

科研費
KAKENHI

学術変革領域研究(A)

Molecular Cybernetics NewsLetter

分子サイバネティクス ニュースレター

第13号
vol.13

2024.03

研究最前線

特集：2023 年度修論・卒論紹介

リレーエッセイ



Molecular
Cybernetics

論文情報

著 者：Takashi Nakakuki, Masato Toyonari, Kaori Aso, Keiji Murayama, Hiroyuki Asanuma, and Tom F. A. de Greef

タイトル：DNA Reaction System That Acquires Classical Conditioning

雑 誌：ACS Synthetic Biology, 2024 13 (2), 521-529 (DOI: 10.1021/acssynbio.3c00459)

論文の紹介

分子間の基本的な反応機構を巧みに組み合わせることで、可塑的な適応能力を内在する分子反応ネットワークを構築することが原理的に可能であることが明らかになってきた。この能力は、タンパク質のような機能性高分子が持つ能力だけに起因するものではなく、分子反応ネットワークにおいて普遍的に成り立つ能力でもある。分子反応ネットワークが持つ環境への可塑的な適応性がどのような原理に基づいて獲得されるのかという基本的な問いは、システム生物学を超えて、分子反応ネットワークを扱う諸分野における重要な課題となっている。

近年の DNA ナノテクノロジーの進展により、人工的に合成された核酸を用いて様々な機能を持つ分子反応ネットワークを構築することで、分子反応ネットワークの動作原理を探究する方法論が可能となった。可塑的な適応能力を持つシステムは、記憶と学習能力を持つシステムとも言え、過去 10 年に渡って DNA コンピューティング分野において活発に研究されてきた。これらの先行研究の主眼は、学習機構として確立しているニューラルネットワークなどの機械学習アルゴリズムを DNA 回路上に実装しようとする挑戦であり、基本的な学習課題がシミュレーションや実験において検証されている。一方で、分子反応系が持つ特性を活かした単純な機構で記憶と学習能力を持つ DNA 回路の設計も探究されている。ここで、入力刺激の履歴（種類やタイミング）に応じて回路機能を変化させる動作原理が提案されており、分子反応系のダイナミクスに新たな多様性を与える可能性を秘めている。しかしながら、記憶と学習能力への拡張、すなわち、繰り返し印加される入力を記憶し、その履歴に応じて適切に回路機能を変化させる学習課題に関しては、現在においても様々な設計法が模索されている。

本研究では、可塑的な適応能力を内在する分子反応ネットワークの動作原理の探究を目指し、記憶と学習能力を持つ分子反応ネットワークの実現方法に取り組む。具体的には、古典的条件付けを獲得する分子反応ネットワークを構築する。

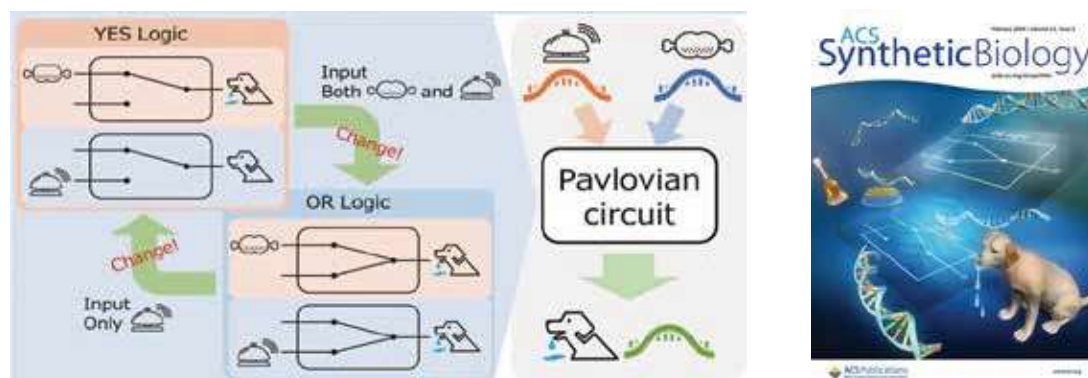


図 1 初期状態で YES 回路として機能するが、“肉”入力と“ベル”入力を同時に印加することで、OR 回路へと変化する。

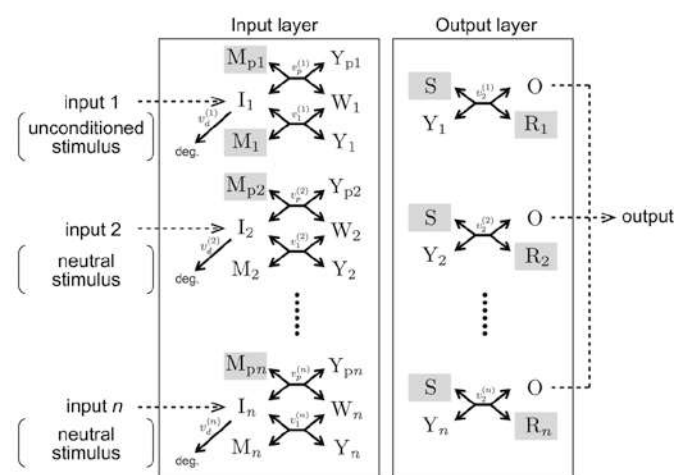


図 2

他入力系への拡張：本研究で提案する設計法は他入力系へも拡張が可能である。反応系には、無条件刺激によるシグナル伝達に伴って生成される“報酬”シグナルが存在する。報酬シグナルが存在する時間帯において、中性刺激が与えられると報酬を利用して入出力間に新たなパスウェイが作られる。

著者情報

中 茎 隆

Takashi Nakakuki

九州工業大学



ラクトソームと pre-miR-664a を組み合わせた 光依存的な高効率アポトーシス誘導法の開発

氏 名：宮本 麻衣

所 属：岡山大学大学院ヘルスシステム統合科学研究科

指導教員：渡邊 和則、大槻 高史



論文の紹介

マイクロ RNA (miRNA) は、ヒトの生体内に 2000 種類以上存在する長さ 19 ~ 25 塩基の低分子非翻訳 RNA である。miRNA は Argonaute を含む RNA 誘導サイレンシング複合体に取り込まれ、標的 mRNA の 3' 非翻訳領域と不完全相補塩基対を形成し、遺伝子発現を抑制することで、細胞増殖や発生、細胞分化、アポトーシスなど数多くの生体機能を制御する。そのような miRNA の活性を利用すると、たとえばアポトーシス誘導により、がん治療に役立てることが可能である。当研究室では、miR-664a の前駆体である pre-miR-664a がアポトーシス誘導能を持つことを見出し、光応答性キャリアタンパク質を用いてこの RNA をヒト培養細胞に導入することでアポトーシス誘導ができることを明らかにしている (Watanabe et al, Sci. Rep, 2021)。

