3P297

形態形成にみる表現型遺伝型対応の進化モデル

○藤本 仰一^{1,2}、石原 秀至¹、金子 邦彦^{1,2} (¹ 東大院総合文化、²ERATO 複雑系生命)

遺伝型と表現型の対応は進化を通じて形成される。それは発生過程に反映され、多様で複雑な表現型を生み出す。動物のボディプランに注目し、遺伝型(遺伝子ネットワーク構造)と表現型(形態、則ち、遺伝子発現の空間パターン)の対応の進化を理論的に考察しうる数理モデルを導入する。この対応を考える上で、基本になるパターン形成機構は大きくわけて2つある。1つめは、feed-back loop による Hopf 分岐を介した時空間振動の形成であり、脊椎動物や短胚型昆虫の体節形成へ関与が示唆されている。2つめは、正負の発現調節の組合せによる Feed-Forward Loop (FFL) 機構である。1つの FFL から1本のストライプ発現パターンを形成し、多数の FFL の絡みあいには多数のストライプを形成しうる(藤本、石原、柴田、2004 年度年会)。長胚型昆虫の体節形成へ関与が示唆されている。前者が生成するストライプは特徴的な波長を持つが数の制御が困難であり、一方、後者はストライプの数がネットワークボロジに埋め込まれ、数をきっちり決められる。遺伝型に突然変異を導入し変異体を多数生成し、ある fitness の下で表現型を選択する。複雑な形態への進化を論じることが目的なので、fitness には、ある遺伝子発現パターンのストライプの数をを用いる。これを進化の世代として繰り返す計算機実験を行った。この進化モデルに現われる以下の現象を報告する。(1) 発現パターンのストライプ数や突然変異率の大小に応じて、2つの機構のどちらが優勢になるか。(2) ショウジョウバエ等にみられる発現パターンの空間階層性が後者の機構に必須であること、及び、その階層性を生み出す仕掛けは pair-rule 遺伝子変異体の発現パターンを再現できること。(3) 遺伝的多様性に対する表現型の頑健性が、与えた fitness よりずっと強い拘束をともなって現れること。(4) 発生(パターン形成)過程の過渡状態でのみ現れる表現型の可塑性。

K.Fujimoto, S.Ishihara and K.Kaneko : Simulating Evolution of Phenotype-Genotype Mapping in Morphogenesis

3P299

1つのランダム配列ポリペプチドからのファージ感染能の進化

○林 勇樹¹、相田 拓洋^{2,3}、豊田 一志⁴、ト部 格⁴、四方 哲也^{1,4,5,6} (¹ 阪大院・情報・バイオ、² REDS、³ 埼玉大・工、⁴ 阪大院・工・生命先端、⁵ 阪大院・生命機能、⁶ 科技団・ERATO)

無作為に選んだ1つのアミノ酸配列からより高い機能を示すポリペプチドへ進化できるか? この問いに対し、1つのランダム配列ポリペプチドを初期配列とし、ファージの感染能を指標として、変異と選択からなる人工的な進化プロセスを用いて進化実験を行ってきた(第41回年会報告)。今回は、その進化過程において見られた現象について考察した。本研究では、繊維状ファージ fd-tet を使い、ファージ上の細胞感染に関与する蛋白質ドメインを1つのランダム配列ポリペプチド(RP3-42)に置換した変異体ファージ(fd-RP)を作成した。fd-RPの置換部位にのみ変異を導入し、ファージライブラリを作成し、大腸菌への感染能を指標として選択を行った。進化初期において、選択に用いるファージライブラリのサイズを約 10^4 種とし、変異と選択を繰り返した結果、7世代目以後、感染能の増加が見られなかった。このことから、「変異-淘汰-浮動バランス」の現象が示唆された。「変異-淘汰-浮動バランス」は、選択過程による配列の収斂効果と、変異による配列の放散効果が釣り合った時に見られる現象である。そこでさらに高い感染能を示すファージを選択する為に、ファージライブラリのサイズを拡大して選択実験を進めた。また感染能の増加が見られない場合は、以後同様にファージライブラリサイズを拡大して選択実験を進めた。その結果、20世代目において選択されたファージライブラリの感染能は、fd-RP と比べ、数万倍に増加したことから、無作為に選んだ1つのアミノ酸配列からより高い機能を示すポリペプチドへ進化可能であることが示された。感染能の増加が見られなかった世代におけるファージライブラリサイズとそのファージライブラリが示す感染能の高さとの間に相関が見られた。このことについても議論したい。また、進化過程の詳しい理論解析の結果について、本年会にて相田らによって報告する。

Y.Hayashi, T.Aita, H.Toyota, I.Urabe, T.Yomo : *In vitro* evolution of a random polypeptide toward acquiring phage infectivity into *E.coli* host cells.

