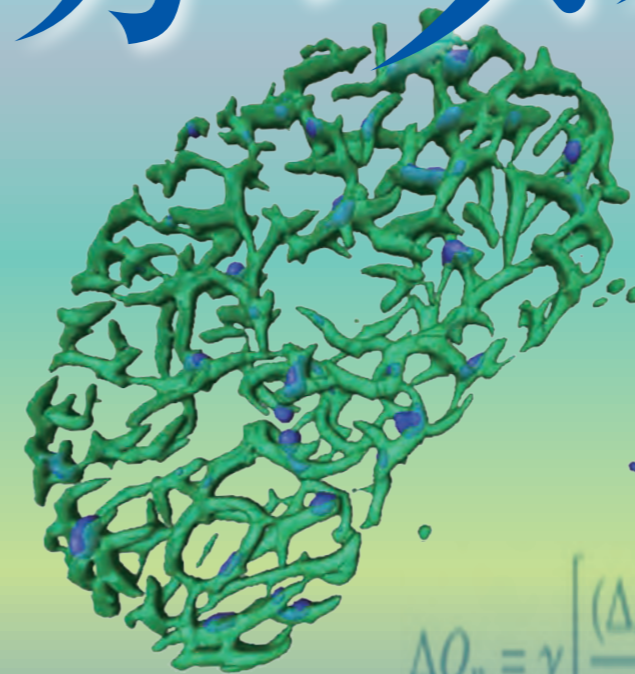


生命動態システム科学四拠点,CREST,PRESTO,QBiC 合同シンポジウム

「生命動態の 分子メカニズム と数理」

「生命動態の
分子メカニズム
と数理」



2016
3/25 [金]
3/26 [土]

シェラトンホテル広島

$$\Delta Q_n = \gamma \left[\frac{(\Delta x_n)^2}{2\Delta t} + \frac{\langle \Delta x_n \rangle_{\bar{x}_n}^2}{2\Delta t} - \frac{k_B T}{\gamma} \right] + k_B T (1 - \xi_n^2) + o(\Delta t)$$

生命動態システム科学四拠点, CREST, PRESTO, QBiC 合同シンポジウム

「生命動態の 分子メカニズム と数理」

ご挨拶

生命動態システム科学4拠点、戦略的創造研究（CREST/PRESTO）、理化学研究所 生命システム研究センター（QBiC）の合同シンポジウムを昨年引き続き、開催できることを嬉しく思います。

異分野融合研究というキーワードは、生命科学に限らず化学、物理、工学でも広く使われ始めています。細分化された専門分野の中だけでは研究の展開がだんだんと困難になるための打開策として、他分野との連携が考えられるのは必然的な流れだと思います。しかし、どのようなビジョンで異分野融合をするかに関しては千差万別であり、決まった形式があるわけではありません。研究テーマの多様性に応じた異分野融合の姿があるはずで、そこに新しい研究スタイルの多様性が生まれる可能性があると考えます。

多くの研究分野には定型的な研究のスタイルが確立されていて、特に若い研究者は、確立された定型にしたがって研究を進めることで効率的に成果を出すことができます。ただ、これが行き過ぎれば「銅鉄主義」とも呼ばれる、アプローチは同じで研究対象のみを変えるような枚挙的な研究に落ちてゆくことになり、各論のみにこだわるつまらない研究分野に墮してゆく恐れがあります。

生命動態システム科学として括られる研究分野は、数学・物理など生命科学とは異なる専門のトレーニングを受けた研究者を取り込んで、独自の問題設定と独創的なアプローチにより絶えず型を壊しながらダイナミックに展開する研究分野として期待され、実際に従来の生命科学とは異質な研究成果が蓄積されつつあります。今回のシンポジウムでも、生命動態システム科学にふさわしい多様な研究成果を共有できることを期待しています。

楯 真一
クロマチン動態数理研究拠点・拠点長・教授
広島大学大学院理学研究科
数理分子生命理学専攻

合同シンポジウム プログラム
3月25日(金)

11:30-	受付開始
12:50-12:55	開会の辞
12:55-13:00	来賓挨拶 国立研究開発法人 日本医療研究開発機構
セッション1	生命動態拠点 (東京大学) 【座長: 泰地 真弘人】
13:00-13:40	若本 祐一 (東京大学大学院総合文化研究科) 「バクテリア適応ダイナミクスの1細胞解析」
13:40-14:20	畠山 哲央 (東京大学大学院総合文化研究科) 「生物時計における周期の頑健性と位相の可塑性の互恵的關係」
セッション2	JST CREST 【座長: 栗原 裕基】
14:30-15:10	井ノ口 馨 (富山大学大学院医学薬学研究部) 「神経細胞集団の活動動態の理解に基づいた虚記憶の作出」
15:10-15:50	飯野 雄一 (東京大学大学院理学系研究科) 「線虫の全中枢神経系のイメージングによる神経活動の定量解析」
セッション3	JST さきがけ 【座長: 持田 悟】
16:00-16:40	末次 正幸 (立教大学理学部) 「バクテリア染色体複製サイクルのライブダイナミクスと再構成」
16:40-17:20	瀧ノ上 正浩 (東京工業大学大学院総合理工学研究科) 「人工細胞構築を目指した微小流体の制御」
17:20-19:00	ポスターセッション
19:00-21:00	意見交換会

合同シンポジウム プログラム
3月26日(土)

セッション4	生命動態拠点 (京都大学) 【座長: 松田 道行】
9:30-10:10	石井 信 (京都大学大学院情報学研究所) 「細胞形態制御システムに対する同定と予測」
10:10-10:50	青木 一洋 (京都大学大学院医学研究科) 「ERK 活性の細胞間伝搬による細胞集団運動の制御」
セッション5	理化学研究所 QBiC 【座長: 金子 邦彦】
11:00-11:40	泰地 真弘人 (理化学研究所 生命システム研究センター) 「分子動力学計算専用計算機 MDGRAPE-4 の開発」
11:40-12:20	谷口 雄一 (理化学研究所 生命システム研究センター) 「1細胞内オミックス動態のモデル化」
セッション6	生命動態拠点 (東京大学) 【座長: 井原 茂男】
13:30-14:10	和田 洋一郎 (東京大学アイソトープ総合センター) 「Dynamic chromatin movement in stimulated endothelial cells suggested by interactome analysis」
14:10-14:50	栗原 裕基 (東京大学大学院医学系研究科) 「血管新生における細胞動態の実験及び数理解析」
セッション7	生命動態拠点 (広島大学) 【座長: 楯 真一】
15:00-15:40	新海 創也 (広島大学クロマチン動態数理研究拠点) 「クロマチン動態データから抽出されるクロマチンドメイン構造情報」
15:40-16:20	西森 拓 (広島大学大学院理学研究科) 「アリ集団採餌-自発的制御による分業ダイナミクス」
16:20-16:30	閉会の辞

合同シンポジウム ポスター発表者リスト

P-1	新田 昌輝	京都大学大学院生命科学研究科
P-2	栗津 暁紀	広島大学大学院理学研究科 数理分子生命理学専攻
P-3	李 聖林	広島大学大学院理学研究科 数理分子生命理学専攻
P-4	伊藤 寛朗	広島大学工学部第三類
P-5	上野 勝	広島大学大学院先端物質科学研究科 分子生命機能科学専攻
P-6	上脇 隼一	広島大学クロマチン動態数理研究拠点
P-7	宇田 耀一	京都大学大学院医学研究科 医科学専攻
P-8	梅谷 実樹	東京大学大学院総合文化研究科
P-9	榎本 将人	京都大学大学院生命科学研究科 システム機能学分野
P-10	大里 直樹	東京大学 先端科学技術研究センター 生物医学と数学の融合拠点
P-11	小田 有沙	東京大学大学院総合文化研究科
P-12	加治木 泰範	広島大学クロマチン動態数理研究拠点
P-13	金子 邦彦	東京大学大学院総合文化研究科
P-14	亀田 健	広島大学理学部数学科
P-15	川崎 俊輔	京都大学大学院医学研究科
P-16	黒瀬 友太	広島大学理学部数学科
P-17	小松原 晃	京都大学大学院生命科学研究科 高次生命科学専攻
P-18	小山 慎介	統計数理研究所
P-19	近藤 洋平	京都大学大学院情報学研究科
P-20	澤井 哲	東京大学大学院総合文化研究科 相関基礎科学系
P-21	時 林	広島大学原爆放射線医科学研究所
P-22	菅原 武志	広島大学クロマチン動態数理研究拠点
P-23	Jiying Sun	広島大学原爆放射線医科学研究所
P-24	高見 知秀	工学院大学 基礎・教養教育部門 ナノ化学研究室
P-25	高宮 一徳	広島大学大学院理学研究科 数理分子生命理学専攻
P-26	谷角 怜	広島大学大学院理学研究科 数理分子生命理学専攻
P-27	富樫 祐一	広島大学クロマチン動態数理研究拠点

P-28	栃尾 尚哉	広島大学クロマチン動態数理研究拠点
P-29	中川 正基	広島大学大学院理学研究科 数理分子生命理学専攻
P-30	中田 庸一	東京大学大学院数理科学研究科 数理科学連携基盤センター iBMath
P-31	中村 伊南沙	東京大学大学院数理科学研究科 数理科学連携基盤センター iBMath
P-32	野口 弘一	広島大学工学部第三類
P-33	富山 哲央	東京大学大学院総合文化研究科
P-34	林 達也	東京大学大学院数理科学研究科
P-35	原 裕貴	山口大学大学院医学系研究科
P-36	平島 剛志	京都大学再生医科学研究所 附属ナノ再生医工学研究センター
P-37	福戸 敦彦	広島大学原爆放射線医科学研究所
P-38	Holger Flechsig	広島大学大学院理学研究科 数理分子生命理学専攻
P-39	堀越 保則	広島大学原爆放射線医科学研究所
P-40	本田 直樹	京都大学大学院医学研究科 生命動態数理研究室
P-41	間田 潤	日本大学 生産工学部
P-42	真流 玄武	京都大学大学院生命科学研究科 生体制御学研究室
P-43	Haruko Miura	Laboratory of Bioimaging and Cell Signaling, Graduate School of Biostudies, Kyoto University
P-44	持田 悟	熊本大学大学院先端機構
P-45	門田 莉歩	広島大学理学部数学科
P-46	山名 築	広島大学大学院理学研究科 数理分子生命理学専攻
P-47	山中 治	広島大学大学院理学研究科 数理分子生命理学専攻
P-48	山中 雅則	日本大学理工学部物理学科
P-49	山本 貴柁	広島大学大学院理学研究科 数理分子生命理学専攻
P-50	Jon Young	Research Center for Complex Systems Biology, Department of Basic Science, The University of Tokyo
P-51	横田 亮	東京大学生産技術研究所
P-52	脇本 舞	京都大学ウイルス研究所 分子遺伝学研究分野
P-53	Jing Wang	広島大学クロマチン動態数理研究拠点

シンポジウム概要

名 称	生命動態システム科学四拠点・CREST・PRESTO・QBiC 合同シンポジウム 「生命動態の分子メカニズムと数理」
委員長	楯 真一（広島大学大学院理学研究科）
会 期	2016年3月25日（金）～26日（土）
会 場	シェラトンホテル広島 〒732-0053 広島県広島市東区若草町 12-1 TEL：082-262-7111 http://www.sheraton-hiroshima.jp
組織委員	楯 真一（広島大学大学院理学研究科 数理分子生命理学専攻） 栃尾 尚哉（広島大学クロマチン動態数理研究拠点） 富樫 祐一（広島大学クロマチン動態数理研究拠点）
主 催	国立研究開発法人 日本医療研究開発機構 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業
共 催	JST さきがけ「細胞機能の構成的な理解と制御」研究領域 JST CREST「生命動態の理解と制御のための基盤技術の創出」研究領域 理化学研究所 生命システム研究センター(QBiC) 文部科学省 科学技術試験研究委託事業「数学・数理科学と諸科学・産業との協働による イノベーション創出のための研究促進プログラム」
お問い合わせ先	広島大学クロマチン動態数理研究拠点 事務局 〒739-8530 広島県東広島市鏡山 1-3-1 先端科学総合研究棟 402S(4) TEL/FAX：082-424-7898 E-mail：rcmcd@hiroshima-u.ac.jp http://www.mls.sci.hiroshima-u.ac.jp/chrom

参加者へのご案内

1. 参加手続きについて	<ul style="list-style-type: none">■ 受付 シェラトンホテル3階の受付にて、参加登録をお願いします。 事前参加申込をされた方は、参加登録は省略いただけます。受付で名札をお受け取りください。 会場内では必ず名札を着用していただきますよう宜しくお願いいたします。■ 意見交換会 ご参加希望の方は、受付時に参加費をお支払いください。 開催日：3月25日（金）19:00～21:00 場 所：シェラトンホテル広島3階「美波」 会 費：7,000円
2. Wi-Fi	ホテル会場内ではWi-Fiを利用することができます。 ご利用を希望される方は、受付にてお申し出ください。利用案内をご用意しております。 なお、コンピューター等の端末は各自にてご用意ください。
3. クローク	3階クロークをご利用ください。 ただし、貴重品やコンピューターなどについては破損・紛失等の責任は負いかねますので、各自でお持ちください。 利用時間：3月25日（金）11:30～21:00 3月26日（土）9:00～16:30
4. ビデオ・写真撮影	開催記録としてビデオ・写真撮影を行います。ご了承くださいませよう、お願いいたします。
5. 禁止事項	<ul style="list-style-type: none">■ 撮影・録音 講演者・座長の承諾を得ていない講演会場・ポスター会場でのカメラ・ビデオ・携帯電話等による撮影・講演音声録音は禁止します。■ 携帯電話 講演会場内での携帯電話による通話は禁止します。 会場内では電源をオフにするかマナーモードに設定し、講演中に呼び出し音が鳴らないようご注意ください。■ 禁煙 会場内・館内は禁煙です。喫煙は4階デッキをご利用ください。

座長・講演者へのご案内

1. 座長へのご案内

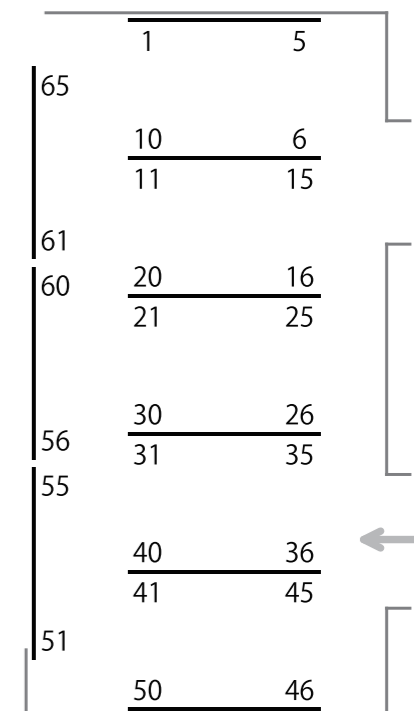
- 座長受付
セッション開始 15 分前に、講演会場内右前方の「進行席」までお越しになり、係の者に来られた旨をお伝えください。
- 進行および時間管理
座長に一任しますので、講演者の発表時間に従い、円滑な運営にご協力ください。会場でお渡りするプログラムに、各演題の発表開始予定時刻が記載されています。時間の計時は進行係が行いますので、ベルを鳴らすタイミング等をご指示ください。特段のご指示がない場合には、次のタイミングでベルを鳴らします。
ベル 1 回：発表時間終了 5 分前
ベル 2 回：発表時間終了、質疑開始
ベル 3 回：質疑終了、講演者の持ち時間終了

2. 講演者へのご案内

- 講演時間
講演時間は 30 分、質疑応答 10 分を予定しています。
- 講演方法
発表は全て液晶プロジェクターを用いた電子プレゼンテーションとなります。必ず、ご自身のノートパソコンをご持参ください。なお、音声出力には対応していません。プロジェクターとの接続は、HDMI と D-sub に対応しております。一部のノートパソコン（特に Mac）では専用の出力変換ケーブルが必要となりますので、必ず持参してください。バックアップ用として、発表データを、CD-ROM あるいは USB メモリにて持参してください。
- 講演者受付
ご自身の発表 20 分前までに、会場内の「PC 接続席」にノートパソコンをご持参の上、直接お越しください。講演前の休憩時間を利用して、動作確認の試写を行うことができます。ご希望の方は、お早めに受付までお申し出ください。
- ノートパソコンを持ち込まれる際のご注意
バッテリー切れに備え、必ず電源アダプターをご持参ください。スクリーンセーバー・省電力モード・パスワード設定は、予め解除しておいてください。

ポスター発表者へのご案内

- ポスター作成要領
ポスター作成の使用言語は、英語あるいは日本語とします。タイトル・名前・所属については、英語と日本語を併記してください。発表代表者の氏名には、左肩に○印をつけてください。ポスターパネルサイズは、縦 210cm X 横 90cm です。左上隅 20cm 四方のスペースに、演題番号を表示しています。床から 30cm 程度のスペースを空けておくことを推奨します。
- ポスター掲示
ポスター・展示会場は、3 階「水輝」です。以下のスケジュールに従い、ご自身で演題番号が表示されたパネルに貼付してください。
- ポスター貼付・撤去時間、発表・討論時間
ポスターセッションの時間は、必ずご自分のポスター前に立ち、質問・討論に応じてください。
[貼付] 3月25日(金) 11:30 ~ 17:00
[掲示期間] 3月25日(金) 11:30 ~ 3月26日(土) 13:00
[ポスターセッション] 3月25日(金) 17:20 ~ 19:00
(奇数番号 17:20 ~ 18:10, 偶数番号 18:10 ~ 19:00)
[撤去] 3月26日(土) 13:00 ~ 13:30
- 掲示場所
パネルの左上には演題番号が貼ってありますので、所定のパネルに掲示してください。ポスターの貼付に必要な画鋏は、各パネルに用意しています。ご自身の掲示場所については、ポスター・展示会場のご案内でご確認ください。
- ポスター撤去
掲示期間終了後、ご自身で撤去してください。事務局での保管・返却はいたしません。



ポスター会場案内図

○若本 祐一¹

東京大学大学院総合文化研究科・複雑系生命システム研究センター¹

細菌は様々なストレス環境に対して適応し、種をつなぐことができる。細菌の適応応答の中には、数世代程度の比較的短い時間スケールで起こる「パーシスタンス」と呼ばれるものから、適応進化のように遺伝型の変化を伴い数百世代の長い時間スケールで起こるものまで存在する。これら様々な適応進化現象の背景機構とともに、異なる時間スケールで起こる適応現象間の関係を理解することは、細菌の生存戦略と進化の理解にとって重要である。

適応現象の実験研究にとっての大きな困難は、対象とする細胞集団内で、個々の細胞レベルで起こる適応的応答と、細胞状態の差に依存した自然選択が同時に起こりうるため、細胞集団の平均的振る舞いから、実際の細胞レベルでの状態変化の性質を同定することができない点である。この問題を回避するため、我々はストレス応答時の細胞の状態変化とともに、自然選択の寄与を評価するのに必須となる系統樹情報を同時に取得可能な1細胞計測技術を開発してきた。

今回のシンポジウムでは、開発した1細胞計測技術とともに、それをを用いて明らかになったパーシスタンス現象における遺伝子発現のゆらぎの役割、および長期薬剤ストレスに対する細菌の馴化応答について報告する。

生物時計における周期の頑健性と位相の可塑性の互恵的關係

○ 島山 哲央¹, 金子 邦彦¹東京大学大学院総合文化研究科¹

近年、生命現象の頑健性が、システム生物学の分野を中心として大きな注目を浴びている。頑健性とは、生命現象のある性質を外部環境の変化に対して一定に保とうとする性質であり、環境適応に重要である。しかし、頑健性だけでは十分ではない。環境変化に対して生物は頑健であると同時に、可塑性(変わりやすさ)を持たなければ、環境変化についていけず、やはり適応できないだろう。この頑健性と可塑性という一見相反する性質を、生物が一つのシステムの中でどのように両立しているかという問題は、環境適応を議論する上で真に重要であるが、未だに明確な答えが得られていない。そこで本研究では概日時計システムに着目し、頑健性と可塑性が両立するためのメカニズムを明らかにすることを試みた。