本研究では、生分解性を持つ両親媒性ポリマー (ポリサルコシンとポリ乳酸部分をもつ (PSar)₃-PLLA) を基材とするミセル「ラクトソーム」に、細胞膜透過性ペプチド (L7-EB1) および光増感剤を搭載した形状のキャリア (図 1) (Lim, Ohtsuki, Matsuura et al, J. Pharm. Sci. 2021) により、pre-miR-664a の光依存的な送達する方法を開発した。ラクトソームは数十ナノメートルのミセル粒子であり、EPR 効果により腫瘍組織に集積することが報告されている。本研究ではその先の細胞質内導入に注目し、キャリア・RNA 複合体のエンドサイトーシスの後に、光照射時に光増感剤から生成する一重項酸素により pre-miR-664a の細胞質内移行 (エンドソーム脱出) が起こる機構 (図 2) を想定している。このように導入した pre-miR-664a によるアポトーシスと、光増感剤の励起に基づく細胞死誘導 (PDT) 効果の 2 つのルート (図 2) でがん細胞の細胞死を導くことで、高効率なアポトーシス誘導法の開発を試みた。

まず、pre-miRNA、L7-EB1、および光増感剤として TPFPP を搭載したラクトソーム複合体を作製し、アポトーシスを誘導するか検証したところ、光照射強度 2 J/cm² において pre-miR-664a と pre-miR-control をそれぞれ投与した細胞群でその死細胞率に大きな差がみられた。また、光照射強度 2 J/cm² において TPFPP を搭載していないラクトソーム複合体と比較した結果、pre-miR-664a と TPFPP を搭載したラクトソーム複合体において高効率なアポトーシス誘導が確認された。次に、生体組織透過性の高い近赤外光で励起する Indocyanine green (ICG) を光増感剤として搭載したラクトソーム複合体を用いて、近赤外光依存的に細胞死が誘導されるか検証したところ、ICG 終濃度 1.0 μM において pre-miR-664a と ICG を搭載したラクトソーム複合体による高効率なアポトーシス誘導が確認された (図 3)。今後は ICG を用いたラクトソーム複合体において in vivo での有効性を検証していきたい。また pre-miR-664a のアポトーシス誘導経路は現在判明していないため、ICG は光温熱療法 (PTT) での有効性も報告されている。そのため、pre-miR-664a と ICG を用いたラクトソーム複合体の細胞死誘導経路の解明も同時に行う予定である。



図 1 光増感剤として (a)TPFPF, (b)ICG を用いたラクトソーム複合体の構造



図 2 想定されるラクトソーム複合体の細胞内挙動

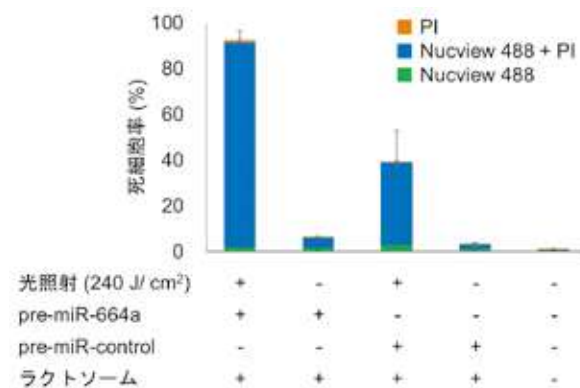


図 3

光増感剤として ICG を用いたラクトソーム複合体による細胞死誘導の結果、pre-miR-control は機能を持たない RNA。アポトーシスおよび細胞死は Nucview488 と Propidium iodide (PI) を用いて検出した。

将来の抱負

卒業後は一般企業で研究開発に携わる予定です。大学院での学びや研究で得た知識や技術を活かし、多くの人の生活も心も豊かにできるようなモノを創りたいです。自立した大人にちゃんとなれるよう、頑張りたいと思います。

アルキルアンカー修飾人工ウイルスキャプシドによる ジャイアントリポソームからの出芽

氏 名：平原 未海

所 属：鳥取大学大学院 持続性社会創成科学研究科 工学専攻 化学バイオコース

指導教員：松浦 和則



論文の紹介

ウイルスは、自身のゲノム核酸の周りをキャプシドタンパク質で被覆されたヌクレオキャプシド構造を有する直径 20~250 nm 程度の感染性超分子集合体であり、宿主細胞内で自己増殖した後に、次の宿主へ感染するために細胞膜外に「出芽」する。ウイルス出芽の際には、各種シグナルタンパク質を介した細胞膜周辺でのキャプシドタンパク質の自己集合により、膜をエンベロープとして纏って細胞外に放出される。しかしこれまで、このような膜上での自己集合により膜から「出芽」する人工ウイルス分子システムを構築した例は全くない。近年、自己集合性タンパク質・ペプチドを人工的に設計することで、ウイルス類似ナノカプセルを構築することが可能となってきた。当研究室では、Tomato bushy stunt virus 由来の 24 残基 β -Annulus ペプチドを水中で自己集合させることで、直径 30 ~ 50 nm の人工ウイルスキャプシドを創製し、ゲスト分子内包や機能分子修飾を達成してきた。また最近、表面がアニオン性の人工ウイルスキャプシドとカチオン性脂質二分子膜の複合化により、エンベロープ型人工ウイルスレプリカの構築に成功している。

本研究では、ジャイアントリポソーム (GUV) 内外へと出芽する人工ウイルスキャプシドを創製するために、キャプシドの外部に配向する C 末端側にアルキル鎖を修飾した β -Annulus ペプチドの自己集合により、アルキルアンカーを外部表面に有する人工ウイルスキャプシドを構築した (Fig. 1)。ペプチドの C 末端側に Cys を有する β -Annulus-Cys ペプチドを Fmoc 固相法により合成した。Cys 側鎖の SH 基とのジスルフィド交換反応により C 末端側に octyl 鎖を有する β -Annulus-SS-octyl ペプチドを合成した。エマルジョン界面通過法により、POPC と蛍光脂質 NBD-PE からなる GUV を作製し、GUV 外部と内部にそれぞれアルキルアンカーを有する TMR ラベル人工ウイルスキャプシドを添加し、GUV の形態変化を CLSM および TEM 観察した。GUV のみでは、球状構造が観察された (Fig. 2A) のに対し、GUV 外側にアルキルアンカー修飾キャプシドを添加した場合、GUV の内部にペプチド由来の TMR 蛍光を含む小胞が CLSM で観察され、TEM からも GUV 内へキャプシドが出芽しているような像が得られた (Fig. 2B)。また、内側に添加した場合、GUV の周りに小胞が連なっている様子が CLSM で確認され、TEM からも GUV からキャプシドが外側へ出芽していると思われる像が得られた (Fig. 2C)。以上の結果により、GUV 内部・外部のそれぞれにアルキルアンカー修飾キャプシドを添加することにより、GUV の変形が誘起され、膜から出芽する人工ウイルスシステムを創製することに成功した。

本成果について、第 72 回高分子討論会において高分子学会優秀ポスター賞を、第 11 回日本化学会中国四国支部大会 (山口大会) においてポスター賞を受賞した。

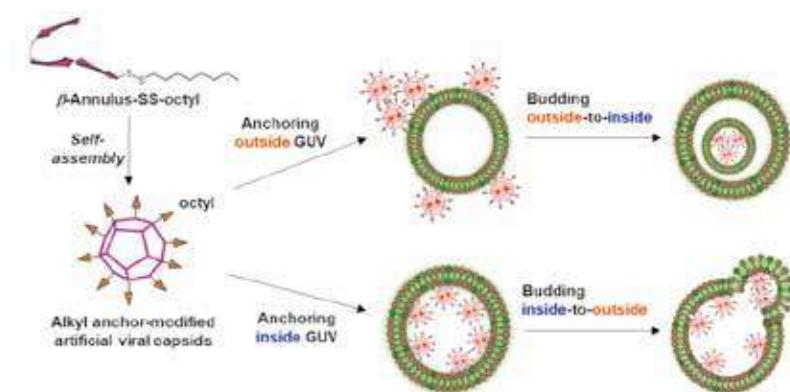


Fig. 1

Schematic illustration of artificial viral capsid with alkyl anchor budding outside-to-inside and inside-to-outside of giant unilamellar vesicle (GUV).

