知られる。そこで酵母ワンハイブリッドスクリーニングと分子遺伝学的解析を行った結果、*glr-1* の発現量は転写因子 ATF-2(線虫オルソログ ATF-7)とストレス応答性キナーゼ p38(同 PMK-1)により制御されることが示された。また p38 の活性は経時的に変動し、線虫集団の密度に依存して変動パターンが変化することを見出した。

さらに集団内の線虫の神経活性を計測するシステムを構築した(図2)。神経活性とカルシウムの流入には相関があることから神経科学分野では神経活性計測にカルシウムインディケータ G-CaMP が利用される。過去の論文で、G-CaMP の cDNA を力覚応答回路に発現した線虫株を既に準備し、神経活性を定量化可能なことは示した。またメカノレセプター MEC-4 を欠失した線虫変異体は力学刺激への応答を失うことが知られる(Corsi et al. 2015(総説))。そこで、CRISPR/Cas9 システムにより MEC-4 タンパク質をコードする DNA の 3' 末端側に EGFP の DNA を

挿入した線虫株を作製した。今後は、この MEC-4 の局在や発現量も単独と集団時で比較しながら状態転移に関わるか解析する。

また、過去の研究から、線虫の凝集塊形成の生物学的意義として、凝集塊では表面張力により水分保持力が高まり、乾燥に対し生存率が向上することが定量的に示されている (McBride & Hollis, 1966; Sugi* et al. *Nature Commun*, 2019)。今後は、この凝集塊について状態転移の生物学的意義を理解する。一般的に本研究の集団実験で取り扱う線虫 *C. elegans* において、これを捕食する *P. pacificus* という線虫がよく知られる (Bento et al. 2010 他)。前述のように1個体の線虫が凝集塊内の静止した線虫に衝突することが集団の運動状態への変化を誘起するが、外敵の *P. pacificus* が凝集塊内の *C. elegans* に衝突した場合でも、状態転移が起こりうるかを検証する。さらに状態転移の起こる密な集団と転移の起きない疎な環境で、1個体の *P. pacificus* により一定時間で捕食される *C. elegans* 数を数え、集団形成の有利性を検証する。これは、集団形成により *C. elegans* 由来の Dauer フェロモンの拡散量が増えることから、それを *P. pacificus* が忌避することにより集団に対する *P. pacificus* の捕食行動そのものが生じない効果を生み出す可能性があり、その可能性の検証も兼ねた実験である。