概日時計とは約24時間周期の内因性の振動子であり、周期の温度補償性を示すことが知られている。一般に生化学反応は外部の温度によってその速度が変化するが、外部の温度のある範囲内での変化に対して、概日時計は約24時間の周期を頑健に保ち続ける。この周期の頑健性が温度補償性と呼ばれる性質である。一方で、温度変化に対して、概日時計はその位相を鋭敏に変化させることができる、つまり位相の可塑性を示す。周期の頑健性と位相の可塑性がなぜ両立するのかは1960年代から議論されてきたが、明確な答えは未だに得られていない。この理由の一つは、そもそも温度補償性のメカニズムが50年以上の間、明らかになっていなかったためである。

そこで、まずシアノバクテリアの概日時計のモデルを作成し、温度補償性の新規メカニズムを理論的に明らかにした[1]。同時に、温度変化に対してより周期が頑健であれば、同じ刺激に対してより位相は変化しやすいう、周期の頑健性と位相の可塑性の互恵的關係を発見した。驚くべき事に、同様の互恵的關係が、振動のメカニズムの全く異なる概日振動子のモデルでも見出された。そこで互恵的關係のルーツを探ったところ、システム生物学で良く知られている適応モチーフとの共通点を見出すことができた[2]。本研究は、概日時計において頑健性と可塑性の関係を理論的に明らかにした初めての研究であり、今後、生命システムにおける頑健性と可塑性の関係を議論する上で重要な一歩となるだろう。

[1] Hatakeyama TS, Kaneko K, PNAS (2012)

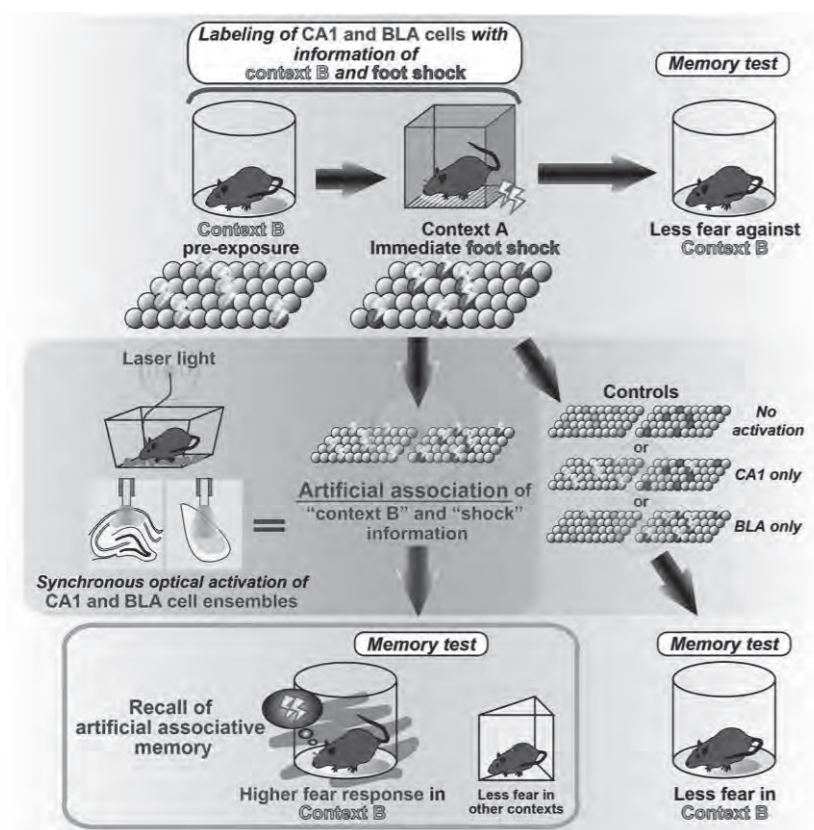
[2] Hatakeyama TS, Kaneko K, PRL (2015)

Artificial Association of Pre-Stored Information to Generate a Qualitatively New Memory

○Kaoru Inokuchi and Noriaki Ohkawa

Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, University of Toyama

Memory is thought to be stored in the brain as an ensemble of cells activated during learning. Although optical stimulation of a cell ensemble triggers the retrieval of the corresponding memory, it is unclear how the association of information occurs at the cell ensemble level. Using optogenetic stimulation without any sensory input in mice, we found that an artificial association between stored, non-related contextual and fear information was generated through the synchronous activation of distinct cell ensembles corresponding to the stored information. This artificial association shared characteristics with physiologically associated memories, such as N-methyl-D-aspartate receptor activity- and protein synthesis-dependence. These findings suggest that the association of information is achieved through the synchronous activity of distinct cell ensembles. This mechanism may underlie memory updating by incorporating novel information into pre-existing networks to form qualitatively new memories.



Memo

線虫の全中枢神経系のイメージングによる神経活動の定量解析

寺本 孝行², 徳永 旭将³, 豊島 有¹, ジャンムンソン¹, 佐藤 博文¹,
広瀬 修⁴, 岩崎 唯史⁵, 吉田 亮⁶, 石原 健², ○飯野 雄一¹

東京大学大学院理学系研究科¹、九州大学理学研究院²、九州工業大学大学院情報工学研究院³、
金沢大学理工研究域⁴、茨城大学工学部⁵、統計数理研究所モデリング研究系⁶

神経系は生命体が作り出した情報処理装置であり、神経細胞が網目状のネットワークを形成した複雑なシステムである。その情報処理機構を解明するためには系を形成する個々の神経の活動を測定することが必須であるが、これまでの手法では全体のごく一部の神経細胞の測定しかできなかった。線虫 *C. elegans* は体長約1mmの小動物であるが、個体全体の神経系の構造が明らかにされた唯一の生物である。302個の全神経細胞に名前がつけられ、それらの神経間の化学シナプスと電気シナプス(ギャップ結合)がすべて明らかになっている。体が透明なためカルシウムイメージングによる神経活動の測定にも適している。ニポウディスク共焦点顕微鏡を用い、この線虫の頭部の中枢神経系全体を3Dスタックとしてタイムラプスで観測する系(4Dイメージングシステム)を構築した。これにより、毎秒約4立体の撮影が可能となった。さらに、カルシウムレポーターを全神経の核に局在させることにより、個々の神経を分離して観察できるようになった。線虫は麻酔せずPDMS微小流路内に制約して測定を行ったが、局所的な動きがあるため、神経核の認識とトラッキングのためのアルゴリズムを複数開発した。これにより、頭部の約190個の神経細胞のほとんどを捉え、神経活動の時系列データを取得することが可能となった。

測定の結果、外部からの刺激を与えなくとも自発的に活動している神経が多数観察された。これらの活動パターンの相互相関の解析により、同期活動する神経のクラスターが複数同定された。この広範な同期を作り出す機構を探るために、各種のシナプス機能が欠損する変異体で同様の測定を行ったところ、ギャップ結合の変異体において同期活動が大幅に減少することがわかった。線虫の神経回路に多くのギャップ結合があることは知られていたが、これが多数の神経の同期活動に寄与することが示された。

線虫は学習により化学走性行動を変化させることが明らかになっている。この神経機構を明らかにするために、個別イメージングおよび4Dイメージングを行ったところ、学習により活動が変化する神経が複数みつけた。現時点での問題は神経配置の個体差が大きく観測された神経の名前付け(アノテーション)が困難な点である。特定の細胞をラベルした多数の個体の3D画像を取得して教師データとすることにより、細胞名を自動でアノテーションするアルゴリズムの開発を進めている。

細菌染色体複製サイクルのライブダイナミクスと再構成

○末次 正幸^{1,2}, 松本 健佑¹, 高田 啓¹, 辻本 寛子¹

立教大学 理学部 生命理学科¹, JSTさきがけ²

細胞の自己複製の秩序は、規則正しい細胞周期の進行によって保証されている。我々は、大腸菌や枯草菌といった細菌細胞をモデルとして、自己複製の秩序に関する研究に取り組んでいる。細菌は自己複製して増え続けるためのシンプルで原始的な機能要素・構造を有す。そのため、増殖中の細胞内の分子動態を定量的に解析したり、あるいは同定された要素を試験管内再構成することが比較的容易であり、自己複製の原理に迫る研究を展開できると考える。

自己複製にあたっては、まず染色体DNAを複製しなければならない。大腸菌は一つの環状染色体を有し、その複製開始点(*oriC*)も一つだけである。複製開始反応後、*oriC*から両方向に複製フォークが進行し、*oriC*と対極に位置する染色体領域で複製は終結する。このような「複製サイクル」の細胞内ダイナミクスは、蛍光標識した複製装置タンパク質を用いて顕微鏡観測することが可能である。さらに最近我々は、細胞内蛍光量の増減を通じて大腸菌細胞周期をリアルタイムに観測する手法を構築した。複製開始タンパク質DnaAは、その活性があたかも真核生物のCdk/サイクリンのように細胞周期変動することが知られている。またDnaAは*oriC*以外にも様々な遺伝子のプロモーター近傍に結合し、転写制御に関わることが示唆されている。そこで、このような制御プロモーターの活性について、蛍光をもちいた細胞内リアルタイムモニタリングを試みたところ、DnaA活性に応じた転写の周期変動を定量的検出するに至った。この周期変動検出系を利用した解析により、DnaAの細胞周期マスターレギュレーターとしての機能が明らかとなってきたので、紹介させていただく。

さらに我々は細菌で分かってきたシステムを試験管内に再構成して、自己複製周期そのものを試験管内に再構成できないか挑戦している。20種以上の精製タンパク質をもちいて、複製開始・フォーク進行・終結・姉妹DNA分離に至る複製サイクルの全過程を一つの反応系の中に再構成することに成功した。この再構成系では、30°Cに温めておくだけで、何度も複製サイクルが繰り返される。よって、*oriC*環状DNA分子があたかも増殖中の細胞のように指数的に増えてくる。この「複製サイクル再構成系」を基盤にして、DnaAをマスターレギュレーターとした「細胞周期的なふるまい」を構成的に創発できるのではないかと考えている。

○瀧ノ上正浩¹東京工業大学 大学院総合理工学研究科 知能システム科学専攻¹

近年、細胞のような自律的に機能を発現するシステムである「人工細胞」の構築が進んでいる^[1]。人工細胞の研究では、生体分子等を用いてボトムアップ的に細胞ライクなシステムを創ることを目指しており、分子が物理法則・化学法則的に実現できる、自律的な自己組織化システムの可能性や限界を探ることができる。実在する生細胞を細胞生物学的・生化学的に詳細に調べて、そのメカニズムを探求する分析的な手法と相補的な関係にある手法である。このような研究では、細胞サイズの微小なスケールで、反応溶液のシステムサイズや分子濃度等を正確に制御しなければならないが、そのためのマイクロ/ナノテクノロジーは未だ発展途上の段階にある。

本発表では、近年、我々のグループで実現した人工細胞構築のための微小流体の物理的な制御技術^[2-5]に関して報告する。まずは、人工細胞のための微小液滴リアクタへの分子の供給と排出をコンピュータ制御する、新規な非平衡開放系リアクタ^[2]に関して説明する。このリアクタでは、濃度振動反応を始めとした自律的な化学反応系を長期に渡って維持したり、外部から操作したりすることが可能である。次に、人工細胞構築に利用されるソフトマター（リポソーム^[3]、マイクロエマルション^[4]、ハイドロゲル^[5]、DNA 等）を操作するマイクロ流体力学技術について説明する。これらの技術では、マイクロキャピラリの先端口から突出されるマイクロ流体に関わる界面張力・せん断応力・分子拡散・重力等の物理的なパラメータによって、細胞サイズの微小な液滴のサイズや形状を制御することができる。以上のような手法は、人工細胞の構築に留まらず、微小なスケールにおける物理学・化学・生命科学の研究や開発にも応用でき、汎用性がある方法論であると考えている。

[1] Takinoue, Takeuchi, *Anal. Bioanal. Chem.* **400**, 1705 (2011).[2] Sugiura, Ito, Okuaki, Mori, Kitahata, Takinoue, *Nature Commun.* **7**, 10212 (2016).[3] Morita, Onoe, Yanagisawa, Ito, Ichikawa, Fujiwara, Saito, Takinoue, *ChemBioChem* **16**, 2029 (2015).[4] Yamashita, Morita, Sugiura, Fujiwara, Onoe, Takinoue, *J. Biosci. Bioeng.* **119**, 492 (2015).[5] Hayakawa, Onoe, Nagai, Takinoue, *Sci. Rep.* **6**, 20793 (2016).

細胞形態制御システムに対する同定と予測

○石井 信¹, 本田 直樹²

京都大学 大学院情報学研究科¹

京都大学 大学院医学研究科²

本発表では、実験と理論との融合的手法により、細胞内の形態制御システムを同定し、予測に用いようとする二つの研究について紹介する。

シグナル分子がいかに細胞走性に関わるのかについて、イメージング実験と計算論的手法(デコード法)を用いた解析[1] について紹介する。低分子量Gタンパク質であるRac1とCdc42のFRETタイムラプス画像データに基づき、これら分子の活性から細胞形態変化への写像(応答関数)を同定した。応答関数の時空間形状を見ることで、Rac1とCdc42が形態の伸展を誘導しその効果が細胞内を伝搬していく様子が分かった。また、応答関数を用いることで、分子の活性時系列から、細胞形態変化と細胞走性を予測することができる。加えて、細胞走性において、Rac1とCdc42とが異なる動作パターンの誘導に関わることを示唆された。なお、この研究は、京都大学大学院医学研究科松田道行研究室との共同研究である。

神経軸索の末端部である成長円錐は、多くの単細胞とは異なり、同一のガイダンス分子に対しても、細胞内外の状況に応じて、誘引性と忌避性という異なる細胞走性を示す点でユニークである。この二方向的な化学走性のメカニズムを明らかにするため、細胞生物学実験と計算モデル化の融合的手法を用いた。細胞内の活性化因子と不活性化因子からなる時空間モデルは、成長円錐に特異的な二方向性の化学走性を再現するのみならず、細胞内Ca²⁺濃度に依存した三方向性走性を予測し、それは実験によって検証された。また、活性化因子-不活性化因子にシグナル分子を割り付けたモデルに対し、実験データを統合するという、データ駆動型モデリングにより、活性化因子あるいは不活性化因子を抑制した際の実験結果を予測することができた。なお、この研究は、New York大学Medical SchoolのKyonsoo Hong研究室との共同研究である。

[1] Yamao, M., Naoki, H., Kunida, K., Aoki, K., Matsuda, M., & Ishii, S. (2015). Distinct predictive performance of Rac1 and Cdc42 in cell migration. *Scientific Reports*, 5, 17527. doi: 10.1038/srep17527

ERK活性の細胞間伝搬による細胞集団運動の制御

○青木一洋¹

京都大学大学院医学研究科 時空間情報イメージング拠点¹

細胞集団運動は、細胞が隣の細胞と接着しながら集団的に移動する運動様式の一つである。この細胞集団運動は、胚発生や損傷治癒、癌細胞の浸潤といったいわゆる組織の再編成を伴うようなイベントにおいて重要な役割を果たすことが知られている。近年、細胞集団運動の研究が進み、その分子機構が少しずつ明らかになってきた。しかしながら、どのようにして細胞は隣の細胞からの化学的な入力シグナルを利用して協調的に集団運動を引き起こすのかについては不明な点が多い。

本研究において、我々はERK MAPキナーゼの細胞間伝搬が細胞集団運動の方向性を決定していることを見出した。蛍光共鳴エネルギー移動FRETの原理に基づくバイオセンサーを用いて、MDCK細胞の集団運動時のERK活性を可視化した。その結果、MDCK細胞の集団運動においてERK活性の伝播が観察された。興味深いことに、MDCK細胞はERK活性の細胞間伝搬と逆方向に集団的に移動することが分かった。ERK活性の細胞間伝搬を抑制するMetalloprotease阻害剤処理により集団運動の速度が減弱したが、1細胞の運動には影響がなかった。さらに、ERK活性の細胞間伝搬を光遺伝学的により創り出すことで、細胞の集団運動を引き起こすことができた。本発表では、これらの結果について議論したい。

Memo

分子動力学計算専用計算機MDGRAPE-4の開発

○泰地 真弘人,大村 一太,大野 洋介,森本 元太郎,長谷川 亜樹

理化学研究所 生命システム研究センター(QBiC) 計算分子設計研究グループ

分子動力学シミュレーションは、物質を原子あるいは粗視化された粒子の集団として扱い、粒子の間に働く力を計算し運動方程式を解くことで、粒子の運動を時間軸に沿って追跡する計算手法である。タンパク質の動的性質・熱力学的性質を調べる方法として、生命科学における応用が進んできた。しかしながら、計算量・並列性能向上の難しさといった問題から、タンパク質の動力学を理解するために必要になるサブミリ秒以上の時間スケールをシミュレーションで実現することが困難であり、その適用範囲を狭めてきた。

我々のグループでは、この問題を解決するため、分子動力学計算専用計算機MDGRAPE-4の開発を現在進めている。近年、米国D. E. Shaw Researchで開発されたタンパク質の分子動力学計算専用計算機Antonは、高度な専用化により高い性能を達成し、ミリ秒スケールのシミュレーションを既に実現している。MDGRAPE-4では、従来のMDGRAPE-3の設計を引き継ぎつつ、Antonと同様にネットワークや汎用計算部を組み込んだ「システムオンチップ」技術を取り込み、ミリ秒級シミュレーションの実現を目指している。現在ハードウェアは完成し、ソフトウェアの開発(Gromacsの移植)を行っているところである。2016年春に稼働を開始し、その後性能向上を進める予定である。講演では開発の現状と将来展望について述べる。



図：MDGRAPE-4 全体システムの写真。全部で64ノード、512チップを有する。

1細胞内オミックス動態のモデル化

○谷口 雄一^{1,2}

理化学研究所 生命システム研究センター¹、科学技術振興機構 さきがけ研究者²

2003年にヒトゲノムの解読が完了して以降、ゲノム解読の高速化・低価格化が進むのと同時に、次のターゲットとして、より機能レベルに近いトランスクリプトーム・プロテオームの解析技術の開発が近年急速に行われている。しかしながら、ゲノム・トランスクリプトーム・プロテオームの各階層毎における生命理解が進められているものの、これらを統合して理解するための解析法・理論の構築はあまり進んでいない。従来用いられている次世代シーケンサーや質量分析などの方法では、同一細胞内のゲノム・トランスクリプトーム・プロテオームを同時に捉えたり、各反応の動的な連関性を解析したりすることができないことが原因の一つとして考えられる。このため我々は、1細胞内のゲノム・トランスクリプトーム・プロテオーム動態を同時に可視化し、これらの1細胞内での動的な連関性を網羅的に定量化する技術の開発を進めている。

我々はこれまでの研究で、ハイスループット型ライブセル蛍光イメージングシステムを基盤として、一細胞が行う遺伝子発現の動態を1分子のレベルで、かつ全遺伝子のスケールで網羅的に評価する技術を開発してきた。本法では、各遺伝子の発現と共役して蛍光タンパク質の発現を行う細胞株のコレクションに対して、1分子レベルでの蛍光測定を網羅的に適用することにより解析を行う。我々はこの技術を用いることで、モデル生物である大腸菌 (*Escherichia coli*) の1,018遺伝子に対して1分子発現動態情報(発現絶対個数、局在、ばらつき、時間変動等)の取得を行い1細胞プロテオーム・トランスクリプトーム動態のモデル化と共通法則の発見を行うことに成功している。また、当初の技術では大腸菌の測定のみが可能であったが、技術開発により真核・動物細胞での解析も可能となりつつある。

一方で我々は、遺伝子発現反応の起点であるゲノムの構造状態が、トランスクリプトーム・プロテオームの性質に与える影響性についての研究を進めている。ゲノムの構造性を全染色体に渡って解析する手法としては、染色体立体配座捕捉法 (HiC) が近年開発され、様々な生物種において解析が行われている[2]。我々は最近、本法の空間分解能を大幅に改善し、単一遺伝子座レベルでの詳細なゲノム構造を決定できるようになった。これにより、各遺伝子のコード領域上、あるいはその周辺に存在する様々なDNAループや構造クラスタを網羅的に検出し、遺伝子発現との関連性を解析することが可能となる。

本セミナーでは、これらの測定技術の概要と、それにより明らかとなった細胞個性発現のメカニズム、さらには将来の展望についてお話したいと考えている。

[1] Taniguchi et al., Science, 2010. [2] Dekker et al., Science, 2002.