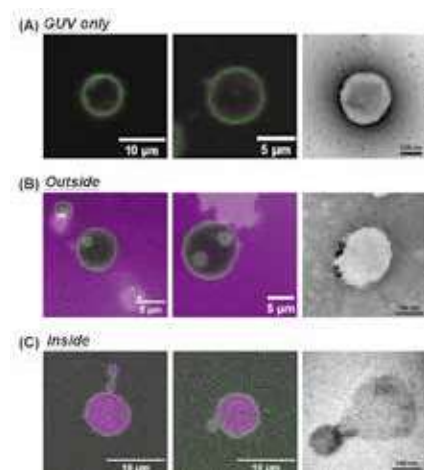


Fig. 2

CLSM and TEM images of GUV before (A) and after added artificial viral capsid with alkyl anchor inside (B) and outside (C) of the GUV.

mRNA の 5' - 非翻訳領域を対象とした光による遺伝子発現制御

氏 名：佐久間 啓

所 属：北陸先端科学技術大学院大学 バイオ機能医工学研究領域

指導教員：藤本 健造



論文の紹介

核酸医薬は DNA および RNA に直接作用することが可能であり、それ故に抗体医薬では治療が困難とされていた遺伝子疾患由来の疫病治療等に有効ではと期待されている。既に核酸医薬の一つとしてアンチセンス核酸医薬が知られており、mRNA と相補鎖となるオリゴ核酸 (ODN) を導入し互いにハイブリダイズさせることで翻訳領域とリボソームとの結合を阻害し、遺伝子発現を抑制することで薬効を発現している。また核酸医薬を用いた遺伝子治療では上述に従い悪性の蛋白質の発現抑制をおこなうが、同時に良性の蛋白質の発現を促進することも重要である。一方で、本研究室で開発された光応答性核酸素子 3-cyanovinyl carbazole nucleoside (^{CNV}K) を含む人工核酸を用いると、照射波長 385nm の光照射で秒単位で相補鎖内のピリミジン塩基と選択的に架橋することが可能であり、GFP-Hela 細胞を用いた GFP を対象とした光架橋素子 (^{CNV}K) を含む人工核酸を用いたアンチセンス効果について確認済みであり、光架橋素子の種類及び照射エネルギーにより GFP の発現を光を用いて自在に抑制できることを実証済みである。そこで本修士論文研究では「光抑制するのではなく特定の蛋白質の発現を光を用いて促進できないか？」と考え研究を進めることとした。着目したのは既に遺伝子発現を抑制方向に制御する機能が明らかになっていた 5' - 非翻訳領域 (5' UTR) という配列である。この抑制に寄与していた 5' UTR に対してアンチセンス法を用いることにより、遺伝子発現抑制機能を光阻害できれば、結果的に特定の遺伝子発現の促進に繋がると考えた (図 1)。

本研究では、HEK293 細胞における β アクチン蛋白質の 5' UTR を対象とし、その配列に対して相補鎖となる ^{CNV}K 含有アンチセンス ODN Probe を用いることで、光による β アクチン発現の促進が可能か調査した (図 2)。HEK293 細胞に対し、合成した光応答性人工 ODN をリポフェクトアミン RNAiMAX を用い細胞内に導入し、385 nm の光照射をおこなった。細胞は光照射後 5h インキュベーションしたものを採取し、ウエスタンブロッティングにより β アクチンの発現量を内部標準タンパク GAPDH の発現量と蛍光比率を用いて比較することにより評価した。図 3 に β アクチンと GAPDH の相対蛍光比率を用いてアンチセンス効果を比較した結果を示す Probe 1, 3, 4 を導入したサンプルでは 50 pmol 導入した場合が 3 倍の蛍光比率となり、特定の蛋白質の発現を光を用いて促進できることを確認した。

細胞骨格に関与するタンパク質の発現量を光を用いて増大させることに成功しており、本アプローチが人工核酸と光を用いることで通常の細胞の機能を時空間リモート制御できる様な研究に繋がっていけば面白いのではと考えている。



図 1 光を用いた遺伝子発現促進

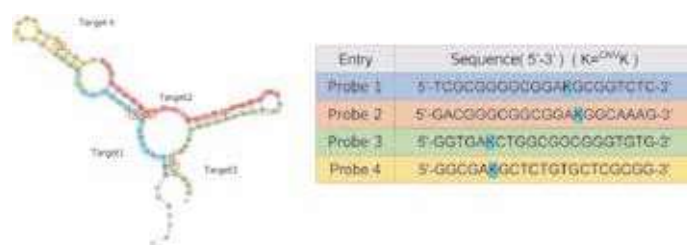


図 2 β アクチン 5' UTR 配列及び人工核酸プローブ配列

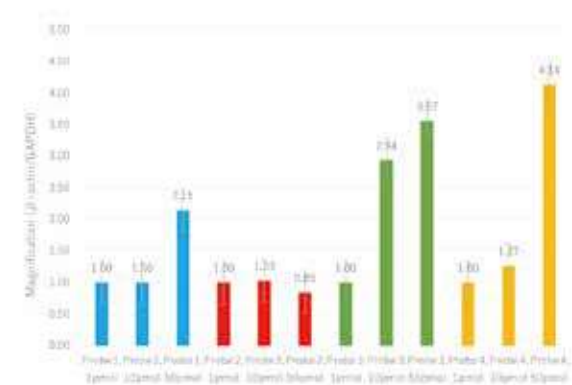


図 3 β アクチン発現量の光制御



修論発表後の写真：右から 3 人目が佐久間さん

注：本原稿は JAIST 修論発表会要旨 (佐久間) に対して一部藤本が改訂しています。

強化学習による繊毛の協調運動の解析

氏 名：中野 翔太

所 属：大阪大学基礎工学部機械科学コース

指導教員：松永 大樹



論文の紹介

近年、微小流体デバイスなど Lab-on-a-chip 技術の発展によりマイクロ・ナノスケールで動作するアクチュエータのニーズが高まっており、マイクロスケールでの流体輸送を実現するため、例えば自然界で見られる繊毛を模したマイクロスケールでの人工繊毛の開発が盛んに行われている。流体力学的観点より、一般に小さいスケールの流体の輸送は困難とされているが、その理由としては単純な往復運動では正味の流量を生み出すことができないことが挙げられる。マイクロスケールのデバイスは代表長さがとても小さいため Reynolds 数が小さいこの特殊な環境下で流体を輸送するためには往路と復路が異なるヒステリシスを有する動作が必要となる。このため、自然界における繊毛は伸びた状態で基部のみが曲がる動き（有効打；effective stroke）と中央部を屈曲させながら戻る動き（回復打；recovery stroke）の 2 相の動きを周期的に繰り返すことで小さいスケールにおける流体輸送を実現している。前述の特殊性から流量を最大化するような最適な繊毛の動きや性質は未解明である。そこで本研究では繊毛をばね・ビーズでモデル化し、流量を最大化するように強化学習を行い繊毛モデルの性質や繊毛の協調運動による流量の影響を調べ、人工繊毛の開発に向けた流動の解析手法や最適な動作パターンを調査した。

