

ア 研究の目的

生命システムの普遍的性質を定量的レベルで理解するための新しい学問分野を確立することが目標である。

この学問においては、まず生命システムが共有する、「内部が柔軟に変化でき、環境の中で増えていける」という特性に着目し、このようなシステムが示す、個々の分子にはよらない普遍的性質を抽出し、それによって「生命とは何か」という古来からの謎への、一般的な答えを提示していく。もっと具体的には以下のような問いへの一般的な答えを与えていくための学問である。

- * 生物が我々のつくった機械とは異なって柔軟にかつ安定して振舞えるのはなぜか？
- * 「内部自由度を持ち増殖する」システムに普遍的特性はあるか？それを表現するための、従来とは異なる統計力学を構築できるか？（細胞状態統計力学）。
- * →これにより生物の柔軟性、可塑性を定量的に測定し、表現できるか
- * →このように表現された理論により、生物が一方で同じようなものをつくり、他方では多様化するという普遍的な性質を持つかを理解できるか。
- * 発生がなぜ安定して進行するか、細胞分化にみられるようなもとに戻せなくなる不可逆性、一方で操作による再生可能性を理解できるか。
- * 進化の謎——なぜ進化しやすい or しにくい生物があるのか、進化と発生の関係——を解けるか。

など。

この学問の創出にあたり、我々は、

- (1) 個々の要素と全体とのダイナミックな相互関係として生命システムを理解する「複雑系生命科学」という立場をとり、
- (2) 今ある生物にとらわれずに、こちら側から基本性質を設定してその普遍的性質を抽出するという「構成的生物学」

の立場をとる。以下、簡単に、これらの学問に至った経緯を説明する。

この50年、分子生物学は数々の成果をもたらし、それによって生命の各要素過程の詳細が次々と明らかにされている。それにより、生命現象の因果の連鎖をさかのぼり、それに関連する分子を見出し、重要な機能と関係する遺伝子を見出し、さらにはゲノム、プロテオームなど膨大なデータベース作成が進んできた。とはいえ、これらは「生命とは何か」の問いの答えにかならずしもつながっていない。なぜだろうか。ここで、科学の歴史を思い出してみよう。我々がいま物質のマクロな性質を理解する上で基本となるのは熱力学である。これにより、世界の安定性、我々が世界になしうる操作の限界、戻せないこと（不可逆性）が理解できるようになった。ここで重要なのは、熱力学は1つ1つの分子の性質を調べ上げることで生まれたのではなく、むしろ、そうしないでシステムを「薄目で」みることで可能になったという点である。つまり、ものごとの一般的な理解には、1つ1つの分子過程を枚挙するのではなくて、システムとしての性質を見る視点が欠かせないのである。

また、分子生物学は、ある条件ではある応答が出るという「論理素子」を組み合わせた「機械的な」生命観をももたらしている。しかし、実際は生物は、かなりコントロールした条件のもとでも機械的振る舞いからのずれをもたらすさまざまな不安定性を示し、以下のような性質を持っている。

- (i) 分子（遺伝子）の役割は多様であり、原因結果を一対一に求められない。
- (ii) さらに役割自体、その状況、たとえば発生過程のどの時点ないしどの場所か、によって変化する。
- (iii) 原因と思われたある遺伝子や分子をとりのぞくとしばしば別なものがそのかわりをする。

(iv)分子は歯車や論理回路とちがってすごくゆらぎが多いのに、全体としては生命現象はそれなりの安定性を持っている。

(v)たくさんの要因が絡みあっているにもかかわらずその総体として生命はうまくいっているようにみえる。

たとえばある機能単位として見出された分子が周りの状況に応じて異なる機能を持つケースが近年、次々と見出されている。浅島によってその重要性が見出されたアクチビンにおいても、その濃度を変えることで様々な分化を引き起こす。また、細胞内には複数の潜在的な情報伝達経路があるが、その時々の伝達経路が主役かは状況に依存する。ある役割をになった遺伝子を求めてそれをノックアウトすると別な遺伝子がかかわりを果たす。などなどである。そこで動的かつ状況に依存した機能が要素間の関係性を通してあらわれてくる仕組みをさぐらねばならない。

そこで、上の、(i)–(v)のような「印象」を「科学」として扱えるようにする方法論を確立し、新しい分野をつくりあげる必要性がうたわれてきている。こうした要請に答えるのが我々がつづいていく学問の目標でもある。

そのためには、これまで暗黙裡に仮定されていた「生命をいろいろな機械のくみあわせとし、その各機械の因果関係を分子に求めていく」という「分子」生命観に対抗して、「生命がダイナミックなシステムとして働いている」という見方をつくっていかねばならない。ただし「全体論」の方向に持って行って生命を理解しようという試みが不毛であったのは生物学の歴史が示すとおりである。その点、ここでは部分と全体の循環に着目する複雑系の立場で、還元論と全体論それぞれの欠陥を乗り越えようとする(図1参照)。

こうした、個々の要素と全体のダイナミックな循環をもとに生命の基本問題に挑むべく複雑系生命科学は構想された。我々のプロジェクトではこれを実験科学として具体的に遂行するために3つの柱を考えた。

1) 構成的生物学

2) 多様な要素の相互作用、個と全体の間の動的関係性の研究

3) 発生、進化のような、順次ダイナミクスが重なっていく過程の研究

(1)はルールが進化によって与えられた生命を調べるのではなく、我々の側からいくつかの条件を設定して、生命の基本的複製過程や発生過程がいかにならわれるかを調べるものである。従来の研究ではそれを取り除くとシステムが働かなくなる重要な分子を探っていた。つまり、生物機能の「必要条件」を探求しているのである。この立場では、当然、生物が生物たる所以の「十分条件」は求められない。それを求めるには、こちら側でつくりあげた条件でシステムを構成し、それによってどのレベルの生物機能があらわれるかを探求するのが望まれる。この研究が構成的生物学である。むしろ、この背景には、「非常にうまく色々な過程を組み合わせなくても生命過程のプロトタイプはあらわれるだろう」という前提がある。生命には、進化を通してチューンアップされてはじめて成立する「非常によく出来た機械」という面もあるにせよ、ここではそれとは相補的な立場として、むしろ生命システムについて何が必然であり、何が不可能であるかを探っていく。以下のように換言してもよい。

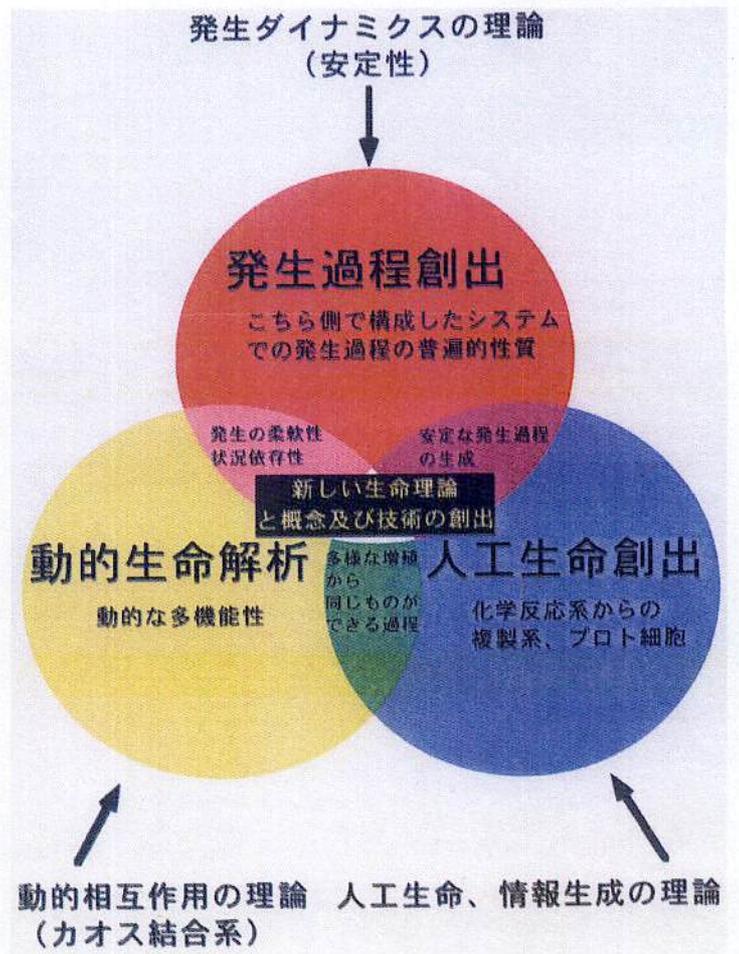
いま存在する生物は進化という歴史をになっているために、どこまでが生命システムが必然的に満たすべき性質か偶然そうになっているだけなのか明らかではない。そこで、むしろ現在の生物に必ずしもこだわらずに、生命システムのプロトタイプをこちら側から設定し、それを通して、安定して増えつづけていくシステムの一般的特性を明らかにしよう、と。

具体的な例としては、多様な化学反応系を膜の中に封入し増殖させるシステム、遺伝子、酵素の集合からなる増殖系を構築し、その発展を通して多様性と再帰性(くりかえしほぼ同じものが再生産されること)がどのようにあらわれていくかをみるなどである。当プロジェクトでは更に表に掲げたテーマを扱っている。

テーマ	実験	理論	普遍的問いかけ、論理
I 複製系の構築	DNA合成酵素等を用いた人工複製系構築	少数分子増殖系の理論	情報の起源 進化可能性条件
II 細胞系の構築	内部でタンパクやDNAを合成しつつ増殖するリポソーム系の構築	増殖可能な反応ネットワークの進化	再帰増殖条件 ネットワーク進化条件
III 発生の構築	アクチビン濃度を制御パラメータとした発生過程構築	細胞内反応、相互作用と増殖に基づく発生理論 分化、再生	発生の安定性 分化の不可逆性
IV 多細胞生物の構築	大腸菌等の相互作用による役割・増殖分化	位置情報生成 細胞集団の再帰増殖理論	集団の再帰性と 個体の起源
V 進化の構築	大腸菌等の進化での相互作用の意義の検証	相互作用誘起表現型分化の遺伝的固定化理論	分化の情報への固定化
VI 共生の構築	異種生物間での共生	システム合体の理論	システムの拡張性
VII 細胞記憶の構築	神経細胞等を用いた動的記憶と学習	力学系の持つメモリー構造	動的操作としての記憶、学習



(図1)



(図2)

(2)決まった役割を持った分子や遺伝子からなる1対1の因果関係を追うのではなく、多くの要因のネットワークの動的な特性をみていくのが我々の立場なので多数の細胞の性質を破壊せずに多くの要素の性質を動的に測りつづける手段を開発し、それを通して多種類の分子の性質の変化を追うことが必要である。濃度の時間的変動(振動)、そのときの細胞間の相関、細胞内の分子の多様性と細胞の性質の関係などの研究である。つまり、何かの役割をになう分子や遺伝子を見出すのではなく多種類の分子の動的関係を探る。例えば未分化の細胞から順に決定されていく度合いを細胞内の成分の多様性、そして動的な変動の度合いなどと関連して調べる。この際、(1)で構成された生命システムをこの手法で調べることで、生命システムが普遍的にもつ論理を動的なネットワークの特性として表現する。

(3)細胞生物学の主流研究では、個々の上手く制御された、遺伝子発現の組合せとして多細胞生物の発生過程を捉える。「IF シグナル分子の濃度が多い THEN ある遺伝子が ON」という「if then」型の論理の連鎖として、あたかも「プログラム」のように発生が語られる。しかし、シグナル分子といってもせいぜい数千個程度の数しかないことが多く、その意味で濃度といってもそこには大きなゆらぎは避けられない。つまり、コンピュータと違って、「間違わない」発生ルールが与えられているのではなく、むしろダイナミックな変化を通して、状況に依存して安定に働く発生のルールがあらわれると考えられる。このしくみを考える上では、うまくいった発生過程だけを調べるのではなく、むしろこちら側で設定した状況においた細胞集団が互いの関係を通してどのような発生過程を作るかを調べるべきである。ここでは、単細胞生物の集団のように普通の意味では多細胞生物としての発生過程を持たない集団の「多細胞的発展」を追うことも重要である。

具体的な例としてはアクチビン分子の濃度を変えて通常とは大きくはずれた状況に実際の細胞集団を追い込み、その中で起きうる過程を追跡することが挙げられる。この際の目標は既存の組織をアクチビンの濃度を変えてつくり出すだけでなく、むしろ、アクチビンの濃度によって安定な組織が形成されない場合にはどのような細胞集団の変化が生じるかまでを含めて、アクチビン-時間の2つの軸での細胞集団のダイナミックな性質を描き出し、部分と全体の関係を明らかにすることである。ここで行なおうとしているもう1つの例は、大腸菌集団などからの発展過程を追って、いかに安定な発生過程の原型があらわれるか調べていくことである。

なお、以上(1)-(3)で強調しておきたいのは、生命システムを「魔術のように」作るのが目的ではなく、作ることをとおして生命システムのみたすべき基本的論理を求めるという点である。それゆえ、対応して理論モデルを考え、その結果から普遍的論理を探っていく。これらの3つの研究グループ(図2参照)、更に実験-モデル-理論の協同作業として生命システムの理解を進めるのが目的であり、表には各構成的実験に対し、何を問い、どんな理論を作るかが掲げられている。

イ 当プロジェクトの特色

* 従来の複雑系研究所の致命的欠点の克服：理論と実験の緊密な相互作用

この十数年複雑系研究の重要性は広く認識され、見識ある科学者によってしばしば21世紀の科学の大目標ともされ、(日本を除く)世界各地では複雑系研究センターが作られている。一方で複雑系研究のターゲットが生命システムの理解であることは論をまたない。にもかかわらず、複雑系研究は理論やシミュレーションに偏っており、たとえば、これらのセンターで生命実験と理論が一体になっている研究所は皆無といってもよい。この欠陥は著名なセンターであるサンタフェの複雑系研究所でも典型的にみられる。われわれのプロジェクトは理論と生物実験グループが緊密なキャッチボールを行っている点が特徴的である。おおよその実験方向が理論との議論から生まれ、それをもとにおこなわれた構成的生物実験から、当初の理論以上の発見が生まれる。それをもとに理論をより具体化し、肉付けする、そこから新しい予言が行われ、これをまた実験で確認するとともにさらなる理論へのチャレンジとなる謎が提示されという形である。このキャッチボールによる螺旋的発展が当プロジェクトの特徴であり、実際理論—実験の共著論文も後述するようにいくつか出版されるに至っている。

この共同作業が進むようになったのは、一つには生物実験がセルソーター、マイクロアレイ、蛍光タンパクなどの技術の進展によって、定量的次元になったためでもある。当プロジェクトではこれらの設備を整え、しかも、それを生物統計力学構築のために用いる、という点で他に類をみないものとなっている。もう一つ重要なのは、この20年ほどの非線形物理、統計力学、確率過程論などの進歩により、生命システムへの実質的理論が可能になってきたことである。これらを完全に連携させた点が上記研究の進展の基盤である。

* 枚挙型生物学および枚挙型モデル化(システム生物学)ではなく、生命への理解を与える学問

近年生命システムの研究において、片端からデータを集め、それをすべて組み込んだモデルを作ろうという試みが提唱された。しかし、ただ枚挙したデータベースをつくるのでは生命とは何かの理解にはつながらない、そのみならず、枚挙自体完全でもないのが実用的な定量的予言も困難であることも指摘されている。ただし、こうした批判をするだけでは新しい生命科学を作る上では不十分である。これに対して、当プロジェクトでは統計力学、複雑系研究が培ってきた「普遍的性質を抽出する」という方法論にたち、それを拡大していくことで「生命とは何か」に答える方法論を提示し、それにのっとり理論、実験研究を進めている。

* 構成的生物学の特徴

従来の生物学実験と大きな方法論的な違いは、既に説明したような「構成的生物学」である。当プロジェクトでは「今ある生物をありのままにみる」から脱却して構成的アプローチを採用することで、生命の普遍的な性質を抽出できる方法論を確立してきた。もちろん、このアプローチは一方では人類古来の「生命を作る」という夢につながるものであるが、さらに重要なのは作ることを通して「生命とは何か」の理解への道筋を示すことで、これは理論との共同作業があつて始めて開けてきたことである。

* 技術的特徴：微細加工技術と生物学との緊密な連携

近年、「ナノ」と「バイオ」という言葉が技術ではもてはやされている。そしてその間の連携の必要性も言われ始めてはいる。ここで重要なのは、その両者を十二分に把握した上で1つのプロジェクト内で一体化して技術を開発していくことである。その点で、当プロジェクトでは大学内に微細加工技術のためのクリーンルームを設置し、プロジェクト内で微細加工技術の開発を、細胞を用いて進めた点が大きな特徴である。

この際に技術開発においては当然、生命研究でのニーズを理解しておかなければならない。この点、「生命システムをこちら側で与えた条件で研究する」という構成的生物学はまさに、そうした生物システムの研究に必要な技術を与えるための境界条件の役割を果たす。実際、構成的生物学側のニーズから派生して、1細胞長期培養装置、細胞間相互作用の制御、操作システム、オンチップセルソーター、といった技術が当プロジェクトでは開発されてきた。ここで重要なのは技術はいったん開発されれば様々な用途へと広がるという点である。実際に当プロジェクトから生まれた技術は、医学的応用にまで広がりを見せている。今後の発展はもはや当プロジェクトの枠を超えたものとなろうが、当プロジェクトはそうした「種」をもたらして芽を育てる役割を果たした。

***研究グループ**

具体的な「構成生物学」でのテーマの実験に対しては

- I 複製系構築 ————— 四方、菅原
- II 細胞系構築 ————— 菅原、四方、安田
- III 発生構築 ————— 浅島
- IV 多細胞系の構築 ——— 四方、安田
- V 細胞記憶の構築 ——— 安田、川戸
- VI 進化の構築 ————— 四方