Youichiro Wada

Isotope Science Center, Laboratory for Systems Biology and Medicine, Research Center for Advanced Science and Technology, The University of Tokyo, Japan

Since chronic inflammation of endothelial cell is the first stage of atherogenesis, we stimulated endothelial cells using a representative inflammatory stimulant, tumor necrosis factor-alpha (TNF α), and observed it regulates the induction and reduction of more than 500 genes in an orchestrated time course manner. To obtain a comprehensive view of a single transcription cycle caused by TNF α , we switched on transcription of five long human genes (>100 kbp) with TNF α and monitored (using microarrays, RNA fluorescence in situ hybridization, and chromatin immunoprecipitation) the appearance of nascent RNA, changes in binding of RNA polymerase II (Pol II) and two insulators (the cohesin subunit RAD21 and the CCCTC-binding factor CTCF), and modifications of histone H3. Activation triggers a wave of transcription that sweeps along the genes at approx. 3.1 kbp/min; splicing occurs co-transcriptionally, a major checkpoint acts several kbs downstream of the transcription start site to regulate polymerase transit, and Pol II tends to stall at cohesin/CTCF binding sites. Chromatin conformation capture (3C) analysis provides information on special proximity of chromatin domains, and it revealed transcription of one of the five big genes is accompanied with smaller TNF α responsive genes on the same chromosome. These results suggested that transcription of TNF α responsive genes is achieved by a single transcription complex, which provides a platform for both transcription and splicing. Chromatin interaction analysis with paired end tag sequencing (ChIA-PET) is a 3C based analysis method, and provides interactome information with higher resolution at approximately 4 kbp. Based on this assay, interaction change mediated by Pol II was observable after 30 min of stimulation, suggesting chromatin structural change take place within 30 min. In addition to topological domain structure provided by Mb scale analysis, that of kb scale analysis provides show the chromatin dynamics of a region containing a single gene. This information is useful for further mathematical analysis to elucidate the dynamics of chromatin structure in stimulated human cells.

栗原裕基^{1,4,5}, 和田洋一郎^{2,4,5}, 時弘哲治^{3,4,5}

東京大学大学院医学系研究科¹, アイソトープ総合センター², 数理科学研究科³,
生物医学と数学の融合拠点 (iBMath)⁴; CREST 科学技術振興機構⁵

血管新生は、胚発生やさまざまな生理的あるいは病的状態において、既存の血管から小血管が発芽し樹枝状に伸長する過程である。我々はこれまで、血管新生の過程での細胞動態を解析し、発芽血管を構成する内皮細胞が特定の先端細胞 (tip cell) を先頭に一定の速度で整然と伸長するのではなく、個々の細胞が速度を変え、追い越したり逆方向へ遊走したり、先端細胞も常に入れ替わりながら全体として秩序ある樹状構造を形成することを明らかにしてきた。最近我々は、マウス大動脈組織片を用いたアッセイ系の解析とともに培養内皮細胞株を用いて *in vitro* 血管新生実験モデルを構築し、内皮細胞に特徴的な細胞運動のパターンや発芽型伸長過程で変動する遺伝子群を明らかにした。本シンポジウムでは、これらの知見と細胞間の二体相互作用に基づく数理モデルによるシミュレーションを対比させながら、血管新生における細胞動態のロジックについて議論したい。

クロマチン動態データから抽出されるクロマチンドメイン構造情報

○新海 創也¹, 野崎 慎², 前島一博², 富樫 祐一¹

広島大学 クロマチン動態数理研究拠点¹

国立遺伝学研究所²

哺乳類の間期クロマチンは核内において染色体レベルではテリトリー構造を形成し、各染色体内では多数のサブMbサイズのドメイン構造を有している。そのようなドメイン構造にしたがって、遺伝子発現は主にドメイン内で高度に制御されており、と同時に、クロマチン自身はダイナミックに動いている。果たして、そのようなダイナミックに動いているクロマチンのドメイン構造とはどのようなものであろうか?この問いに答えるため、我々はクロマチン動態と構造を統一的に理解するための理論的枠組みを進展させた。粘弾性環境でフラクタル的なドメイン構造をもつ高分子モデルを考えることで、ヌクレオソーム動態がクロマチン構造に依存するサブ拡散であることを解析的に求めた。ゆえにそれは、一分子レベルのヌクレオソーム動態観測からクロマチンドメイン構造情報を抽出できることを意味する。

講演では、上記の理論的な枠組みだけでなく、生細胞に対する一分子ヌクレオソーム動態の計測実験から導かれるクロマチンドメイン構造情報の知見を含め、我々の研究が照らす生細胞のゲノム構造への物理的およびダイナミックな側面を提供する。

アリ集団採餌—自発的制御による分業ダイナミクス

○西森拓^{1,2}, 山中治¹, 栗津暁紀^{1,2}

¹広島大学理学研究科数理分子生命理学専攻

²広島大学クロマチン動態数理研究拠点

アリはハチと共通の祖先から進化し、個々の構造や振る舞いを単純化させる一方で、コロニーとしての協調行動を複雑化させ、現在地球上のほとんどの地域で繁栄を謳歌している。我々は、アリの採餌に着目し、組織的行動に関する実験と数理モデリングを行ってきた。実験では、生化学の専門家や昆虫学の専門家と協働し、トビイロケアリの採餌行動が、これまで広く知られている化学走性だけでなく視覚情報や記憶にも依拠し、これら複数の因子の精妙な組み合わせで行動決定を行っていることを明らかにしてきた[1]。また、数理モデルでは、アリの化学走性にゆらぎ(エラー)の効果を付与し、採餌効率とゆらぎの関係を調べた。その結果、ある給餌環境の変化に応じて、「最適採餌集団」が、同等のエラーをもった「一様集団」から、高いエラー率をもったアリとエラーがほとんどないアリの「2極混合集団」に鋭く転移することがわかった[2]。

本発表では、上記の実験・計算結果・理論解析の要点を報告するとともに、最近我々の研究室で開始した微小RFIDチップを使った多数個体の個別行動履歴計測の結果を紹介する[3]。具体的には、集団としての採餌ダイナミクスを分析し役割分担の非定常性を説明する。とくに、従来広く信じられてきた、日齢に応じたコロニー内採餌役割分担の漸進的変動(=「逆年功序列」: 齢をとるにつれて採餌などの外働きに出る)、という描像に関して実データを示しながら否定的な方向から検証し、採餌に関する「役割分担表」は時間に応じて大きくスイッチングすることを示す。最後に、自己駆動する粒子系のダイナミクスと、生き物集団のダイナミクスの機能的側面がいかに関係するかの議論を試みる。

参考文献

Y.Ogihara, et. al, “Switching of Primarily Relied Information by Ants; A Combinatorial Study of Experiment and Modeling”, in *Mathematical Approaches to Biological Systems: Networks, Oscillations and Collective Motions*, Springer(2015)

H.Nishimori et.al., “Variation of Error Strategy of ants”, Proc.of AROB 20th (The Twentieth International Symposium on Artificial Life and Robotics), 879-882(2015)

O.Yamanaka and H.Nishimori, “Activity Statistics of Foraging Ants”, Proceedings of SWARM2015, Kyoto (2015)

The atypical cadherin Dachsous-dependent mechanism of directing collective cell migration

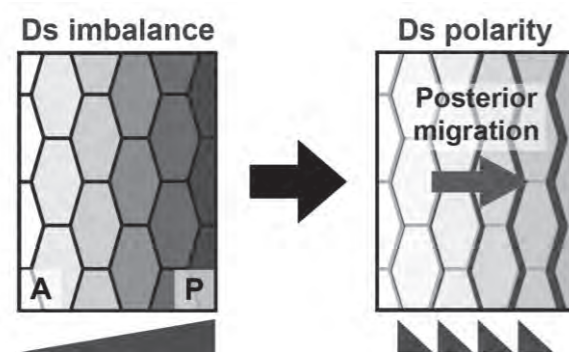
集団的細胞移動の方向を制御する非典型的カドヘリン Dachsous の機能解析

○Masaki Arata¹, Kaoru Sugimura², Tadashi Uemura¹

¹ Graduate School of Biostudies, Kyoto University

² Institute for Integrated Cell-Material Sciences (WPI-iCeMS), Kyoto University

Organogenesis depends on collective cell migration along body axes. Soluble ligand-receptor complexes often play central roles to guide cells along gradients of chemoattractants. In contrast to such mechanisms, it has been known that direct contacts between migrating cells also conduct directional migration. An atypical cadherin Dachsous (Ds) is proposed to control collective migration such as in the context of valve morphogenesis during human heart development [1]. However, the mechanism underlying how Ds orchestrates the migration remains elusive. We have been studying migration of *Drosophila* larval epidermal cells (LECs) along the anterior-posterior (A-P) axis [2] as a model system. We found that Ds amounts between adjacent LECs changed along the axis and that Ds was enriched at the A-P cell boundaries of migrating LECs. Furthermore, we showed that imbalance of the Ds amount between LECs was sufficient to polarize the localization of Ds at cell boundaries and that polarized localization of Ds was required for the unidirectional migration of LECs. It has been reported that Ds binds to another atypical cadherin Fat in a heterophilic fashion at cell boundaries and that an unconventional myosin Dachs binds to the intracellular domain of Ds. Consistent with these molecular interactions, both Fat and Dachs showed biased distribution at A-P cell boundaries, which was dependent on Ds, and they were also required for the directional migration. Altogether, we propose that tissue-wide Ds imbalance between migrating cells provides a directional cue and that it is decoded by Ds-Ft mediated direct cell-cell contacts.



[1] Durst R, Sauls K, Peal DS, et al. Mutations in DCHS1 cause mitral valve prolapse. *Nature*. 2015.

doi:10.1038/nature14670.

[2] Bischoff M. Lamellipodia-based migrations of larval epithelial cells are required for normal closure of the adult epidermis of *Drosophila*. *Dev Biol*. 2012;363(1):179–190. doi:10.1016/j.ydbio.2011.12.033

Nuclear dynamical deformation induced hetero- and euchromatin positioning

栗津暁紀^{1,2}

広島大学大学院理学研究科¹

広島大学核内クロマチンライブダイナミックスの数理研究拠点²

We studied the role of active deformation dynamics in cell nuclei in chromatin positioning. Model chains containing two types of regions, with high (euchromatic) or low (heterochromatic) mobility, were confined in a pulsating container simulating a nucleus showing dynamic deformations. Brownian dynamic simulations show that the positioning of low mobility regions changes from sites near the periphery to the center if the affinity between these regions and the container periphery disappears. The former and latter positionings are similar to the “conventional” and “inverted” chromatin positionings in nuclei of normal differentiated cells and cells lacking Lamin-related proteins. Additionally, nuclear dynamical deformation played essential roles in “inverted” chromatin positioning.

[1] A. Awazu, Phys. Rev. E 92, (2015) 032709

細胞の幾何学性質に基づく分子のパターン形成と細胞の運命決定における
 新たな提案: Lateral Inhibition-Induced Pattern Formation Controlled by
 the Size and Geometry of the Cell

李 聖林¹(イ セイリン, S. Seirin Lee)

広島大学大学院理学研究科¹
 数理分子生命理学専攻

Pattern formation in development biology is one of the fundamental processes by which cells change their functions. It is based on the communication of cells via intra- and intercellular dynamics of biochemicals. Thus, the cell is directly involved in the process of biochemical interactions. The recent experimental observations also suggest that a change in the physical conditions of cell-to-cell contact can result in a change of cell fate and tissue patterning in lateral inhibition system. However, many of theoretical approaches in biochemical pattern formation have usually neglected the role of the cell or have simplified the process without considering the details of environment in which the biochemicals occur.

Here we suggest a novel modeling method by which biochemical dynamics can be directly observed with explicitly expressed cell structure and geometry in higher dimensions. We studied how the physical characteristic of cell such as cell geometry or size influences the pattern formation in a multi-cellular system. Using the new modeling method, we reconsider pattern formation by lateral inhibition of the Notch-Delta signaling pathway and suggest a novel mechanism for symmetry breaking and cell asymmetry. We show that cell volume can critically influence cell fate determination and pattern formation at the tissue level, and the surface area of the cell-to-cell contact can directly affect the spatial range of patterning.

セントロメア・テロメア動態のグルコース濃度依存性の解析

○伊藤寛朗¹、鈴木沙弥香²、楯真一³、菅原武志⁴、上野勝^{4,5}

広島大学工学部第三類¹
 広島大学理学部化学科²
 広島大学大学院理学研究科数理分子生命理学専攻³
 広島大学クロマチン動態数理研究拠点⁴
 広島大学大学院先端物質科学研究科分子生命機能科学専攻⁵

糖尿病は高血糖(0.2%以上)が細胞に障害を引き起こすことで発症するが、高血糖が細胞に及ぼす障害については十分に解明されていない。そこで我々はモデル生物として分裂酵母に着目した。分裂酵母はヒト血液中のグルコース濃度(0.08%前後)よりはるかに高いグルコース濃度で生育することから、高グルコース耐性を持つと言える。この耐性の機構が解明できれば糖尿病の予防や治療に応用できる。本研究は分裂酵母において、生細胞蛍光イメージングを用いてグルコース濃度0.04%~10%における染色体挙動の違いを解析することで、低グルコースまたは高グルコースで特異的に起こる生命現象の解明を目的とする。

染色体は細胞核の中で規則性のある配置をとると考えられている。分裂酵母では、セントロメアは核膜の外層にあるスピンドル極体(SPB)の近傍にクラスターし、テロメアは核膜上にクラスターしている。スピンドル極体(SPB)は細胞軸に沿って往復運動することが知られている[1]。我々は、分裂酵母のセントロメア、テロメア、核小体を蛍光染色した株を用いて顕微鏡観察を行った。セントロメアはSPBにSid4-GFPを発現させることで染色し、核小体はGar2-mCherryを発現させることで染色した。テロメアは、テロメア付近にあるsod2近傍にlacO配列を挿入し、lacO/lacI-GFP法により染色した。各輝点(Sid4-GFP, sod2-GFP, Gar2-mCherry)の3次元座標を数値化し、平均二乗変位(Mean Square Displacement: MSD)を算出することで、各輝点の動態を定量化した。

高グルコース(10%)、通常グルコース(3%)、および低グルコース(0.04%)で観察を行ったところ、SPB(セントロメア)と核小体間のMSDがグルコース濃度に比例して上昇していた。このことから、SPB(セントロメア)の運動が細胞外グルコース濃度に依存していることが示唆された。

○上野勝^{1,2}、田中大樹¹、南結香子¹、Hossain Mohammad Shamim¹¹広大院先端・分子生命²核内クロマチン・ライブダイナミクスの数理研究拠点

ヒトの染色体は線状であるが、ある種のがんでは高い頻度(異型脂肪腫様腫瘍で85%)で環状染色体が見つかる(Trombettaら, Genes. Chromosomes. Cancer. 2009. p993)。また先天的に環状染色体を持つ遺伝病患者は、精神遅延や発達異常がみられるだけでなく、環状染色体は不安定で環状染色体を失うとがんのリスクが上がることも報告されている(Zirnら, Clin. Genet. 2012. p82)。しかし、環状染色体が線状染色体とどのような点で違うのかや、環状染色体がどのように維持されているのかなどは、十分にはわかっていない。

分裂酵母のテロメア結合蛋白質Pot1は、テロメラーゼのリクルートとテロメアの保護の両方に必要である。pot1⁺を破壊するとテロメラーゼによるテロメア伸長ができなくなると同時に、テロメア末端が分解される。その後、染色体内で末端融合が起こった環状染色体を持った株が生き残る。しかしこの過程にどのような因子が関係するのかは、十分には解明されていない。

今回は、DNAダメージチェックポイントの活性化に必要な9-1-1複合体の一つである rad9⁺の破壊が pot1⁺の破壊と合成致死になることを発見した。一方、DNAダメージチェックポイントの上流で中心的な機能を持つ rad3 と pot1 との二重破壊株が合成致死にならないことから(Wang ら, Mol. Cell. 2008, p463)、rad9 pot1 二重破壊株が合成致死になる原因は、DNAダメージチェックポイント機能の欠損によるものではなく、Rad9 のDNAダメージチェックポイント以外の機能の欠損によることが予想される。

rad9 pot1 二重破壊株の合成致死の機構を解明するために、合成致死を抑圧する変異株の探索を行った結果、致死を抑圧する変異株を二種類取得した。一方の株の染色体は環状化しており、もう一方の株の染色体は線状であった。現在はこれらの変異株の変異箇所の同定を行っており、本発表ではこれらの結果について紹介したい。

○上脇 隼一^{1,2}、青木 大将²、梅原 崇史^{3,4}、横山 茂之^{3,5}、
栃尾 尚哉^{1,2}、楯 真一^{1,2}

1. 広島大学クロマチン動態数理研究拠点(RcMcD),

2. 広島大学・数理分子

3. 理化学研究所 生命分子システム基盤研究領域

4. 理化学研究所 ライフサイエンス技術基盤研究センター

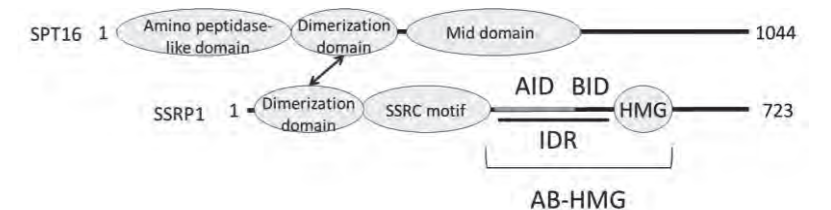
5. 理化学研究所 横山構造生物学研究室

FACT (Facilitate Chromatin Transcription) はヌクレオソームからヒストンH2A/H2Bの脱着を行うことで核内の転写,複製,修復を促進している。FACTはSPT16とSSRP1のヘテロ二量体であり、SPT16はH2A/H2B,SSRP1はDNAと結合する。SSRP1にはDNA結合に重要であるHMG box (HMG)とそのN末端側に長い天然変性領域 (IDR) が存在する。このIDRは酸性残基に富んだ酸性ID (AID)と塩基性残基に富んだ塩基性ID (BID)に分かれている(図)。AIDには生体内でCKIIによりリン酸化されるSer/Thrが10か所あり、リン酸化度に応じてヌクレオソームとの結合能がsigmoidalに変化する超感度応答性を示すことを明らかにしている¹。また、酸性領域と塩基性領域に分けたフラグメントを用いたNMR解析により、AIDがリン酸化されるとDNA結合領域との相互作用領域が拡大し、DNA相互作用領域を覆った安定な複合体を形成することを明らかにしている²。

FACTのリン酸化依存的なヌクレオソーム結合メカニズムをさらに詳しく解析するため、プロテインライゲーションを利用した部分同位体標識試料を作製し、リン酸化の有無による構造変化を調べた。また、リン酸化・脱リン酸化の過程においてAID領域のSerには序列があることを発見した。さらに詳細なFACTのDNA結合様式を調べるため、AID-BID-HMGの様々なフラグメントを作成し、直鎖DNAや再構成ヌクレオソームを用いて相互作用実験を行った。発表ではFACTのリン酸化依存的な構造変化とヌクレオソーム結合様式との関係を議論する。

図

SPT16とSSRP1の模式図

(1) Tsunaka, Y., Toga, J., Yamaguchi, H., Tate, S., Hirose, S., and Morikawa, K., *J Biol Chem* **284**, 24610-24621 (2009)(2) Hashimoto, M., Kodera, N., Tsunaka, Y., Oda, M., Tanimoto, M., Ando, T., Morikawa, K., and Tate, S., *Biophysical Journal* **104**, 2222-2234 (2013).