本研究で用いた 3 つの微小球からなる繊毛モデルを図 1a に示す。微小球は伸縮ばね（図 1b）により連結され、各関節には曲げばね（図 1c）があり、この二つのばねにより自然長・自然角度へと復元する。これらのパッシブな機構に加え、アクティブなトルク（図 1d）による曲げの発生により繊毛打を実現する。本モデルより各微小球に働く力を求め、滑りなし条件に則した Green 関数である Blakelet を用いて繊毛打に依る速度場・流量を求めた。流量を最大化する繊毛打を探索するため、本研究ではビーズの位置と速度を状態、アクティブなトルクを行動、 $+x$ 方向の流量を報酬として強化学習を行った。

図 2-3 ($z=0$ は滑りなしの壁面) に強化学習により獲得した流量を最大化する繊毛打の 1 周期の軌跡（時系列順に赤色→青色）を示す。自然界の繊毛でも見られる壁から離れた軌道で下流方向に駆動する有効打と壁に近い軌道で上流方向に駆動する回復打を獲得した。繊毛が硬い（図 2）ときは小さな軌跡で繊毛打周波数が早い一方、繊毛が柔らかい場合（図 3）は大きな軌跡で周波数が遅かった。流量を最大化するには繊毛打の軌跡をより大きく、繊毛打周波数をより早くすることが必要となるが、これらはトレードオフの関係にありその積を最大化する動作は自明ではない。図 2-3 に示す繊毛打は、与えられた関節の可動域内で流量を最大化する戦略を獲得したことにより異なる軌跡を描いたと考えられる。続いて、繊毛間距離が繊毛長となるように 2 本の繊毛モデルを配置して学習を行い、獲得した繊毛打を図 4 に示す。1 本の場合と同様の繊毛打を獲得したが、興味深いことに 2 本の繊毛は約 $\pi/2$ の位相差で繊毛打を行っていることがわかる。このように複数の繊毛が同一周期のもとで位相差をつけて繊毛打する様子は自然界の繊毛集団でも観察される現象（メタクロナル波；metachronal wave）であり、この現象に類似した協調運動であると言える。2 本の繊毛打により生み出される流量は 1 本の場合と比べて 2 倍以上となるため、2 本の協調運動により大きな流量を獲得できたと指摘できる。

以上の結果より、繊毛の協調運動を最適化することにより流量を向上させることができる可能性が示唆された。本卒論では 2 本までの繊毛モデルの解析に留まっているが、今後はこれを N 体へと拡張し多体の繊毛が織り成す協調運動による流量向上のメカニズムの解明を目指す。本研究の成果は人工繊毛による効率的な流体輸送の方法を提案するだけでなく、自然界における繊毛の協調運動のメカニズム・効率を理解するための基盤となることを期待している。

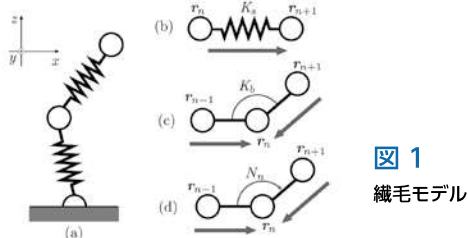


図 1
繊毛モデル

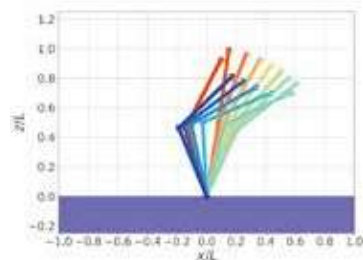


図 2
繊毛が硬い時の繊毛打の軌跡
（時系列 赤→青）

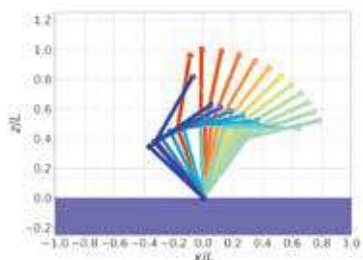


図 3
繊毛が柔らかい時の繊毛打の軌跡
（時系列 赤→青）

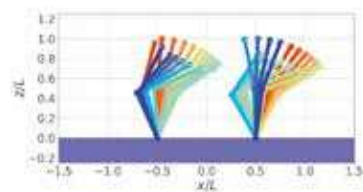


図 4
繊毛が硬いときの、二本における
繊毛打の軌跡（時系列 赤→青）

将来の抱負

私は数年前に BIOMOD に参加し分子ロボットに興味を持ち、将来は自由自在に動く分子ロボットを開発したいです。目標に向けて卒業研究ではアクチュエータに活用できそうな繊毛の解析をしました。修士では繊毛を複数本かつ二次元的な配置に拡張して更なる協調運動のメカニズム解明に取り組みます。今後も分子サイバネティクスでの活動を通し様々な方と交流したいと考えています。

エネルギー代謝調節におけるインスリン抵抗性と 2 型糖尿病の疾患予測シミュレーション

氏 名：江藤 大輔

所 属：九州工業大学情報工学府情報創成工学専攻

指導教員：中 荃 隆



論文の紹介

生体内における代謝は、複雑な臓器間ネットワークによって制御されている [1]。しかし、近年メタボリックシンドロームが引き起こす様々な病態は、この臓器間ネットワークによる調節系（以後、複雑臓器制御系）の機能不全に起因していることが明らかになってきており、複雑臓器制御系を数値モデルに基づくシステム論の観点から理解しようとする研究が注目されている。複雑臓器制御系は、血液中因子を介した臓器間ネットワーク、細胞内シグナル伝達ネットワーク、遺伝子転写調節ネットワーク、脳と臓器間を繋ぐ末梢神経からなる神経ネットワークが相互にリンクした階層的な構造を持つ。近年、多臓器（肝臓、骨格筋、脂肪組織、小腸、心臓、脳）間での代謝経路を含めた網羅的で大規模な数値モデルが提案された [2]。このような大規模モデルに適用できるモデルベース解析の手法は様々あるが、低次元モデルが望ましく、現状では適切な数値モデルはほとんどないのが現状である。

本研究では、複雑臓器制御系の網羅性を維持しつつ、適度に単純化・抽象化された低次元数値モデルを提案した（図 1）。具体的には、文献 [2] で構築された 202 次元非線形微分方程式モデル（状態変数 202 個、反応速度パラメータ 217 個）に対して、21 次元非線形モデル（状態変数 21 個、反応速度パラメータ 47 個）の提案である。本提案モデルは、3 臓器（肝臓、骨格筋、脂肪組織）に着目し、血液内のグルコース、VLDL、脂肪酸、グリセロールを介して相互に接続されている。任意の濃度量の目標値を設定するため、反積分フィードバック制御（AIF 制御：Antithetic Integral Feedback Control）[3] を適用し、数値モデルに対して臨床データに基づいてパラメータ推定を行った。また、健康状態に対するインスリン抵抗性（IR）と 2 型糖尿病（T2DM）の予測シミュレーションも行った。本研究の成果は、先行研究より優位な結果を得ることができ、血中 FFA および肝臓内グリコーゲンをはじめとした各代謝物をうまく表現し、誤差範囲を最小限に抑えた。同様に、図 3B および図 3C は臨床データを巧みに表現し、47 の反応速度や AIF 制御器の値を適度に調節することで疾患予測シミュレーションが容易に表現可能となった。したがって、本研究により、図 1 のような各臓器の分子機構を統合した仮想代謝人体モデルの提示は、様々な生理機能や代謝機能を再現可能なことを結論付けた。