が中心になってあたっておこない、それぞれの問題への理論構築は

理論 ————— 金子

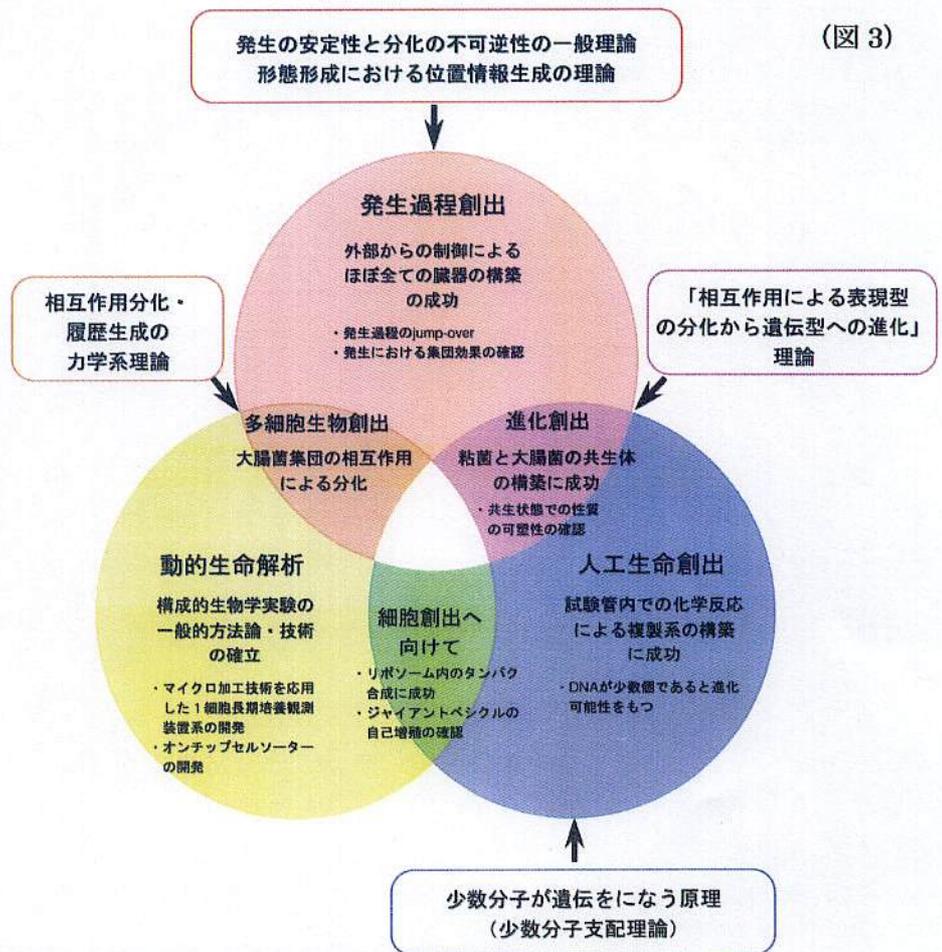
を中心に行なった。

また複雑系生物学の実験手法、計測技術の開発は

微細加工技術の応用や計測技術の開発—————安田

を中心に進めた。

また、発生生物学、細胞生物学、生物物理、有機化学、理論物理にまでまたがるグループでの共同研究であるので、意志の疎通が肝腎である。そのためほぼ毎月全グループ共同での発表会を行ってきた。更に、新分野では若手育成も重要な課題であり、若手の研究発表の会も設けてきた。



(図 3)

ウ 成果

特筆すべき成果項目

I 人工複製系をつくる

- 試験管内での 化学反応による 複製系 の 構築に成功
- DNA が少数個であると進化可能性を持つことの発見
- 少数分子が遺伝をになう原理(少数分子支配理論)の発表

II 細胞をつくる

- リポソーム内のタンパク合成、DNA 複製に成功
- ジャイアントベシクルの継続的な自己増殖に成功
- 複製反応系での一般統計法則を理論的に予言、多くの細胞の実験で検証

III 発生をつくる

- 外部からの制御によるほぼ全ての臓器の構築の成功
- 発生過程の jump-over を検証、遺伝子発現での確認
- 発生における集団効果の確認
- 構築した臓器を移植して機能することを確認

発生の安定性と分化の不可逆性の一般理論の提唱
形態形成における位置情報生成の理論の提唱

IV 多細胞生物をつくる

- 大腸菌集団の相互作用による分化の確認
- 人工遺伝子ネットワークを埋めこんだ細胞を構築、
——>アトラクター選択という 新しい適応の原理を発見

V 進化をつくる

- 混雑すると多様な種が共存することを大腸菌実験で発見
- 「相互作用による表現型の分化が遺伝型の進化を促す」という進化理論の発表
- 同所的種分化、発生-進化関係の理論
- 表現型のゆらぎと進化速度が比例するという基本法則を提唱、実験で検証

VI 共生をつくる

- 粘菌と大腸菌の共生体の構築に成功 → 共生状態での性質の可塑性の確認

VII 構成的生物学実験の一般的方法論・技術の確立とその応用

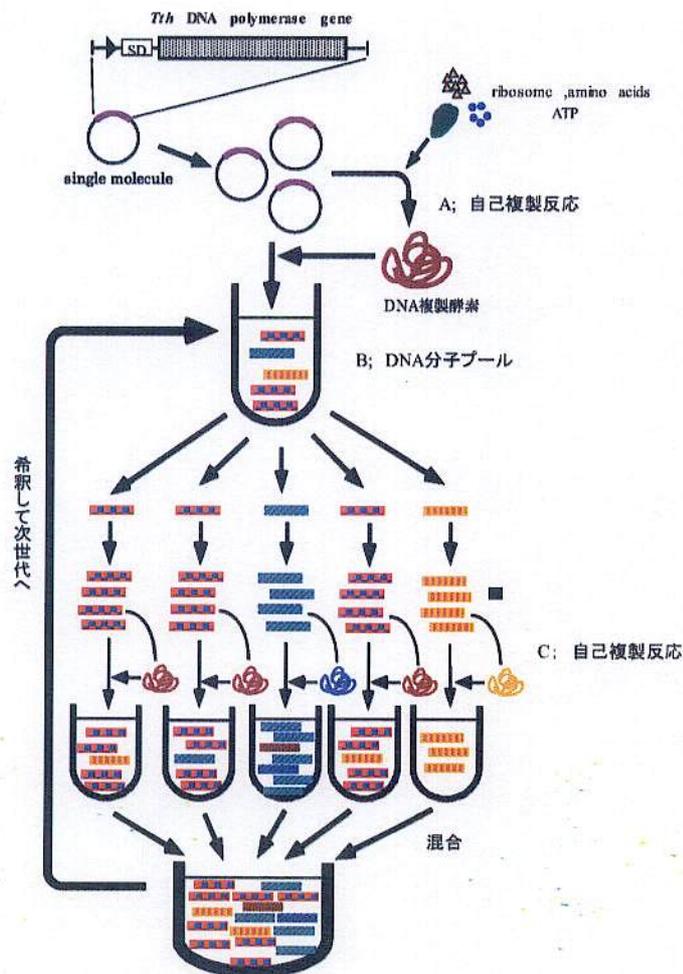
- 微細加工技術を用いた「1細胞レベル」での構成的実験手法の開発
- 細胞培養のための細胞選択・精製技術：オンチップ・セルソーター
- オンチップ細胞培養技術の開発 (I)：孤立した大腸菌等の「1細胞計測」技術の開発
- (II)：細胞集団のコミュニティサイズ・ネットワークパターン制御

以下、これらの結果を中心に項目ごとに成果を述べていく。

I 複製系をつくる

I-A 無細胞自己複製系の構築

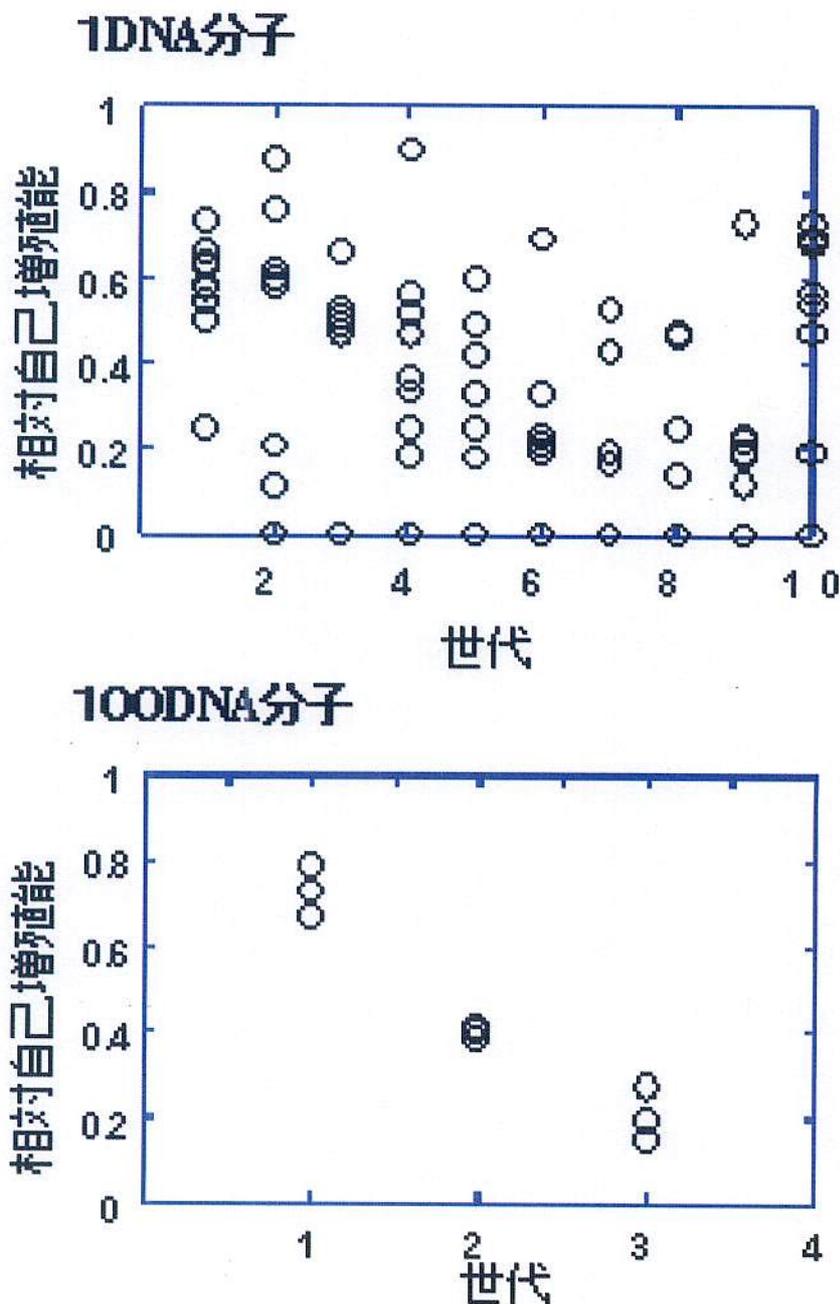
DNA 複製酵素とその遺伝子からなる無細胞自己複製系を立ち上げた。この系は、生物が DNA によって、様々なタンパク質を合成し、そして、代謝を行い、最後に元の DNA を複製する自己複製を模倣して構築した。具体的には、DNA 複製酵素の遺伝子を試験管に入れ、そこに必要なアミノ酸やエネルギーを加える。すると、DNA 複製酵素が合成され、そうして合成された DNA 複製酵素が元の遺伝子を増幅する。つまり、最も簡単な自己複製反応が行われる。(図 4、A)。1 回の自己複製反応でおよそ $2^{30\sim40}$ 程度の DNA 複製が起こる。この自己複製反応中に合成された DNA 分子のいくつかは突然変異によって配列が変わっている。これで、1 世代目の DNA 分子プールが出来上がる (図 4、B; DNA が横棒で表され、その色が配列の違いを表す)。これらの DNA 分子を 1 分子ずつ 10 本の試験管に分ける。そして、再び自己複製反応を行う (図 4、C; コイル状のひもが DNA から合成された DNA 複製酵素、その色の違いは酵素活性の差を表す)。ここで、それぞれの試験管に含まれる DNA の配列が違うので合成されてくる DNA 合成酵素の活性も異なる。結果として、各試験管で複製される DNA 分子数にばらつきができる。ある DNA 分子は多くの子孫を残し、ある DNA 分子は少ない数の子孫を残すといってもよい。このように各試験管で複製された DNA 分子を混ぜ合わせ、希釈し、次世代の DNA 分子プールとして使う。このプールには前世代でより多く複製した DNA 分子とその複製反応中にできた変異型 DNA 分子が高頻度で存在する。この自己複製系の 1 世代の中には、突然変異と選択の過程が含まれることになる。当然の結果として、この自己複製系は数世代で自律的に進化することがわかった。(図 5)



試験管内自己複製システム

(図 4)

対照実験として、1本の試験管に1分子のDNAではなく、100分子のDNAをいれて、同じ条件で実験を行ってみた。これは、100コピーのゲノムをもつ細胞を模倣している。すると、たった4世代で自立複製能を失ってしまった。このことは、ひとつの自己複製単位には遺伝情報を担う分子は少数個でなければならないことを示している。多数の情報分子が存在すると自己複製能が減衰する理由は、以下のようなものである。まず、ひとつの複製単位にある多数のDNAに独立に変異が入る。そして、その複製単位の自己複製能は多数の変異型DNA分子からつくられる酵素の平均となる。平均であるため、各複製単位の示す複製能は同レベルになり、自然選択がかからなくなる。その結果、有害変異が集団に溜まってしまい、自己複製能を失う。別の言い方をすると、細胞などの複製単位の中でDNAが少数であるからこそ、自然選択が働き、遺伝情報が統計法則から守られている。

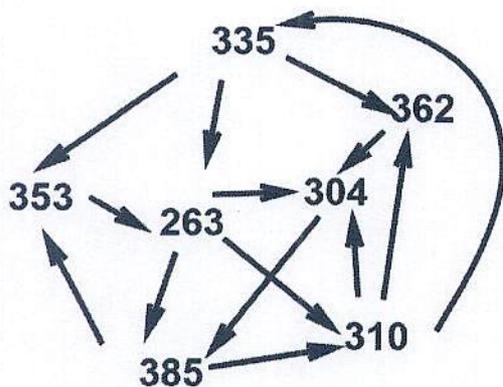


(図 5)

I-B 理論

I-Aの実験に呼応して、触媒ネットワークからなる自己増殖系の理論モデルを考え、互いに触媒する分子が増殖を維持して行く際に、合成が遅く結果として少数しかない分子がその増殖系の振舞を支配していくという少数分子支配の理論を提唱した。ここでは、互いに触媒をして増えて行くシステムでは少数個しかない分子が、そのシステムの性質を主に決め、さらにこうした分子はゆらぎの中でもよりよく保存されるようになってくる。つまり、遺伝をになう分子の要件である、「よく保存され、他をコントロールする」という性質が、少数分子の特性としてあらわれてくる。つまり、運動論的な要請だけから、細胞が遺伝を示すようになることを与えたものであり、実際これをもとに、情報をになう分子と代謝をになう分子がどう役割分化するよう進化して来たかを考えることができる。さらに、この少数支配の性質は実験で示された、少数個の分子があったほうが進化性をもちうるという事実に対応している。

ついで、多くの成分が互いに他を触媒するネットワーク系を考え、この系が絡まったハイパーサイクルネットワーク構造(図6)を作ることによって同じような細胞を再生産できることを示した。これによってプロト細胞が自己複製を続けられる。この系においても、コアとなる成分があり、その中の少数成分はゆらぎを抑制され、この細胞の複製をコントロールしていることが見出された。さらに進化を通して、このような構造が形成されてくることを示した。



(図6) 絡まりあった相互触媒構造

II 細胞をつくる

II-A 複製するベシクルの構築

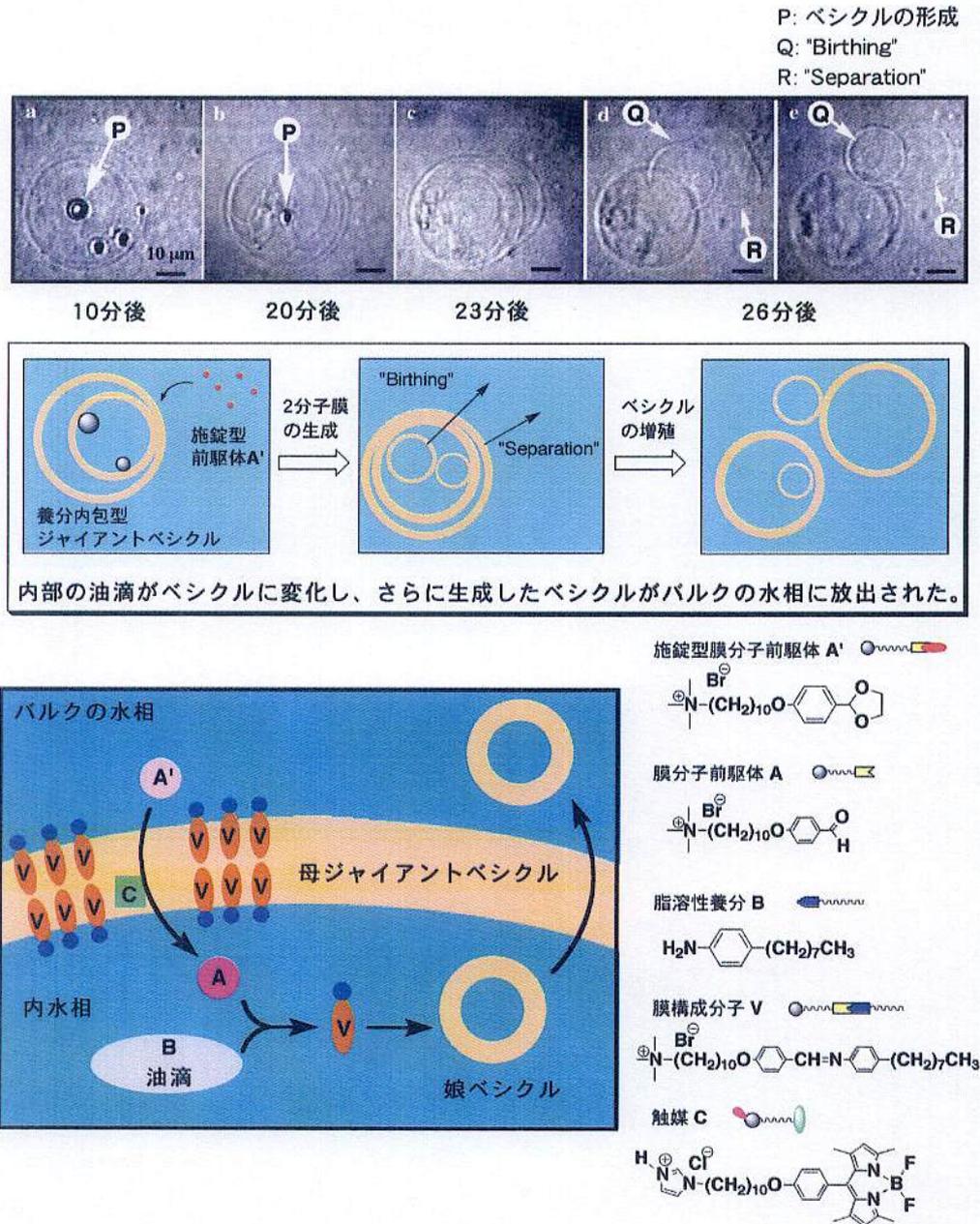
両親媒性分子で構成されるジャイアントベシクル(直径1 μ m以上の袋状2分子膜)を用いて複製する細胞系の構築を目指している。これまでに得られた主な研究成果を以下に示す。

II-A-1【膜分子前駆体の取り込み・脱水反応により分裂するジャイアントベシクルの創成】

人工細胞モデル複製系として、ジャイアントベシクルそのものが、膜分子変換の反応場を提供する系の構築を行った。

疎水鎖の中央にイミン結合を持つ両親媒性分子Vより構成されるジャイアントベシクルの内水相に、Vを生産するための前駆体分子(養分)の1つであるオクチルアニリンBが油滴として内包された「養分内包型ジャイアントベシクル」を調整した。その水溶液に反応活性なホルミル基をアセタール化により「施錠」した両親媒性分子A'を養分として添加したところ、A'は膜中に組み込んだ触媒Cの作用により加水分解されて反応活性な前駆体Aへと変換され、さらに内包された油滴の表面でAとBが脱水縮合反応を起こして、母ベシクルの膜を構成するVそのものを生

