

実験でみた遺伝子の複雑

大阪大.工.応用生物学 四方 哲也

生物はとても不思議なダイナミックスを示す。大腸の中にすむ小さな細菌である大腸菌でさえ、一定条件で培養しても突然増えたり死んだりする。大腸菌を不思議に思うのは予想しにくいダイナミックスを持つからで、それは非線形性が隠れているためと考えられる。これを元の複雑さを失わずに解析するにはどうしたらよいのだろうか。多自由度系に対して限られた測定能力では現在の所よい方法を知らない。それで、始めの段階として、複雑な運動があたりまえに“感じられる”までのその時系列等を描いてみるという立場で研究する。

<酵素の遺伝子の配列空間>

生物の中では様々な素子が複雑な相互作用をしている。我々は代表的な素子である酵素の進化に興味がある。酵素は20種類のアミノ酸から出来ていて、その配列によってその性質を変化させる。100アミノ酸からできている酵素を考えると $20^{100} = 10^{130}$ 種類の性質が考えられる。言い換えると、 10^{130} の点を持つ100次元配列空間を形成している。それに対して、天然酵素はいろいろな長さのものを含めても 10^5 程度である。それでは、天然酵素は配列空間の特異点に位置するのであろうか。

進化の過程で酵素は配列空間上を運動する。突然変異によって、その時点の酵素の位置の“近傍”の点が調べられる。自然選択説に従えば、各点の淘汰値によって酵素は空間上の尾根を進み、最適化されていく。それでは、現在の酵素はその“近傍”からみてどの程度最適化されているのだろうか。

実験に用いた酵素は、高熱菌 *B. stearothermophilus* 由来のカタラーゼ (735アミノ酸) で、弱いペルオキシダーゼ活性も持っている。この酵素に亜硝酸を用いて人工変異を加えて、配列空間上で天然型酵素の近傍にあたる変異型酵素を多く得た。ここでは、70°C 10分の熱処理でも可溶性が残る、つまり、熱安定性が0でなく、かつ生産性、熱安定性、カタラーゼ活性、ペルオキシダーゼ活性のうち一つは天然型よりも弱い55個の変異型酵素をサンプルとした結果を説明する。サンプルの変異量を知るために、7個の変異型酵素について塩基配列を調べると、13アミノ酸置換、3 frameshift が見つかった。統計処理の結果、熱安定性とカタラーゼ活性については、変異型酵素の平均は天然型の値に比べて下がっていたが、ペルオキシダーゼ活性と生産性については有意な差はなかった。天然型酵素の最適化度 (Dep) を (天然型の値 - 変異型の平均) / (変異型の不偏分散)^{0.5} と定義すると、熱安定性、カタラーゼ活性、ペルオキシダーゼ活性、生産性の順に 1.89, 1.65, 0.25, -0.13 であった。つまり、この順で最適化されていた。また、これらの値

は母集団から偶然でもとり得る程度のものであった。言い換えると、配列空間上の地形の凹凸の中におさまっていた。このことから、酵素自身の適応度に関係すると思われる上の四つの性質については、天然型酵素は配列空間上で特異点にはないと考えられる。

＜生物集団中でのダイナミックス＞

上の結果はある酵素の遺伝子がある時間（現代）で固定してみるとそれほど最適化されていない事を示している。自然選択による最適化が起こっていないのなら、生物集団中で酵素の遺伝子はどのようなダイナミックスを持つのだろうか。

生物集団中では、各生物が相互作用している。よって、生物集団を多くの非線形素子が相互作用する複雑系と考え得る。このような系の各要素間の関係や全体のダイナミックスを知ることは興味深い。現在までに、粘菌などを中心に空間構造の発生や引き込み現象などがよく解析されている。これらの多くは各要素の相対的位置が固定されている。つまり、相互作用のパターンに強い制限がある系である。我々は、相対的位置の固定がない系として、大腸菌の液体振盪培養系を用いて集団中の細胞のクラスタリングとその複雑なダイナミックスを観察した。

大腸菌は *B. pumilus* 由来の変異型 xylanase gene を導入したものを用いた。そして、30日間 0.1% 体積を毎日植え継ぎ、振盪培養を行なった。また、植え継ぎの際、一部として、集団中の一匹一匹を固体培地で生やして、コロニーの色、大きさ、xylanase の活性を測定して、その値によってグループに分けた。その結果、集団の中にいろいろなグループが、存在していることが分かった。もちろん、これは培養中の突然変異が原因となり得るが、塩基配列決定や統計処理等を行なった結果、その可能性は否定された。このことから、同じ遺伝情報を持つにも関わらず、集団内で、異なる性質へのクラスタリングがおこっていることがわかった。また、集団内で 1000 菌体当たり各グループに属する頻度の時系列を調べると、あるグループは安定しており、あるグループは複雑に振動していた。以上をまとめると、細胞間相互作用の弱いと考えられる大腸菌の液体振盪培養系でも、クラスタリングが起こり、それらは、複雑なダイナミックスを持つことがわかった。この現象は、一つの細菌をカオスをもつセルと考えそれらが培養中に相互作用しているとすると、金子（東大、教養）が開発した coupled map lattice で見られるものとよく似ている。

酵素の遺伝子の進化（集団内での固定）は競争を基本とする自然淘汰と中立説で言われる確立的浮動が現在は主流である。しかし、上の二つの観察から、決定論的浮動とも呼べる機構が働いているのではないかと考えている。