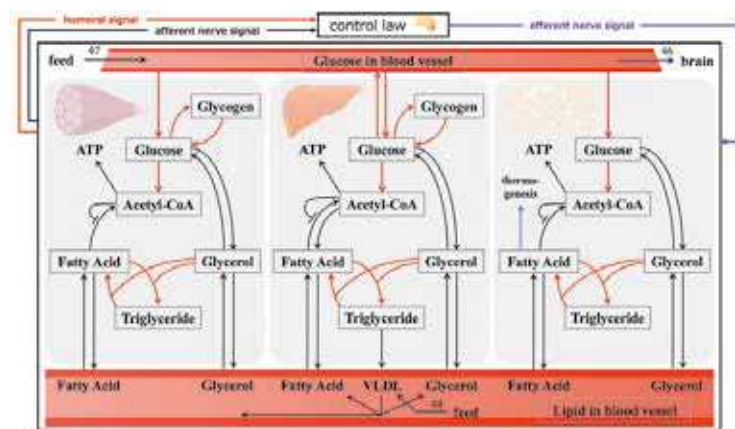


図 1 肝臓、骨格筋、脂肪組織による統合モデル

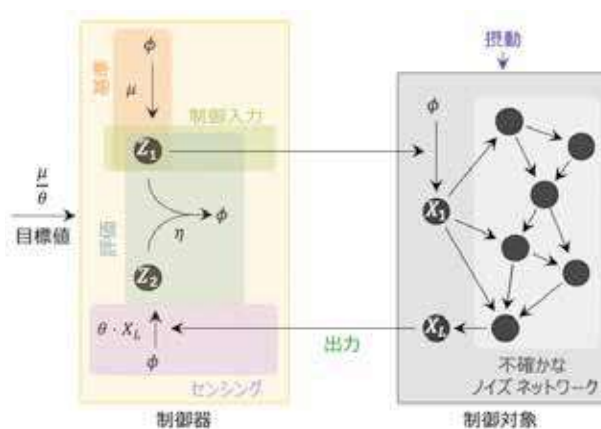


図 2 AIF 制御

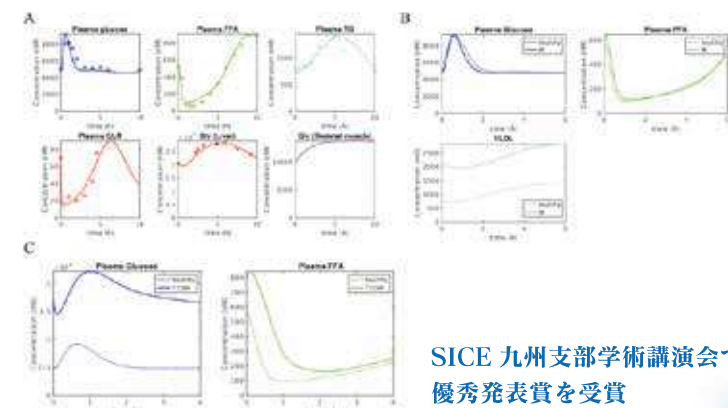


図 3 疾患予測推定結果（A：健康者，B：IR，C：T2DM）

SICE 九州支部学術講演会で
優秀発表賞を受賞

参考文献

- [1] A. Droujinine, N. Perrimon, "Defining the inter-organ communication network: systemic coordination of organismal cellular processes under homeostasis and localized stress," *Front Cell Infect Microbiol.*, 3, 82, 2013.
- [2] H. Kurata, "Virtual metabolic human dynamic model for pathological analysis and therapy design for diabetes", *iScience*, 24, 2, 102101, 2021.
- [3] C. Briat, A. Gupta, M. Khammash, "Antithetic Integral Feedback Ensures Robust Perfect Adaptation in Noisy Biomolecular Networks," *Cell Systems*, 2, 1, 15-26, 2016.

人工細胞の指向性運動を実現する方法に関する研究

氏 名：中島 大地

所 属：東北大学 工学研究科 ロボティクス専攻

指導教員：野村 慎一郎



論文の紹介

細胞運動は、捕食や生殖など、生命システムにおいて最も重要な機能のひとつである。動物細胞や単細胞アメーバを含む多くの真核細胞は、動的なアクチンネットワークを使って固体表面を這い回るが、這い回り運動には細胞前方でのアクチンの重合による力発生が重要な役割を果たしている。このようなアクチン重合に基づく這い回り運動のメカニズムを構成的に理解するために、研究室では、巨大一枚膜小胞（GUV）内のアクチン重合を可逆的かつ非対称的に操作する光誘導システムを開発し、アクチン重合の力発生によって GUV を運動させる実験系の構築を目指してきた。具体的には、青色光依存的に結合する光応答性タンパク質を用い、アクチンの重合を促進する核形成促進因子（NPFs）を GUV 膜上の局所に集積したところ、青色レーザーの照射方向に GUV が運動することが確認された（図 1-1）。しかし、レーザー照射後、GUV の運動は途中で停止し、GUV 一つ分以上の距離を移動する持続的な運動には至らなかった。

そこで本研究では、人工細胞の持続的な運動を実現する方法を見つけ出すことを目標とした。特に、ガラス基板の接着強度と 2) 内部駆動力に注目した。ガラス基板の接着強度を調整することで、GUV の運動と基板との接着強度の関係を明らかにすることを試みた。また、内部因子の濃度と組成を最適化することで、GUV の駆動力を高めることを試みた。

まず、GUV の運動と接着強度との関係を明らかにするため、様々な分子（PEG、MPC ポリマー、アガロース、ポリアクリルアミド、FBS、BSA、BSA と PEG の混合物）でガラス基板を修飾し、接着強度と運動様式に対するそれらの影響を評価した。GUV は修飾分子によって異なる運動様式を示した。MPC ポリマー修飾基板上的 GUV と基板の間の接触角は約 150° であり、接着強度は低いことがわかった。GUV は球状を保ったまま回転もしくはスリップするような運動様式を見せ、わずか 14 分で GUV 1 つ分の距離を移動した。一方、PEG を高密度で修飾した基板の接触角は約 98° であり、接着強度が高いことがわかった。GUV 前方は光照射方向に $0.51 (\mu\text{m} / \text{min})$ で変形し、基板上を這うような運動様式を見せた（図 1-2）。GUV 後方の接着点の位置が全く変化せず、移動には至らないことが今後の課題である。GUV が最も高い指向性と長い移動距離を示したことから、GUV の持続的な運動には接着強度の高い基板が最適であると結論した（図 1-3）。