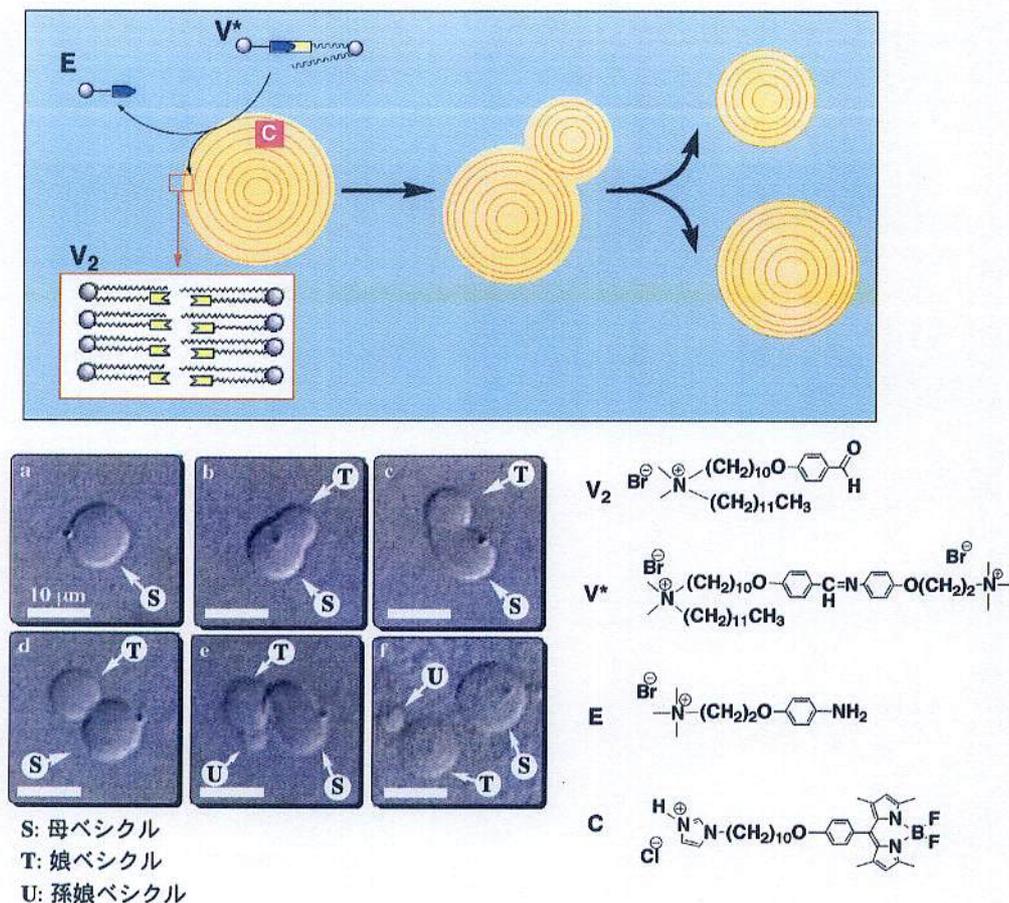
成することを見いだした。さらに V の生成に伴い、母ジャイアントベシクルが内水相で新たに娘ベシクルを生産し、これを外の水相に放出するという、ベシクルの自己複製過程をリアルタイム観察することができた。(図 7)



(図 7)

上記の系においては、予め内水相にある油滴が娘ベシクルの生産に消費されると、自己複製は停止してしまう。そこで、より発展的な系として、自己複製が繰り返し起こり、水溶性の養分のみでベシクル分子の生産をまかなえる自己複製系を構築した。この系では、2本鎖の膜分子 (V_2) からなる 2 分子膜が密に充填されたジャイアントマルチラメラ型の母ベシクルに、双頭極性型の水溶性養分 V^* を添加すると、 V^* は膜中の触媒 C により加水分解されて、ベシクル構成分子 V_2 と電解質 E に変換される。この時、母ベシクルは膜内での V_2 の数の増加により肥大しつつ、膜表

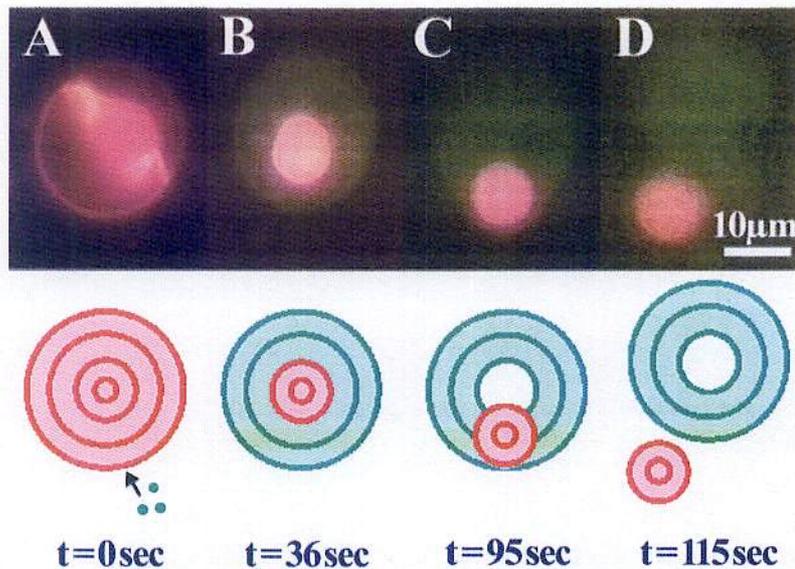
面と電解質 **E** との相互作用により娘ベシクルへと分裂する。さらにそれにとどまらず、養分 **V*** が娘ベシクルに浸透することによって、娘ベシクルが自己複製を繰り返し、孫娘ベシクルを産み出す過程まで観察することに成功した。(図 8) 本系により複製を繰り返すベシクル系が誕生した。



(図 8)

II-A-2 【 多重ベシクルとミセル型両親媒性分子が示す膜ダイナミクス：内層ベシクルの飛出 】

上記 (II-B-1) のように顕著な膜分子ダイナミクスを詳細に検証するために、膜分子蛍光プローブを新たに合成し、蛍光顕微鏡法によるダイナミクスの追跡を行った。同心型リン脂質ジャイアント・マルチラメラ・ベシクルに対し、別途合成した双頭極性型両親媒性分子を界面活性剤と共に添加すると、ハイブリッドしたベシクル膜が、段階的に外側の膜から内膜へと順次形成されていき、ついには内部の未襲浸のリン脂質ジャイアントベシクルが外へ飛び出すという現象を発見した(図 9)。飛び出したリン脂質ジャイアントベシクルは、再び同じダイナミクスを繰り返す。このような膜ダイナミクスの協同効果はリピットワールドのダイナミクスの本質を理解する上で重要な知見を提供するものと考えられる。



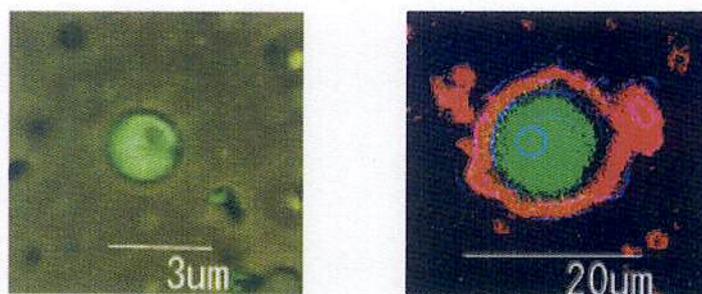
(図 9)

両親媒性分子システムの示すダイナミクスは、非線形系での再帰的ダイナミクスにつながる可能性を有し、「Lipid ワールド」とも呼べる反応系を構成することが示された。

II-B 複製する細胞の原型の合成へー

II-B-1 リポソーム内での転写翻訳、複製をそれぞれ成功——RNA 複製とタンパク質合成

自然界に存在しているほぼすべての自己複製単位の構造が細胞形態、つまり脂質 2 重膜に包まれた形を取っている。そのことによって、細胞内外の区別、細胞間の相互作用が可能となっている。細胞型生命の特性を研究するために、それを人工的に再構成することを最終目的とする。この系では、RNA 合成酵素遺伝子から、RNA 合成酵素を作り、その酵素が元の RNA を複製する自己複製システムをリポソームに埋め込む。リポソームは多様な形を作り出す。そのため、単一の条件で合成しても、リポソーム集団は大きな多様性をしめす。現在までに、リポソームの内水相体積、脂質含有量に着目して、集団の多様性を測定することに成功した。また、RNA 合成酵素遺伝子の改良によって酵素の高度大量調整法を開発した。このことによって、脂質 2 重膜でできたリポソーム内で RNA の複製反応 (図 10) に成功した。その複製効率は高く、リポソームをセルソータによる分離が可能になった。よって、リポソームの安定性などを指標に RNA の進化実験が可能になった。また、無細胞タンパク質合成系の最適化を行い、初めてリポソーム内で機能性タンパク質 (GFP) を合成することに成功した (図 10)。

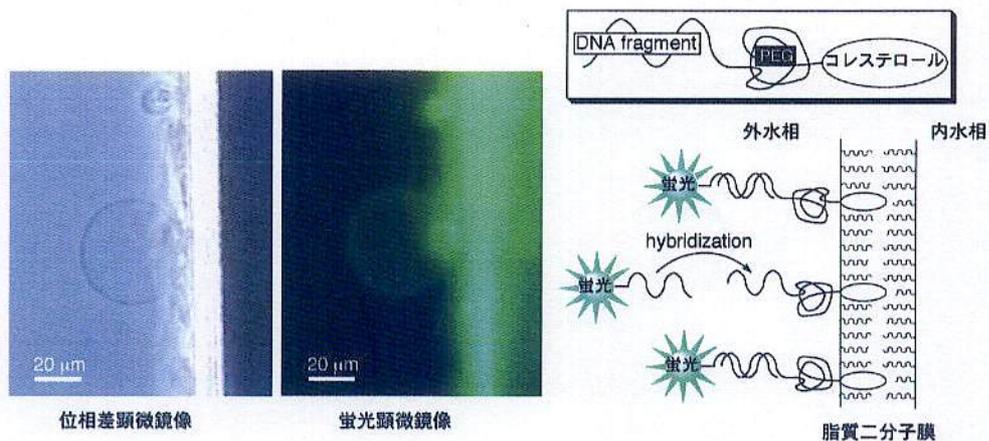


(図 10)

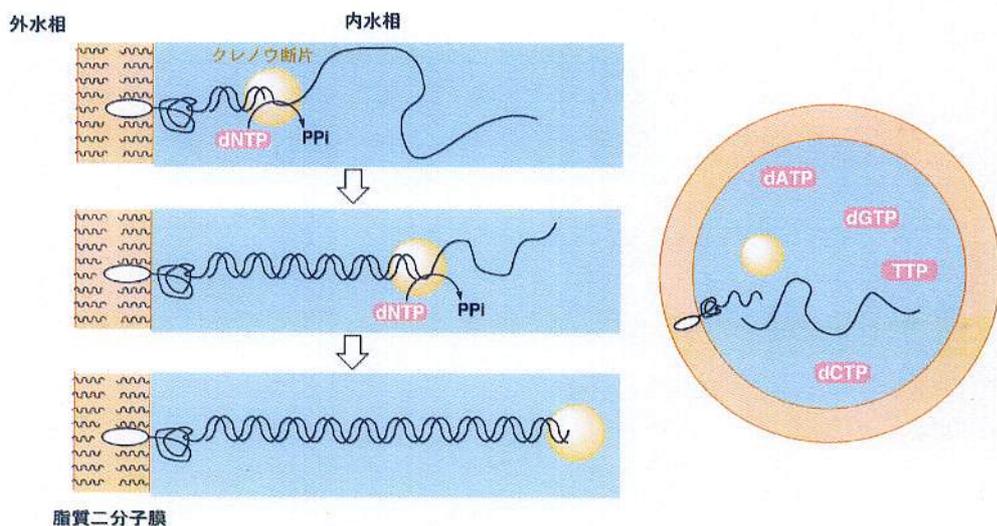
II-B-2 膜上での情報分子の複製

細胞性生物にとって不可欠な要素の一つである情報分子を組み込んだベシクルを構築すること

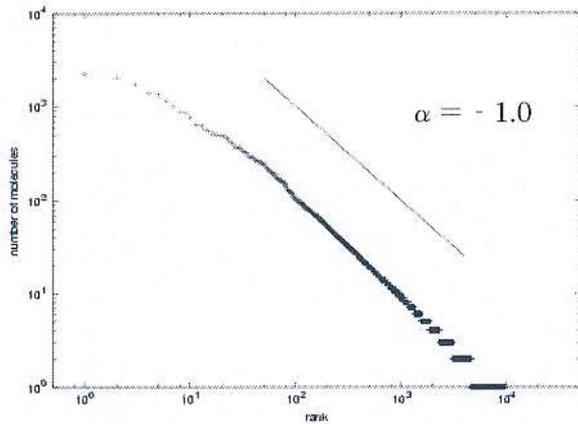
を目指している。情報分子としては DNA を選択した。最終的に内水相の情報分子と膜生成が連動する人工複製系に組み上げるため、脂質と短鎖 DNA フラグメントを共有結合でつないだ新規複合分子を設計・合成した。この複合分子は膜とバルクの水相の界面に局在し、膜と外部から添加された DNA の両方に同時に作用することが示された (図 11)。さらに、DNA 重合酵素クレノウ断片を用いることにより、膜表面という特殊な環境下でも、一本鎖 DNA から二本鎖 DNA を生成できることが分かった (図 12)。この実験結果は、膜表面に情報分子を担持させた人工細胞モデルによって、情報の複製を行うことが可能であることを示している。また、情報分子と膜とが結合した本複製系は、分裂様式に依らず情報分子を娘ベシクルに確実に分配されるというメリットをもち、原核細胞の分裂における分配機構を構成的に理解する上でも重要である。



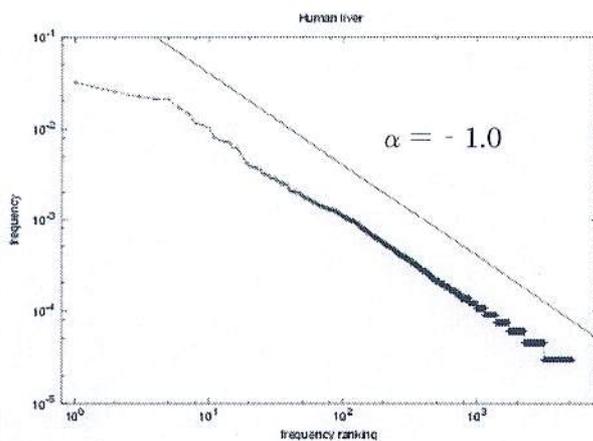
膜とDNAに相互作用できる複合分子を介した蛍光DNAプローブによる膜染色 (図 11)



クレノウ断片を用いた膜表面におけるDNA重合反応 (図 12)



(図 14A) 理論で発見された 成分量とその順位の逆比例法則

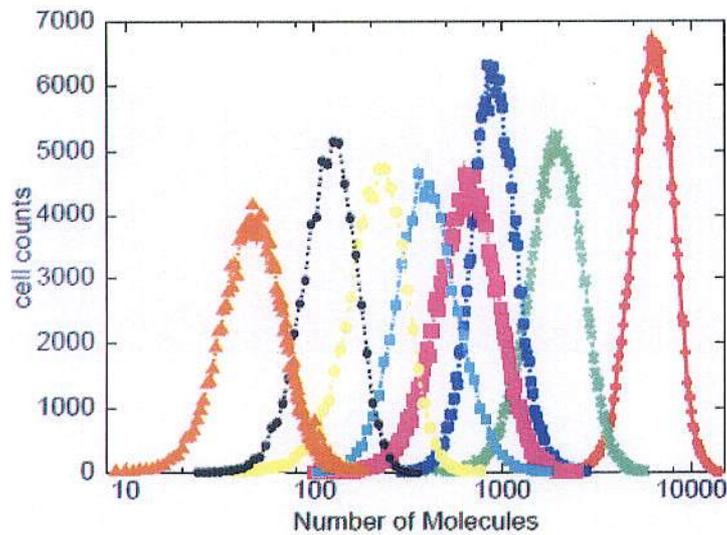


(図 14B) 実際の細胞で確認された 成分量とその順位の逆比例法則

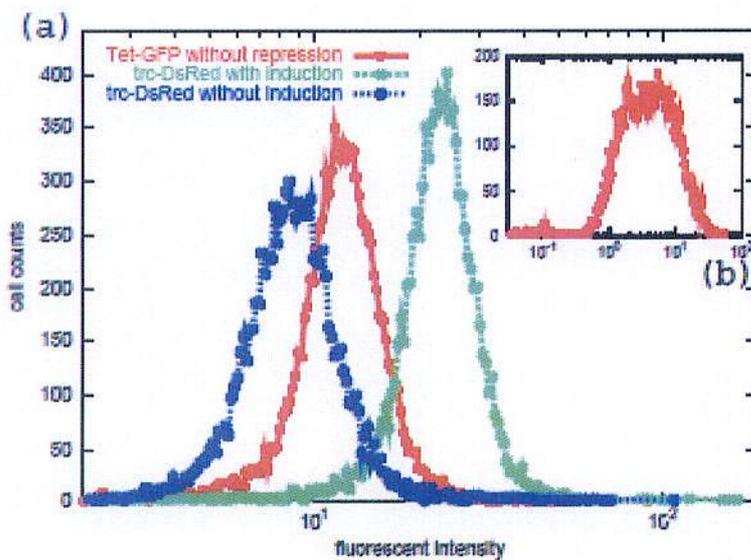
上で示した遺伝子発現の逆比例法則のデータは、多数の細胞から抽出した mRNA を合計したサンプルから得られたものであり、平均値においても成り立つ性質である。しかし一方で、各成分の分子数はそれぞれの細胞で大きくゆらぐ。そこでこの細胞モデルにおいてそれぞれの成分の分子数が細胞分裂時にどれだけあったかを累積しヒストグラムを作り、その分布を調べてみた。その結果を横軸を対数スケールで示したのが図 15 である。ここから、成分量の分布は対数を取った量がガウス分布に近くなることが読み取れる。この対数正規分布と呼ばれる分布はやはり普遍的に成り立つ。この分布は、(対数をとらない)もとの変数でみれば量の多い方に大きなテイルを持ち、量の多い側に大きなゆらぎを示す。この理由は触媒関係がカスケードをなし、ある階層にある成分量のゆらぎはカスケードの次の階層に積の形で伝播することに着目して理解される。つまり、量 x, y, \dots の積はその対数をとれば、 $\log x, \log y, \dots$ の和であらわされるので、対数をとった変数で考えると、足し算の形でゆらぎを受け、対数をとった量に対して、通常の統計の考え方をあてはめることができるからである。

この理論が、実際の細胞においては成り立つかを調べるべく、大腸菌内のタンパク量の分布を GFP などの蛍光物質を用いて測定した。図 16 に示すようにやはり大きい方にテイルを持ち、対数正規分布に近い。そこで理論で予言された法則がここでも確認された。この結果によればタンパクの量は、大きなゆらぎを持っている。このゆらぎの持つ意義、特に進化への意義は V 節で論じられる。