○宇田 耀一¹, 松田 道行^{1,2}, 青木 一洋³

京都大学大学院医学研究科 病態生物医学¹
 京都大学大学院生命科学研究所 生体制御学²
 京都大学大学院医学研究科 時空間情報イメージング拠点³

複雑な細胞内シグナル伝達制御を理解するには細胞内シグナル伝達を「急速」かつ「可逆的」に制御するシステムが不可欠だと考えられ、シグナル伝達システムの制御ツールの開発が進んでいる。光によって二量体化を誘導する「光誘導性二量体化 (Light-induced dimerization, LID)」システムはその有力な候補の一つである。現在まで報告されているLIDシステムは、タンパク質間相互作用の制御に紫外線もしくは青色の光を使用するものが多い。今回我々が注目したPhytochrome B (PhyB) - Phytochrome Interaction Factor (PIF) 系は現在報告されているLIDシステムにおいて赤色光によって二量体化を制御できる唯一の系であり、青および緑色の蛍光タンパク質と競合しないことが利点としてあげられる。さらに、この系は遠赤色光をあてることでPhyBとPIFの結合を急速に解離させることができる。しかしながら、PhyB-PIF系は補因子として外部から光合成関連集光色素Phycocyanobilin (PCB) の添加が必要であり、PhyB-PIF系はマウスなどの固体内で適用することができなかった。

我々は哺乳動物細胞内におけるPCB合成経路の再構成と、それに基づいた外部からの添加が不要なPhyB-PIF系によるLIDシステムの開発を目的として研究を行った。PCBは植物細胞内においてヘムを基質として合成されることがわかっている。そこで我々はPCB合成反応を制御する酵素群を哺乳動物細胞に発現させ、哺乳動物細胞内におけるPCB合成に成功した。また、PCBの代謝に関わるBiliverdin Reductase A遺伝子をノックアウトすることでPCB量が顕著に増加することを明らかにした。さらに、PhyBとPIFの組み合わせを検討し、外部からのPCB添加に依存しないLIDシステムの最適化を行った。我々が開発したPCBの細胞内合成法はPhyB-PIF系によるLIDシステムを完全に遺伝子にコードされたツールにする重要な知見であり、赤色光を用いた光遺伝学の進展に寄与することが期待される。本発表ではこれらの進捗状況について報告する。

梅谷実樹^{1,2}, 若本祐一³, 古澤力²

東京大学 大学院総合文化研究科¹
 理化学研究所 生命システム研究センター²
 東京大学 複雑系生命システム研究センター³

増殖を抑制するストレス環境に対して生物が適応するためには、集団内に表現型多様性があることが重要と考えられている。表現型多様性は遺伝子型の違いに起因するとは限らず、遺伝的に均一なクローン集団内にも観察される。実際、抗生物質に対するバクテリアの適応では、成長状態や遺伝子発現に見られる細胞の非遺伝的表現型多様性の重要性が明らかにされている [1, 2]。非遺伝的表現型多様性は、遺伝子型差に伴う多様性と異なり、環境条件の違いに応じて、そのばらつきの大きさや各表現型の引き継がれやすさなどの性質が大きく変化しうる。したがって、環境条件の違いにより表現型多様性の性質がどのように変化し、その結果として適応の挙動がどう変化するかを明らかにすることは、遺伝子型の変化を伴わない適応現象を理解する上で重要な課題である。

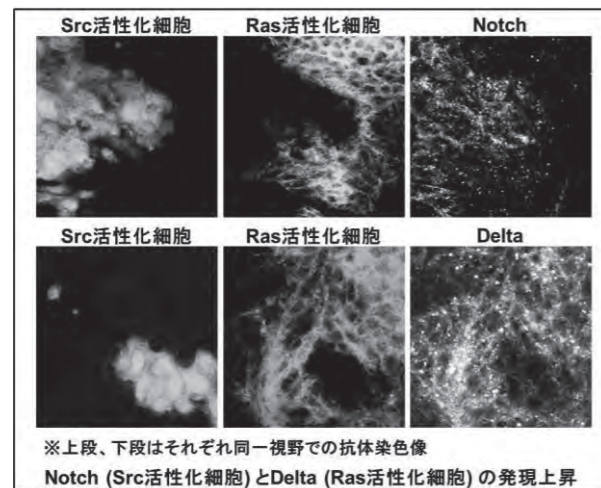
そこで我々は、大腸菌のクローン集団に抗生物質カナマイシンを様々な濃度で投与し、その後の振る舞いについて、寒天培地を用いて1細胞タイムラプス観察を行った。その結果、最小増殖阻止濃度以下の薬剤濃度環境、つまり集団全体としては細胞数が増加している環境であっても、集団の内部に成長を継続する細胞と停止する細胞が共存することを確認した。この成長停止細胞の割合は薬剤濃度を上げると増加した。1細胞から生じた小集団の成長率を、顕微鏡下で観察される平面的なコロニー面積の増加率として求めると、薬剤の濃度を上げ、最小増殖阻止濃度に近づくにつれて、コロニー間の成長速度のばらつきが大きくなることが分かった。さらに、カナマイシン添加後、数時間の細胞の増殖過程を追跡して細胞系譜を作製し、そこから分裂の姉妹間相関を調べたところ、最小増殖阻止濃度に近づくとき、姉妹細胞間で分裂継続／分裂停止の運命決定に関して相関が強くなることが明らかになった。この結果は、最小増殖阻止濃度付近では、分裂・非分裂という分裂運命の細胞系列依存性が強くなることを示唆している。現在、このカナマイシンの投与によって発生する細胞系列依存性の経時変化を調査するため、タイムラプス観察中に環境を変化させることが可能なマイクロ流体デバイスを用いた観察に取り組んでいる。その結果も併せて報告したい。

[1] N. Q. Balaban, J. Merrin, R. Chait, L. Kowalik, S. Leibler, *Science* **305**, 1622 (2004).

[2] Y. Wakamoto, N. Dhar, R. Chait, K. Schneider, F. Signorino-Gelo, S. Leibler, J. D. McKinney, *Science* **339**, 91 (2013).

○榎本 将人¹, 竹本 大策¹, 井垣 達吏^{1,2}¹京都大学・生命科学研究所・システム機能学分野²JST, さきがけ

近年、がん組織の多くはポリクローナルな起源をもつ細胞集団で構成されていることが分かってきた。このようながん組織を構成するヘテロな細胞集団は互いに相互作用することでがん進展を促していると考えられるが、その分子機構はいまだ不明な点が多い。そこで我々はショウジョウバエ上皮をモデルとして、がん遺伝子Rasを活性化した細胞集団と相互作用することで腫瘍形成・悪性能を誘発するがん遺伝子をスクリーニングした。その結果、ショウジョウバエ複眼原基の上皮組織においてRas活性化細胞クローンとSrc活性化細胞クローンが近接すると互いにその性質を変化させて隣接組織へと浸潤・転移能を獲得することがわかった。そのメカニズムを遺伝学的に解析した結果、Src活性化細胞ではNotchの発現が亢進し、一方のRas活性化細胞ではNotchのリガンドであるDeltaの発現が亢進しており(図)、これによってSrc活性化細胞で活性化したNotchシグナル経路がSrc活性化細胞に腫瘍悪性能を誘発したことがわかった。さらに、Notchシグナルは炎症性サイトカインUnpaired (Upd; IL-6ホモログ) の発現を誘導し、それによって細胞非自律的にJAK-STAT経路を活性化することでRas活性化細胞クローンの浸潤・転移能獲得に寄与することが分かった。これらの知見は、腫瘍組織内の隣接細胞間でSrc活性とRas活性の不均一性が生じると互いの細胞集団は相互作用を介したNotchシグナルの活性化を引き起こすことで相利共生の悪性化腫瘍へと進展していくことを示唆している。



大里直樹

東京大学・先端科学技術研究センター

生物医学と数学の融合拠点 (iBMath)

マウス完全長cDNAプロジェクトでは、胚性幹細胞(ES細胞)を含む、マウスの様々な細胞の全遺伝子(約3万~6万種類)の発現量を調べるために、EST(Expressed Sequence Tag)や完全長cDNA 配列(遺伝子配列)を実験により収集し、データベースとして公開した。この全遺伝子発現情報データベースが、マウスiPS細胞の作製に必要な転写因子(遺伝子発現を制御するタンパク質および遺伝子で約1800種類存在する)の候補の絞り込みに使われ、実験の手間を減らし、iPS細胞の発明に大きく貢献した。さらにiPS細胞が形成される仕組みを理解し、iPS細胞の作製効率を高めたり、遺伝子発現制御や細胞分化のメカニズムを理解し、原理を明らかにするためには、遺伝子の転写標的遺伝子及びそのカスケード解析を進める必要がある。

遺伝子転写カスケードの網羅的な予測は困難であったが、オープンクロマチン領域と転写因子結合配列を用いた転写カスケード予測が報告された。しかし、遺伝子から遠位のエンハンサー領域を含まず、転写因子結合配列の数が少ない条件のため、予測結果に含まれない転写カスケードが多数存在する。本研究ではエンハンサー領域を含め、ヒト・マウスの転写標的遺伝子・カスケード予測の方法・メカニズムや条件を検討し、オープンクロマチン領域・ヒストン修飾、クロマチン相互作用予測、遺伝子発現量、転写標的遺伝子の機能の偏り等の情報をベイズ統計学により統合し、転写カスケードを確率的に柔軟に予測できる手法を開発することを目指す。データベースとして公開し、転写制御や細胞分化、遺伝子機能、疾患メカニズムの解明、疾患治療標的の探索等の研究に貢献すると期待される。

○小田有沙¹, 畠山哲央¹, 金子邦彦¹, 太田邦史^{1,2}東京大学 大学院総合文化研究科¹
東京大学 理学系研究科²

生物が周囲の環境の変化にあわせて適応することは、生き延びてゆくためには必須である。このため生物には外部の環境変化を認識し柔軟に対応するシステムが備わっている。細胞が環境変動を察知すると、ストレスに対処するための遺伝子発現がダイナミックに制御され、細胞内の環境がよりベストな状態に調整される。この際、細胞内では転写因子による制御やエピジェネティックな制御によって遺伝子発現が調節をうける。近年、これらの因子に加え、非コードDNA領域や多種多様な非コードRNA(lncRNA)も分子レベルで遺伝子の発現制御に重要な役割を果たす例が次々と報告されている。

モデル生物の分裂酵母も例外でなく、エネルギー源となるグルコースの飢餓条件下で糖新生遺伝子 *fbp1* は上流域から転写される複数のlncRNA依存的に誘導される。このlncRNAは、グルコース飢餓を契機に段階的に転写開始点が下流へと移行し、これに伴い、プロモーター領域のクロマチン再編成が生じ、遺伝子の大規模な活性化に至る。一方、*fbp1* 領域では、グルコースが豊富な条件下ではセンスのRNAと拮抗するようにantisense lncRNAが伝写される。本研究では、この過程に関して、センス・アンチセンス lncRNA依存で来な発現制御モデルを作成した。この過程に関して、環境変動に対する生物の適応的な意義も含めて議論したい。

○加治木泰範¹, 梶尾尚哉¹, 上脇隼一^{1,2}, 楯真一^{1,2}, 灰野岳晴^{1,3}広島大学クロマチン動態数理研究拠点¹
広島大学大学院理学研究科数理分子生命理学専攻²
広島大学大学院理学研究科化学専攻³

【目的】水溶性ホスト分子であるパラスホナトカリックス[4]アレーン1は、リジンの側鎖と包接構造を形成し、認識することが知られている (Beshara et al. 2010; Fig. 1)。この1の特徴から、カチオン性アミノ酸を豊富に有するヒストンタンパク質のヒストンテール部位を標的とした分子プローブとしての応用が期待され、いくつかの研究が行われてきた。一方で、これまでは1とアミノ酸または短いペプチド構造との相互作用解析しか行われておらず、実際のヒストンタンパク質またはヒストンテール構造に対する会合挙動に関しては明らかではなかった。そこで本研究では、1の構造を含む2種類のホスト分子2及び3を合成し (Fig. 1)、5種類の長鎖ヒストンH3テールペプチド (H3, H3K9me3, H3K9ac, H3R8me2a, H3R8me2s; Fig 2) に対する結合能の評価を行った。

【結果】2及び3と各H3ペプチドの会合挙動解析のためにITC測定を行った。その結果、すべての組み合わせにおいて1:1の会合比であった。また、3は2と比較して約3倍強い会合能を示した。後発的修飾による会合能への影響はほとんどなかった。エンタルピー及びエントロピーはすべて負の変化を示したことから、これらの会合系はすべてエンタルピー駆動型であった。続いて、¹H-¹⁵N HSQC測定によるNMR滴定実験を行い、結合様式の評価を行った。その結果、2, 3のどちらの場合もN末端側の複数のアミノ酸残基において大きな化学シフト変化が見られた。また、¹⁵N-¹H NOE測定の結果から、2と混合時にペプチド構造がより固定化されていることがわかった。以上の結果から、2及び3は特定の残基を認識するのではなく、複数のリジン及びアルギニンと相互作用することで、H3ペプチドと1:1のクラスター構造を形成していることが示唆された。3は同一分子内に2つのカリックスアレーン構造を有するため、一方が2と同様のクラスター構造を形成した後、もう一方がクラスター形成に関与していない残基と相互作用することでより強い会合を示したと考えられる。

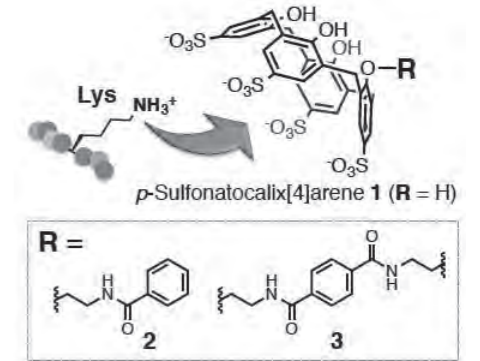


Fig. 1 ホスト分子の構造



Fig. 2 ヒストン H3 (1-38) のアミノ酸配列及び後発的修飾構造

Kunihiko Kaneko¹, Jumpei Yamagishi², Nen Saito¹¹ Research Center for Complex Systems Biology, University of Tokyo² College of Arts and Sciences, University of Tokyo

Life systems generally consist of different levels with hierarchy, from molecules, cells, to organisms. States at each level change dynamically and evolve in time, while the time scales are also hierarchical, ranging from phenotypic, to epigenetic, and to genetic changes. We discuss evolutionary consequence of consistency between different levels and time scales. In particular, we discuss a consequence of resource limitation: It leads to diversification in cellular states and symbiotic relationship among them, which may explain the origin of multicellularity. Some other consequence of resource limitation will be discussed.

Kamimura A., and Kaneko K., <http://arxiv.org/abs/1507.08742>Furusawa C. and Kaneko K., J. Roy. Soc. Interface 12 (2015) 20150482 <http://rsif.royalsocietypublishing.org/content/12/109/20150482>Yamagishi J., Saito N., and Kaneko K., <http://arxiv.org/abs/1512.08085>○ 亀田健¹, 勇修平¹, 平尾耕大¹, 西森拓^{1,2}, 坂本尚昭^{1,2}, 栗津暁紀^{1,2}広島大院理¹クロマチン動態数理研究拠点(RcMcD)²

DNA には生物の遺伝情報が塩基配列を用いてコードされており、転写・翻訳の過程を経てタンパク質が合成される。しかし近年、DNA の役割はそれだけではないとされている。実際に、高等真核生物においては遺伝子をコード領域している領域はゲノム全体で数%と極めて少なく、遺伝子をコードしていないが特有の機能を持って遺伝子発現を制御する領域や、機能未知の領域がゲノム中の大部分を占めている。機能を持つ領域の例として、プロモーターが挙げられる。プロモーターとは転写開始点に相当する、遺伝子コード領域の直前に位置する領域である。このプロモーターの中には特異的に柔軟な領域が存在し、その柔軟性が機能と関係するのではないかと考えられている[1]。また、遺伝子発現と環境応答にも相関関係も存在し、プロモーターの種類や生物種によってその相関関係が異なることも知られている[2]。更にDNAの物理的性質の変化、特に塩基配列に依存して定まる構造の違いによっても異なる運動性を示し、それが機能と相関することも明らかにされている[3]。

そこで本研究では、DNA の粗視化モデルを用いて、多数の真核生物のプロモーターの力学的性質を解析することで、プロモーターの物理的性質と遺伝子発現やその揺らぎとの関係性を考察した。具体的にはDNA の塩基配列に依存する力学的性質を持つモデル[3]を、分子のエネルギー最小の構造付近の運動性を理論的に解析する手法である基準振動解析を用いて、プロモーターの物理的揺らぎと機能的揺らぎの関係性を解析した。真核生物のプロモーターの配列はEPD (EUKARYOTIC PROMOTER DATABASE)[4]から引用した。特にヒトのプロモーターのうち、TATA, Initiator, CCAAT, GC motif, CpG Island の有無、計32種類について網羅的に解析を行い、各性質について統計的に機能との関係性の推定を行った。

[1]Y. Fukue, et al.,(2007) Nucleic Acids res.,32:5834-5840

[2]K. Hirao, et al.,(2015) Journal of Theoretical Biology 387.,13-22

[3]S. Isami, et al.,(2015) Plos ONE 10: e0143760

[4] <http://epd.vital-it.ch>

○川崎俊輔^{1,2}、齊藤博英²

¹京都大学大学院医学研究科、²京都大学iPS細胞研究所

標的細胞でのみ機能する人工遺伝子発現制御システムは、生命工学、医療応用において有用なツールとなりうる。細胞の種類、状態は、主にタンパク質によって決定されている。従って、ヒト細胞内のタンパク質を検知して、遺伝子発現を制御できる仕組みを開発することが重要である。

mRNAスイッチはmRNAの5'UTRに特定のタンパク質と結合するRNA (アプタマー) 領域を持つ遺伝子スイッチである。このスイッチはmRNA上のアプタマーにタンパク質が結合することで、自身の翻訳を抑制する。原理的には、任意のタンパク質と結合するアプタマーを組み込むことで、望んだタンパク質を検知して翻訳を抑制するmRNAスイッチが作製できる。しかし、これまでに作製されたmRNAスイッチでは、ヒト内在性タンパク質を検知できていない。そこで、人工mRNAスイッチの開発には、新たな設計原理が必要である。

我々は、mRNAに組み込むアプタマー配列を改変することで、ヒト内在性タンパク質を検出できる人工mRNAスイッチの開発に成功した。我々の作製したmRNAスイッチは、スプライシング関連タンパク質と幹細胞マーカータンパク質に応答し、目的遺伝子の発現を抑制できる。また、その抑制効率は検知するタンパク質の発現量依存的であることも観察された。さらにこれらのスイッチは、内在のタンパク質発現レベルで機能し、フローサイトメトリーによりタンパク質の発現量が異なる2種類の細胞を識別することができた。

これらの結果は、人工mRNAスイッチの新たな設計方法を提供する。我々の設計方法を用いることで、任意のタンパク質に応答するmRNAスイッチが作製でき、生きた細胞内における目的タンパク質の発現量測定が期待できる。

○黒瀬 友太¹、竹本 あゆみ¹、西森 拓^{1,2}、坂本 尚昭^{1,2}、粟津 暁紀^{1,2}

広島大学 大学院 理学研究科¹

広島大学 クロマチン動態数理研究拠点 (RcMcD)²

ヒトを含む多くの多細胞生物の外形は、左右相称である。しかし身体の内部の臓器や器官は、左右非相称な形態を示し、また左右非相称に配置されている。この左右非相称性制御している機構は、大きく分けて繊毛による機構とH⁺/K⁺ ATPase イオンポンプと呼ばれる膜タンパク質による機構が存在することが知られている。([1], [2])いずれの機構に依るかは生物種毎に異なり、そのメカニズムは実に多様である。そこでヒトを含む新口動物において最も早期に分岐したと言われている、棘皮動物であるバフンウニにおける左右非相称性制御機構を調べることで、新口動物の左右非相称性制御機構の起源を考察する。