次に、GUV の駆動力を高めるために、内部因子の濃度と組成を最適化することを目指した。アクチン重合の力発生を定量化するために、核形成促進因子（NPF）をコートしたビーズが、アクチン重合の非対称な力発生によって一方向に動く実験系を用いた。ストークスの法則 $F = 6\pi\eta RU$ （ R ：半径、 U ：速度、 η ：粘性率）に基づくと、粘性率 η の流体中で半径 R のビーズの速度 U を測定することで、力を定量化することができる。NPF をコートしたビーズの周りに、アクチンフィラメントが放射状に伸びた「アスター構造」が観察された（図 1-4）。力の定量化のためにビーズが運動するには、アクチンフィラメントが一方向に「コメットテール」を形成する必要がある。今後、アクチン重合による力発生に必要な因子の一つであるキャッピングタンパク質の濃度や、ビーズのサイズを最適化するなどの検討を進める予定である。

今後の研究では、接着強度と内部駆動力の最適化をさらに進め、GUV の持続的な運動を実現することを目指す。アクチンの力発生によって運動する人工細胞の構築は、細胞運動のメカニズムの理解を深めるとともに、分子ロボットとして多様な応用も期待できるため、生物学と工学の両分野に資する研究として発展させたい。

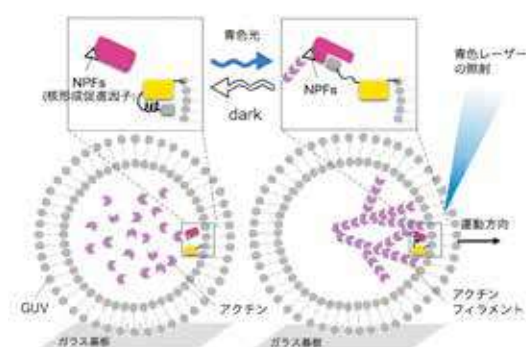


図 1-1 アクチン入り GUV の原理

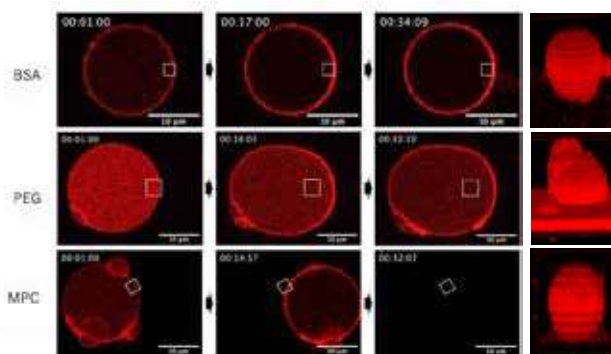


図 1-2 GUV の運動と接着の様子。左側 3 枚の画像はレーザー照射による GUV の運動の様子、右側の画像はレーザー照射前の GUV の接着の全体像

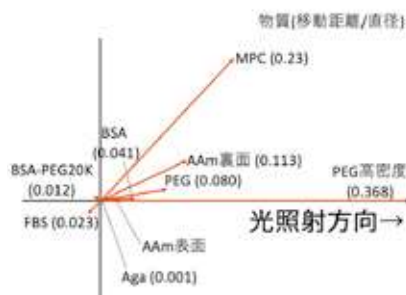


図 1-3

光照射方向と GUV の運動方向の相関。
（数字は、移動距離 / 直径を示す）



図 1-4 ビーズ周辺のアスター構造
（黄緑色はアクチンの蛍光）

将来の抱負

人工細胞をいかに速く、より複雑に動かすというマイクロサイズの「ものづくり」を楽しみつつ、将来は研究成果の社会実装やサイエンスコミュニケーションといった分野にも活動の幅を広げていきたい。非常に恵まれた環境下で、細胞運動の再構成という非常にエキサイティングなテーマに携われていることに感謝したい。

ブラウン回路を用いたニューラルネットワークの構築

氏 名：稲田 晃大

所 属：兵庫県立大学大学院工学研究科電子情報工学専攻 知能数理計算科学研究グループ

指導教員：磯川 悌次郎



論文の紹介

近年、急速に深層学習技術が発展し社会に浸透しつつある状況において、この深層学習の基盤となるニューラルネットワークを駆動するために必要となる消費電力を抑えることが重要な課題となっている。

低消費エネルギーで動作するニューラルネットワークを実現する一つの方法として、現在の半導体技術において用いられている情報の担い手、すなわち電子流を使わない方法により情報を蓄積・伝送することができる物性によりニューラルネットワークを構成することが考えられる。このような情報担体として、スキルミオンと呼ばれるブラウン運動を行う磁性粒子を用いたデバイス構成が検討されている。ブラウン運動を行う粒子により回路素子を駆動する計算モデルとしてブラウン回路が提案されており、この回路素子がチューリング完全であることが示されているが、ニューラルネットワークのような大規模回路を実現するための設計方法は確立されておらず、かつ少数の粒子で回路駆動することに起因して耐故障性がなくかつ計算効率が高くないというのが現状である。そのため、これらの問題に対応するブラウン回路を用いたニューラルネットワークを構築することが必要不可欠である。

本論文では、多数の粒子により情報を表現することにより高効率かつ耐故障性を有するニューラルネットワークをブラウン回路素子により構成することに議論している。具体的には、ニューラルネットワークの構成要素である形式ニューロンにおける結合荷重を表現するための回路、入出力間の非線形演算を行うためのしきい値回路を構成するとともに、二つのニューロン間の結合荷重を調整する、いわゆる学習を行うための機構として、Hebb 学習則と同等の動作をする回路を構成した（図 1, 2, 3）。そしてこれらの回路動作および特性を検証するために、非同期セルオートマトン上にこれらの回路素子を実装した。検証により、結合荷重の回路では結合荷重に相当するループ信号線内の信号数に応じて出力信号数が変化することや、しきい値の回路では入力信号の数がしきい値を超えない限り信号が出力されない動作を得られることが確認できた（図 4）。また、学習を行う回路では各ニューロンの発火状態を出力信号数と関連付けることで動的に結合荷重値を調整できることを確認した。