以上をまとめると、細胞内の全成分量のランク分布が Zipf 則に従うことや、それぞれの成分量の分布が対数正規分布に従うことが自己複製する細胞が共通に持つ基本的な法則として見出された。



(図 15) 理論モデルでの成分量の細胞ごとでのゆらぎの分布。異なる色は異なる成分



(図 16) 細胞(大腸菌)ごとのタンパク発現量の分布を GFP,RFP などの蛍光タンパクを用いて蛍光量の強さで測ったもの。異なる色は異なる成分

III 発生をつくる

III-A アクチビン等の制御による未分化細胞からの臓器の構築

これまでに未分化細胞（アニマルキャップ）にアクチビンを処理するとその濃度によって、心臓、脊索など異なる臓器が形成されることを示していたが、さらに制御方法を変えてほぼ全臓器の構築に成功した（図17）。まず未分化細胞にアクチビンとレチノイン酸を同時に処理すると、腎臓（腎管）が形成される。これに対して、アクチビンを処理した後、5時間おいてからレチノイン酸を処理すると膵臓が形成される（図18）。この時間差処理によって新しい臓器形成を可能にした。一方、発生の理論を考えるためには、その処理の記憶が細胞の状態の中に維持されているという点は重要である。

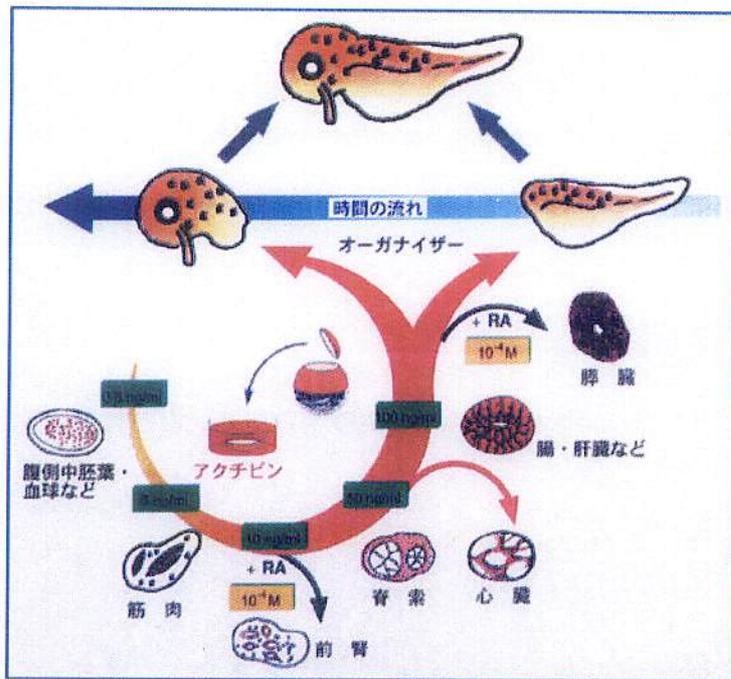
次に、正常な発生過程の順序をとばし（jump-over）でも、臓器が形成されることが示された。正常な発生過程では未分化細胞からまず筋肉や脊索などの中胚葉ができ、その後、中枢神経系ができる。その中枢神経系ができた後、目や耳の感覚器官ができる。しかしながら Con. A（コンカナバリンA）とレチノイン酸の濃度を変化させることによって未分化細胞から途中の段階をとばして（jump over して）目や耳をつくることに成功した。これは必ずしも、正常の発生過程どおりに制御されていないとしても、最終的な臓器に到達するという、構成的生物学としての成果である（図19）。

さらに、アクチビンの濃度、細胞数を制御パラメータとした心臓形成頻度を測定し、そこで合成した組織（心臓）が機能をもつことをも確認した。この時、細胞数が少なすぎても多すぎても正常な臓器ができない。これは、化学物質の濃度のしきい値でスイッチがオンオフされるという見方では説明できない現象であり、細胞全体の数の情報が各細胞にうめこまれて、部分と全体の間の相補的關係がつくられていることを示唆する（図20）。このことは以下の理論に対応している。

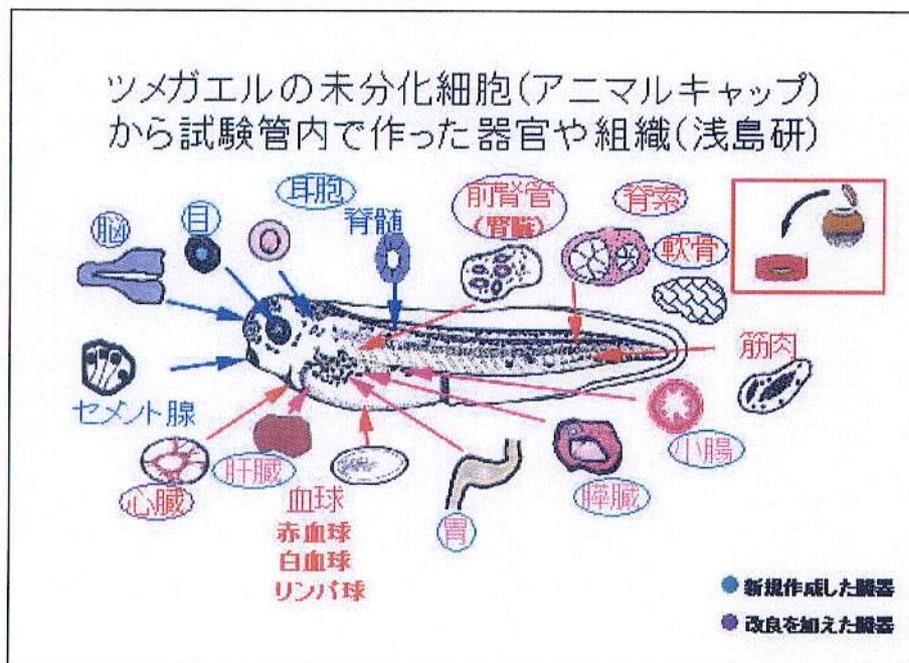
試験管内で未分化細胞からいろいろな臓器をつくるという時、大切なことは未分化細胞自体の細胞がどのようなものであるかについて知ることは必要である。今回はアニマルキャップという細胞シートを用いたが、このシートを構成する個々の細胞についてみると、一個一個の反応性に差があることが、マイクロアプリケーションを使うことによって明らかになった。この時アニマルキャップの外層と内層という差のみならず、アクチビンに対する応答性に差があることが、グースコイド遺伝子や、ミックス、ブラキューリー遺伝子などの時間的発現様式と発現生に明確な差があることがわかった。一細胞PCRの解析によるものである。未分化細胞の一細胞計測の可能性を示唆した。

また、アクチビンとレチノイン酸の共処理や時間差処理、濃度差処理、反応する細胞数など、いろいろな要素を加えることによって、試験管内で自由に臓器形成が可能となってきた。このことはまさに、発生のダイナミクスを示すものであり、量から質への転換、質（例えば腎臓）から他の質への転換（膵臓）などであり、それが時間の変化と共に反応能も、動的に変化していることを示した。このことは、発生の持つダイナミクスを解析していく時の調節能力と分化能力を新しい方向からアプローチできることを明確に示したことになる。

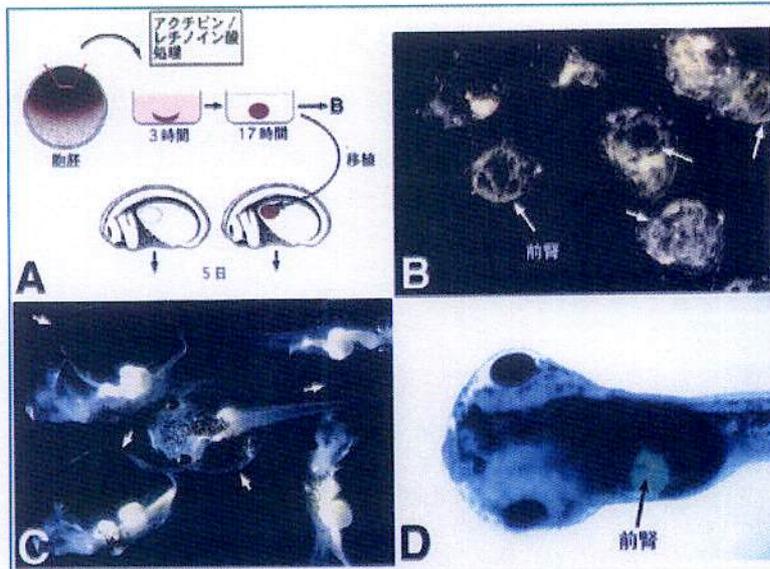
また、未分化細胞にいくつかの要素を加えることによって、感覚機能である眼球をつくることができた。眼球には神経性網膜や神経の他に、レンズもできており、正常杯の眼球と全く同じものであった。これを、幼生から両方の眼球を取り除き、眼球のない幼生に試験管でつくった眼を移植する。その時試験管内でつくった眼球には赤色のラベルを付けておく。そうすることによって宿主胚と区別しておく、やがて移植眼球から神経が中枢神経の視蓋に結びついていく。何故このようにうまく神経系が互いにきちんと結合して連絡をとるのか、興味深い。やがて成長して変態し、宿主は免疫能力を持つが、移植片（眼球）は脱落せずそのまま成長を続ける。両眼のないカエルは光を感知することができないので黒色のままであるが、片方に眼球を移植したカエルは正常カエルと同じように光を感知でき、体色を変化させることができる。眼球の完全な移植が初めて可能となったのである。このようなことは心臓や腎臓などでも行われ、成功した。発生過程の創出という点で、当初の目的は十分に果たしていると見ることができる。



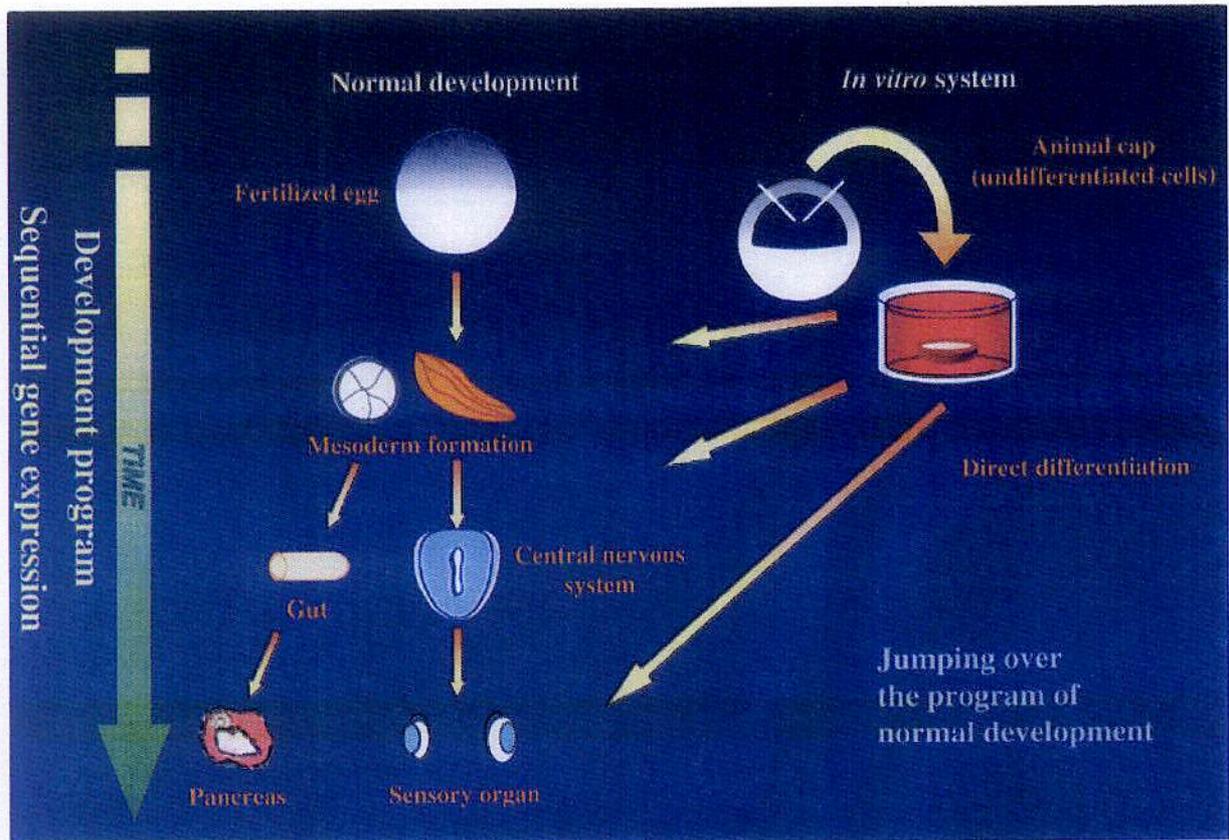
(図 17A)



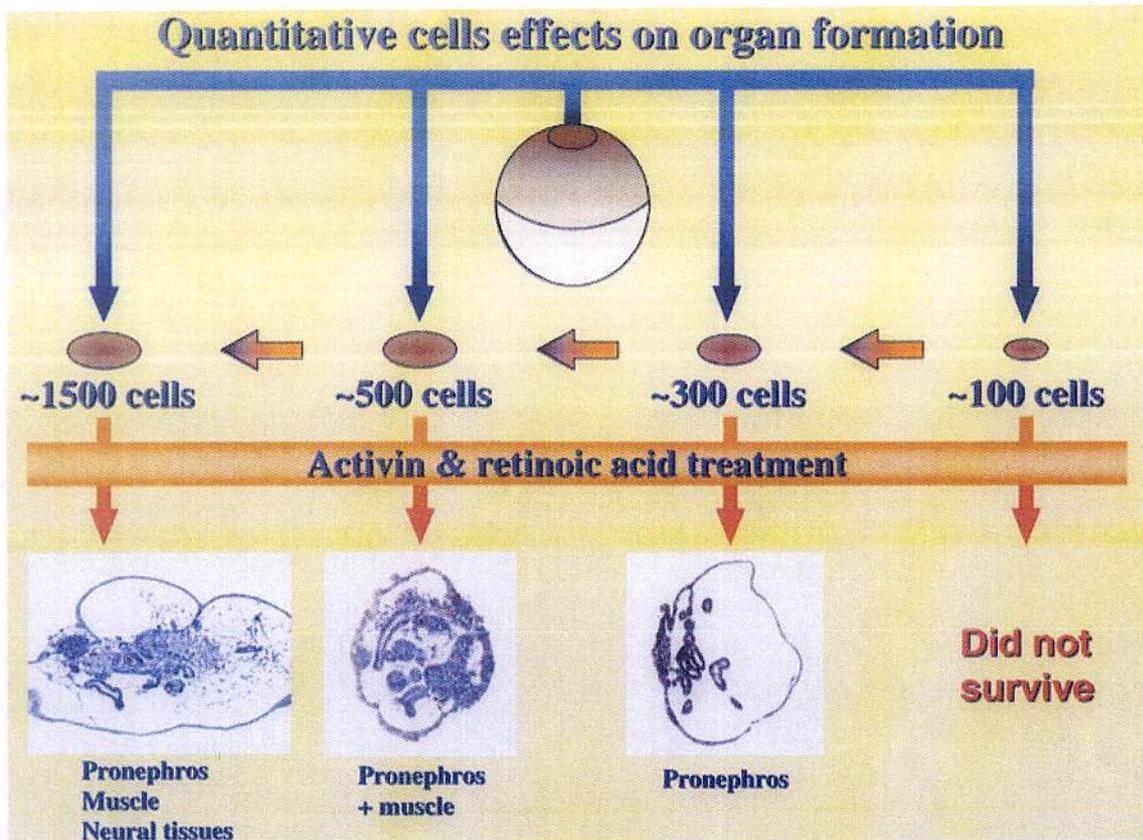
(図 17B)



(図 18)



(図 19)



(図 20)

III-B 理論

細胞分化があるクラスの系の普遍的性質であり、それから発生過程の安定性や分化の不可逆性が一般に説明できることを示した。まず、細胞内部の生化学反応、細胞の体積の増加に伴う分裂、そして化学物質のやりとりによる細胞間相互作用を最低限とりいれたモデル (図 21) のさまざまな数値計算から、以下を示した。

発生の不可逆性——可塑性の喪失
 発生の安定性——相互作用による可塑性の固着化
 可塑性——ゆらぎ、多様性での表現

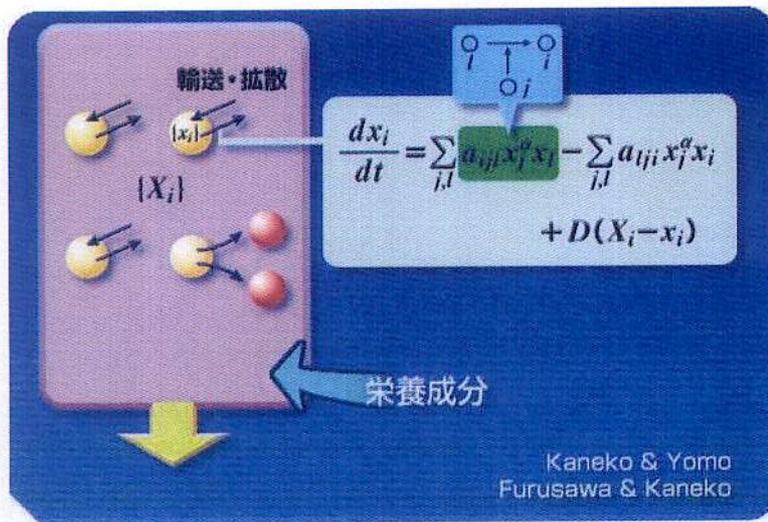
- (1) 細胞の数が増えるに従い、同一の化学状態を保つが不安定化し、分化を始める。
- (2) 異なる化学状態で表現された細胞タイプが形成される。ここで、分化した細胞は連続的でなくいくつかの離散的なタイプに収斂する。(図 22)
- (3) 各タイプの形成、各タイプの細胞数の分布は、ゆらぎに対して安定している。これは、各タイプが相互作用により互いに安定化しているためであり、そこからずれると不安定になるので、もとの状態への吸引が働くからである。
- (4) 各細胞の状態の決定には他の細胞との相互作用が重要である。実際、このモデルにおいて幹細胞からの分化はほぼ確率的におこるが、その「確率」は内部状態と相互作用より決まるので、各細胞タイプの比率によって分化確率は変わる。その確率の「自動制御」によって各細胞タイプの比率は、揺らぎや擾乱に対して安定している。この分化確率の制御は、各細胞状態に細胞全体の性質が埋めこまれたために自発的に生成される。
- (5) 最初は細胞は色々な種類の細胞に分化できる可能性を持っていたのが分化とともに全能性を失い、さらに順次多能性を失っていく。この不可逆的な分化が、内部自由度を持ってふえていく系の普遍的な性質であることが示され、さらにその多能性の喪失が、化学成分 (遺伝子発現) の多様性の喪失、化学成分の変動の減少として記述された。これをもとに実験で検証可能な予言を行った。