バフンウニの左右非相称性を示す大きな特徴として、成体原基形成がある。受精後約3日後の4腕プルテウス幼生になると、原腸の両側に一对の体腔囊が左右相称に形成される。しかし、受精後約1ヶ月の8腕プルテウス幼生になると右側の体腔囊は退縮し、左側の体腔囊を中心として将来ウニの成体になる成体原基が形成される。この左右非相称な形態形成は、Nodal などの左右決定遺伝子が左右非相称に発現することで引き起こされる。しかし、繊毛とH⁺/K⁺ ATPase イオンポンプがもたらす最も初期に起こる左右相称性の破れのメカニズムについては未だ明らかになっていないことが多い。そこで本研究では、発生初期の繊毛とH⁺/K⁺ ATPase イオンポンプが成体原基形成というマクロな形態形成にどのような影響を及ぼすのか調べた。また、発生初期の繊毛とH⁺/K⁺ ATPase イオンポンプの関係性について考察した。

[1] Ayumi Takemoto et al, 投稿中

[2] Taku Hibino et al, Dev Genes Evol.2006;216:265-276

○小松原 晃¹, 松田 道行^{1,2}, 青木 一洋³

京都大学大学院生命科学研究所 生体制御学分野¹

京都大学大学院医学研究科 病態生物医学分野²

京都大学大学院医学研究科 時空間情報イメージング拠点³

細胞内シグナル伝達は、極論すると、生体物質の物理化学的な法則に従った拡散や化学反応の連鎖である。従って、要素間の反応や拡散等をモデル化しパラメーターを導入することで、細胞内シグナル伝達をコンピューター上でシミュレートすることができる。しかしながら、多くのシグナル伝達系のシミュレーション研究ではフィッティングにより非現実的なパラメーターを求めて数値計算をしていることが多い。これは、実測された定量的な反応パラメーターが圧倒的に不足しているという状況に多分に影響を受けている。さらに、試験管内 (in vitro) と細胞内 (in vivo) の反応パラメーターは大きく異なることが次々と明らかになってきており、細胞内反応パラメーターの測定が求められているが、現状ではその測定技術に限られている。一方で、近年のイメージング技術の発展に伴い、細胞間における生体分子の不均一性 (intrinsic noise) やシグナル伝達系の外部からの揺らぎ (extrinsic noise) の観測について報告され始めている。しかしながら、哺乳類細胞においてこういった細胞間の不均一性や揺らぎの根拠となる分子の変動を十分に測定されているとは言えない。特に、内在性シグナル伝達タンパク質分子の濃度、活性揺らぎのノイズ源については哺乳類細胞においてはほとんど計測されていない。

我々は「1細胞レベルでの内在性分子の可視化と濃度の定量化、内在性タンパク質間相互作用における解離定数の測定」を目的として研究を進めた。このためにまずCRISPR/Cas9遺伝子編集技術を用いて、内在性のMAPK1遺伝子にEGFP遺伝子をノックインすることを試みた。幾つか手法を検討した結果、MAPK1の終止コドン前後40bpのホモロジーアームを含むドナーベクターをHeLa細胞に遺伝子導入すると比較的効率よくノックインされることが分かった。これらの細胞を6時間以上血清飢餓にした上でEGFPを投与し蛍光顕微鏡で観察したところ、GFPが核内へと移行する様子が観察されたことから、ERK2-GFPが発現していると考えられた。最後に、蛍光相関分光法FCSにより、ERK2-GFPの1細胞内の濃度測定を行った。本研究において比較的短い相同配列によって蛍光タンパク質を特異的に挿入することが可能であることが示された。本発表ではこれらの進捗について紹介する。

Shinsuke Koyama

Institute of Statistical Mathematics, Tokyo, JAPAN

Stochastic reaction networks describe a probabilistic mechanism of the evolution of networks of species. They are used for modeling phenomena in a wide range of disciplines; those species may represent molecules in chemical or biological systems, animal species in ecology, and information packets in telecommunication networks.

The evolution of networks is modeled by a continuous-time Markov jump process, for which the probability distribution of species x obeys a master equation [1]. Assume that we have partial observations y_1, \dots, y_n at times t_1, \dots, t_n , where the probability distribution of the observation y_i is conditioned on x_i . Our goal is to infer x from the observations; more formally, we wish to compute the conditional distribution of x at time t_i , $P(x, t_i | y_1, \dots, y_i)$, given the observations y_1, \dots, y_i . (In the literature on signal processing, this problem is called “filtering.”)

The conditional distribution $P(x, t_i | y_1, \dots, y_i)$ is not analytically tractable for the system we consider, so that approximation methods are needed. Here, we utilize two approximation methods, the linear noise approximation (LNA) [2,3] and the projection approximation (PA) [4], to construct approximate filters, and compare them in terms of filtering performance. We demonstrate on simulated data that the approximate filter based on PA outperforms that based on LNA.

[1] C.W. Gardiner. (1985) *Handbook of Stochastic Methods*. 2nd ed. Springer.

[2] M. Komorowski, B. Finkenstadt, C. V. Harper and D. A. Rand. (2009) *BMC Bioinformatics* **10**, 343.

[3] P. Fearnhead, V. Giagos and C. Sherlock. (2014) *Biometrics* **70**, 457-466.

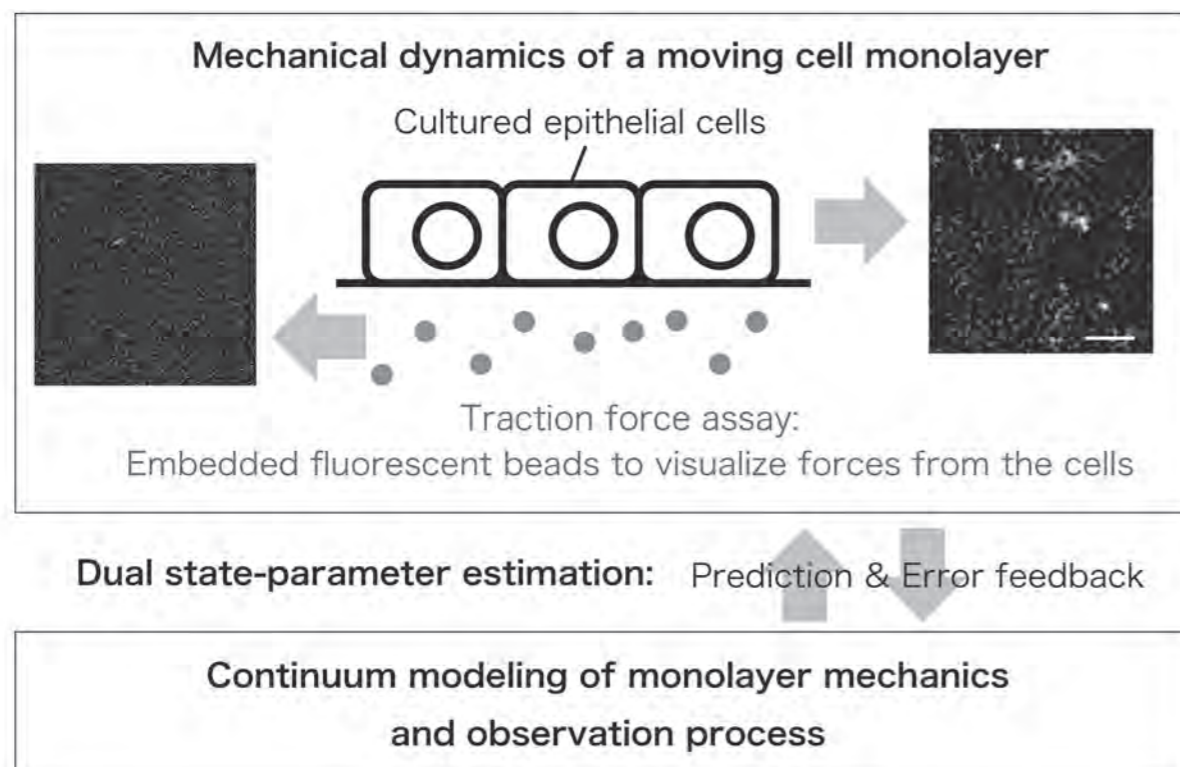
[4] D. Brigo, B. Hanzon and F. L. Gland. (1999) *Bernoulli* **5**, 495-534.

○Yohei Kondo¹, Kazuhiro Aoki², and Shin Ishii¹

¹Department of Systems Science, Graduate School of Informatics, Kyoto University

²Imaging Platform for Spatio-temporal Information, Graduate School of Medicine, Kyoto University

Recently, an enormous progress has been made in technologies that enable us to observe mechanical forces in epithelial sheets, which is a key to understand morphogenesis of multicellular organisms. To relate the forces to tissue deformations quantitatively, however, we also need to elucidate the mechanical properties, which describe how the tissues deform and flow under forces. A difficulty is that, if we induce deformations in the tissues to characterize the properties, such measurements would be invasive to the tissue physiology. To bypass the problem, we propose a non-invasive inference by combining statistical machine learning with tissue mechanics modeling. Our strategy is to interpret the cell sheets as continuum mechanical systems, and to compute the maximum likelihood estimates of the model parameters from passively observed forces and deformations in the tissues (see the conceptual scheme below). We will report results from a proof-of-concept study on the epithelial spreading of Madin-Darby canine kidney cells with and without a cytoskeletal inhibitor, blebbistatin.



Taihei Fujimori¹, Akihiko Nakajima^{1,2}, and ○Satoshi Sawai^{1,2}

¹ Graduate School of Arts and Sciences, University of Tokyo, Japan

² Research Center for Complex Systems Biology, University of Tokyo, Japan

Collective cell migration is a widely observed in development, wound healing, and cancer invasion. Coordinated motion of cells often involves alignment of cell polarity. Since single isolated cells in general have capacity to randomize its orientation by extending protrusions, how such spontaneous dynamics are suppressed or utilized in collective cell migration is not well understood. Here, we carried out quantitative analysis of shape and motion of mutually attached cells migrating in a microfluidic chamber to extract the essential dynamics under quasi-2D spatial constriction. During the late stage of *Dictyostelium* aggregation, cells migrate collectively by aligning in head-to-tail manner by a mechanism called 'contact following' that is so far poorly characterized. Our analysis revealed that the cell shape dynamics of the trailing cells are less dynamic and lateral pseudopods are thus more suppressed than the leading free-end cells at the front. When the chemoattractant gradient is reversed, the leading cells formed de novo pseudopod and re-oriented much like an isolated solitary cells. On the other hand, the trailing cells instead maintained the contact following motion. We found that there is a unique pattern of F-actin localization characterized by its enrichment at the periphery of the cell-cell contact region. Knockout of cell adhesion protein resulted in the loss of persistent F-actin pattern at the contact site and decreased occurrence of the contact following motion. These results suggest that a contact-dependent interaction mediated by adhesion molecules promotes continuous actin polymerization in the trailing cells that drives the forward movement while at the same time maintaining the cell polarity by suppressing spontaneous lateral membrane protrusions and chemotaxis to a global gradient field.

PNA-FISH analysis of chromosome aberration in human lymphocytes after low-dose irradiation

○Lin Shi¹, Kurumi Fujioka², Nami Sakurai-Ozato¹, Kenichi Satoh³, Jiying Sun¹, Akinori Awazu^{5,6}, Kimio Tanaka¹, Kazuo Awai⁴, Satoshi Tashiro^{1,6}

¹Department of Cellular Biology

²Department of Molecular Oncology

³Department of Environmetrics and Biometrics, RIRBM, Hiroshima University

⁴Department of Diagnostic Radiology, Hiroshima University Hospital, Hiroshima

⁵Department of Mathematics

⁶Research Center for the Mathematics on Chromatin Live Dynamics, Hiroshima University, Higashi Hiroshima

The analysis of dicentric chromosomes in human peripheral blood lymphocytes (PBLs) by Giemsa staining is the most established method for biological dosimetry. This method, however, requires a well-trained person because of the difficulty in detecting chromosome aberrations rapidly and accurately. Conventional DNA/RNA FISH techniques are not widely used because of the high-cost and time-consuming although they made chromosome analysis easier.

In our study, we applied a fluorescence in situ hybridization (FISH) technique, using telomere and centromere peptide nucleic acid (PNA) probes, to solve these problems in biological dosimetry. A comparison by a well-trained observer found that FISH analysis of PBLs for the dose estimation was more accurate than Giemsa analysis. In this study, we applied the PNA-FISH technique for the analysis of the effect of low-dose ionizing radiation (≤ 80 mGy) on chromosome aberrations of PBLs from 16 healthy volunteers. A significant increase of chromosome aberration was observed in PBLs after irradiation at 15 mGy. In contrast to the significant increase of chromosome aberrations after irradiation in vitro after high-dose irradiation, a person-to-person variety was observed after low dose ionizing irradiation. The rate of increase in chromosome aberrations after irradiation showed inverse correlation with the number of abnormal chromosomes before irradiation. These results suggest the presence of person-to-person differences in the radiation sensitivity to low dose irradiation. FISH analysis with centromeric/telomeric PNA probes could become one of the standard methods for biological dosimetry in radiation emergency medicine.

Stagnant, Itinerant Chromatin Dynamics Inside the Fission Yeast Nucleus

○Takeshi Sugawara¹, Kenta Masuda², Jun-ichi Uewaki¹, Akinori Awazu^{1,3}, Hiraku Nishimori^{1,3}, Shin-ichi Tate^{1,3}, and Masaru Ueno^{1,2}

¹ Research Center for the Mathematics on Chromatin Live Dynamics (RcMcD), Hiroshima University

² Department of Molecular Biotechnology, Graduate School of Advanced Sciences of Matter, Hiroshima University

³ Department of Mathematical and Life Sciences, Graduate School of Science, Hiroshima University

Correlated with specific cellular processes, genes wander inside the nucleus and can be localized at several regions such as transcription factories and nuclear pore complexes. In spite of extensive studies for these phenomena, how gene loci sustain and change their positioning during the cell cycle remains still unclear. In order to elucidate interphase chromatin dynamics, we visualized and tracked the positions of gene loci on a longer time scale than conventional one in fission yeast *S. pombe*. The statistical analysis of individual time-lapse data for each locus revealed that the gene loci not only stay at multi-locations but also often transit among the multi-locations. Such “itinerant” dynamics among “stagnant” locations were validated through an analysis using Hidden Markov Model, and therefore interpreted as dynamic itinerancies among distinct locations defined as “gene territories”. Quantitative analysis of the cell morphology changing during the cell growth indicated that the itinerant/stagnant chromatin dynamics could occur in a cell cycle-dependent manner. The observed chromatin dynamics is quite different from simple diffusive behaviors reported so far, that can be a novel characteristic of chromatin dynamics during the cell-cycle progression.

In order to examine possible relationships between the observed results for the gene loci and genome structures inside the nucleus, we constructed a quantitative mathematical model of chromosomes, based on the genome-wide chromatin interaction (Hi-C) data. In this symposium, we will discuss how such mathematical approach can extract information about different chromosome conformations associated with the results observed during the cell-cycle progression.

Jiying Sun¹, Aiko Kinomura¹, Masahiko Harata², Tsuyoshi Ikura³, and Satoshi Tashiro¹

¹Dept. of Cell. Biol., RIRBM, Hiroshima Univ.

²Lab. of Mol. Biol, Grad. Sch. of Agr. Sci., Tohoku Univ.

³RBC, Kyoto Univ.

Chromosome translocations induced by DNA damaging agents, such as ionizing radiation and certain chemotherapies, alter genetic information resulting in malignant transformation. The mechanism of chromosome translocations, however, is still largely unknown. Chromosome translocations involving the MLL gene on 11q23 are the most frequent chromosome abnormalities in secondary leukemias associated with chemotherapy employing etoposide, a topoisomerase II poison. Abrogation or loss of the ataxia-telangiectasia mutated (ATM) protein, a DNA damage signaling regulator, increases the incidence of chromosome translocations. In our previous study, we reported that ATM deficiency results in the excessive binding of the DNA recombination protein RAD51 and a chromatin remodeling factor INO80 at the translocation breakpoint hotspot of 11q23 chromosome translocation after etoposide exposure. Here, we showed that the depletion of INO80 repressed the radiation-induced RAD51 focus formation in a human cell line. Moreover, homologous recombination repair was repressed by the depletion of INO80. These findings suggest the involvement of INO80 in the regulation of the homologous recombinational repair (HR). The excessive binding of INO80 at the translocation breakpoint hotspot of the MLL gene could lead to 11q23 chromosomal translocations after etoposide treatment. The mechanism of chromosomal translocations involving HR will be discussed.

○高見知秀¹,菅原武志²

工学院大学 基礎・教養教育部門¹

広島大学 クロマチン動態数理研究拠点²

ガラスナノピペットは、細胞内に蛋白を定量的に導入するためのツールとして古くから用いられており[1]、近年では細胞内外の局所選択イオン検出[2]にも用いられている。先端内径が500 ナノメートルのピペットはFemtotip®としてエッペンドルフ社から市販されているが、様々な大きさや形態のガラスナノピペットはピペットの素材となるガラスキャピラリーをプラーと呼ばれる機器で加工して作製されている。しかしこのようにして作製されたナノピペットの細くなった部分の長さ(シャンク長)は光学顕微鏡で確認できるが、ピペット内径や先端内部の清浄性はわからない。一方、電子顕微鏡を用いれば先端内径はわかるが、確認できるのはナノピペットの使用後になる。

そこで本研究では、ピペットを2つの真空槽の間に設置して、一方の真空槽から気体を流してピペットに流れるガスのコンダクタンスの押し圧(0~2気圧)依存性を計測することによって、ピペットの先端径だけでなくピペット先端内部の清浄性を確認できる非破壊検査法であるガスフロー法を開発した[3]。

アルゴンガスをピペットの先端から太い方へと流すと、ピペットに流れるガスのコンダクタンスは押し圧が1気圧未満の領域ではほぼ一定になっていて分子流になっているのに対して、1気圧を超えたあたりから押し圧の増加に対してコンダクタンスが増加する中間流領域になっていることがわかった。これに対してガスの流れを反対向き、すなわちピペットの太い方から先端へと流すと、流量が約1気圧のときにコンダクタンスが極大になることがわかった。これはピペットのシャンクにおけるピペット内部の状態に由来すると考えられる。更にこの方向での測定では、真空槽内にある僅かな塵がガスを流している際にピペット内部に侵入する確率が高いことがわかり、本研究におけるナノピペット検査法としては先端から太い方へガスを流した方がよいこともわかった。

本研究は科研費基盤研究C(課題番号15K04678)と、文部科学省生命動態システム科学推進事業「核内クロマチン・ライブダイナミクス of 数理研究拠点」の助成を受けたものです。また、本研究の一部は物質・デバイス領域共同研究拠点における共同研究です。

[1] K. T. Brown & D. G. Flaming, *Advanced Micropipette Techniques for Cell Physiology* (Wiley, San Francisco, 1995).

[2] T. Takami *et al.*, *J. Appl. Phys.* **111**, 044702 (2012).

[3] 高見知秀, 表面科学, **36**, 637 (2015) [総合報告].

