

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：32689

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26540152

研究課題名(和文)2種細胞間に分担されたポジティブフィードバックによる細胞集団挙動のプログラミング

研究課題名(英文)Programing of cellular behavior via positive feedback consisting of two cell types

研究代表者

木賀 大介(Kiga, Daisuke)

早稲田大学・理工学術院・教授

研究者番号：30376587

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)：本研究では合成生物学における遺伝子発現制御として、ポジティブフィードバックに注目した。この系では、細胞アルファは、分子Bを受け取った際に分子Aを放出し、同時に抗生物質耐性を獲得する。一方、細胞ベータは、分子Aを受け取った際に、分子Bを放出し、同時に抗生物質への耐性を獲得する。抗生物質による増殖阻害による速度低下、および、相手からの通信分子によって誘導される耐性遺伝子の発現によって阻害が緩和され速度低下が回復することが観察されたのみならず、通信分子の生産自体が増殖速度の抑制を生じさせていた。この結果、情報科学における意思決定の利得表を大腸菌の増殖速度を指標として実装することができた。

研究成果の概要(英文)：In this synthetic biology study, we implemented a positive feedback system consisting of two cell types. When type A cell receives a cell-cell communication molecule from the type B cell, type A cell releases the other communication molecule which activates release from type B cell.

研究分野：合成生物学

キーワード：合成生物学 数理モデル 細胞間コミュニケーション

1. 研究開始当初の背景

ゲノム解析に代表される生命情報の蓄積と、長鎖 DNA 合成技術の進展により、web上の種々の生物の情報から遺伝子群をピックアップして組み合わせた「人工遺伝子回路」の構築が国内外で進展してきている。しかしながら、これらの研究のほとんどは、遺伝子を組み合わせることの利点を最大限に活用しきれていない。なぜならば、発現制御ネットワークの構築、という観点が欠落しているためである。天然の遺伝子が、タンパク質コード配列と発現制御情報とをセットにした存在であり、個々の生物では制御情報ネットワークによってタンパク質の適切な生産を行っている。この点を考慮すれば、遺伝子人工ネットワークのデザインにおいて、タンパク質コード配列はそのままでも使用可能であることに對し、制御情報ネットワークは新たに1から作成する必要があることは明らかであろう。

これまで研究代表者は主宰する研究室の活動として、遺伝子発現制御をプログラミングするために、2種類の入力を統合するプロモータや(BMC Genomics2010)、同一の人工遺伝子回路を持つ大腸菌が細胞間通信を介して適切な細胞種の比率へと自律的に多様化する系(PNAS2011)を開発してきた。

2. 研究の目的

本研究では合成生物学において重要な、遺伝子発現制御のプログラミングを行うことを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、種々の制御情報の中で、相手細胞からの細胞間通信分子を受け取って、相手を活性化させる分子を放出させる様式のポジティブフィードバックに注目した。ポジティブフィードバックは、短時間に細胞集団の挙動を変化させることができるという優位性を持つものの、細胞内反応のゆらぎにより自発的に活性化してしまうという欠点を併せ持つことが知られている。このため、物質生産に人工遺伝子回路を活用する際に、ポジティブフィードバックを活用することには非常な困難が存在すると考えられてきた。本研究ではこの問題を回避するために、ポジティブフィードバックを、2種の細胞を混合した場合のみ発動する形式で構築し、研究を進めた。

この系では、細胞アルファは、分子 B を受け取った際に分子 A を放出し、同時に抗生物質耐性を獲得する。一方、細胞ベータは、分子 A を受け取った際に、分子 B を放出し、同時に抗生物質クロラムフェニコールへの耐性を獲得する。

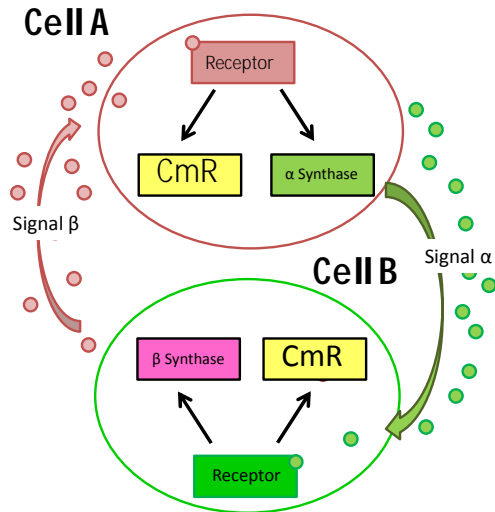


図 2 種細胞間のシグナル分子を介したポジティブフィードバック。CmR:抗生物質耐性遺伝子

4. 研究成果

ポジティブフィードバック部分について、まず、数理モデルと実際の細胞の挙動が合致しているかを確認した。まずそれぞれのシグナル生産系について、入力に対する出力の時間変動を精緻に測定した。その結果から、研究代表者の経験上妥当と判断されるパラメータを用いて作成されている現状の数理モデルが、妥当であると判断した。

さらに、ポジティブフィードバックによって活性化される遺伝子について、ポジティブフィードバックを引き起こすシグナル生産遺伝子に加えて、抗生物質耐性遺伝子も組み込み、その機能による増殖速度の変化を測定した。その過程では、2種類の菌の混合比を変化させることで、モデルと実験を比較した。その結果、想定通りに、2種類の菌の混合比に依存して、抗生物質存在下で、抗生物質耐性遺伝子の発現による増殖速度の向上が見られることを確認した。一方、抗生物質耐性遺伝子のリークによる発現は2種類の菌で異なることも確認した。