(6) このように細胞が増えて分化していくにつれ、細胞の内部状態から化学成分の勾配が生成され、その勾配がまた細胞の状態を安定化して相互に強めあうことで形態形成が起きる。外から勾配を与えなくても位置情報が自発的に生成され、それによって、ゆらぎに対して安定した形態形成が可能になる。(図23)

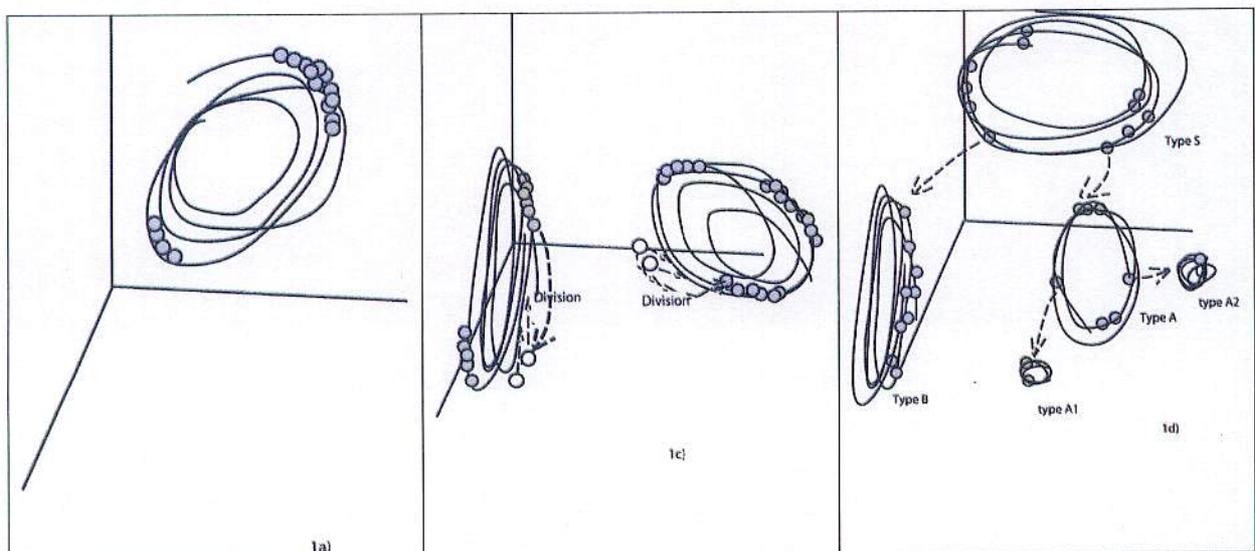
(7) このような多細胞体制の中から一部の細胞をとりだすと、そこから次の世代の多細胞生物が生まれる。この場合に、同じ細胞種類、ほぼ同じ形態を持った、次世代の多細胞生物が生じる。このような細胞集団としての再帰的増殖の条件を明らかにした(次節も参照)。

以上は、分化、幹細胞からの不可逆な決定過程、発生過程の摂動に対する安定性、位置情報の生成など発生過程での基本的な現象が、精密に遺伝子で制御しなくても普遍的に生じるものである。また、それが増えていくシステムがみだすべき性質であるという理論が展開されている。これらの結果は、上記の発生過程構築実験での、**jump-over** や部分-全体の関係が起こりうるための論理的基盤を与えている。

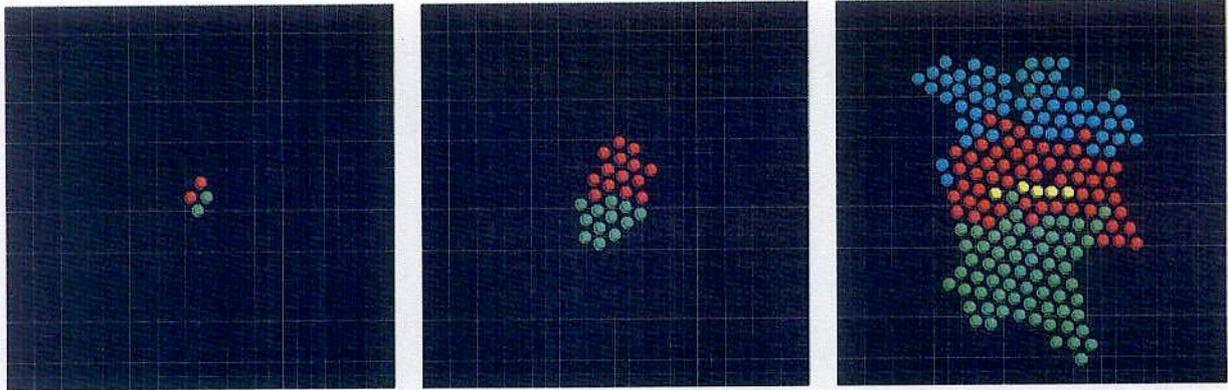
こうした発生過程が、どのような反応ネットワーク系で起きるかの条件を求めるのは今後の課題であるが、そのために膨大なネットワーク系を調べて、分化を起こす場合は始めに、可塑的な状態があること、さらに分化していくと細胞集団としての増殖が維持されることなどを確認している。



(図21) 理論モデル



(図22) 理論モデルでの細胞分化の状態空間での表現



(図 23) 理論モデルでの形態形成の例

IV 多細胞生物をつくる

IV-A 大腸菌の細胞分化系の構築

アトラクター選択：新しい適応の概念の提唱

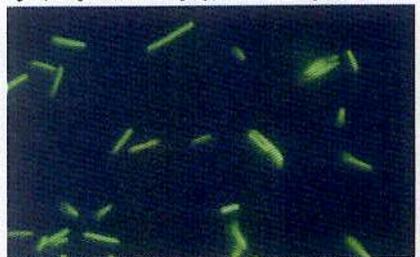
細胞の生理、特に発生過程は分子生物学的に現在までに多くの知見を得られている。そこでは、様々な分子が結合解離反応によって巧妙に発現制御され、最終形態に到達することが説明されている。そのような分子機構とは別に、細胞内の非線形ネットワークと細胞間の相互作用によって細胞分化が可能であることが III-B の理論においてもまた大腸菌の実験でも示された。はじめに、二つのオペロンがお互いに抑制しあうフィードバック制御を持つネットワークを大腸菌の中に構築した。オペロン 1 にはその発現を可視化するための緑色蛍光たんぱく質、オペロン 2 を抑制するラッカーリプレッサー、グルタミン合成酵素がコードされている。オペロン 2 にその発現を可視化するため赤色蛍光たんぱく質、オペロン 1 を抑制するテトラリプレッサー、ジヒドロ葉酸還元酵素がコードされている。

この遺伝子代謝ネットワークを埋め込んだ大腸菌を 3 つの環境で培養した (図 24)。2 つの栄養が豊富で要求性のない環境では、大腸菌は赤色蛍光たんぱく質と緑色蛍光たんぱく質を少量発現している。これは、二つのオペロンが互いに抑制しあって、必要のない酵素の発現を最小にしている。グルタミンが欠乏した環境を変化させると、オペロン 1 がコードしているグルタミン合成酵素が増殖に必須になる。すると、オペロン 1 が発現して、緑色の蛍光を発している。逆にテトラヒドロ葉酸が欠乏する環境になると、ジヒドロ葉酸還元酵素を発現することができるオペロン 2 が選択的に働き、赤色蛍光を示している。これらの実験結果は、細胞内のエネルギーを基準にしたアトラクター選択によって、遺伝子発現制御が起こり、環境変化への適応という生物の重要な性質が説明されることを示している。今回用いたネットワーク内には、環境変化をネットワーク内の制御領域 DNA に伝える if then 型分子情報伝達機構を含んでいない。この意味で、オペロン説と並列関係にある新しい遺伝子制御機構であるといえる。

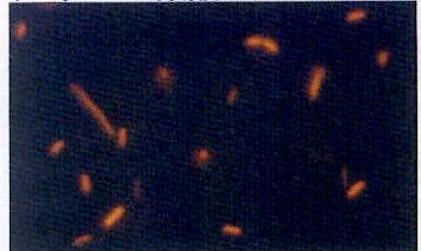
栄養欠乏のない環境



グルタミンが欠乏した環境



テトラヒドロ葉酸が欠乏した環境



(図 24)

この系では分子の結合解離による情報伝達によらず、むしろ、複数の力学的安定状態からの選択と言う形で代謝適応が進むことが期待され、大腸菌集団から多細胞生物のプロトタイプの構築のためのステップとなると考えられる (図 24)。

IV-B 理論

IV-B-1 アトラクター選択の理論

複雑な遺伝子代謝ネットワークを単純化した 2 重フィードバックループをもったモデルを考える。

$$\frac{d}{dt} m1 = \frac{\text{syn}(\text{act})}{1+m2^2} - \text{deg}(\text{act}) \times m1 + \eta_1 \quad (1)$$

$$\frac{d}{dt} m2 = \frac{\text{syn}(\text{act})}{1+m1^2} - \text{deg}(\text{act}) \times m2 + \eta_2 \quad (2)$$

$m1$ と $m2$ はオペロン 1 とオペロン 2 から作られる mRNA 濃度。 syn, deg は合成と分解の係数で以下のように細胞の活性をあらわす act による。

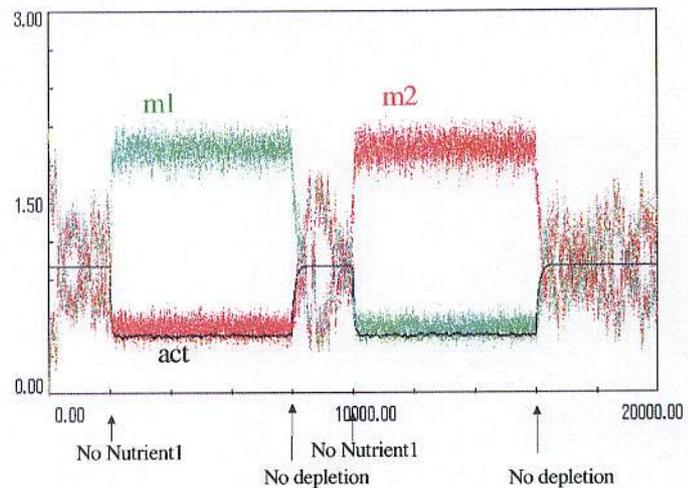
$$\text{syn}(\text{act}) = \frac{6\text{act}}{2+\text{act}}; \text{deg}(\text{act}) = \text{act};$$

第三項はノイズである。活性 act は以下の力学によるとした。

$$\frac{d}{dt} \text{act} = \frac{\text{pro}}{\left(\left(\frac{\text{Nut_thread}_1}{m1 + \text{Nutrient}_1}\right)^n + 1\right) \times \left(\left(\frac{\text{Nut_thread}_2}{m2 + \text{Nutrient}_2}\right)^n + 1\right)} - \text{cons} \times \text{act}$$

$\text{Nutrient}_1, \text{Nutrient}_2, \text{Nut_thread}_1, \text{Nut_thread}_2$ は栄養 1 と栄養 2 の外部からの供給濃度とその閾値である。栄養 1 と栄養 2 はオペロン 1 とオペロン 2 からコードされた酵素によっても補われる。 pro と cons は栄養を使った活性の生産と消費の係数である。

外部環境をかえて、この 2 重フィードバックループの応答を調べた (図 25)。外部からの栄養の供給 $\text{Nutrient}_1, \text{Nutrient}_2$ がある環境では、互いをオペロンを抑えたアトラクターになっており、mRNA の発現の合計は最小になっている。次に、ひとつの栄養の外部供給を断つと、その欠乏を補うアトラクターが選択されている。この環境では、吸収領域がおなじ 2 つのアトラクター (どちらか一方の mRNA が選択的に発現) が存在するが、適応的なアトラクターだけが選ばれるのである。これは、環境が悪くなって、活性が減ると、式 1、2 の決定論的項が小さくなり、第三項目のノイズによる揺らぎが大きくなる。そして、適応的なアトラクターに近づくと、再び活性を回復して、そのアトラクターに吸収されるのである。これが、アトラクター選択による環境適応である。

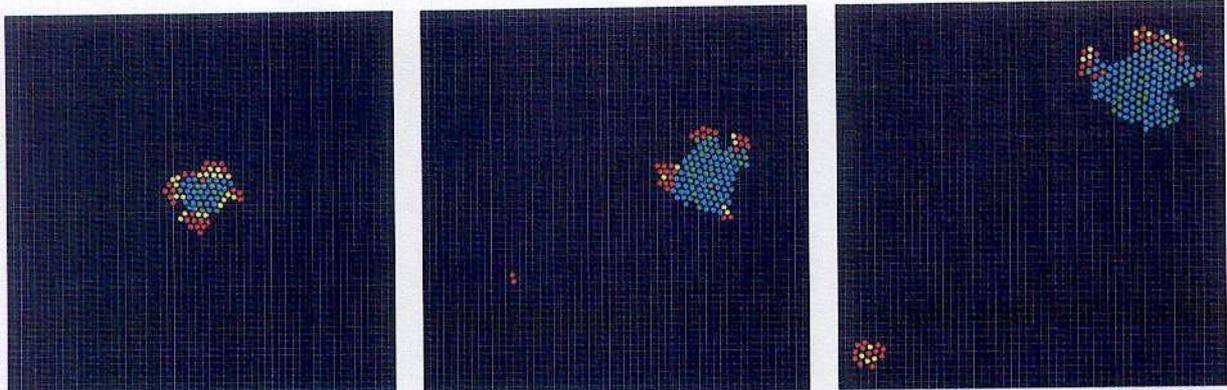


(図 25)

IV-B-2 多細胞生物の世代構築の理論

III-B で挙げた細胞分化の理論をもとに、安定した分化の比率制御などを議論した。さらに多細胞生物の理論としては細胞集団がその発展を通して、その一部の細胞だけを次世代に安定して伝える再帰的過程を形成するか、さらにその際、一部の種類の細胞だけが子孫を残すという生殖

系列の分離が生じるかを議論しなければならない。そこでⅢ-Bでの理論モデルに細胞の接着性をさらに考慮したモデルを調べた。その結果、Ⅲ-Bで述べた細胞分化の後で、その一部のタイプだけが放出され次世代の祖先となる場合が見出された(図26)。これは生殖系列の原型とも考えられるが、さらに、生殖系列を分離して次世代をつくるという「狭いパス」を通ることが細胞集団の再帰性を保つために本質的であるという理論的説明を与えた。

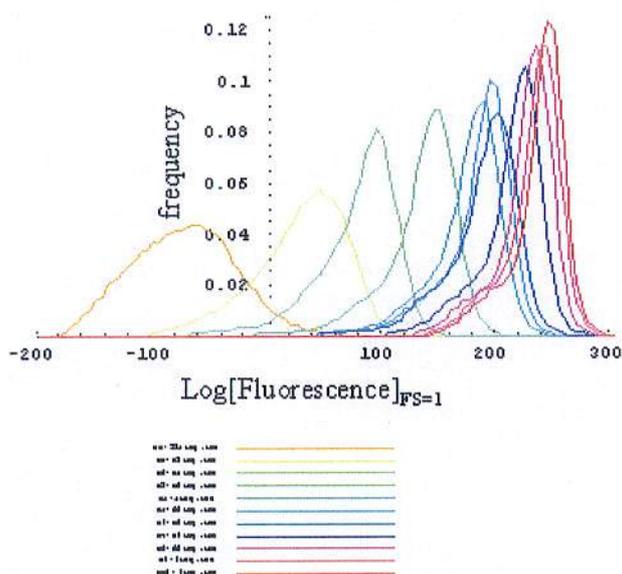


(図 26)

V 進化をつくる

V-A ゆらぎと進化の一般法則

大腸菌の中に、ランダムなアミノ酸配列から作ったタンパクの合成系をくみこんだ系を構築し、さらに、このタンパクが蛍光を発する度合の強い方を選択するという淘汰を行い、蛍光の高いタンパクを合成するように進化させた。この構築において、重要な点は表現型のゆらぎと進化速度の関係である。まず、同じ遺伝子を持った大腸菌でも蛍光の発し方(タンパクの発現度合)は菌によって異なる。この揺らぎをセルソーターで調べる。下の図は、各進化世代で選択された単一遺伝子をもつ細胞集団がしめす蛍光強度の分布である。第一世代では、ピークで現される代表的な蛍光強度は弱く、そして分布の幅で示される蛍光強度の揺らぎは大きい。そして、一回の変異と選択で変化するピーク値、つまり進化速度と揺らぎが世代ともに減少している。言い換えると、この表現型ゆらぎが大きい状態の方が進化の速度が大きいことが見出された (図27)。



揺らぎが大きい変異体が速く進化する

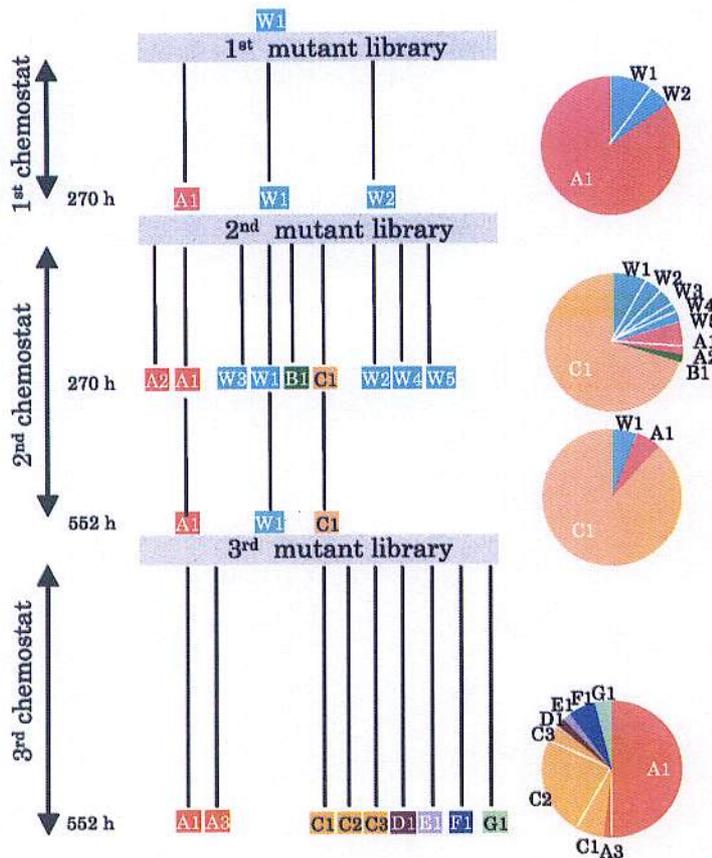
(図 27)

理論的には、これは、ゆらぎと応答の一般的関係によって説明できる。この理論はもともとは揺動散逸定理として統計物理で知られているものを、一般化して、揺らぎと応答率の比例関係として、ここで新しく提唱しているものである。この理論の検証、そしてその進化への意義の確認への第一歩が始まったと考えられる。