○高宮一徳¹, 山本佳典¹, 西森拓^{1,2}, 栗津暁紀^{1,2}

¹ 広島大・院・理

² 広島大・クロマチン動態数理研究拠点(RcMcD)

真核生物の同一種内での遺伝的多様性は、減数分裂期における“相同組換え”と呼ばれる父母由来の相同染色体間の塩基配列の交換によって維持されている。相同組換えには相同染色体同士が整列し“対合”を形成する必要がある。この対合には、相同染色体同士が相互に探索・認識する必要があるが、このメカニズムは決して自明な事ではない。

近年幾つかの生物種の細胞核および染色体が、減数分裂期に体細胞分裂期と異なる特徴的な運動を行うことが報告されている。例えば、マウスでは核が回転運動を行うこと、出芽酵母では染色体が通常の3倍以上のスピードで移動すること、そして分列酵母では核が細長く変形し細胞の端から端まで往復運動(ホーステイル運動)を数時間行うことが知られている。しかし、この運動の具体的な役割は未だほとんど分かっていない。

そこで本研究では、真核単細胞モデル生物である分裂酵母の減数分裂期染色体の粗視化モデルを構築し、シミュレーションを行った。その結果、細胞内での核の往復運動が長さの異なる非相同染色体間の分離を促進し、相同染色体の対合形成に寄与する可能性を見い出した。

参考文献

- [1] R. Koszul and N. Kleckner, Trends in Cell Biol., 19(2009) 716-724
- [2] M. N. Conrad, et al., Cell, 133(2008) 1175-1187
- [3] D.-Q. Conrad, et al., J. Cell Biol., 174(2006) 499-508
- [4] L. Davis and G. R. Smith, Genetics, 174(2006) 167-177

○谷角怜¹, 西森拓^{1,2}, 栗津暁紀^{1,2}

広島大学大学院数理分子生命理学専攻¹

クロマチン動態数理研究拠点(RcMcD)²

我々生物の成長やストレス応答といった活動は、細胞内で起こる様々な遺伝子発現に支えられている。遺伝子発現は、染色体の構造や動態の強い影響を受け制御されていることが示唆されており、そのため染色体の物理的な性質に着目した様々な研究が行われている。近年、染色体の物理的な性質の一つであるDNA が持つ相対的な柔軟性 [1][2]がプロモーターの働きと密に関係があることが明らかとされている[3]。そこで我々はこれらの事実をもとに、染色体の構造や遺伝子座とDNA がもつ柔軟性との間にも何らかの関係があるのではないかと考え、DNA がもつ相対的な柔軟性を基にしたゲノムワイドな解析を行い、柔軟性と染色体の構造や遺伝子座との間にみられる関係を考察する。

本発表ではヒトを含む4種の生物のゲノムワイドな柔軟性に関する先行研究[4]で行われた解析の方法をベースに、柔軟性の空間的な分布やそこで見られる異常な領域に注目し、より広い生物種におけるゲノムの物理的特性を考察する。そしてゲノムの柔軟性の変化を、染色体間、遺伝子座間、生物種間において比較する。

参考文献

- [1] Packer, Martin J., Mark P. Dauncey, and Christopher A. Hunter. *Journal of molecular biology* 295.1 (2000): 85-103.
- [2] Brukner, Ivan, et al. *The EMBO journal* 14.8 (1995): 1812.
- [3] Fukue *et al.*, Nucl. Acids Res. 32, 5834-5840, 2004; *ibid.* 33, 3821-3827, 2005
- [4] Kimura, Hajime, et al. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* 77.3 (2013): 612-617.

○富樫 祐一^{1,2}

広島大学クロマチン動態数理研究拠点¹
 広島大学大学院理学研究科数理分子生命理学専攻²

細胞核は、単に遺伝情報を格納するだけでなく、転写・複製・修復やそれらの制御のため、酵素をはじめとする様々な分子機械が機能する場である。一般に、分子機械では、機能と構造変化とが密接に関係しており、機能が力学的に変調される。核内は高分子で非常に混雑しているため、周囲の分子環境が機能に干渉することが想定される。転写因子のように、結合に伴って相手の分子を構造変化させ、それにより機能を制御する分子もある。すなわち、分子の機能が構造に、構造が機能に、互いに影響を及ぼしあう。

以前より、我々は、分子機械を含む反応拡散系において現れる、構造と機能との相互干渉を、単純化した分子機械モデルを用いて理論的に検討してきた。具体的には、分子機械の内部状態(反応サイクル)を1つの位相変数(時計)で表し[1]、形状(粒径)が状態に依存して変化する(逆に形状変化が妨げられると状態が変化できない)粒子として分子機械を表現することにより、モデルを構成した。特に、分子機械間に生成物などを介した相互作用がある場合に、分子状態の同期を伴う新奇な時空間パターンが生ずる可能性や、混雑環境下で分子が密に詰まり反応が起きにくい相と疎で反応が起き続ける相とに分離する振舞いなどを示してきた。

前記の通り、細胞核内の環境においては、このような機能と構造との相互干渉の問題が顕著に現れると推測される。一方、クロマチン構造には、構造要素(ヌクレオソームやドメインなどの単位)がDNA鎖で連結されているという特徴がある。そこで、前記の分子機械モデルをバネで連結することで、これを表現できる(可能な限り単純な)モデルを構築した。特に、鎖上で、反応開始点・終止点となる要素を定め、開始点に活性化因子が結合すると終止点まで順に反応(位相の進行とそれに伴う形状変化)が起こることとすることで、DNA鎖に沿った分子機械(例えばRNAポリメラーゼなど)の動作を表現した。

本モデルにおいても、以前のモデルのように、反応に伴う構造変化によってより反応が起こりやすくなる、正のフィードバックが期待される。一方で、反応に伴う鎖の構造変化により、活性化因子が逃れやすくなるため、同じ部位のバースト的な反応を阻止する負のフィードバックも想定される。実際に、比較的密度の低い状況下では、後者の効果が顕在化した。本発表では、前段の混雑した反応拡散系一般の問題について述べた後に、現時点までに観察された現象について報告する。

[1] Y. Togashi and V. Casagrande, New J. Phys. 17, 033024 (2015).

Naoya Tochio¹, Jun-ichi Uewaki¹, Holger Flechsig², Yuichi Togashi¹ and Shin-ichi Tate^{1,2}

¹RcMcD, Hiroshima Univ.
²Dept. of Math. & Life Sci., Grad. Sch. of Sci., Hiroshima Univ.

Transcription activator like-effector (TALE) nuclease (TALEN) is used as a tool in genome editing. The DNA binding part in one TALEN consists of the tandem array of TAL repeats in a right-handed superhelix: each TAL repeat recognizes specific base by repeat variable diresidue (RVD) at positions 12 and 13. TALEN comprising TAL repeats periodically mutated to the residues at 4th and 32nd positions (non-RVD sites) in each repeat (VT-TALE) shows higher efficacy in genome editing than the counterpart without such mutations (CT-TALE). The molecular basis for the elevated efficacy, however, remains elusive. Based on the physicochemical characterization of the CT- and VT-TALEs, we found VT-TALE has greater structural fluctuation along its superhelical axis over CT-TALE, and the enhanced motion of the TAL repeat array prompted the C-terminal TAL repeats in VT-TALE to bind sequence specifically to DNA, otherwise the C-terminal repeats do not efficiently bind to DNA. The extended sequence recognition by the TAL repeats in VT-TALE will allocate FokI in a further restricted space to facilitate its dimerization on DNA. In TALEN comprising VT-TALE, this extended recognition could explain the higher genome editing efficacy over TALEN with CT-TALE.

○中川正基¹, 富樫祐一^{1,2}

広島大学大学院理学研究科数理分子生命理学専攻¹
 広島大学クロマチン動態数理研究拠点²

生体内では多数の化学分子成分が複雑な反応ネットワークを構成している。特に、酵素などによる触媒反応は重要な役割を果たしている。近年、簡単な触媒反応ネットワークにおいて少数分子成分が存在する場合、多数の場合とは質的に異なる振る舞いが生ずる可能性が示されてきた(e.g.[1,2])。このような系での少数性の効果は、状態確率に関する常微分方程式(化学マスター方程式)を用いて解析される。しかし、成分数が多くなると解析的に解くことは困難と考えられており、近似方法(e.g.[3,4])やシミュレーション手法(e.g.[5,6])の開発に多くの研究が集中してきた。このような状況の中で、我々は少数性効果の定量的で効率的な予言を可能とするような解析的な枠組みの構築に挑んだ。

一般的な議論をするために抽象的な2体触媒反応ネットワークを考えた。そして、対応する化学マスター方程式に対して「確率母関数の方法」を用いて解析した(過去には確率母関数を用いた数値スキームの開発はあるが[7]、一般的な解析解の導出は行われてこなかった)。その結果、ある条件(「全体エルゴード性」と呼んでいる)の下で、各成分間の長時間平均や分散といったマクロな量を予言する解析的な公式を得ることに成功した[8]。簡単な応用として、各平均濃度に対する順位保存則や、ある特殊な定常状態の存在とその必要条件などを導いた。また、現実により近い問題として、各触媒の多機能性に偏りがあるランダムネットワークの理論解析への応用も合わせて紹介したい。

1. Y. Togashi, K. Kaneko, *Phys. Rev. Lett.* **86** (2001) 2459-2462.
2. A. Awazu, K. Kaneko, *Phys. Rev. E* **76** (2007) 041915.
3. N. G. Van Kampen, *Stochastic Processes in Physics and Chemistry*, Third Edition (North Holland, 2007).
4. CH. Lee, K. Kim, P. Kim, *J. Chem. Phys.* **130** (2009) 134107.
5. DT. Gillespie, *J. Phys. Chem.* **81** (1977) 2340-2361.
6. B. Munsky, M. Khammash, *J. Chem. Phys.* **124** (2006) 044104.
7. P. Kim, CH. Lee, *J. Chem. Phys.* **136** (2012) 234108.
8. M. Nakagawa, Y. Togashi, *Front. Physiol.* [in review (15 Feb. 2016)].

○中田庸一^{1,2}, 井原茂男^{1,2,3}, 和田洋一郎^{1,4}, 時弘哲治^{1,2}

生物医学と数学の融合拠点(iBMath)¹
 東京大学大学院数理科学研究科数理科学連携基盤センター²
 東京大学先端科学技術研究センター³
 東京大学アイソトープ総合センター⁴

転写時におけるDNAの空間構造の調べるためDNAサイトについて祖視化を行ったモデルを構築、ChIA-PETにより得られたRNAポリメラーゼの相互作用のデータをもとに祖視化されたサイト間の相互作用がなすポテンシャルを決定し、そのポテンシャルの極小点を計算することで構造の推測を行った。

モデルから推測された構造にエクソン、エンハンサー、ポリメラーゼの分布などの情報を付加すると、それらが密集しているように見えることがわかった。これはCookらが提唱している転写ファクトリー[1]の存在と関連すると考えられる。

[1] P. R. Cook, *Principles of Nuclear Structure and Function* (Wiley-Liss, New York, 2001)

○中村伊南沙

東京大学大学院数理科学研究科・附属数理科学連携基盤センター
 生物医学と数学の融合拠点 (iBMath)

クロマチンの2次構造のダイナミクスを記述するため、類似の問題であるRNAの2次構造について考察する。RNAの2次構造を表す表示方法として、塩基を線分上の点で表し、塩基対を2点をつなぐchordとして表すRNA chord diagramがある。ここではRNAの2次構造を表すモデルとして、格子上の図式を考え、この格子上の図式モデルとRNA chord diagramとの対応を述べる。RNAの2次構造がある初期構造からもうひとつの構造に変化するとき、それを表す2つの格子上の図式モデルから得られるlattice polygonの分割を考えることによって、途中変形の2次構造の列をみることができる。この方法によってクロマチンの2次構造のダイナミクスも記述できる。さらに、RNA chord diagramのchordには向きが入っていないが、塩基の種類によって結合できる塩基と結合できない塩基があるので、その情報を付加するため、chordに向きを与えたarrow diagramを考える。これは格子上の図式モデルに+—の符号を付加することと同値である。この符号付き格子上の図式モデルについても、変形に条件を与えることで、ダイナミクスの過程を調べることができる。さらに、今後の課題と発展させたい問題についても述べる。

○野口弘一¹、中野明美²、上野勝^{2,3}

広大・工学部・第三類¹
 広大・院先端物質・分子生命²
 広大・クロマチン動態数理研究拠点³

染色体の安定性には、正しく複製された染色体が均等に分配されることが不可欠であり、これにはすべての姉妹染色体のキネトコアがスピンドル微小管に結合することが必要不可欠である。当研究室では、Hydroxyurea(HU)による複製停止からリリースした*rqh1-hd*株ではスピンドルチェックポイント(SAC)が活性化されるが、*rqh1-hd reb1Δ*株においてはSACの活性化が起こらないことなどから、rDNAでのReb1依存的な複製停止に起因する組換中間体の蓄積が微小管-キネトコアの結合異常を引き起こし、SACを活性化していることが示唆された[1]。rDNAに蓄積した組換中間体がどのようにして微小管-キネトコアの結合に影響しているのかは未だ分かっていない。そこで、この機構の解明を本研究の目的とした。

本研究では、*rqh1-hd*株とSAC活性化がより強く見られる*rqh1-hd cds1Δ*株、および*rqh1-hd reb1Δ*株、*rqh1-hd cds1Δreb1Δ*株、*cds1Δ*株、*cds1Δreb1Δ*株を用いてRPAフォーサイ(組換中間体の指標)の観察・解析や、SAC活性化の観察以外の微小管-キネトコアの結合異常を簡便に検出する手法を確立することを目指して実験を行っている。

新たに*cds1Δ*株のHU存在下のThiabendazole(TBZ)感受性が*cds1Δreb1Δ*株では抑圧されることを発見した。*cds1Δ*株ではSAC活性化をほとんど検出できていなかったため、微小管-キネトコアの結合異常を検出する手法としてHU存在下のTBZ感受性は適していることが期待できる。

今後も引き続きこれらの株について様々な解析を行っていく予定である。

○島山 哲央¹, 古澤 力²

東京大学総合文化研究科¹
理研 QBiC²

近年、代謝ネットワークの頑健性が注目を集めており、多くの研究がおこなわれている。それらは、代謝の定常状態が外乱に対していかに頑健であるかという研究が主である。代謝反応に関する酵素のタイムスケールは通常サブ秒以下のオーダーである。通常素過程が速い時間スケールを持つ系であれば、外乱が加えられても定常状態に素早く緩和する。従って、代謝において定常状態から離れたダイナミクスを考える必要は無いように思われる。しかし、代謝のダイナミクスは基質や酵素、さらには補酵素など、複数の成分が関係する非線形反応である。酵素濃度に反応速度が依存する非線形反応では、素反応のタイムスケールが速くても、遅い緩和過程が生じることがいくつかの研究で指摘されており[1,2]、代謝でもそのような遅い緩和が生じる可能性がある。そこで、本研究では代謝のダイナミクスにおいて遅い緩和は生じるか、また、そのような非線形性のもとで代謝の頑健性がどのように起き得るかについて、理論的に解析をおこなった。

代謝のダイナミクスをモデル化するにあたり、解糖系や発酵などに共通して見出される、ATPやNADHなどの補酵素(エネルギーや水素などのキャリア)を単一の代謝経路の上流と下流でリサイクルする構造に注目し、一本の代謝カスケード上を上流から下流に代謝物が流れるシンプルなモデルを作成した。すると、それぞれの酵素反応の時間スケールよりもはるかに遅い時間スケールを持つ緩和過程が見られた。驚くべきことに、この緩和過程は決まった時間スケールを持っておらず、外部の栄養濃度に応じて異なる時間スケールを示した。この変動する時間スケールにより、外部栄養環境の小さな攪乱に対しては内部環境を殆ど変化させず頑健に振る舞う一方で、大きな攪乱に対してはその内部状態を柔軟に変化させる振る舞いが見出された。生物を取り巻く外部栄養濃度は常に変化しているが、小さな栄養濃度のゆらぎに鋭敏に応答してしまうのはエネルギーを無駄に消費してしまい、一方で外部の栄養環境が大きく悪化してしまった場合、迅速に飢餓応答をおこなう必要があるだろう。本研究により、代謝ダイナミクスは遅い緩和を利用することで、上記の二つの性質をシンプルな経路で実現できることを示した。また、補酵素のリサイクルは、化学反応自体のゆらぎも低減させることが分かった。本研究は、代謝の動的な頑健性を明らかにするための端緒となるだろう。

[1] Awazu A, Kaneko K, PRE (2009)

[2] Hatakeyama TS, Kaneko K, PLoS Comp. Biol. (2014)

○林達也¹, 時弘哲治^{1,4}, 栗原裕基^{2,4}, 野村典正³, 安田賢二^{3,4}

東京大学大学院数理科学研究科¹
東京大学大学院医学系研究科²
東京医科歯科大学学生体材料工学研究所³
JST CREST⁴

心筋細胞の集団において各細胞の拍動が同期する場合、従来は、拍動周期の最も短い細胞の拍動リズムに他の細胞が引き込まれて同期すると考えられていたが、最近の安田研究室の実験では、拍動のゆらぎが最も小さい細胞に同期する、という観測結果が得られた。我々は、安田研究室の実験結果を再現する数理モデルとして、心筋細胞の発火と不応期を取り入れた確率微分方程式モデルを提案した。このモデルによる数値シミュレーションを行ったところ、実験的にも例外であった1例を除いて、理論値と実験値がとてよく合うことがわかり、拍動揺らぎの小さい細胞に同期する現象を理論的に説明することができた。

本研究では、このモデルを用いて2つのin silicoの実験を行った。1つ目の数値実験は、システムサイズと拍動揺らぎの関係に関する実験である。これは、3種類の配置、放射状型、格子型、直線型に細胞を配置し、細胞数を増やしていったときに、システム全体の揺らぎがどのように変化するかを調べる実験である。結果として、細胞の配置に関係なく細胞数が少ない段階で系の揺らぎが中心極限定理から外れることがわかった。2つ目の数値実験は、システムの揺らぎに関する細胞特性とサイズの依存性に関する実験である。これは、基準となる標準的な拍動リズムをもつ細胞集団を用意し、その基準集団に4種類(a)周期が速い&揺らぎが小さい、(b)周期が速い&揺らぎが大きい、(c)周期が遅い&揺らぎが小さい、(d)周期が遅い&揺らぎが大きい、の単細胞または細胞集団を接続した場合に、システム全体の揺らぎがどのように変化するかを調べる実験である。結果として、揺らぎが小さければ、たとえ単細胞であっても細胞集団を引き込むことがわかった。本発表では、数理モデルの紹介および2つのin silico実験の結果について報告する。

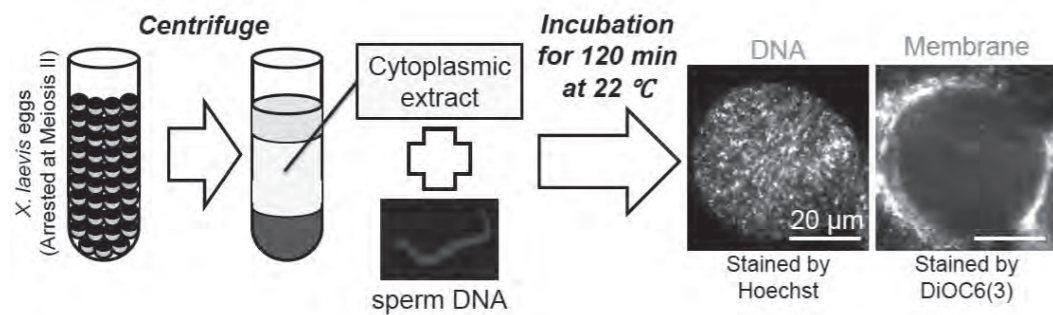
○原 裕貴

山口大学大学院 医学系研究科

アフリカツメガエルの卵細胞質抽出液に単離した精子クロマチンを加え培養することで、試験管内で機能的な細胞核を再構築することが出来る(図)。これまでに無細胞再構築系とマイクロ流体工学の技術を組み合わせることで、核のサイズの増大機構について解析を行い、周囲の空間情報により制御されるメカニズムを初めて明らかにした。マイクロ流体工学の技術により核周囲の空間を人為的に操作することで、その空間のサイズに依存して核のサイズの増大速度が変化する定量的な特徴を発見した。核周囲の空間が制限されることで、周囲に形成される微小管の構造体が十分に拡大出来ず、核の構成材料である膜成分の核への供給に影響を及ぼす。この制御メカニズムにより、細胞内の核の位置のような細胞内の空間情報を“感知”し、細胞は核のサイズの増大速度を制御することが示唆された[1]。今後は、このアフリカツメガエル卵抽出液における核の再構築系を基本とし、細胞質や核内の様々な条件の操作や詳細な核構造の観察を行うことで、核や核内DNAの構造の形成機構やそれらの生理学的な機能・意義に迫っていきたい。

参考文献

[1] Hara & Merten: Dynein-based accumulation of membranes regulates nuclear expansion in *Xenopus laevis* egg extracts. *Developmental Cell*, 33, 562-575 (2015)



