

バクテリアを用いた生物時計とパターン形成の構成的研究

岩崎秀雄(早稲田大学 電気・情報生命工学科)

Email: hideo-iwasaki@waseda.jp

ポストゲノム時代の生命システム理解では、単一遺伝子の機能解析にとどまらず、複数の分子が協調する動的で複雑な挙動を把握することが主眼となってきた。リズム(時間的周期現象)と周期的空間パターン形成は、こうした動的ダイナミクスの代表的事例であり、それらの解明が生命のシステムの理解の大きな試金石となることは論を待たない。

ここで、結合振動子系の理論によれば、振動分子の空間的配置により、振動の空間的同期、スパイラルパターン、ターゲットパターン、Turing 拡散不安定性など多様な時空間パターンを形成することができる。このことから、近藤滋やマインハルトらの先駆的業績に見られるように、生物の形態形成を実現するダイナミクスの基底に、リズムを生み出す分子ネットワークが関与する可能性が高い。私たちは、素過程の知られる遺伝子ネットワークの再構築と、時空間パターン形成を示す最も単純なモデル微生物(シアノバクテリア)での定量的・検証的実験を組み合わせ、生物の時空間ダイナミクスの基本骨格にアプローチしたいと考えている。具体的には、以下のような研究を進めており、概要を紹介したい。

A. 遺伝子・蛋白質ネットワーク振動子の構成的解析

概日リズムは個体レベル・生態学的スケールに見られる内因性の生物リズムであるが、その機構は基本的に一細胞レベルまで還元して研究することができ、時間的な周期パターンに関して最も分子レベルの研究が進んでいる対象である。

私たちは、近藤孝男教授(名大)との共同研究により、従来概日振動の基本原則とされた遺伝子転写翻訳フィードバックに基づく振動発生モデルを初めて覆し、シアノバクテリアの概日リズムが蛋白質の酵素的振動を基調とするものであることを明らかにした(1,2)。すなわち、本シンポジウムで北山氏(名大)も述べるように、適当な濃度比で3つの時計蛋白質 KaiA, KaiB, KaiC を ATP と試験管内で混合するだけで、24 時間周期の温度補償された概日リン酸化リズムを観察することができる(2)。

しかし、連続明条件下では、この概日時計はシアノバクテリア細胞中で全ゲノムにおよぶ概日転写リズムをも引き起こす。この条件では、代謝が活発になり、細胞が盛んに増殖するため *in vitro* や連続暗条件下と異なり、極めて細胞内外のノイズが高い。転写翻訳フィードバックによる二次ループが、コアの振動ループをノイズに関して安定化させる機能があるのかどうかを検証するため、現在私たちは転写翻訳ループのある条件とない条件での蛋白質振動の安定性の解析を行おうとしている。このとき、シアノバクテリアでは入出力系が複雑に張り巡らされているため、最近同定した概日時計の出力系因子 SasA, RpaA (3,4) を利用し、概日リズムを示さない細胞(大腸菌や培養細胞)でのシアノバクテリア型体内時計の再構築と入出力系のデザインを試みている。

また、松本顕博士（九大）との共同研究により、人工的なキメラ遺伝子ユニットを用いた振動ネットワークのデザインも試み、真核生物細胞では初めて人工的に振動遺伝子ネットワークを構成することに成功した。キメラ遺伝子産物の多くの性質(半減期やフィードバック強度など)は、ある程度機能ドメインへの変異導入により制御可能にしてある。

B. 多細胞性バクテリアでの時計細胞間同調とパターン形成機構の解明に向けて

シアノバクテリアの中には、糸状性シアノバクテリアと呼ばれる、事実上多細胞体勢を持つ種が存在している。中でも *Anabaena* sp. PCC 7120 は、ヘテロシストと呼ばれる細胞を分化・パターン配置する性質を示し、分子遺伝学的な解析も行えるモデル生物である (5)。多細胞性シアノバクテリアでの時計細胞のカップリングおよびパターン形成機構を理解するためのアプローチについて、preliminary な段階ではあるがアイデアと解析の現状を簡単に紹介したい。

- (1) Tomita, Nakajima, Kondo, Iwasaki (2005) "No transcription-translation feedback in circadian rhythm of KaiC phosphorylation." *Science* 307, 5707: 251-254
- (2) Nakajima, Imai, Ito, Nishiwaki, Murayama, Iwasaki, Oyama, Kondo (2005) "Reconstitution of circadian oscillation of cyanobacterial KaiC phosphorylation in vitro." *Science* 308, 5720: 414-415
- (3) Iwasaki, Williams, Kitayama, Ishiura, Golden, Kondo (2000) "A KaiC-interacting sensory histidine kinase, SasA, necessary to sustain robust circadian oscillation in cyanobacteria." *Cell* 101: 223-233
- (4) Takai, Nakajima, Oyama, Kito, Sugita, Sugita, Kondo, Iwasaki (2006) "A KaiC-associating SasA-RpaA two-component regulatory system as a major circadian timing mediator in cyanobacteria" *Proc Natl Acad Sci USA*, 103: 12109-12114
- (5) 岩崎秀雄 (2006) 「生命のリズムとパターン形成」 *バイオニクス* 9月号: 27-31