V-B 大腸菌人工進化系での細胞間相互作用の効果

大腸菌内の一遺伝子に変異を導入し、その遺伝子のみが異なる変異体大腸菌集団を連続培養する実験室内進化系を構築した。実際には、大腸菌の窒素代謝において重要なグルタミン合成酵素遺伝子の一部に PCR 法によってランダム変異を導入することにより、グルタミン合成酵素遺伝子配列のみが異なり、それ以外の遺伝子的背景は同じである変異体大腸菌集団を取得した。変異体はグルタミン合成酵素活性が異なるために、グルタミン酸を窒素源とした最少培地では違った増殖速度を示す。200~300 種類の変異体集団をグルタミン酸が窒素源の最少培地を用いて連続培養する。この系ではグルタミン合成酵素に選択がかかる。この変異と選択のサイクルを 3 回繰り返すことにより、実験室内進化系でのグルタミン合成酵素遺伝子に対する分子系統樹と個体群動態を得た (図 28)。その結果、選択のかかる条件であるにもかかわらず、より適応した遺伝子をもつ個体が勝ち残るのではなく、共存しながら、分子進化が進むことを示している。

集団構造に依存して、個々の大腸菌が増殖速度を変えることは、細胞間相互作用が重要であることを示唆する。そこで、培養液中のグルタミン濃度を測定したところ、外部から導入していないグルタミンが $1.7 \mu\text{M}$ 程度存在していることがわかった。このことは、菌体内でグルタミン合成酵素によって合成されたグルタミンが培養液中に漏れ出していることを示している。次に、このグルタミンを培地の窒素源として多く含まれるグルタミン酸に変換する酵素であるグルタミナーゼを培養液に加えて競争実験を行った。その結果、グルタミナーゼを含まない条件においては安定な共存を示す複数種の菌体を用いたにもかかわらず、グルタミナーゼを含む条件では単一株のみが検出された。以上の結果より、個体から漏れ出たグルタミンによる個体間相互作用によって、個々の大腸菌がその増殖速度を変化させ、複雑なダイナミクスを作り出していることがわかった。

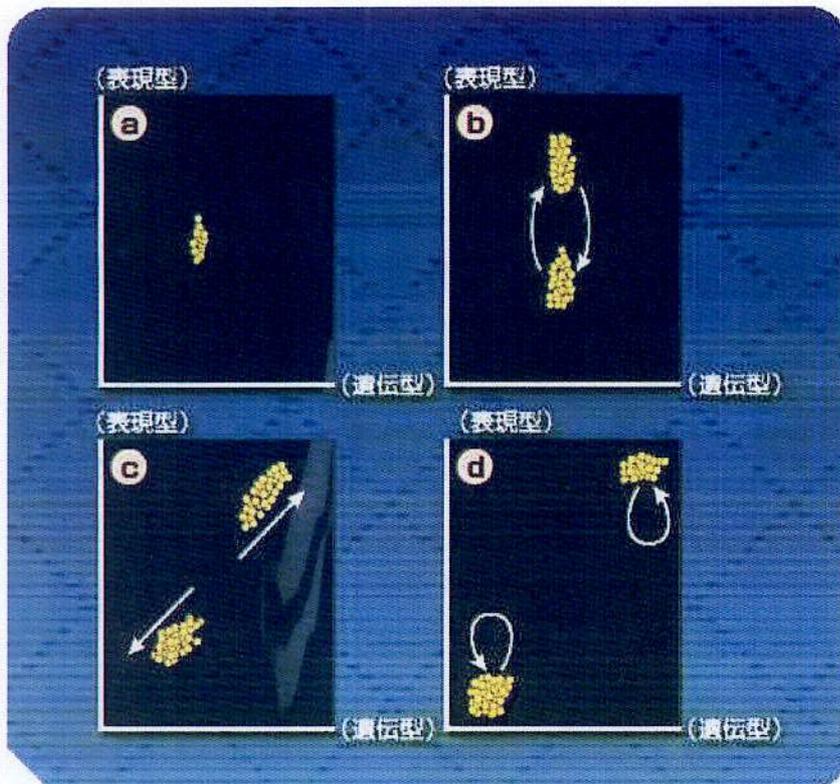


There is a coexistence of some mutants at each chemostat culture even under a strong selection pressure.

(図 28)

V-C 種分化の理論

発生過程で展開された理論を1個体にあてはめると、同じ遺伝子と初期状態をもった2個体が相互作用を通して表現型の異なる状態を持ちうるということの意味する。では、これは進化に対してどのような意味を持つだろうか。つまり、発生過程、表現型の可塑性が、遺伝情報が変化する進化的なスケールでどういう意義を持つかである。そこで、相互作用による表現型の分化を示すⅢ-Bでのモデルに、遺伝型の突然変異と淘汰過程を(通常の進化理論に従って)加えたモデルを調べた。その結果、まず同じ遺伝型を持った個体が相互作用により、異なるタイプの表現型を持つように分離した後、この表現型の違いが遺伝型の差異に固定されることが示された。この結果、遺伝型と表現型の1対1対応が回復し、この段階ではそれぞれのグループの子孫は親と同じ遺伝型/表現型を保つようになる。その意味で遺伝的にも分離した種の分化が完成する(図29)。これは安定した同所的な種分化を示す一般的な理論である。さらに、ここでの分化は雑種の不稔性を与えることが示された。その結果交配相手の選択に関しての生殖前隔離も進化してくる。これまでは種分化理論は交配相手の選択を工夫することで議論されて来たが、この理論ではむしろそれは結果として自動的に進化することを示している。また、発生過程の可塑性が進化を促進させるという点で、発生-進化の関係を考える上での大きなステップと考えられる。実際、可塑性により進化が進み、それが進化の進展とともに減少していくという理論結果は、大腸菌の進化実験の結果とも整合している。



(図 29)

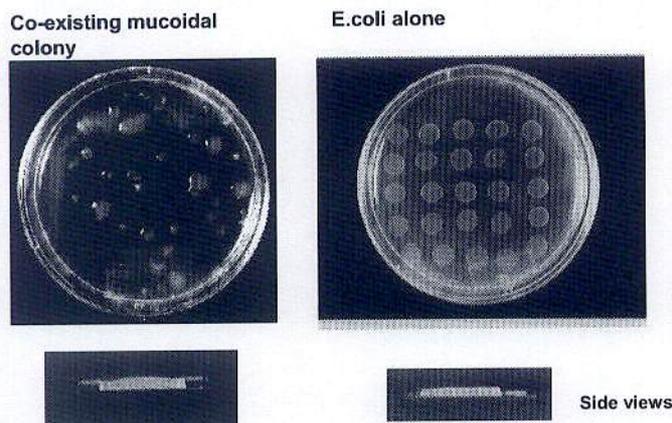
VI 実験室内共生系の構築

VI-A 粘菌と大腸菌の共生体の構築

本来、捕食関係にある二種の生物が、長期に渡って安定的に共存する共生関係へと移行する実験系を構築するのに成功した。細胞性粘菌 *Dictyostelium discoideum* と大腸菌 *Escherichia coli* は捕食-被食者の関係にあり、この二種を完全栄養培地上で培養すると、大腸菌は粘菌に食べ尽くされ、粘菌は飢餓状態に陥ることが知られている。ところがこの二種を最小培地上で培養すると、大腸菌が表現型の著しく変化したコロニーを形成し、粘菌はこのコロニー中では大腸菌を食べ尽くさず安定的な系を形成することが分かった。このコロニーは形態的には完全培地上で培養した大腸菌に見られる黄色っぽい平板なコロニー (図 30 右) と異なり、半透明ゼリー状の盛り上がった粘性の高いコロニー (図 30 左) であり、粘菌はその中で分散して存在している。粘性共生コロニーの形成機序は以下の様である。

- 1) 粘菌と大腸菌を最小培地上に植えると始めに分裂速度の速い大腸菌が培地上を占める。
- 2) 続いて粘菌細胞が大腸菌を捕食しつつ分裂する。この時、肉眼観察では培地上の粘菌が増殖している部分は粘菌が食べ尽くされ、透明なコロニー状のスポットとして観察される。
- 3) 大腸菌がほぼ食べ尽くされた培地上から半透明の粘性大腸菌コロニーが出現し、その内で粘菌が分散して生存しているのが観察される。
- 4) 粘性大腸菌コロニーはそのサイズを増長させつつ、捕食者粘菌と安定的に共存する。

こうして形成された共存コロニーは植え継ぎ可能で、新たな培地に移しても安定して成長することが可能である。また、一度共存コロニーを経験した大腸菌は、粘菌との培養を再び開始した時に、共存コロニーを経験していない大腸菌に比べて共存コロニー形成の速度が速くなっている。このことは共存コロニーを経験することで大腸菌の履歴に何らかの変化が起こったことを示唆している。この粘性物質を分析した結果、通常の大腸菌の細胞外基質より高分子物質が多く、多糖成分の糖鎖の種類が異なっていることが分かった。



(図 30)

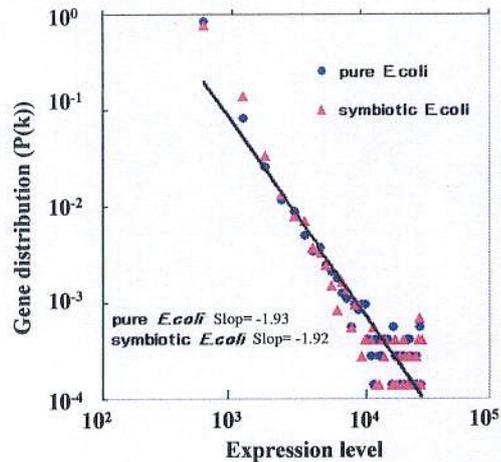
VI-B マイクロアレイによる遺伝子発現変化の確認

共生系形成過程でどのような遺伝子代謝ネットワークの再編成が起こったのであろうか？共生系形成前後の大腸菌から、全遺伝子の mRNA を取り出し、アフィメトリックス社のジーンチップを用いて、各遺伝子の発現量を測定した。その際、発現量推定のための新しいアナログを開発し、アフィメトリックス社の解析ソフトに比べて、2桁程度高感度の測定を可能にした。その結果、かなり多くの遺伝子の発現量変化を検出できた。共生系形成過程で、ゲノム全体の 21% の遺伝子はその発現を増加させていた。増加していた遺伝子が比較集中していたのは、嫌気性代謝系、糖透過-多糖類合成系 (これは粘性物質を作ることに関連していそう)、トランスポゾンであった。減少していた遺伝子はゲノム中の 15.6% で、解答系、DNA-RNA 合成系、ストレス対応系であった。大まかには、共生によって、エネルギーや物質生産を抑えて共生状態になっていた。また、興味深いのは、共生状態になることによって、ストレスから開放されて、よ

り安定な状態に変化しているようであった。

以上の結果より、共生系形成過程での遺伝子代謝ネットワークの再編成が実験的に示唆された。図31は大腸菌ネットワークの各遺伝子の発現量 (mRNA 量) とそのような発現量を示す遺伝子頻度の両対数グラフである。負の傾きは発現量の大きい遺伝子はあまり多くないことを示している。傾きはほぼ-2で、これは多くの臨界点現象で見られるものと共通であった。(ここでは順位とでなく頻度でプロットしたのでII節の-1乗法則はそれに-1を加えた-2乗法則に変換される)。ここで特出すべきは、共生系形成過程前後で30%以上の遺伝子の発現量が変化しているにもかかわらず、同じ傾き-2をもったべき乗則が観測された点である。つまり、共生系形成過程で保存されるルールのひとつとしてべき乗則が見つかったことになる。

第II節で述べたように、べき乗則が遺伝子代謝ネットワークの再編成で保存されることは普遍的であり、大腸菌だけでなく、酵母、シロイナズナ、線虫、マウス、人などで調べてみても成り立つ。理論的には同じ状態を再生産できる細胞の性質であり、逆にいえば、ここでの共生系が安定して自分を再生産できる状態にいたったことを示唆している。

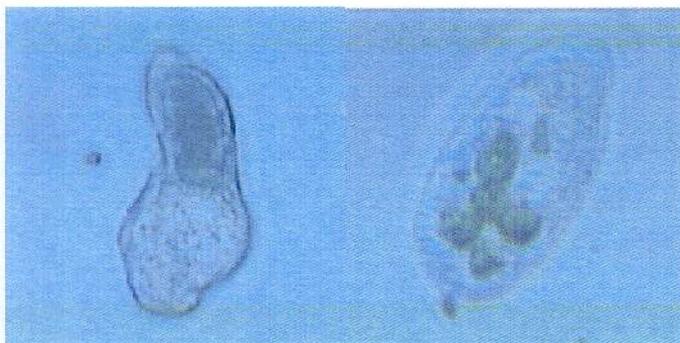


Conservation of power-law during the development of symbiosis

(図 31)

VI-C テトラヒメナとシアノバクテリアの共生体の構築

その一方で、光合成を行いうるシアノバクテリアを内部に含むテトラヒメナ(繊毛虫)という新しい共生体を構築した。ここでも、内部での光合成がないと生存できないような状況に細胞をおいこむことで、この共生体が生まれた。この進化過程でのゆらぎの性質を調べて、可塑性の変化を追求することが始まっている。



Tetrahymena thermophila alone
died after 3days-
anaerobic culture

Tetrahymena thermophila,
when culture with
Synechocystis sp. PCU8803,
survived after 90days-
anaerobic culture

(図 32)

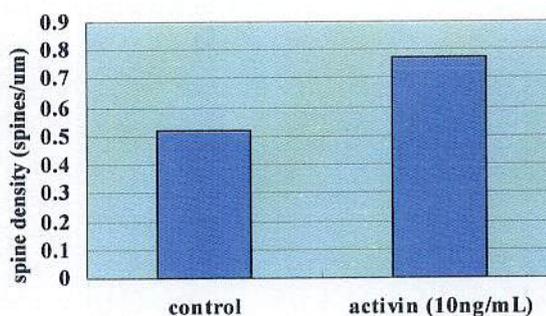
VII 記憶をつくる

VII-A アクチビンによるシナプス誘導の発見

発生を誘導する分化ホルモンであるアクチビンは、ラット脳では記憶貯蔵の場であるシナプスを作ることを発見した。神経細胞の単一シナプスを蛍光色素注入で可視化する方法を確立し、記憶中枢の海馬の神経で観測している。その結果、アクチビンを1時間作用させることで、シナプス数が急性的に増加することに成功した。更に卵成熟信号・女性ホルモンでもシナプス数を急性的に増加させることに成功した。これは細胞分裂が行われない脳では、細胞分化信号である性ホルモンが、記憶貯蔵シナプスを必要に応じて作成する機能を持っていることを示している。(図33)



記憶の貯蔵庫シナプスの数が
アクチビンですぐ増える



(図33)

VII-B 理論

一方で、どのようなシステムが記憶を可能にできるのかに答えるために理論研究を進めている。記憶において重要なことは、速く変動スケールする現象が、それよりもずっと長い時間スケールの状態にどう埋め込まれるかである。通常は速く変化する量はゆっくり変化する量に制御されている。これに対して、状態が大きく変化(分岐)する場合には逆の流れ、つまり速く変化する量の影響が遅く変化する量に順次埋め込まれることが起こりうることを示した。これにより、記憶のプロトタイプが作られる。この考え方を検証するために、異なる時間スケールの要素が結合した力学系を用いて、動的記憶の生成がどのような場合に可能かを示した。こうした、長時間スケールへの埋め込みの理論はVIの進化理論とも関係している。また、内部状態を持った素子が相互作用を通して、階層的なネットワークを作ることを示した。

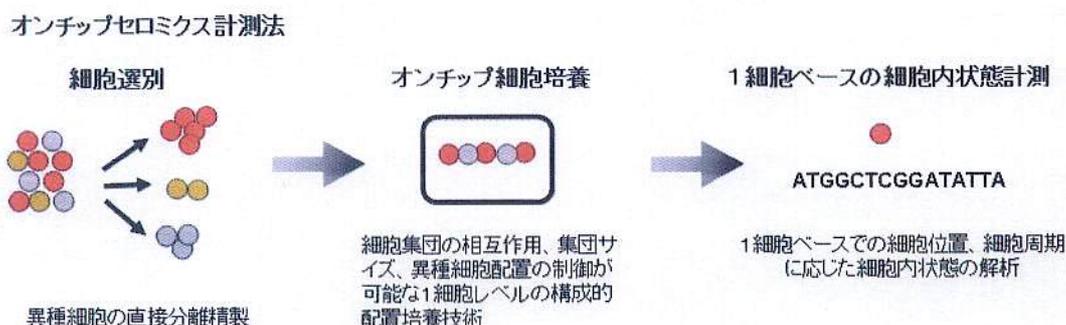
IIIX 構成的生物学実験の一般的方法論・技術としてのマイクロ加工技術を応用した1細胞操作、長期培養観測装置系の開発およびその応用

IIIX-A 微細加工技術を用いた「1細胞レベル」での構成的実験手法の開発

従来の、既存の組織・集団を観察する手法に替わって、構成的生物学実験を行う場合、作成した細胞集団が集団として正常にコミュニケーションをとる組織モデルとなるためには、少なくとも下記3つの技術が必要であると考えられる。(図34)

- ①初代培養の細胞、あるいは正常な細胞周期を持った細胞株から特定の細胞を精製する前処理技術、
- ②細胞のコミュニティサイズ、細胞集団内の細胞配置、異種細胞の構成、環境の制御を自在に制

御できる（組織モデルを実現できるような時空間配置を持った細胞培養を行うことが可能な）細胞培養技術、
 ③ 1細胞単位での細胞内状態のスクリーニング技術。



そこで、微細加工技術を駆使することで、上記各技術を実現する一連のオンチップ 1細胞解析システムを開発した。これは、具体的には、例えば、①については、欲しい細胞を選択的に精製するオンチップセルソーター、②については、細胞集団のサイズ、相互作用、空間位置を構成的に制御しながら培養することができるオンチップ 1細胞培養装置、③については、細胞集団の中の各細胞の状態を時空間分布データとしてモニターできる 1細胞発現解析装置等が相当する。以下に開発した各技術を述べる。

IIX-B 細胞培養のための細胞選択・精製技術：オンチップ・セルソーター

細胞を用いたさまざまな研究を行うために、特定の細胞を精製する技術は前処理技術として非常に重要である。実際に、組織中で機能している細胞の役割を分子レベルで理解するためには、組織から特定の細胞を精製し、これを生化学的手法や RT-PCR 法などの分子生物学的手法によって理解することが行われている。しかし、残念ながら現状では、上記手法で計測するとき、1細胞単位ではその内容物の同定をすることは難しく、計測可能な程度に大量に同一種類の細胞を集めて精製し計測されているのが実情である。このとき、精製した細胞集団の中に異なる情報を持った複数の細胞が混在すると、結果は混乱したものになってしまう。このことを考えても信頼できる精製手段の存在の重要性は明らかであろう。

1965年 Mack Fulwylerらは、ジェットノズルと液滴荷電によるセル・ソーティング原理を開発し、これが 1972年に市販セルソーターとして市場に初めて細胞の分離精製技術として登場した。現状においては、このセルソーターが一般に手に入る最も高速で精密な細胞精製手段なのであるが、このセルソーター技術にもいくつかの問題が存在する。その第1点は、間接的な散乱光あるいは液滴中の蛍光を観察する技術のため細胞の状態や微細構造そのものを空間配置として確認できないことである。

第2の問題点は、液滴を用いることの問題である。扱う細胞サイズに応じて、液滴サイズを変更するため、ノズルを交換する必要がある。このことは、ソーティングすることができる細胞のサイズに関するダイナミックレンジを制約することとなる。