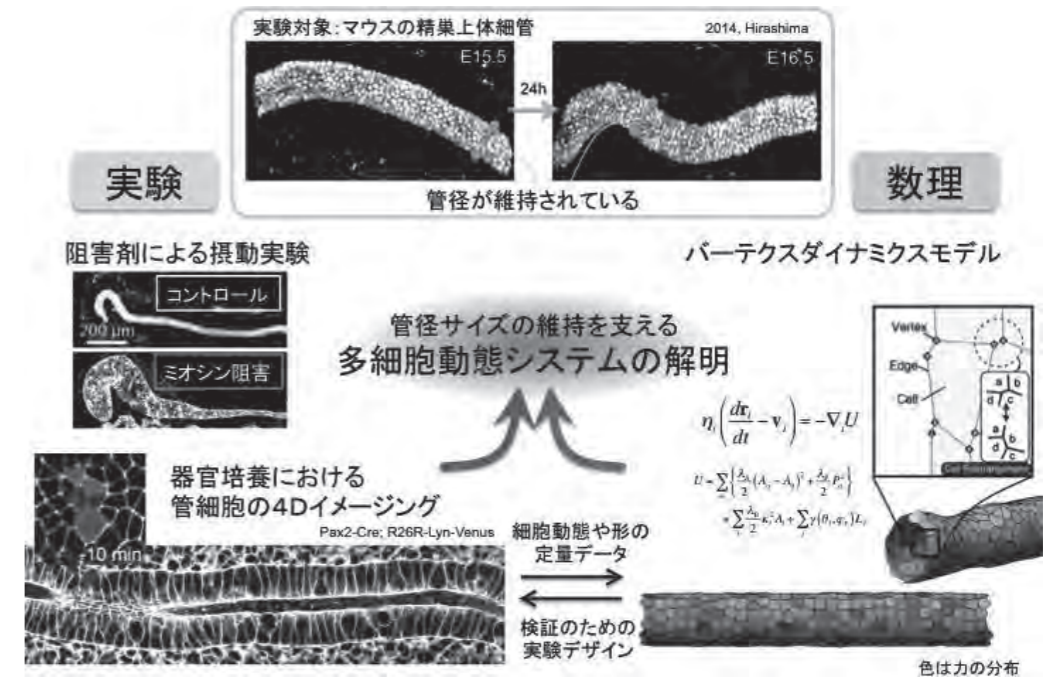
図：アフリカツメガエル卵無細胞系を用いた細胞核の再構築

○平島 剛志, 安達 泰治

京都大学 再生医科学研究所

臓器のかたちや大きさの多様性は、生体組織を異方的に成長させる多細胞の運動によって生み出される。たとえば、生物の発生過程における上皮管の伸長は、管径を保ちつつ一軸に成長する異方成長の代表例である。マウス胎仔の精巣上体や腎臓の上皮管は、管中の細胞分裂の方向に偏りがないにも関わらず、伸長過程を通して管径はほとんど変わらない[1]。本研究では、マウス胎仔の精巣上体を対象とし、管径サイズ維持に働く多細胞動態の動作システムの解明を目的とする。私たちは、はじめに、器官培養系を用いた阻害剤アッセイにより、アクチン収縮による細胞のアピカル収縮が管径維持に必須な役割を果たしていることを明らかにした。次に、アクチン収縮を引き起こすリン酸化ミオシン軽鎖(活性化ミオシン)の空間分布を調べ、活性化ミオシンが、管の円周方向に沿ってアピカル細胞膜周縁に分布していることを明らかにした。この分布は、管を構成する上皮細胞群が、再配列を通して細胞分裂による管径の膨張を抑制し、結果として管の伸長を導くことを意味する。さらに、管細胞のライブイメージングと多細胞動態を表現するバーテクスダイナミクスモデルによる解析の結果、管の伸長を導く細胞の再配列が、円周方向に沿った細胞分裂に応じて逐次的に起きることで、管径が維持されていることがわかった。本ポスターでは、これらの実験と数理シミュレーションによって得た結果を統合的に考えることで、増殖管の恒常的な径長の制御に関わる多細胞動態システムを提案し、議論を深めたい。

[1] Karner et al., *Nat. Genet.* 2009; Hirashima, *Cell Rep.*, 2014.



SUMO E3-ligase PIAS4 regulates DNA damage dependent exchange of the histone variant H2A.Z-2

Atsuhiko Fukuto¹, Yasunori Horikoshi¹, Satoshi Tashiro¹

¹ Department of Cellular Biology, RIRBM, Hiroshima University

Chromatin reorganization plays an important role in DNA repair. In yeast, H2A.Z (Htz1), an H2A variant is implicated in the DNA repair process. A recent study revealed the presence of two H2A.Z isoforms, H2A.Z-1 and H2A.Z-2, in vertebrates. In our previous study, we showed that H2A.Z-2, but not H2A.Z-1, is involved in the regulation of homologous recombinational repair (HR) including the focus formation of RAD51 and exchanged immediately after the induction of DNA double strand breaks (DSBs). However, the mechanisms to regulate the damage-dependent exchange of H2A.Z-2 remained to be clarified. In this study, we are intended to clarify the role of SUMOylation, a post-translational modification, in the regulatory mechanism of the exchange of H2A.Z-2 at DNA damaged sites.

To examine the role of SUMO E3-ligases PIAS1 and PIAS4 in the regulation of the dynamics of H2A.Z-2 at damaged sites, we first depleted these proteins using pSIREN-DNR-DsRed-shRNA. Fluorescence recovery after photobleaching (FRAP) analysis in combination with laser-UVA-microirradiation using cells transiently co-expressing green fluorescent protein (GFP)-tagged H2A.Z-2 and pSIREN-DNR-DsRed-shRNA. As a result, the increase in the mobility of H2A.Z-2 after microirradiation was repressed by knockdown of PIAS4, but not PIAS1. To detect *in situ* interaction between H2A.Z-2 and PIAS4, we then performed proximity ligation assay (PLA) using cells transiently expressing FLAG-tagged H2A.Z-2 before and after ionizing radiation. We found H2A.Z-2 spatially associates with PIAS4 in a damage-independent manner. Our findings suggest that SUMO modification system is involved in the exchange of H2A.Z-2 at DNA damaged sites.

Evolutionary optimization of simple polymer networks: Models of synthetic allosteric proteins

Holger Flechsig

Department of Mathematical and Life Sciences and Research Center for the Mathematics on Chromatin Life Dynamics (RCMCD), Graduate School of Science, Hiroshima University

Allostery describes the phenomenon that couples binding of a ligand at an allosteric site to a structural/dynamical change at a remote regulator site. This mechanism is ubiquitous in enzymes and often controls their functional activity. On the other side, the breakdown of allosteric communication is related to enzymatic malfunction and may cause diseases or lead to resistance in therapeutic treatments. I have constructed a model system that is based on the conformational dynamics of elastic networks and allows the investigation of general principles of allosteric effects. Starting from random elastic networks, which generally do not reveal ordered communication between the two ligand sites, an iterative evolutionary algorithm is applied in order to obtain networks which are optimized with respect to the allosteric communication between the distant sites. The optimization strategy relies on structural mutations which are evaluated in terms of their quality to improve allostery inside the network conformation. Two prototype examples are presented, one in which cooperative allosteric coupling is present and the second in which anti-cooperative allosteric interaction is realized. The designed networks are analyzed in terms of their structural flexibility and the propagation of forces and strain between the distant functional sites is investigated. Thereby, clusters and individual elements which represent key agents in the transmission of allosteric changes are identified and the robustness of allosteric signaling with respect to perturbations (mutations) of them is studied. The designed networks represent synthetic toy templates which allow to study important aspects which underlie the mechanisms of allosteric communication via conformational signaling on the level of purely mechanical properties.

○堀越 保則^{1,2}, 田代 聡^{1,2}

広島大学放射線医科学研究所 細胞修復制御研究分野¹
 広島大学クロマチン動態数理研究拠点²

バイオイメージング、特に細胞核のイメージングにおいて、撮影した画像・動画の解析は、非常に重要なプロセスである。これまでも、非クロマチン核内ドメインの数およびその増減、輝度の変化、多重染色においては目的タンパク質の局在・共局在の有無など、多様な観点から解析が行われ、それぞれにおいて定量的な評価基準が提唱されてきた。一方、昨今の技術革新が生み出した超解像顕微鏡の登場により、イメージングで得られる情報が格段に増加し、解析手法が確立していない指標が現れ始めている。非クロマチン核内ドメインの形状がその一例で、超解像顕微鏡による観察によって初めて捉えられた、構造体間の複雑な形状の相違や経時的な変化などを、定量的に評価しうる解析手法に関する知見は乏しい。

今回、我々は「真球度」[1]という指標に着目し、これを用いて核内構造体の形状の定量的な評価を試みた。3D-構造化照明法(Three-Dimensional Structured Illumination Microscopy: 3D-SIM)を用いた超解像顕微鏡観察により、DNA二本鎖切断の修復機構の一つ、相同組換え修復機構において重要な役割を果たす、RAD51の核内フォーカスのイメージングを行い、その形状を評価したところ、放射線照射後、経時的に楕円体へと変化するという結果を得た。また、核内高次構造体として知られるPromyelocytic Leukemia (PML) ボディは、RAD51の過剰発現により変形しうることを示唆された。いずれも統計的に有意な差が認められており、今後のバイオイメージング解析において「真球度」が有用なツール足りうることを報告し、これからの解析・評価手法に関して議論したい。

[1] Wadell, H. (1932). Volume, shape, and roundness of rock particles. *J Geol* 40, 443-451.

Honda Naoki¹, Masataka Yamao², Katsuyuki Kunida³, Kazuhiro Aoki¹, Michiyuki Matsuda¹, Shin Ishii²

¹ Seimeidoutai, Graduate School of Medicine, Kyoto University

² Graduate School of Informatics, Kyoto University

³ Graduate School of Science, University of Tokyo

We propose a new computation-based approach for elucidating how signaling molecules are decoded in cell migration [1]. In this approach, we performed FRET time-lapse imaging of Rac1 and Cdc42, members of Rho GTPases which are responsible for cell motility, and quantitatively identified the response functions that describe the conversion from the molecular activities to the morphological changes. Based on the identified response functions, we clarified the profiles of how the morphology spatiotemporally changes in response to local and transient activation of Rac1 and Cdc42, and found that Rac1 and Cdc42 activation triggers laterally propagating membrane protrusion. The response functions were also endowed with property of differentiator, which is beneficial for maintaining sensitivity under adaptation to the mean level of input. Using the response function, we could predict the morphological change from molecular activity, and its predictive performance provides a new quantitative measure of how much the Rho GTPases participate in the cell migration. Interestingly, we discovered distinct predictive performance of Rac1 and Cdc42 depending on the migration modes, indicating that Rac1 and Cdc42 contribute to persistent and random migration, respectively. Thus, our proposed predictive approach enabled us to uncover the hidden information processing rules of Rho GTPases in the cell migration.

[1] Distinct predictive performance of Rac1 and Cdc42 in cell migration. Yamao M., Naoki H., Kunida K., Aoki K., Matsuda M., Ishii S. *Scientific Reports*, srep17527 (2015). (1st and 2nd authors equally contributed.)

○間田 潤¹, 松家 敬介², 由良 文孝³, 時弘 哲治^{4,5,6}, 栗原 裕基^{5,6,7}

日大生産工¹, 武蔵野大², はこだて未来大³, 東大数理⁴, iBMath⁵, CREST⁶, 東大医学⁷

1. 概要

血管新生とは、生体内で既存の血管から新しい血管が分岐し血管網が構築される現象のことである。そして、この新しい血管は、血管内皮細胞の増殖と遊走によって形成される。本講演では、予備的な結果[1]を修正した、血管網が形成される様子を表す微分方程式モデルについて紹介するとともに、血管内皮細胞の細胞分裂や血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) の影響を加味した結果を提示する。

2. 微分方程式モデル

西山らによって行われた血管新生の実験[2,3](血管内皮細胞の核を蛍光色に染色し、血管新生における細胞の挙動を捉える)によると、

(1) 先端では内皮細胞の前方への動きは制限されている。

(2) 分岐はほとんど先端で生じる。

(3) 分枝は分岐によって2つ生成される(3つ以上ではない)。

このときの分枝のなす角度は約60°である。

(4) 分岐は先端部に細胞が集中したとき(混雑したとき)生じる。

(5) 細胞分裂はあまり見られない(1回の実験(約1日)で5%程度)。

であった。そこで、これらに対応する微分方程式モデルを構成し、モデルのシミュレーションによって血管の伸長・分岐のパラメータおよびVEGFなどの活性化因子依存性を考察したので報告したい[4]。

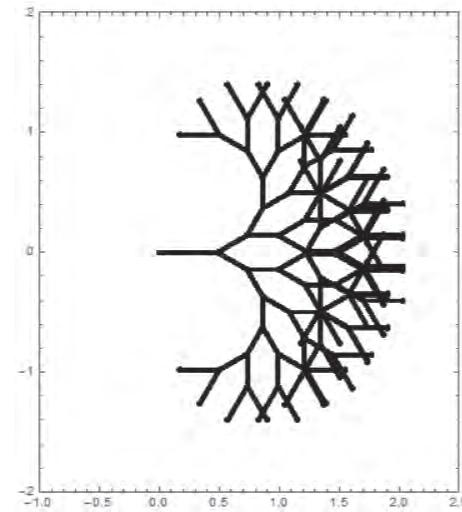


図 1. 血管分岐シミュレーションの一例

参考文献

[1] 松家敬介, 栗原裕基, 時弘哲治, ISSN 2188-286X (2015), pp.1-16.

[2] S. Arima, et al., Development **138** (2011), pp.4763-4776.

[3] K. Sugihara et al., Cell Reports **13** (2015), pp.1814-1827.

[4] 間田潤, 松家敬介, 由良文孝, 栗原裕基, 時弘哲治, 日本応用数学会論文誌(印刷中)

○真流玄武¹, 松田道行^{1,2}, 青木一洋³

京都大学大学院 生命科学研究科 高次生命科学専攻 生体制御学分野¹

京都大学大学院 医学研究科 病態生物医学²

京都大学大学院 医学研究科 生命動態システム科学拠点事業 時空間情報

イメージング拠点 生命動態制御研究室³

細胞は外界からの種々の刺激を細胞膜上の受容体で感知し、その情報を細胞内シグナル伝達分子へと伝えることにより細胞機能の恒常性を保っている。この細胞内シグナル伝達機構は要素間で活性を制御しあう複雑なネットワークを構成している。例えば細胞増殖シグナル伝達系であるRas/ERK経路と、細胞生存シグナル伝達系であるPI3K/Akt経路は互いに制御を行なうクロストークを有している。しかしながら、これらのシグナル伝達系がどのようなクロストークにより、細胞外からの刺激を処理し、細胞としての適切な表現型を誘導しているかは依然として明らかでない。この問題を解決するため、Ras/ERK経路とPI3K/Akt経路のシグナル、さらに細胞周期の情報を生細胞内で同時に測定する系を構築し、それぞれのシグナル活性の変化と細胞の表現型の関連性を明らかにすることを旨とした。ERK、Aktの活性を測定するために、これらのキナーゼからリン酸化される細胞核から細胞質へ移行するレポータータンパク質であるKinase translocation reporter (KTR) システムを用いた。ERK活性を測定するレポーターとして、ERKの基質であるElk1、細胞局在シグナルであるNuclear localization signalとNuclear export signalを人工的に組み合わせたERK-KTRが開発されていたが、Akt活性を評価できるレポーターは存在していなかった。そこで、本研究ではAktの基質として知られる転写因子FoxO3aのアミノ酸配列の一部を用いてAkt-KTRを作製した。Akt-KTRはAktが不活性化状態にあると核内に局在し、Aktが活性化状態にあるとリン酸化を受けて細胞質へと移行することを確認した。さらに阻害剤や経路特異的な活性化手法を用いた実験によりAkt-KTRの特異性を検証した。KTRと内在のタンパク質とのリン酸化状態の比較も行い、これらのレポーターの感度が十分に高いことが確かめられた。また、ERK-KTR、Akt-KTRとともに、細胞周期(S/G₂/M期)の進行度合いを評価できるレポーターを同時に観測したところ、細胞周期が進行することで基底状態のERKとAktの活性が高くなることを示唆する結果が得られた。本発表ではこれらの進捗状況について報告したい。

○Haruko Miura¹, Michiyuki Matsuda^{1,2}, Kazuhiro Aoki³

¹Laboratory of Bioimaging and Cell Signaling, Graduate School of Biostudies, Kyoto University

²Department of Pathology and Biology of Diseases, Graduate School of Medicine, Kyoto University

³Imaging Platform for Spatio-Temporal Information, Graduate School of Medicine, Kyoto University

Cells are frequently exposed to environmental stress signals. Individual cells differ widely in their responsiveness to even uniform stress stimuli, so called phenotypic heterogeneity. The cell fate decisions between survival and death are controlled by a wide range of signaling pathways such as the mitogen activated protein kinases (MAPKs). Although the contributions of the stress activated MAPKs, namely JNK and p38, to cell death have been in the center of interest for many years, it is still unclear when and how they regulate cell death at the single cell level. Here, we developed a multiplexed live-cell imaging system for simultaneous monitoring of JNK, p38, and caspase activities in single cells. Exposure to various stresses resulted in differential kinetics of JNK and p38 activation. Interestingly, p38 inhibition enhanced JNK activation and JNK inhibition reduced p38 activation, suggesting that p38 negatively regulated JNK, while JNK positively regulated p38. This crosstalk of p38 and JNK was also observed in DNA damage induced cell death. Upon Etoposide treatment, sustained p38 activity correlated with cell death, while transient JNK activation was occasionally seen in dying cells. Blocking p38, however, activated JNK in a sustained manner, leading to the accelerated cell death. The upstream kinase complex TAK1/TAB1 had been implicated in negative feedback control of MAPK signaling by p38. As expected, we found that Etoposide activated TAK1, and p38 inhibition further increased TAK1 activation. These results indicate that TAK1/TAB1 mediated negative feedback control of JNK by p38 might play a crucial role for the balance between life and death.