今後の課題として本論文で提案した結合荷重の学習回路の特性検証や、これらの構成を複数接続したニューラルネットワークの構築とその特性検証が挙げられる。

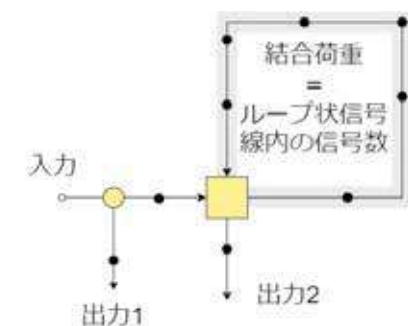


図 1 結合荷重の回路

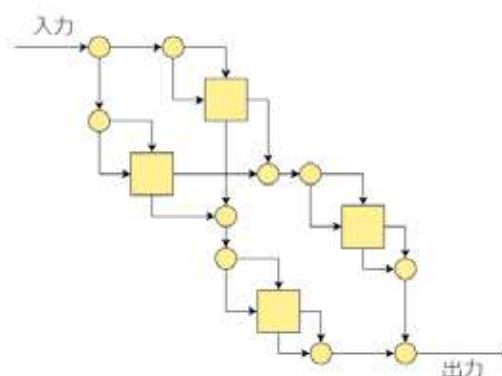


図 2 しきい値の回路

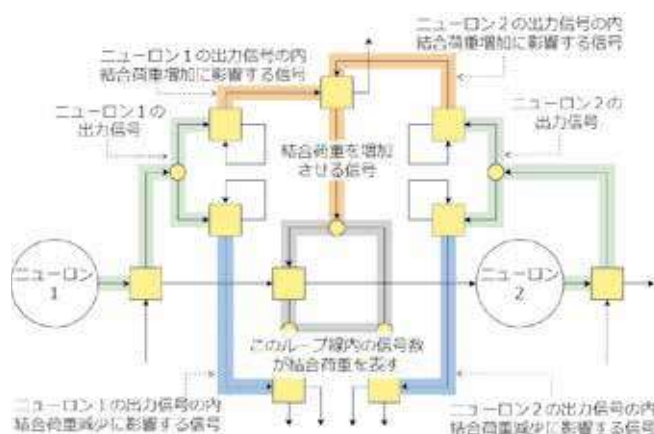


図 3 結合荷重の学習用回路

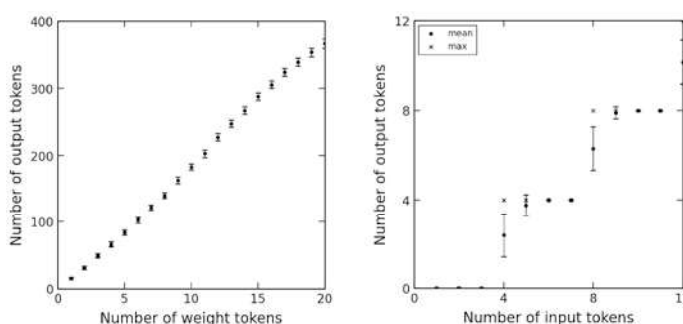


図 4 検証結果の一例

細胞間通信と細胞初期配置の空間パターンに依存した細胞集団の人工的な細胞運命決定

氏 名：武田 将輝

所 属：早稲田大学 先進理工学研究科 電気・情報生命専攻 木質研究室

指導教員：木賀 大介



論文の紹介

天然の多細胞システムは、同一の遺伝子型を持ちつつ複数の表現型に分化した細胞たちが形成する空間パターンによって、システムの高機能化を達成している。同様に、生体高分子からなる人工システムを内包した改変細胞や人工細胞の利活用においても、表現型の多様化と空間パターン形成による高機能化が志向されている。

私の所属する木質研究室ではこれまでに、自律的な細胞間通信の生産に依存して運命決定による表現型の選択を細胞にさせる人工遺伝子回路を構築し、この回路を持った細胞たちの液体培地中での挙動を解析してきた。この改変細胞をダイバーシティジェネレーター（以下、DG）という（図1）。細胞同士は自らが生産する通信分子 AHL（Acyl-Homoserine Lactone）によって相互作用を行う。DG には 2 つの安定状態が存在し、環境中の AHL 濃度に応じて状態を切り換える。High 状態においては AHL を大量に生産し RFP を発現、Low 状態においては AHL をわずかに生産し GFP を発現する。人工遺伝子回路を持つ細胞を用い、また、数理モデルと実際の現象の一致を観察することで、人工システムの設計指針をより精緻化することが可能になってきた。

本研究は、人工遺伝子回路を持つ単一の細胞のふるまいだけでなく、これを持つ細胞群が寒天培地上で増殖する際に細胞間通信を介して形成する時空間パターンが、細胞数に依存した数ゆらぎに影響を受けてしまうことの解析に焦点を当てている。細胞の運命決定においてどの表現型に至るかの確率を遺伝子回路により決定できるが、個々の細胞のふるまいは細胞ごとに異なるゆらぎの影響を受ける。このため、培養開始時の細胞数が多い際は、増殖後の集団の細胞の運命決定比率は期待値に近くなる。しかし、培養開始時の細胞数が少ないと、増殖中の少数の細胞による運命決定の効果が大きく、期待値から離れてしまうことが多い。この解離を、本研究ではゆらぎの効果が大きいと定義する。所属研究室での先行研究において、DG の 1 細胞を寒天培地上に配置した際のコロニーパターン形成実験が行われた（図2）。計算機実験において、ゆらぎの影響を無視した場合、AHL 濃度の濃いコロニーの内側で緑色の細胞が、AHL 濃度の薄い外周で赤色の細胞が発現するような位置依存的なコロニーパターンが形成された。一方、ゆらぎを導入した場合、位置依存的なパターンにはならず、赤色および緑色の細胞の分布は不規則であった。計算機実験に対して、実際の生物実験においてはゆらぎの影響を大きく受けるので、ゆらぎを導入したシミュレーションと同様に不規則なパターンが形成された。このように、少ない細胞数から培養を開始してゆらぎの影響に打ち勝つのは難しいというのが現状である。ゆらぎの影響を考慮することは生物学の研究において重要であり、構築したシステムの挙動の再現性や信頼性を高めるためには、ゆらぎを定量的に評価し制御する手法の構築が不可欠である。

本研究では、DG の培養における数ゆらぎの効果を軽減するために、培養開始時の細胞数を増やすという方策を立て、培地に配置した細胞集団を 1 つのスポットとして捉え、スポット間の相互作用で数ゆらぎの効果を軽減できるかどうか検証を行った。実験手法として、培地上に複数のスポットを配置するために、最少 25nL の液滴を 1μm 精度で射出できる高性能自動分注機 Echo を用いた。

はじめに予備実験として、実験者の介入により通信分子の濃度勾配をつくることで、細胞の位置依存的な運命決定を支配できるかを確認した。寒天培地上の一部に AHL を、その周りに AHL 生産酵素の LuxI を欠損させた DG 株を配置した結果、同心円状に AHL の濃度勾配が形成され、濃度の濃い部分においては緑色に、薄い部分においては赤色に分化する傾向が見られた。この際、配置した細胞のスポット間の距離、および、スポット群の中心に配置する AHL の濃度を変えることで、AHL の拡散範囲および影響力が操作できることを確認した。

予備実験をふまえ、今度は DG の細胞集団を様々な条件で配置した。最初に、DG の野生型株のスポットを培地上に格子点状に配置した結果、すべてのスポットにおいて緑色の細胞が強く発現し、位置依存的なパターンは達成されなかった。本研究では図3のように、AHL 濃度の濃い内側スポットで緑色の細胞のみが、AHL 濃度の薄い外側スポットで赤色の細胞のみが出現するような位置依存的なコロニーパターンが形成されることを期待している。スポットにおける細胞の AHL の生産力が強すぎたことが直接的な原因として挙げられたため、LuxI を欠損させた DG 株を混ぜて、疑似的に生産力の弱体化を試みた。DG の野生型株の比率を数 % から 1 % に調製した混合液を同様の空間配置でスポットした結果、個々のスポット内に緑色だけでなく赤色の細胞も少量出現することを確認したが、外縁部のスポットにも緑色の細胞が見られてしまった。

これらの結果は、全面配置において位置依存的なパターン形成を達成するためには、スポット当たりの AHL の生産力を下げる必要があることを示唆している。しかし、スポット内の生産細胞の比率をさらに下げると、DG の野生型株の数が少数となってしまう、数ゆらぎの影響でパターン形成が乱れることが予想される。スポット当たりの生産力を減らすもう一つの手段として、細胞そのものの AHL 生産力を下げることも想定している。そのために、プラスミド上の LuxI コード配列に対するリボソーム結合部位（RBS）の配列の一部を別の塩基に置換すれば、LuxI の構造を変えることなく、AHL の生産効率のみを変化させられると考えられる。この改変を施すことで、同じ遺伝子型を持つ細胞群による、位置依存的なパターン形成の達成に近づくことが期待される。