第3の問題点は、細胞に与える損傷の問題である。神経細胞の分離・精製など、非常に弱い細胞を培養のために精製をする場合には、その生存率は20～30%とあまり高くない。

第4の問題点は、装置構成が複雑で、医療用途で用いるには、その衛生管理の観点から十分な対応ができないことである。

では、構成的生物学研究のために理想的なセルソーター像とはどのようなものなのだろうか。用途にもよるであろうが、我々は、下記のような条件を満たすセルソーターが必要であると考え

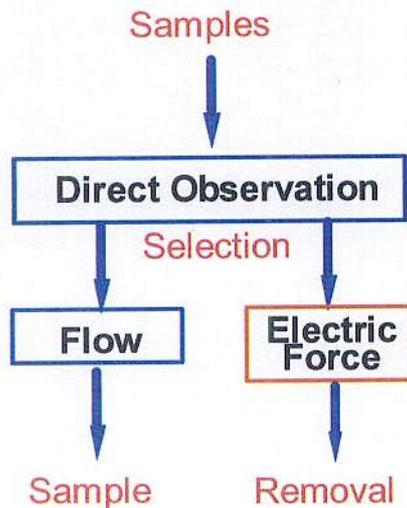
ている。

1. 微量の試料でも分離・精製できること。
2. 細胞の状態や内部構造を確認して精製できること。(再チェックが必要ない)
3. 層流中で取り扱い、極力細胞に刺激や損傷を与えない分離方法であること。
4. 試料ごとに、試料に触れた部分を使い捨てできること。(簡便であること)
5. デスクサイドで利用できるようなコンパクトなものであること。
6. システムの価格が科研費で買える程度の低価格であること。

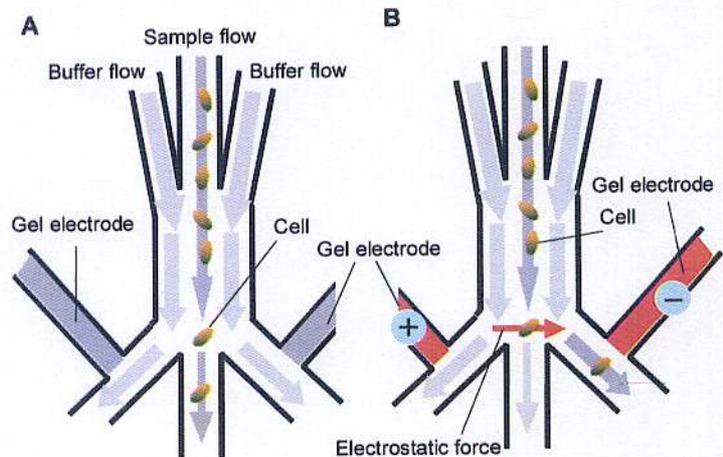
.....
上記のような条件を満たすセルソーターを実現するためのひとつの手段として、微細な流路や微小電極を配置できるマイクロ加工技術の特徴に着目し、現在、上記の条件を満足する使い捨て型のマイクロチップを用いたオンチップ・セルソーティングシステムを開発した。

この技術の特徴は、図35に示したように、ターゲットとする細胞は、そのままシースフローの中を通過させ、排除したい細胞のみに外力を作用させる分離・精製手順を採用している。これによって、ターゲットとする細胞が受ける損傷は最小限となる。

このような手順で細胞を分離・精製するオンチップ・セルソーターシステムの構成は、①実際に試料を流して細胞分離を行うセルソーターチップと、②チップ内を流れる細胞を識別し、採取する細胞か排除する細胞かを認識・判断する画像認識・処理システムからなる。以下に、これら2つの要素技術を紹介する。



(図35) セルソーターの動作アルゴリズム



(図36) セルソーターの駆動原理

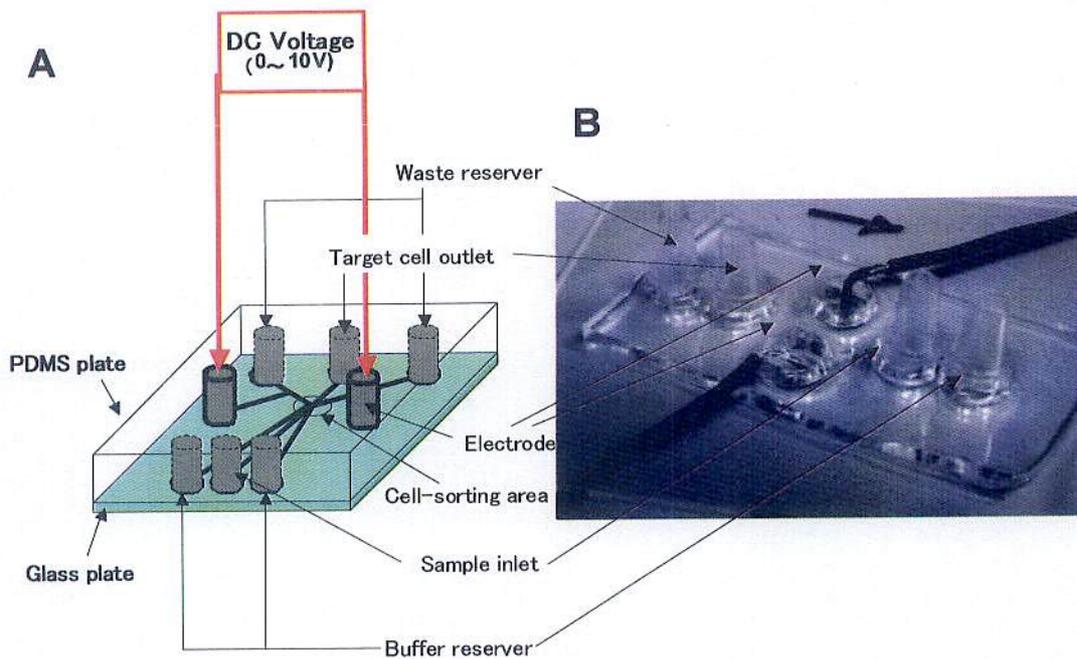
①セルソーターチップ

図36に、図35で示した分離精製手順を実現するチップの構造の模式図を示した。分離したい細胞を含む試料液は3つの流路のうち中央の流路の紙面上方より流れてくる。そして両サイドの流路からは層流(シースフロー)となるように溶媒のみが流れている。そして、3つの流路が交わる流路中心で、3つの流れは交わるが層流となっているため、細胞はそのまま下流側の中央の流路に導入される(図36A)。ここで、3つの流路が交わる位置に、排除したい細胞が到達したときには、ちょうどこの位置に、流れに対して直行する向きに配置した電極を用いて電界を印加することで、細胞を中央の流れから、サイドの流れに移動させることができる(図36B)。このチップでは、試料リザーバー、溶媒リザーバー等はすべて電氣的に絶縁してあるため、図でもわかるように、電圧を印加したときに電流が流れるのは、一対のゲル電極の間の細胞分画領域のみである。このことも試料に与える刺激を最小限にすることに役立っている。

この図36のデザインを実際に試作したものが図37に示したチップである。対物100倍での観察が可能な厚さ0.2mmのガラス基板上に、微小流路を掘り込んだ高分子(poly(dimethyl siloxane): PDMS) レイヤーを接着した構造をとっている。高分子PDMSは安価にマイクロ流路

を加工するために多くの利点を持っている。第1の利点は、マイクロ加工したい形状を形作った鋳型の上で固めることで、わずか数時間で μm オーダーのマイクロ構造を簡単に転写することができることである。その他、耐薬品性、光学的透過性、ガラスとの接着特性、安価な材料費など実用化にふさわしい多くの利点を持っている。電極には飽和濃度電解質を溶解させたアガロースからなるゲル電極を用いている。この電極は、電圧を印加することで溶失することはない。試料液の流速は、チップの下流に取り付けた吸引口の吸引陰圧を制御することで制御することができる。試料溶液と溶媒はそれぞれチップ流路上流に空けられた容量 $20\mu\text{l}$ 程度のサンプルリザーバーとバッファリザーバーに滴下して用いる。したがって $5\sim 20\mu\text{l}$ 程度の極微量のサンプルの全量分画精製が原理的には可能となっている。

実際、電場を印加しない場合には細胞は中央の流路から流れてきて、中央の回収用流路に回収される。他方、電場を印加すると細胞は中央の流路から、脇に配置された廃液用流路に排除される。このとき加える電圧は、 $10\text{V}\sim 20\text{V}$ 程度で、流速にもよるが $1/30$ 秒の電圧印加で細胞を移動させることが可能である。



(図 37) セルソーターチップの構造

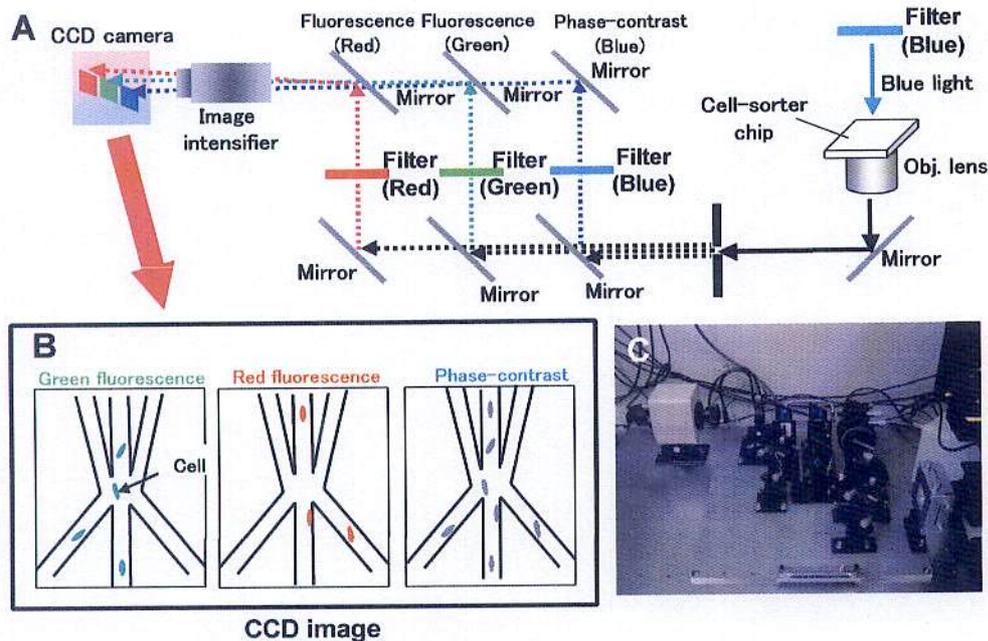
②画像認識・処理システム

次に、細胞の判別を行う画像認識・処理システムについて説明する。図38(A)に示されているように、チップ中の細胞の光学顕微鏡像(実体像あるいは位相差像)は、青色単色光によって計測する。対物レンズを通過した青色光は、その後のダイクロイックミラー、青色バンドパスフィルターによって光源と同波長の光のみ位相差像としてイメージインテンシファイアの受光面に導かれる。次に、青色光によって励起された蛍光のうち、緑色の蛍光、赤色の蛍光はそれぞれ、同様に緑色のダイクロイックミラーとバンドパスフィルター、ミラーと赤色バンドパスフィルターによって分岐され、上記3つのイメージが結像面上に重ならないように互いにずらした状態でイメージインテンシファイアの受光結像面に導かれる。その結果得られる CCD カメラ結像面上の像は図38(B)のようになる。異なる3つの情報(青(実体・位相差)、緑(緑色蛍光)、赤(赤色蛍光))を1つの CCD 受光面上に結像させることで、蛍光強度等の相対比を維持した形で、その後段での画像処理を1枚の写真の画像処理をするのと全く同様に、単純かつ高速な手順で進めることができる。また、本システムは特に $1/200$ 秒高速カメラを用いることで、リアルタイムに1分間に1万細胞程度の細胞の処理を実現しており、実用に耐えうる高速処理となっ

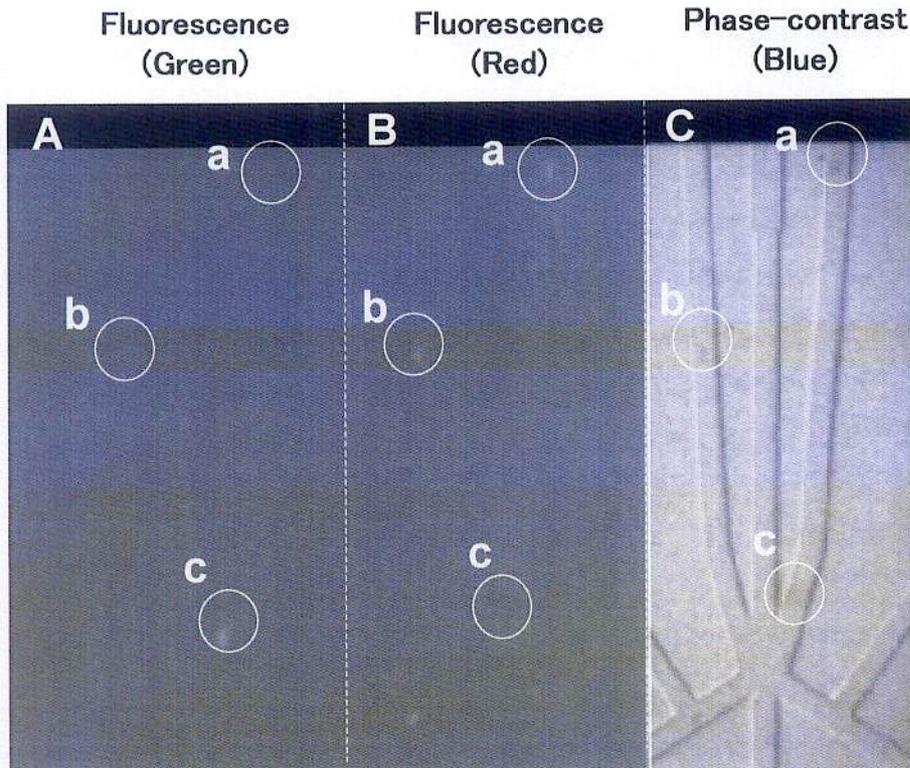
ている。

図39は、実際にこの CCD 受光面で計測した細胞像を示したものである。CCD 受光面の左側 1/3 が緑色蛍光顕微鏡像 (A)、中央 1/3 が赤色蛍光顕微鏡像 (B)、右側 1/3 が実体顕微鏡像 (C) である。実体顕微鏡像 (C) で観察される細胞 a, b, c に関して、蛍光を観察すると、細胞 a, b は赤色の蛍光を、細胞 c は緑色の蛍光を発していることがこの 1 枚の画像でわかる。このようにして、特定の蛍光を発する細胞のみを回収したり、あるいは、細胞中の特定の部位が特定の蛍光を発するものを回収することも可能である。

画像認識・処理の速度は現在 1/30 秒未満となっており、CCD カメラのフレームレート間に十分判断・分画の処理を行うことが可能となっている。



(図 38) オンチップセルソーターシステムの画像処理機構



(図 39) オンチップセルソーターシステムでの画像処理

上記のような、微細加工技術を用いた細胞精製チップと、画像処理細胞識別システムを組み合わせることで、細胞培養に最適な細胞精製技術の原理検討に成功した。この技術の実用化は、生物学研究の基礎技術である微量の細胞を簡便に精製する手段が研究者にとって身近なものとなることであり、構成的生物学実験手法への応用だけでなく、将来の細胞工学、細胞生物学、分子生物学に大きな躍進をもたらすものと期待している。

IIX-C オンチップ細胞培養技術の開発 (I) : 孤立した大腸菌等の「1細胞計測」技術の開発

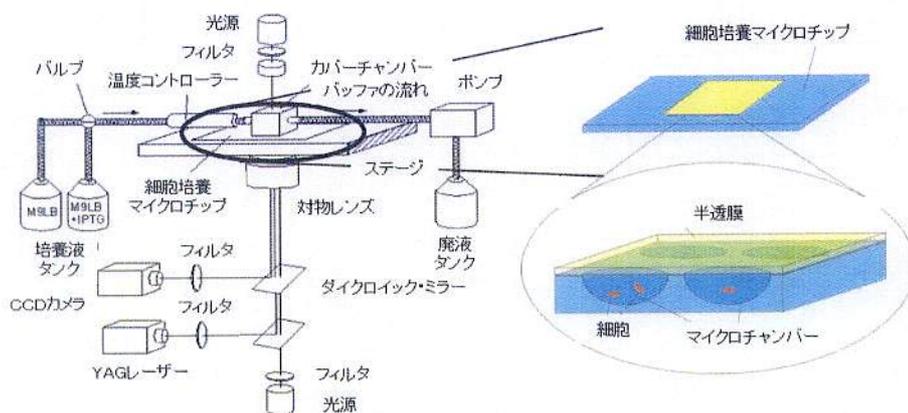
1細胞レベルで細胞同士の相互作用、環境との相互作用を完全に制御できるとしたら、まず測定するのはどのような情報であろうか。われわれは、まず先天的情報がどの程度の割合で、その子孫細胞の振る舞いを支配しているのかを知るため、大腸菌の1細胞レベルでの姉妹細胞の比較、そして直系子孫細胞の世代間比較を行った。

このために開発したオンチップ1細胞計測システムを図42に示す。これは、マイクロチップ表面に細胞を閉じ込める微小空間(深さ5~10 μ m、直径20~50 μ m)を微細加工し、細胞を導入した後にこの微小空間から細胞が逃げないように上から半透膜をシールしたものである。微小空間内の溶液環境は、チップの上を流れる新鮮な培養液が半透膜を透過して常に置換されており、微小空間内の環境を一定に維持することが可能である。また、半透膜で蓋がされているため、微小空間中の細胞数については、光ピンセットなどの非接触力を用いて細胞を捕獲運搬することで、孤立化させた姉妹細胞の成長速度、細胞周期などを比較したり、数世代にわたって細胞を孤立化し続けながら環境を変化させたときの細胞の応答を計測することも可能となっている。

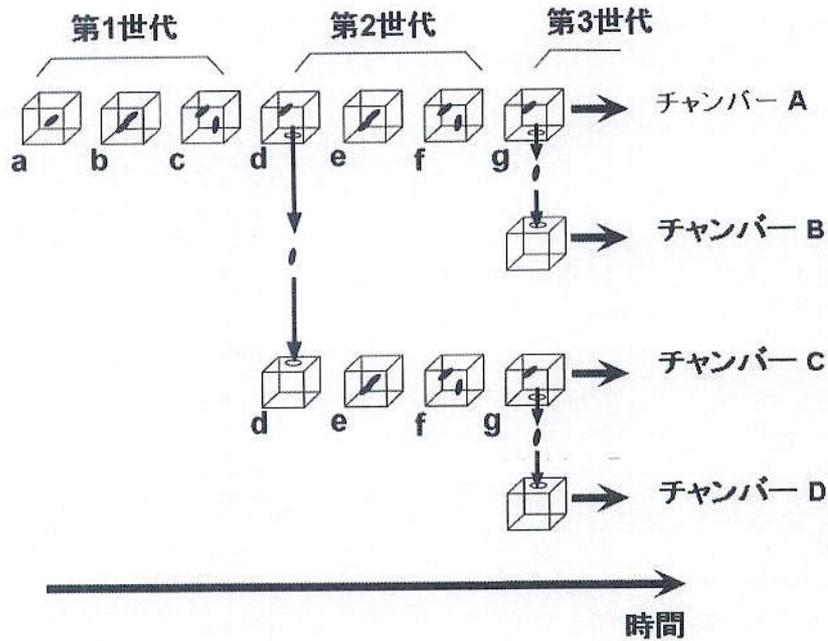
(図41)