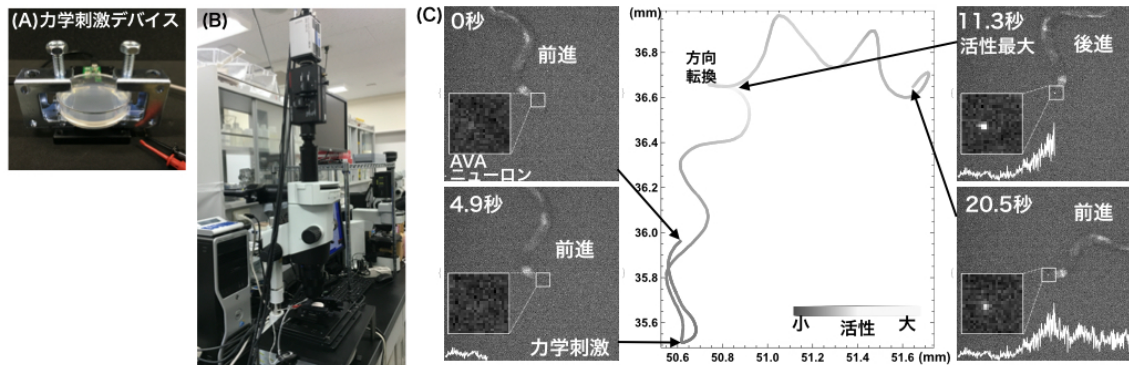


図2. 自由に動く線虫の神経活性計測用ライブイメージング顕微鏡. (A)力学刺激デバイス写真. (B)顕微鏡写真. 線虫を高速追尾しながら Ca^{2+} イメージングにより神経活性を定量化. (C)計測例. 力学刺激に反応して後進移動する線虫を追尾して, AVA ニューロンの G-CaMP 蛍光を定量化. 各画像にその時刻までの神経活性の波形を記載.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Chiba Takuya, Okumura Etsuko, Nishigami Yukinori, Nakagaki Toshiyuki, Sugi Takuma, Sato Katsuhiko	4. 巻 33
2. 論文標題 Caenorhabditis elegans transfers across a gap under an electric field as dispersal behavior	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Current Biology	6. 最初と最後の頁 2668 ~ 2677.e3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cub.2023.05.042	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Imamura Ryuki, Nakane Yurina, Jiajing Hu, Ito Hiroshi, Sugi Takuma	4. 巻 1
2. 論文標題 The Large-Scale Cultivation of Nematodes to Study Their Collective Behaviors	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Visualized Experiments	6. 最初と最後の頁 10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3791/65569	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nakano Masaki, Imamura Ryuki, Sugi Takuma, Nishimura Masaki	4. 巻 1
2. 論文標題 Human FAM3C restores memory-based thermotaxis of Caenorhabditis elegans famp-1/m70.4 loss-of-function mutants	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PNAS Nexus	6. 最初と最後の頁 3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/pnasnexus/pgac242	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Shigyou Kazuki, Maeoka Haruka, Igarashi Ryuji, Sugi Takuma	4. 巻 1
2. 論文標題 Calcium Imaging in Freely Behaving in Caenorhabditis elegans with Well-Controlled, Nonlocalized Vibration	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Visualized Experiments	6. 最初と最後の頁 3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3791/61626	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yanagi Tamami, Kaminaga Kiichi, Suzuki Michiyo, Abe Hiroshi, Yamamoto Hiroki, Ohshima Takeshi, Kuwahata Akihiro, Sekino Masaki, Imaoka Tatsuhiko, Kakinuma Shizuko, Sugi Takuma, Kada Wataru, Hanaizumi Osamu, Igarashi Ryuji	4. 巻 15
2. 論文標題 All-Optical Wide-Field Selective Imaging of Fluorescent Nanodiamonds in Cells, In Vivo and Ex Vivo	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ACS Nano	6. 最初と最後の頁 12869 ~ 12879
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsnano.0c07740	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sugi Takuma, Ito Hiroshi, H. Nagai Ken	4. 巻 18
2. 論文標題 Collective pattern formations of animals in active matter physics	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biophysics and Physicobiology	6. 最初と最後の頁 254 ~ 262
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophysico.bppb-v18.028	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ito Hiroshi, Sugi Takuma, Nagai Ken H	4. 巻 34
2. 論文標題 Controllable Biological Rhythms and Patterns	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Robotics and Mechatronics	6. 最初と最後の頁 253 ~ 256
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.20965/jrm.2022.p0253	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計32件 (うち招待講演 11件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 杉拓磨
2. 発表標題 ライトフィールドイメージングとアクティブマターの世界
3. 学会等名 新結晶成長学シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 杉拓磨
2. 発表標題 ライトフィールドイメージングが拓く4D生命科学の世界
3. 学会等名 生理研研究会「極限環境適応」(招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 前岡遥花, 五十嵐龍治, 白杵深, 杉拓磨
2. 発表標題 ライトフィールド3D量子センシング技術の開発
3. 学会等名 日本生物物理学会 中国四国支部大会(第13回)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 今村隆輝, 白杵深, 杉拓磨
2. 発表標題 ナノ分解能シングルショット3Dライトフィールド顕微鏡の開発
3. 学会等名 日本バイオイメージング学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前岡遥花, 五十嵐龍治, 白杵深, 杉拓磨
2. 発表標題 生体内リアルタイム4D量子温度イメージング技術の開発と応用
3. 学会等名 量子生命科学先端フォーラム2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前岡遥花, 五十嵐龍治, 白杵深, 杉拓磨
2. 発表標題 シングルショット3D熱計測技術の開発と応用
3. 学会等名 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前岡遥花, 五十嵐龍治, 白杵深, 杉拓磨
2. 発表標題 Development of real-time 4D quantum temperature imaging system to measure intercellular thermal diffusivity