続いて、2種類の細胞がそれぞれ相手の存在を検出して固有の分子を培地に放出する形のポジティブフィードバックの系について、それぞれの細胞の増殖速度を精緻に測定した。増殖速度の変化の測定の結果、抗生物質による増殖阻害による速度低下、および、相手からの通信分子によって誘導される耐性遺伝子の発現によって阻害が緩和され速度低下が回復する様相のみならず、通信分子の生産自体が増殖速度の抑制を生じさせている様相を、定量的に評価することができた。

その結果を活かし、それぞれの細胞を別個に培養し、その培養上清を交換することが、ゲーム理論における囚人のジレンマの利得表を生きた細胞によって実装することになるといふ、新規の細胞集団挙動のプログラミングをすることもできた。この系では、相手に協力することは、自らの増殖速度低下と引き換えとした相手の抗生物質耐性獲得を意味する。

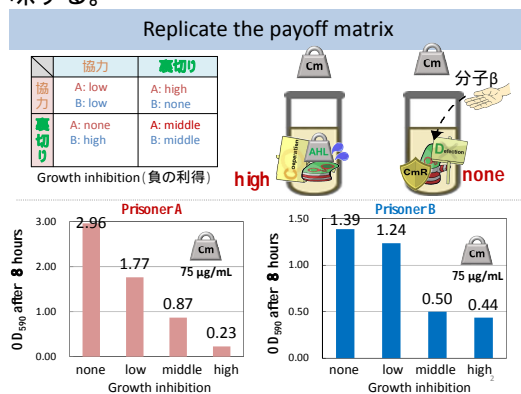


図 囚人のジレンマにおける利得表を、人工遺伝子回路を持つ大腸菌によって実装した

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 5 件)

木賀大介

「設計生物学」

「人工細胞の創製とその応用」内

植田充美 監修 発行元シーエムシー出版
東京, ISBN 978-4-7813-1233-0, P187-198,
2016 年、査読無

Manami ITO, Haruka SUGIURA, Shotaro AYUKAWA, Daisuke KIGA, Masahiro TAKINOUE “A Bacterial Continuous Culture System Based on a Microfluidic Droplet Open Reactor” Analytical Sciences Vol. 32 (2016) No. 1 p. 61-66

<http://doi.org/10.2116/analsci.32.61>

査読有

木賀大介

RNA ワールドの成立・維持と発展的解消
細胞工学

35 巻 p111-115 2016 年

査読無

木賀大介

生物をつくる事で生命を理解する
コトバ

2014 夏号 p78-81 2014 年

査読無

Takefumi Moriya, Masayuki Yamamura and *Daisuke Kiga,
“Effects of downstream genes on synthetic genetic circuits”.
BMC Systems Biology, 8(S4).
doi:10.1186/1752-0509-8-S4-S4, (2014).
査読有

[学会発表](計 9 件)

木賀大介

設計生物学 — 博物学ではない生物学の構築

第 2 回 デザイン生命工学研究会

神戸大学総合研究拠点

2017 年 3 月 22 日

Takefumi Moriya, Zicong Zhang, Shotaro Ayukawa, Masayuki Yamamura, Daisuke Kiga

Effects of downstream genes on synthetic genetic circuits

第 2 回 デザイン生命工学研究会

神戸大学総合研究拠点

2017 年 3 月 22 日

Daisuke Kiga

Systems biology: Synthetic Biology =
Systems Chemistry : ???

ELSI symposium

東工大蔵前会館

2017 年 1 月 12 日

木賀大介

第 39 回日本分子生物学会年会

設計生物学と進化学のあいだ

パシフィコ横浜

2016 年 12 月 11 日

木賀大介

第 54 回日本生物物理学会年会

多細胞合成生物学

つくば国際会議場

2016 年 11 月 27 日

木賀大介

日本遺伝学会第 88 回大会 (招待講演)

合成生物学についての大学教育

日本大学国際関係学部 三島駅北口校舎 (静岡県三島市)

2016 年 9 月 9 日

Daisuke Kiga

Gordon Research conference Origins of Life(招待講演) (国際学会)

Designing Life

Hotel Galvex, Galveston, TX, USA

2016 年 1 月 20 日

木賀大介

分子ロボティクスシンポジウム (CBI 学会第
25 回大会内) (招待講演)
生命の起源と初期進化における、情報と「知
能」の出現
タワーホール船堀
2015 年 10 月 28 日

木賀大介
総研大「生命概念の普遍化-宇宙の生命」第 5
回研究会
数理モデルに基づいて生体高分子ネットワ
ークを実装する
広島大学学士会館
2014 年 6 月 19 日

〔その他〕
ホームページ等
「生物を創る時代へ 米国で本格的な動き
も? 『合成生物学』の現在」
JST サイエンスポータル
[https://scienceportal.jst.go.jp/columns
/interview/20160719_01.html](https://scienceportal.jst.go.jp/columns/interview/20160719_01.html)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木賀大介 (Daisuke Kiga)
東京工業大学・大学院総合理工学研究科・准
教授 (H26年度-H27年度)
早稲田大学・理工学術院・教授 (H28年度)
研究者番号: 30376587

(4) 研究協力者

鮎川翔太郎 (Shotaro Ayukawa)
早稲田大学・理工学術院・次席研究員