図1 ダイバーシティジェネレーター回路図

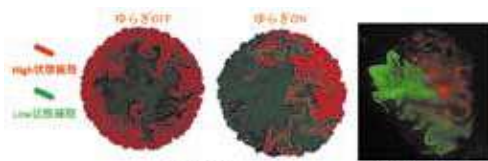


図2 1細胞を起点としたDGのコロニーパターン形成

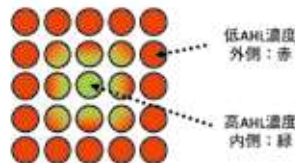


図3 本研究で期待する位置依存的なコロニーパターン

将来の抱負

私は幼少期から生き物が好きで、中学生時代にはプラナリアの再生能力に関して独自に研究していました。修士での研究テーマが人工遺伝子回路の細胞分化・運命決定ということでプラナリアとの接点も多く、生物の発生や分化のメカニズムについて、より理解を深めることができました。また、本研究を遂行するにあたりデータを提供して下さった基礎生物学研究所青木一洋先生、太田裕作先生に深く御礼を申し上げます。木質研究室で過ごした時間は一生の宝物です。研究・探究することの面白さを今後の人生に活かしていきたいと思ひます。

異分野放浪記

小嶋 勝 大阪大学

上杉先生よりバトンを受け取りまして、リレーエッセイを書かせていただきます。第一期の公募班として参画しております小嶋です。今回はこのような機会をいただきありがとうございます（既刊を振り返って思ったのですが、私などにこんな貴重な機会を振っていただき恐縮です）。さて、どのようなことを書いても良いとのこと、色々と考えていたのですが、私がいろいろな分野を移って研究をしていたこともあり、はじめ、ふと浮かんだキーワードが繋がりました。この言葉を軸に自身の異分野を放浪した体験談を徒然なるままに書き綴りたいと思います。そもそも、上杉先生からバトンをいただいたのも繋がりますが、機械・ロボット系の上杉先生とは、学会でもよくお会いし、研究分野も近いことからよくお話しした記憶があります。この繋がりは私がロボット工学の分野に足を踏み入れたからこそ生まれた繋がりで、理学部の典型的な生物系研究者であった私がなぜ分野を変えたのか、まずはそこからお話しできればと思います。

今でこそロボット工学の分野にも関わっていますが、私自身、研究のスタートは生物分子モータ（バクテリアべん毛モータ）の研究から始まりました。学生であった当時、漠然と研究者を目指したいと考えていた中、天然に回転する高性能なナノモータが存在することに大変驚き、興味を持ち、純粋な好奇心から研究してみたいと考えました。実はべん毛モータ話を聞いたのは、べん毛モータの研究を行っている研究室ではなく、その隣の研究室の先生からだったことも良い思い出です。そのお話をしてくださったのはリボソームの研究をされていた先生で、当時、瀧口金吾先生（本リレーエッセイでも執筆されています）が所属していた研究室でした。「ぜひ研究してみたい」というきっかけを与えてくださった先生が既にその研究はしていないという、なんとも言えないスタートでした。しかし、そのような流れもあり、リボソームにも興味を持ち自分の研究にも取り入れたいという思いは、この時からあったのかもしれません。その後、初めてのリボソーム作製方法は瀧口先生より教えていただきました。その時の繋がりが今に至り、同じ領域で研究させていただいていることを考えると感慨深いものがあります。

最初は理学部の生物学の分野で出身大学にて研究員として働き始めたのですが、次の仕事を探していた時に転機が訪れました。ある時、学位を取った出身研究室の先生から、「工学部（同じキャンパスにあり、歩いて10分ぐらい）の先生が生物をわかる人を探しているのだけど、興味がある？」との連絡をいただき、同時に伝えられた工学部の先生が行っているプロジェクトを確認すると、「生命機能の再構成と細胞機能の模倣」、「生命機能の環境応答計測と制御」、「生命システムの組織構築と制御」を柱としていました。これは面白そうだと感じ、よく調べずに「興味あります！」と答え履歴書を送りました。するとすぐに電話がかかってきて、「今すぐ来れるかい？」と。あまり状況が飲み込めないまま部屋に伺い一通りご挨拶をしてお話をしたあと、研究室を助教の先生に紹介していただきました。枝渡りをするロボットや、カテーテル手術訓練用ロボット、集団で協調作業を行うロボットなど、様々なロボットを紹介され、その時、初めてロボット工学の研究室であることを認識しました。「あれ？プロジェクト見たときに感じた、イメージの研究室じゃない…ガチガチのロボットの研究！この選択は大丈夫？やっていけるのか？」と密かに心配したのは今だから書けるお話です。「なぜ分野を変えたのか」と大層な前振りでしたが、実は、偶然の繋がりにより、偶然ロボット工学の世界に入ることとなったわけです。

全く予想していなかった（よく調べなかった私が悪いのですが）とはいえ、この分野の変更は衝撃的でした。特に、様々な分野にはそれぞれの文化があり、異分野の研究の交流はある意味では異文化交流であると感じました。文化が異なれば、意見、考え方の衝突もあり、なかなか研究が進まないこともありますが、一方でこのようなぶつかり合いが新しい方向性を打ち出すこともあり、良い経験をさせていただいたと思います。少し話は変わりますが、当時、バイオ系がわかる人間として所属していたこともあり、研究室内のバイオに絡む技術に関して色々ディスカッションをしました。そのような中、准教授の先生が分子ロボティクスに関わる研究をされており、機器の選定をお手伝いした記憶があります。間接的ではありますが、分子ロボティクスとも関わっていたと思うと、ここにも繋がりを感じます。

その後もしばらくロボット系の分野で研究を続けていましたが、少し前に現在の化学系の分野に移りました。ここでもやはり文化の違いがあり、「分野の数だけ文化があるのだなぁ」と実感しました。さすがに最初に感じたほどの衝撃はありませんでしたが、異分野における異文化交流はいつも刺激的で興味深いです。新たな分野で研究を始めると、新たな出会いがあり、新しい交流が生まれます。最近、学内で液晶を主に研究されている先生と議論を行う機会が増えました。その先生が最近興味を持たれている新しく始めようとしている研究で、少し聞いたことがあるようなお話が。突っ込んで聞いてみると、分子サイバネティクスの領域内でお聞きしたお名前が。研究は大きく発展し広がって行きますが、世界は意外と狭いようでやはり、どこかで繋がっているようです。



科研費
KAKENHI

学術変革領域研究(A)

Molecular Cybernetics Newsletter

分子サイバネティクス ニュースレター

第13号 2024年3月25日発行

発行：学術変革領域研究(A)「分子サイバネティクス」

領域代表：村田 智(東北大学 satoshi.murata.a4@tohoku.ac.jp)

事務担当：葛谷 明紀(関西大学 kuzuya@kansai-u.ac.jp)

豊田 太郎(東京大学 cttoyota@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp)

広報担当：野村 M. 慎一郎(東北大学 nomura@molbot.mech.tohoku.ac.jp)

中莚 隆(九州工業大学 nakakuki@ces.kyutech.ac.jp)

松尾 真代(九州工業大学 molcybprk@gmail.com)

領域ウェブサイトURL：<https://molcyber.org>