3. 学会等名 第14回光塾
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 今村隆輝, 白杵深, 杉拓磨
2. 発表標題 社会性の神経基盤の解明に向けたシングルショット4D計測技術の開発
3. 学会等名 第14回光塾
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前岡遥花, 五十嵐龍治, 白杵深, 杉拓磨
2. 発表標題 高感度ライトフィールド3D量子センシング技術の開発
3. 学会等名 日本バイオイメージング学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前岡遥花, 五十嵐龍治, 白杵深, 杉拓磨
2. 発表標題 Development and application of a real-time 4D quantum temperature imaging system
3. 学会等名 定量生物学の会 第十回年回
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 今村隆輝, 白杵深, 杉拓磨
2. 発表標題 社会性行動の理解に向けたオペランド4Dイメージング技術の開発と応用
3. 学会等名 定量生物学の会 第十回年回
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 成相壮一郎, 前岡遥花, 広瀬真里枝, 白杵深, 杉拓磨
2. 発表標題 ライトフィールドzトラッキング技術の開発と神経老化メカニズムへの応用
3. 学会等名 第14回光塾
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉拓磨
2. 発表標題 Understanding the principle of collective behaviors and development of real-time high resolution light-field imaging
3. 学会等名 第55回発生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉拓磨
2. 発表標題 光線空間を1つかみに支配するライトフィールド技術開発と脳神経活動計測への応用
3. 学会等名 The 100th Scienc-ome (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Sugi T
2. 発表標題 Active matter physics and high-speed single-shot 4D imaging
3. 学会等名 The 31th international Toki conference on plasma and fusion research (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉拓磨
2. 発表標題 動物の極限環境適応戦略の理解と4Dイメージング技術開発
3. 学会等名 生理学研究所「極限環境適応」研究会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yagi R, Usuki S, Miura KT, Sekine T, Sugi T
2. 発表標題 A new light-field microscope system for high-resolution 3D bio-imaging
3. 学会等名 The 9th international conference of Asian society for precision engineering and nanotechnology (ASPEN 2022) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉拓磨
2. 発表標題 動物集団による状態転移と高分解能ライトフィールド顕微鏡開発
3. 学会等名 第41回日本動物行動学会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Maeoka H, Igarashi R, Usuki S, Sugi T
2. 発表標題 Development of real-time 4D quantum temperature imaging system to measure intercellular thermal diffusivity
3. 学会等名 The 5th IFQMS (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉拓磨
2. 発表標題 スキャンレス4Dライトフィールドイメージング技術の開発と応用
3. 学会等名 ExCELLSシンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉拓磨
2. 発表標題 スキャンレスシングルショット4Dイメージング技術の開発と応用
3. 学会等名 定量生物学の会第十回年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉拓磨
2. 発表標題 スキャンレス4Dライトフィールドイメージング技術の開発と応用
3. 学会等名 第14回光塾(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 杉拓磨, 前岡遙花, 執行航希, 白杵深
2. 発表標題 動物集団による状態転移と高分解能ライトフィールド顕微鏡開発
3. 学会等名 生理学研究所「極限環境適応」研究会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 執行航希, 前岡遙花, 八木 玲士, 島袋主基, 白杵深, 杉拓磨
2. 発表標題 線虫の全脳イメージングを目指したライトフィールド顕微鏡の開発
3. 学会等名 日本応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 前岡遙花, 執行航希, 杉拓磨
2. 発表標題 全神経活動リアルタイム計測のための個体自動捕捉システムの開発
3. 学会等名 日本生物物理学会 中国四国支部大会(第12回)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 白杵深, 關根惟敏, 三浦憲二郎, 前岡遥花, 執行航希, 杉拓磨
2. 発表標題 生物試料の三次元計測のためのライトフィールド顕微鏡の開発 - 画素ずらしによる高分解能化と蛍光観察
3. 学会等名 2021年度精密工学会秋季大会学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 前岡遥花, 執行航希, 杉拓磨
2. 発表標題 全神経活動リアルタイム計測のための全自動全神経細胞捕捉システムの開発
3. 学会等名 2021年第82回応用物理学会 秋季学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 前岡遥花, 執行航希, 杉拓磨
2. 発表標題 全神経活動リアルタイム計測のための全自動全神経細胞捕捉システムの開発
3. 学会等名 Optics&Photonics Japan 講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 前岡遥花, 八木玲士, 執行航希, 白杵深, 杉拓磨
2. 発表標題 線虫C. elegans における温度分布計測のための個体トラッキングシステムの開発
3. 学会等名 第5回分子ロボティクス年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 前岡遥花, 執行航希, 杉拓磨
2. 発表標題 Development of a whole neural network tracking system for real-time high-resolution light-field imaging in freely behaving <i>C. elegans</i>
3. 学会等名 第59回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 前岡遥花, 杉拓磨
2. 発表標題 3D 選択的イメージングに向けたライトフィールドトラッキング技術の開発
3. 学会等名 量子生命科学先端フォーラム2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 前岡遥花, 杉拓磨
2. 発表標題 量子センシングのための自動個体追尾システムの高速度化
3. 学会等名 第69回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------