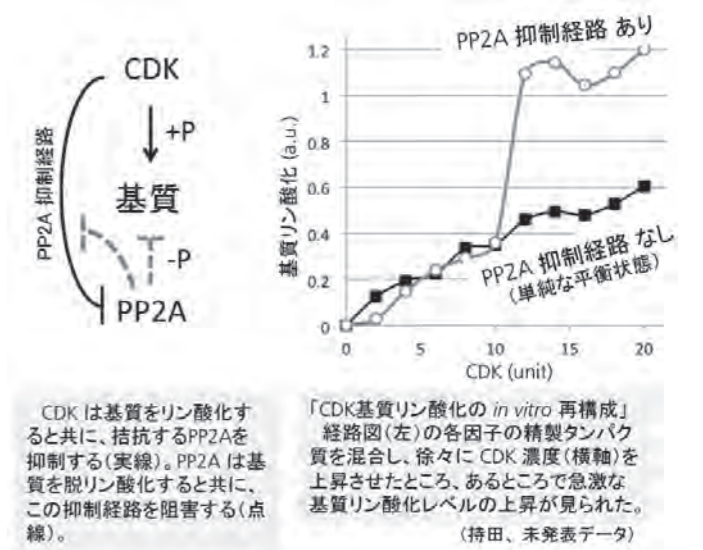
○持田悟¹, Scott Rata², Bela Novak², 永井健治³

熊本大学 大学院先導機構¹

Oxford University, UK²

大阪大学 産業科学研究所³

細胞は内外環境を感知してそれに応答するが、その過程で様々な活性分子を用いて高度な情報処理を行っている。閾値をもつ応答がその好例である。細胞分裂周期において、DNA を複製する間期とそれを娘細胞に分配する分裂期は時間的に明確に隔てられおり、その化学的基盤はサイクリン依存性キナーゼ (CDK) の基質のリン酸化レベルの違いである。CDK 活性化因子であるサイクリンは転写-翻訳を経て連続的に蓄積するにも関わらず、分裂期スタート時には基質リン酸化はむしろ急激に起こるため、基質リン酸化(応答)に対してCDK 活性(入力)に閾値が存在すると考えられている。我々はこれまでに (i) CDK活性の上昇に伴って(ii)CDK に拮抗する PP2A 活性が急激に低下することを発見したことから、(i) (ii)の和によって上記の急激なリン酸化が実現されているという仮説を提唱してきた(参考文献)。この仮説を検証するために CDK、PP2A、およびPP2A 活性制御因子の精製タンパク質を試験管内で混合したところ、CDK 活性がある値を越えると基質が急激にリン酸化されるという閾値応答を一部再現することに成功した(図参照)。この結果は、キナーゼとホスファターゼが協働することにより高次な情報処理を実行できることを示している。またこのCDK閾値を調節することで生物に見られる細胞周期長の変化(例えば中期胞胚遷移の前後では1細胞周期にかかる時間は大きく異なる)を実現しているという仮説についても議論したい。



CDKは基質をリン酸化すると共に、拮抗するPP2Aを抑制する(実線)。PP2Aは基質を脱リン酸化すると共に、この抑制経路を阻害する(点線)。

「CDK基質リン酸化の *in vitro* 再構成」
経路図(左)の各因子の精製タンパク質を混合し、徐々にCDK濃度(横軸)を上昇させたところ、あるところで急激な基質リン酸化レベルの上昇が見られた。(持田、未発表データ)

[参考文献]

Mochida et al.,(2010)Science,330:p1670

門田莉歩¹, 山中治², 栗津暁紀², 西森拓²広島大学理学部数学科¹広島大学理学研究科数理分子生命理学専攻²

アリやハチなどの社会性昆虫は、様々な仕事を集団で行っている。リーダーがいないにも関わらず統制がとれているその働き方には、興味深い特徴が多く見られる。特にアリの採餌行動に注目すると、エサの発見によって引き起こされる動員や[2]、個体ごとの採餌を行う頻度に差が生じる現象などが観察される[3]。本研究は、アリの採餌行動に対してこれら2つの現象を同時に再現できる数理モデルを構築することで、アリがどのような機構で採餌を行っているのかについて理解する事を目的とした。

モデルの構築は、反応閾値モデル[1]の概念を基にして行った。反応閾値モデルは、個々のアリが持つ閾値の違いによってタスクを行う頻度に個体差が出るような仕組みを持つ。しかし、エサの出現に対して動員が起こるような仕組みはこのモデルに無く、採餌行動に見られる動員[2]を再現するためには新たな機構を取り入れる必要がある。そこで今回構築した3つのモデルでは、反応閾値モデルを拡張し、アリが持つ閾値、コロニーで共有されるストレスおよび新しく定義したエサ情報などから、アリの行動を確率的に決定した。以下に、そのうち一つのモデルの結果を示す。

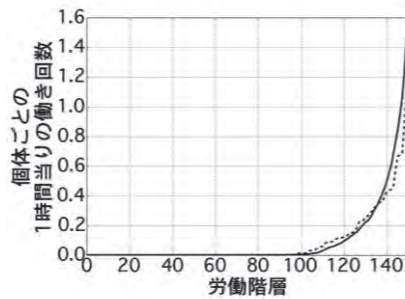


図1 働き頻度の階層化。実線がモデルの結果、点線が参考とした実験の結果[4]。

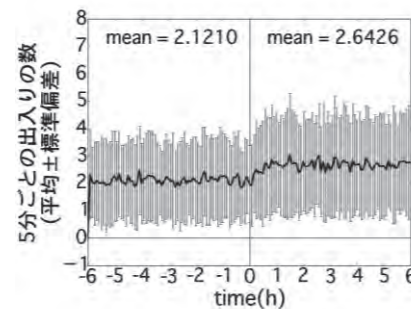


図2 モデルから得られた、エサを与える前後のアリの出入りの数。時刻0(h)にエサを与えた。

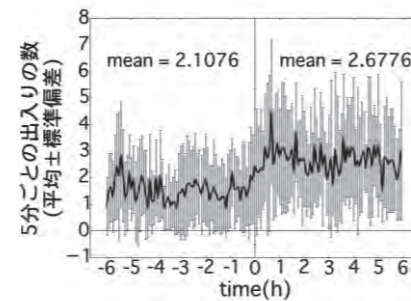


図3 実験から得られた、エサを与える前後のアリの出入りの数[4]。時刻0(h)にエサが与えられた。

[1] Bonabeau, E. et al. (1996)

[2] Jaffe, K., Howse, P.E. (1979)

[3] Prigogine, I. 本田財団レポート(1984)

[4] 山中 治: 広島大学修士論文 (2015)

○山名 築¹, 西森 拓^{1,2}, 栗津 暁紀^{1,2}広島大学 大学院 理学研究科¹広島大学 クロマチン動態数理研究拠点(RcMcD)²

転写の中心酵素であるRNAポリメラーゼは、通常、DNA上をスライドし、遺伝子領域の塩基配列を“適切に”認識しなければならない。

しかし、放射線や紫外線といった外的ダメージを受けることによって、DNAとタンパク質との間で共有結合を介する架橋が生じるDNA-protein cross-links(DPCs)損傷が発生する。このとき、T7ファージ由来のT7 RNAポリメラーゼ(T7 RNAP)は損傷箇所ではラップされ、後続のT7 RNAPとの渋滞が発生する。この時、渋滞したT7 RNAPが転写エラーを引き起こしやすいことが最近の実験によって明らかとなった。

[1]

そこで私たちは実験で明らかとなった、DPCによって渋滞したT7 RNAPが転写エラーを引き起こすメカニズムについて数理モデルを用いて理論的な側面から解析を行い、タンパク質の運動や機能、構造の関係性を考察した。

本研究では、DNAやmRNA、T7 RNAPの基準構造をProtein Data Bank(PDB code:1msw)から得た。それに加えて、DNAとクロスリンクを形成するタンパク質としてホルムアミドピリミジン(PDB code:1k82)の構造を用いて渋滞モデルを構築したが、その際に、前方のT7 RNAPとクロスリンクタンパク質との距離を変化させたモデルをいくつか構築し、その構造に対してエネルギー緩和を行った。そして、各モデルでの構造を比較することで、クロスリンクタンパク質の接近がもたらす前方のT7 RNAPの構造変化の影響を考察した。

[1] T.Nakano et.al, J.Biochem. 287(9), 6562-6572 (2012).

○山中治¹, 粟津 暁紀¹, 西森 拓広島大学大学院理学研究科¹

アリは生殖のみを行う個体(女王)と、生殖を行わず様々なタスクを分担する雌の個体(ワーカー)、および少数の雄の個体とで共同で生活を送る「社会性昆虫」である。彼女たちは周囲の状況を元に様々なタスクを柔軟にふり分け、コロニーが必要とするタスクをこなしている。コロニー内にはよく働くアリと働かないアリが存在しており、労働階層があると考えられているが、よく働くアリと働かないアリを二つの集団にわけて、別々に飼育すると、それぞれの集団において再びよく働くアリと働かないアリの階層に分れることも確かめられている[1]。しかし、これまで労働階層の時間変化やコロニーメンバーの変更がある際の労働階層の順位変化についての定量的な検証は十分でない。そこで我々は、アリの集団の中での、個体別の採餌行動を自動計測するために、各アリに微小チップを取付けた。具体的には、識別IDを持つRFID チップを各アリの背部に取り付け、図1の様に巣箱(NestSpace)と採餌場(ForagingSpace)をつなぐ経路上に各アリを識別する読取センサーを設置し、読取センサーを通過した時刻と個体の識別IDを記録していく。

このシステムを使って、複数のコロニーの採餌行動データを記録し、データ解析を試みた。今回の講演では、個々のアリの概日リズムについて、労働階層のデータと組合せた解析結果を報告する。

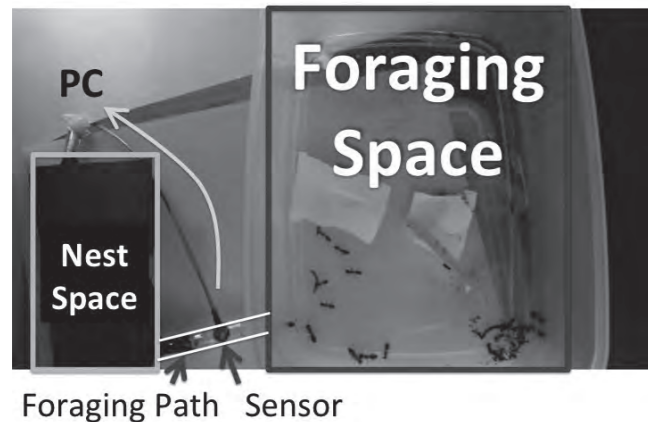


図1 実験の様子を真上から見た図

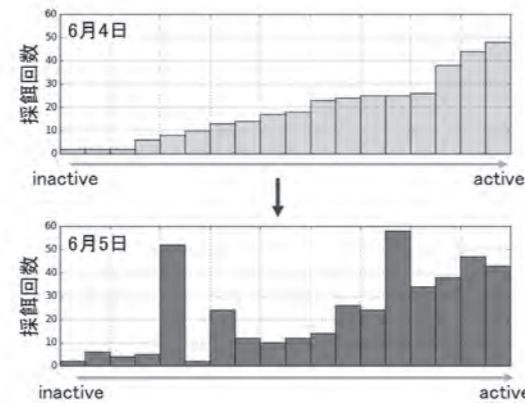


図2 労働回数のランキン

1] Ishii, Yasunori, and Eisuke Hasgeawa (2013). Journal of ethology 31, 61-69

○山中雅則¹日本大学理工学部物理学科¹

本研究[1]では、ランダム行列理論[2]を用いて蛋白質のやわらかさの定性的な評価を行った。具体的には、水溶液下における蛋白質の分子動力学計算を行い、その時系列データをランダム行列理論におけるカップリング形成の特征的な時間スケールの理論(characteristic-time scale of coupling-formation theory)を用いて解析を行った。具体的には時間スケールに依存する分散共分散行列を計算し、その固有値分布の時間スケール(Δt)依存性と、固有ベクトルの尖度(IPR:Inverse Participation Ratio)の時間スケール(Δt)依存性を考察した。

解析に用いたランダム行列理論は、数学と物理学において50年以上も精力的に行われている。ランダム行列とは乱数を成分とする行列のことである。ランダム行列は、固有値分布、アンフォルドされた固有値間隔、硬度、尖度などを指標として用いることで特徴付けられ分類される。もしも全ての原子が独立に完全にランダムな運動(たとえば熱運動)を行っている場合、原子座標の時系列データから作られる分散共分散行列はランダム行列となる。一方で、原子のランダムな熱運動の中に秩序運動や集団運動が含まれている場合、ランダム行列を特徴付ける指標がランダム行列から乖離することになる。この原理を用いて原子レベルにおける集団運動のダイナミクスについてクラスター解析を行うことが可能である。

本手法は任意の時系列解析に適用可能であり、蛋白質のダイナミクスに限らず、さまざまな分子種の生体内動態の時間変化などを解析することができる。

[1] M. Yamanaka, J. Phys. Soc. Jpn, 82, 083801 (2013), J. Phys. Soc. Jpn, 84, 063801 (2015).

[2] E.P.Wigner, Proc. Cambridge Philos. Soc. 47, 790 (1951); J. Dyson, J.Math. Phys. 3, 140 (1962); F.J. Dyson and M.L. Mehta, J. Math. Phys. 4, 701 (1963).

○山本 貴柁¹, 西森 拓^{1,2}, 粟津 暁紀^{1,2}

広島大学 大学院 理学研究科¹

広島大学 クロマチン動態数理研究拠点²

真核生物の染色体は、DNA が折り畳まれ組織化された高次クロマチン構造を持っていることが知られている。この高次構造によってクロマチンの動きは物理的制約を受けている一方、どの細胞周期においてもクロマチン構造は一定ではなく揺らいでいる。そして遺伝子座の核内での動態が、転写などの遺伝子発現制御に密接に関係していると考えられている。最も単純な真核生物である酵母の核内では、染色体が互いに絡まることなく領域分けされた「染色体テリトリー」と呼ばれる核内配置をしており、セントロメア領域はSPB(Spindle Pole Body)に結合しクラスターを形成している。さらに核内にはリボソームDNA(rDNA)やたんぱく質などにより作られる核小体が核の一部を占めている。最近の研究では、酵母の核内の静的な様相だけでなく動態の可視化も少しずつ可能になってきており、分裂酵母についてはSPB がダイナミックに動き、核小体との位置関係も一定ではないことが確認されている。[1]

そこで本研究では、酵母間期染色体の粗視化モデルを構築し、分子動力学シミュレーションを行うことで、間期におけるSPB と核小体の位置関係および各遺伝子座間の動的な相関を考察した。

参考文献

[1] KD Kim, et al. ,J Cell Sci. 126 5271-5283 (2013)

○Jon Young¹, Tetsuhiro S. Hatakeyama¹, Kunihiro Kaneko¹

¹The University of Tokyo

One of the most important properties of biochemical networks is robustness, the ability to maintain a certain state against perturbations. Different ideas of robustness, such as homeostasis and homeorhesis, have been developed over the years, and how insensitive a model is to parameter fluctuations is one way to validate a proposed biochemical network. However, little research has been done to determine how a given network can create an invariant temporal profile even though these dynamics do play a key role in cellular fates. It has been shown that the duration of a stimulus can elicit different phenotypic responses and that signal transduction networks can process and encode temporal information from its surroundings. Here we used mathematical modeling to investigate the problem of temporal invariance and used a common network motif as a test case. We examined the response duration of a three-stage linear signaling cascade post-stimulus and found that this duration is robust to perturbations in certain parameters. We mathematically analyzed a simple model of a linear cascade and determined how such robustness emerges in signaling networks. We found that the organization of the kinetics plays a crucial role, and that the duration of a cascade is mainly controlled by its rate-limiting module. In the faster modules, our results show that in certain parameter spaces, the phosphatase activity does not control the duration of the response.

○横田 亮^{1,2}, 小林 徹也^{1,2}

¹ 東京大学生産技術研究所

² 複雑生命システム動態研究教育拠点

概日リズムに依存的な遺伝子発現や cAMP 波に誘発されるキイロタマホコリカビの走化性に関与する細胞性シグナルを始めとして、細胞外の周期的な刺激に依存して振動する細胞内シグナルは様々な現象で観測される。しかし、感覚器や受容体などのセンシングシステムにより検知した情報には生体内の熱揺らぎや分子数揺らぎなどに起因する様々な確率的ノイズを含むため[1]、周期的な細胞外刺激の局所的な位相変化は単純な微分演算では抽出し得ないものになっている。このことから、細胞内システムでは受容体からより下流の情報処理において、このノイズの問題を補う機構が存在すると推察される。

このような問題に対し、我々は、これまでに逐次ベイズ推定を用いた外部シグナルの推定モデルを提案してきた[2,3]。本研究では、周期的に振動する外部刺激の位相を推定するモデルを構築し、幾つかの近似の下で統計パラメータのダイナミクスを記述してその動態について議論する。

[参考文献]

[1] L.S. Tsimring, Noise in biology. *Rep. Prog. Phys.* **77**, 026601 (2014).

[2] T.J. Kobayashi, Implementation of dynamic Bayesian decision making by intracellular kinetics. *Phys. Rev. Lett.* **104**, 228104 (2010).

[3] T.J. Kobayashi, Connection between noise-induced symmetry breaking and an information decoding function for intracellular networks. *Phys. Rev. Lett.* **106**, 228101 (2011).

○Mai Wakimoto¹, Fumiyoshi Ishidate², Takahiro Fujiwara², Hiroki Kato¹, Takashi Fujita¹

¹ Institute for Virus Research, Kyoto University,

² Center for Meso-Bio Single-Molecule Imaging (CeMI)

The host signaling adaptor protein IPS-1 is essential to regulate antiviral response to RNA virus infection. IPS-1, composed of the N-terminal cascade activation and recruitment domain (CARD), and a C-terminal transmembrane domain, is anchored on the mitochondrial outer membrane. During RNA virus infection, cytoplasmic viral sensors recognize pathogens and signal through the CARD of IPS-1, and finally generate effector cytokines, such as type I interferon (IFN), to combat viral infections. Interestingly, different localization of IPS-1 impacts upon its function and IFN signaling. Furthermore, our laboratory previously found that IPS-1 signaling cascade induced significant aggregation of IPS-1 on the mitochondria and it was controlled by mitochondrial fusion and fission. Therefore, several lines of evidence indicate that mitochondria contribute to the IFN-signaling platform. How mitochondrial dynamics regulates IPS-1, however, is still unknown.

For my research, I focus on the dynamics of IPS-1 on mitochondria during virus infection. In uninfected cells, almost all mitochondria exhibits a filamentous ellipsoid structure and are dispersed throughout the cytoplasm. In addition, IPS-1 is uniformly localized across the membrane of each mitochondria. By contrast, within infected cells we ascertained that the mitochondrial structure changes. Mitochondria developed a more fragmented and condensed structure. Using a confocal microscope it was detected that IPS-1 gradually congregated at the site of these deformed mitochondria and form aggregation. When we examined the detailed structure of this aggregation using an ultra-high-resolution microscope, it was discerned that there was increased overlapping of individual altered mitochondria at mitochondrial membrane. Furthermore, it was observed that IPS-1 was erratically localized along the membrane of several mitochondria rather than the uniform distribution noted in uninfected cells. This newly revealed IPS-1 localization could not be observed when the cells were fixed or even by using normal confocal microscopy. Until now, we thought that, after stimulation, IPS-1 accumulated at some points on the mitochondria and aggregated to accelerate signaling. Our new observation, on the other hand, suggests that IPS-1 distributes itself along one side of the mitochondrial membrane to induce a signaling cascade. Therefore, we're analyzing the difference between the active and inactive dynamics of IPS-1 via studying the mitochondria during the antiviral response.

The S138A mutation in the Human Pin1 causes the disturbed hydrogen bond through the allosteric communication

Jing Wang², Naoya Tochio², Ryosuke Kawasaki¹, Arif UR Rashid¹,
Jun-ichi Uewaki¹, and Shin-ichi Tate^{1,2}

¹Dept. Math. and Life Sciences, Hiroshima University

²Research Center for the Mathematics on Chromatin Live Dynamics (RcMcD)

Pin1 is a unique enzyme that specifically catalyzes the *cis-trans* isomerization of pSer/pThr-Pro motifs[1]. The isomerase activity of Pin1 can be regulated by the domain interaction between the domain interface and the distal active site.

S138, which located within the inter-domain interface, is apart from the active site of human Pin1 PPIase. S138E mutant increased the isomerase activity while S138A decreased the activity [2]. To facilitate our understanding of the Pin1 activity regulation mechanism through the inter-domain interaction, we employed a S138A mutant and compared the structure and dynamics with the wild type. We found that the S138A mutant disturbed the hydrogen bonds between the conserved histidine residues, H59 and H157. H59 form a stable hydrogen bond to H157 and a weaken bond to C113 in the wild type [3, 4], whereas in the S138A mutant it has strong hydrogen bonds to H157 and C113 (Fig.1). The hydrogen bond unbalance caused by the S138 mutation could be the reason for the reduced activity and stabilized structure of Pin1 PPIase. In the presentation, we are going to discuss how the structural and functional roles of the C113 associated hydrogen bonding rearrangements.

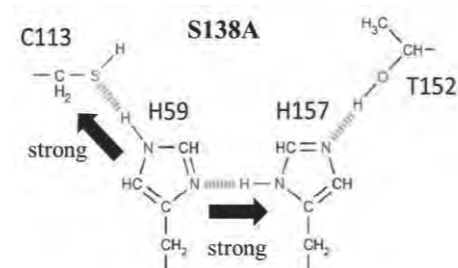


Fig1. Hydrogen bond network for H59 in the S138A mutant

Memo

[1] Esnault S et al., *Critical Reviews in Immunology*, 28, 45-60 (2008)

[2] Rangasamy V et al., *PNAS*, 21, 8149-8154 (2012).

[3] Xu N et al., *Biochemistry*, 53, 5568-5578 (2014).

[4] Wang J et al., *Biochemistry*, 54, 5242-5253 (2015).

「生命動態の
分子メカニズム
と数理」



国立研究開発法人 日本医療研究開発機構
医療研究開発推進事業費補助金
創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業
生命動態システム科学推進拠点事業
核内クロマチン・ライブダイナミクスの数理解点形成

広島大学クロマチン動態数理研究拠点
Research Center for the Mathematics on Chromatin Live Dynamics (RcMcD), Hiroshima University

〒739-8530
広島県東広島市鏡山 1-3-1 先端科学総合研究棟 402S(4)
TEL/FAX: 082-424-7898
<http://www.mls.sci.hiroshima-u.ac.jp/chrom/ja/index.html>