上記技術を用いて、まず他の細胞との相互作用のない孤立化した条件下での姉妹細胞の細胞周期のずれについて計測した。その結果が図6である。これは、姉妹細胞の細胞周期のずれを分単位で計測して、この差を80組の姉妹細胞についてグラフにまとめたものである。この1細胞レベルの実験結果から、全く同じ遺伝子を持った姉妹細胞であってもこれらの細胞周期には大きなゆらぎが存在することがわかった。

また、微小空間内に孤立化した大腸菌細胞が細胞分裂する度に、2匹の娘細胞のうち一方を光ピンセットで排除することで、孤立化状態を維持した一定の安定した環境で、姉妹細胞各々(A~D)の直系の子孫細胞について世代間の細胞周期の揺らぎを比較したところ、これについても各直系子孫の細胞周期について30%程度の大きなゆらぎが観察された(図42)。これらの結果は、自分のコピーを細胞分裂で作りに出す大腸菌の遺伝子情報がまったく同一であっても、姉妹間、世代間での細胞の状態は大きくゆらいでいることを初めて直接計測した結果である。これらの結果は、オンチップ1細胞計測システムを用いることで初めて計測できたものである。そして、これらの結果は決して先天的情報のみがすべての細胞情報を支配しているのではなく、細胞集団の持つ後天的な情報の獲得プロセス、環境の変化に対する細胞情報の変化(応答)が容易に細胞の表現を変化させることを示唆している。

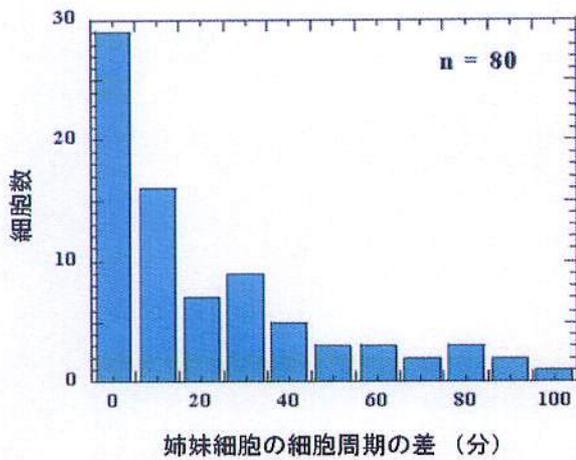


(図40) オンチップ1細胞計測システム

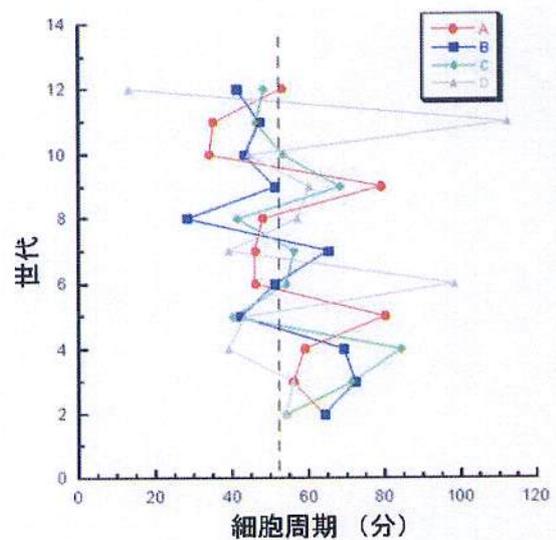


(図 41) 姉妹間・世代間の比較の方法

他方、栄養条件などの環境条件を極端に変化させたとき、細胞はその表現を変化させ、定常状態の時の値に最終的には戻ってゆくのであるが、その過程においては、世代をまたがってヒステリシスに乗っていることも観察された。すなわち、細胞は細胞質レベルで世代をまたがって情報を伝承していたのである。これは、一種の（後天的情報）の世代間遺伝を示しているものと言っても良いであろう。



(図 42) 大腸菌姉妹細胞の細胞周期の差の分布

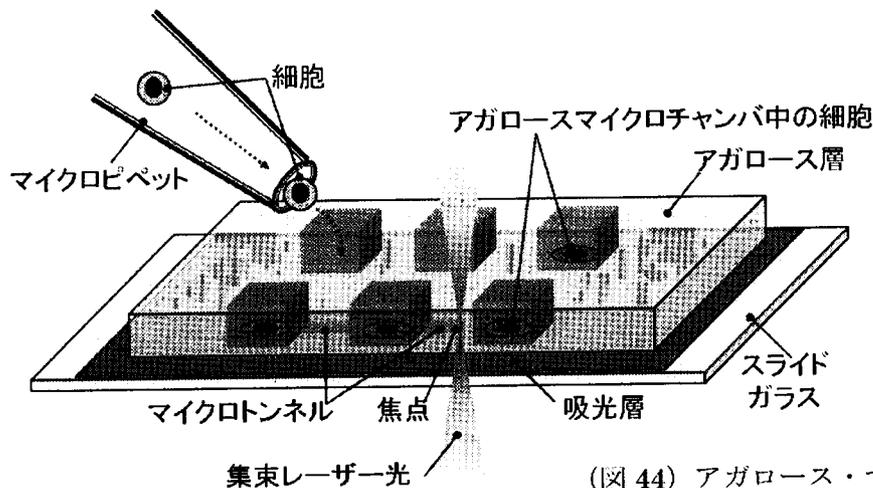


(図 43) 大腸菌直系子孫細胞の細胞周期の世代分布

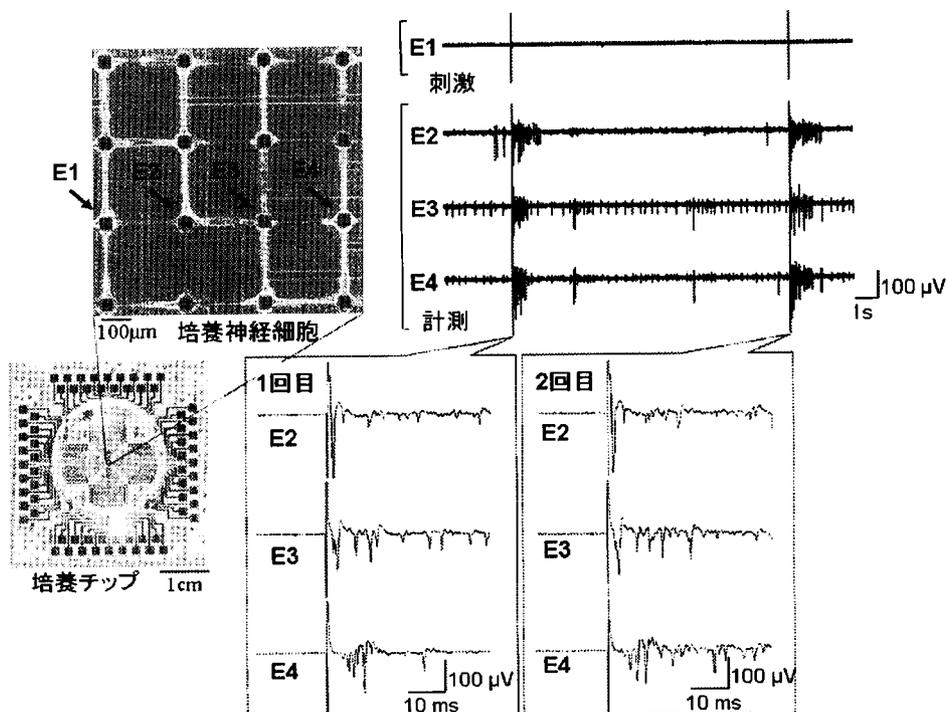
IIIX-D オンチップ細胞培養技術の開発 (II)：細胞集団のコミュニティサイズ・ネットワークパターン制御

後天的情報が安定して集団内に保持されるかどうかを支配する一つの重要な要素に細胞集団のサイズと細胞集団の空間配置（構成パターン）がある。

このような細胞集団の空間配置を自在に制御するマイクロ加工技術として、従来のガラス、シリコンの微細加工ではなく、スライドガラス上にコートした厚さ数十ミクロンのアガロース層を近赤外集束レーザー光で局所加熱することで溶解し、微細な溝のパターンをアガロース層に形成し、このパターンの中で細胞を培養する技術を新たに開発した(図44)。この技術を用いると、単に細胞をアガロースのマイクロストラクチャの中で培養できるだけでなく、たとえば細胞を培養している時であっても、局所に近赤外レーザーを照射することで、細胞が培養されているマイクロストラクチャの形状を自在に変えることが可能となっている。これによって、たとえば神経細胞の軸索の成長方向を制御して希望する細胞に誘導したり、あるいは培養中に細胞ネットワークの形状を変化させることができる。また、多電極アレイと組み合わせれば、1細胞レベルで神経細胞ネットワークや心筋拍動細胞ネットワークを培養中に段階的にパターン制御したり、さらには電極刺激、計測を確実に特定の細胞で計測し続けることが可能となっている(図45)。

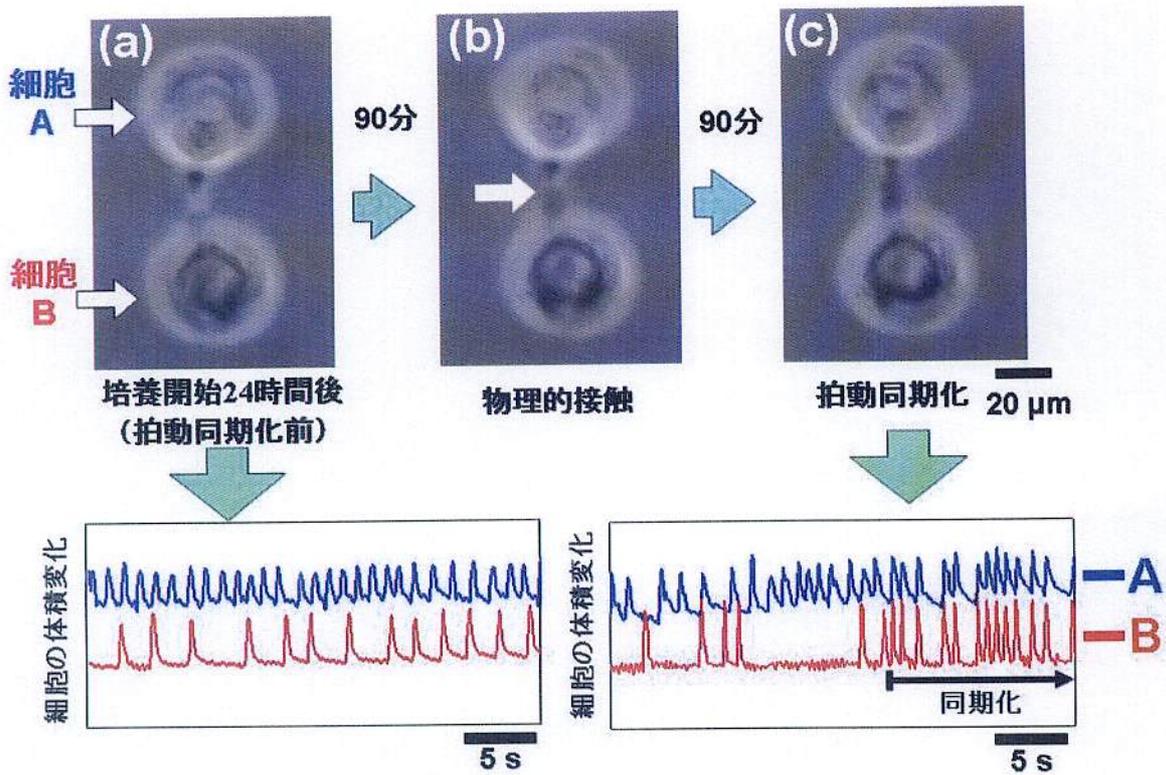


(図44) アガロース・マイクロチャンバ細胞培養系



(図45) ネットワーク形状・方向を制御した神経細胞ネットワーク計測チップ

また、本技術を用いれば、心筋細胞の拍動の同期化現象のダイナミクスを1細胞レベルで観察することができる。一般に細胞は、基板上を自在に運動するが、細胞はアガロース層中のパターン内から出ることができず、細いトンネルを通じてのみ他の細胞と接触することとなる。実際、独立して拍動している2つのラット心筋細胞の拍動同期化過程を観察したところ、2細胞は、物理的接触をしてから90分程度で、一旦、1方の細胞が拍動を停止して、他方の細胞の拍動に同期化するのが観察された(図49)。現在は更にネットワークを形成する細胞数に対する拍動周期の安定性についても検討中である。



(図 46) 心筋 2 細胞の拍動同期ダイナミクス

その他特筆すべき事項

◎ 国際シンポジウムの開催

Life Science as a Complex System: Constructive, Dynamics, and Developmental Approaches.

2001年7/27-7/28に東大山上会館で開催。

海外招待講演者8名を含めて14講演、30件のポスター。参加者180名。

◎ 柏木明子(当COEのポスドク)らの論文、

The First Zuckerkandl賞(年間ベスト論文賞)受賞
Kashiwagi A, Noumachi W, Katsuno M,
Alam MT, Urabe I, Yomo T.

"Plasticity of fitness and diversification process
during an experimental molecular evolution"

Journal of Molecular Evolution 52: 502-9
(2001)

◎ 新しい方向の研究も含めて、論文は着々と発表
(約200篇)。

◎ 国際生物物理会議で複雑系セッション新設に

国際物理学連合の国際生物物理会議(2001年7/30-
8/3)及び

2002年4月国際生物学連合の国際生物物理会議でCOEのテーマの複雑系生物学セッションが新設。(金子、四方などが招待講演)。

◎ 1細胞操作、培養、観測の技術、高く評価され、実用化も含めて応用も始まる。
権利化試験、プレベンチャーなども進行。

◎ 上記技術開発などに伴って多くの特許申請

「1細胞長期培養顕微観察装置」：発明者 安田賢二、金子邦彦、四方哲也ら
(出願番号 特願2000-356827; 2000年11月22日出願) 他14件

◎ 本の出版・執筆

当プロジェクトの成果をまとめた「生命とは何か: 複雑系生命論序説」(東大出版会、440ページ)を2003年秋に上梓。

新聞、一般雑誌から専門誌にいたるまでで高く評価される。

例：蛋白質核酸酵素(大沢文夫)・毎日新聞(中村桂子)・読売ウィークリー(茂木健一郎)・
日系サイエンス(吉永良正) 他
英語版も執筆中。

また、これにさきだち、複雑系の著書(Kaneko and Tsuda, Complex Systems: Chaos and Beyond, Springer, 2000)を上梓。Nature誌で書評されるなど、注目される。また、複雑系のバイオフィジクス(共立出版、2001、金子編)においては当プロジェクトの成果を掲載。

**Search for Logic of Life
as Complex Systems :**
Constructive, Dynamic, and Developmental Approach

Speakers include :

- U. Alon (Weizmann)
- M. Asashima (Tokyo)
- P. Hogeweg (Utrecht)
- K. Kaneko (Tokyo)
- P.L. Luisi (ETH)
- J. McCaskill (GMD, Bonn)
- A. Mikhailov (FHI, Berlin)
- J. Shapiro (Chicago)
- T. Sugawara (Tokyo)
- K. Yasuda (Tokyo)
- T. Yomo (Osaka, Tokyo)
- C.J. Weijer (Dundee)

July 27-28, 2001 Sanjo Kaikan, Tokyo Japan
Contact: K. Kaneko (kscl@complex.e.u-tokyo.ac.jp)
Web: <http://coe.e.u-tokyo.ac.jp/conference.html>
Organized by Komaba COE project "Study of Life Sciences as Complex Systems"

● 新聞記事、マスコミ等

- 「自己分裂するリポソーム 薬物送達的手段に」日経産業新聞 2003年8月20日(菅原正)
- 「生命をシステムとして捕らえ新しい研究領域創造へ」科学新聞 1999年6月8日(金子邦彦)
「規則の前にカオスがある」東京新聞 1999年11月6日(金子邦彦)
- 「生命創造のなぞ 人工的に再現を」読売新聞 2001年4月11日(四方哲也)
「21世紀序奏・実験進化学 つくってわかる生物学めざす」朝日新聞 2000年2月23日(四方哲也)
「先端のプロフィール・創ってわかる生物学」産経新聞 2000年4月17日(四方哲也)
「新世紀の科学者たち・生命創造なぞ 人工的に再現を」読売新聞 2001年4月11日(四方哲也)
「分子進化の国際賞 四方阪大助教授ら」朝日新聞 2002年3月29日(四方哲也)
「生物多様性の謎 相互作用で解明へ」読売新聞 2002年4月10日(四方哲也)
「知を創る「生物進化」試験管で再現」読売新聞 2002年6月4日(四方哲也)
「遺伝子数 進化に影響」読売新聞 2002年6月5日(四方哲也)
「人工たんぱく質を生成」毎日新聞 2002年8月20日(四方哲也)他
- 「目と耳の細胞生成 カエルの胚を使い東大研究者ら世界初の成功」毎日新聞 2000年1月3日・
“Frog eyes, ears, grown from cells” New York Times, Washington Post, The Herald-Times, 韓
国新聞 etc...2000年1月4日(浅島誠)
- 「カエルの胚細胞からすい臓」日本経済新聞 2000年6月24日(浅島誠)
「カエルの受精卵からすい臓」朝日新聞 2000年6月30日(浅島誠)
「『分化』導くたんぱく質発見」読売新聞 2000年7月13日(浅島誠)
「未分化細胞から眼球移植し視覚を回復」日本経済新聞(夕)、2002年1月5日(浅島誠)
「未分化細胞からカエル眼球生成、東京新聞(夕)、2002年1月5日(浅島誠)
「カエルの細胞から眼球」読売新聞、2002年1月6日(浅島誠)
- “New eye grown from frog embryo cells”, The Japan Times, Sunday January 06, 2002 (浅島誠)
「試験管内で目 カエルに視力」朝日新聞(夕)、2002年5月20日(浅島誠)
「「アクチビンA」発見 浅島教授に比較腫瘍学常陸宮賞」科学新聞、2002年6月7日(浅島誠)
「カエル胚から血管・血球」日本経済新聞 2003年1月27日(浅島誠)
「試験管内で臓器をつくり出す」日刊工業新聞、2003年3月20日(浅島誠)
「「理系白書」シンポ」毎日新聞、2003年7月26日(浅島誠)
「「ある」信じ探求、発見」毎日新聞、2003年11月8日(浅島誠)
「臓器再生の国際研究開始」科学新聞、2004年4月9日(浅島誠)
- この他、新聞・TV等多数

「生命法則」情報・知識 imidas2003 (28-31) 集英社、2003年(金子、四方、浅島)