3P298

大腸菌を用いた実験室内共生系の構築

○城口 泰典¹、山内 義教²、柏木 明子¹、森 光太郎¹、ト部 格³、四方 哲也^{1,2,3,4} (¹ 阪大院・情報科学、² 阪大院・生命機能、³ 阪大院・工学、⁴ ERATO, JST)

共生とは個体同士が相互に作用し、緊密な関係を保持しながら協調的に生存していくことである。自然界で多く見られるこの現象については現在までに様々な研究がなされているが、既存の共生系を調べるだけでは、その相互作用の複雑さゆえに共生関係の形成や維持の機構を解明することは難しいと言える。そこで、本研究では遺伝的に近い単細胞生物間における相互依存(必要栄養物質の授受)を利用した実験室内共生系を新たに構築するという方法でこの問いにアプローチすることを考えた。特定の物質の授受のみに着目した単純な共生系を構築し、その安定性を解析することで、共生関係の形成や維持に影響を与える要因を解明し、制御することを目指す。本研究ではモデル生物として遺伝的背景が明確な大腸菌を用いた。4種類の異なる栄養要求性(ロイシン、イソロイシン、グルタミン、ウラシル)を持つ大腸菌株を相同組換え法によって作製し、2種類ずつをそれぞれが単独では増殖できない最少培地(寒天培地及び液体培地)上で混合して共培養した。全ての組合せで実験を行った結果、他方が培地中に漏らす栄養によって多くの組合せで増殖が確認された。寒天培地上での共培養ではイソロイシン要求性株を用いた組合せで初期菌体濃度が低い場合でも共生しやすいことが確認され、また液体培地での共培養においても特にイソロイシン要求性株とロイシン要求性株の組合せで初期菌体濃度が低い場合でも共生が確認された。これらの結果より、2種類の栄養要求性株を用いた単純な実験室内共生系が新たに構築できたことが分かった。また、現在 GFP (緑色蛍光蛋白質) もしくは RFP (赤色蛍光蛋白質) で標識された栄養要求性株をフローサイトメトリーで測定することでこの共生系の安定性解析を行っているため、これについても報告する。

Y.Shiroguchi, Y.Yamauchi, A.Kashiwagi, K.Mori, I.Urabe and T.Yomo : Construction of experimental symbiosis system using nutrient-deficient *E.coli*

3P300

人工進化実験からの適応度地形特性の抽出: ファージ感染能の進化実験への適用

○相田 拓洋^{1,2}、林 勇樹³、豊田 一志⁴、伏見 譲²、ト部 格⁴、四方 哲也^{3,4,5,6} (¹ 埼玉県中小企業振興公社・REDS、² 埼玉大・工、³ 阪大院・情報、⁴ 阪大院・工、⁵ 阪大院・生命機能、⁶ 科技団・ERATO)

生体高分子の進化能 (evolvability) を生物物理的観点から捉えるには、生体高分子の適応度地形の概念が重要になる。ここで、生体高分子の適応度とは、その表現型分子が持つ「触媒活性」や「リガンド分子との親和性」などの物理化学的特性であり、適応度地形とは遺伝子型空間 (= 配列空間) 上の各点に対応する適応度をマッピングしたものである。変異と淘汰を繰り返しながら適応度地形上を登山することを適応歩行と呼ぶ。そこでポスター発表では、適応歩行のデータを解析することで、適応度地形の統計的な形状を抽出した結果を報告する。具体的には、適応度地形のモデルとして「Kauffman の NK 地形」を用い、このモデルに基づいた適応歩行の理論式を、林らによって行われた「ファージ感染能の進化実験」のデータに適用してみた。この実験は、ファージの感染能に関わるコートタンパク質の一部 (139 アミノ酸残基) をランダム配列に置換し、変異と淘汰を繰り返すことでランダム領域が感染能を持つように進化させた実験である。データの解析は次の4つの点に関して行った: (1) 変異淘汰平衡 (2) 進化過程における適応度の世代変化 (3) 適応度地形上の局所的な適応度分布 (4) 淘汰圧の強さ。結果として、以上の4つの点から、パラメータ K の値は $K = 30$ と求まり、理論と実験には概ね定量的に良い一致が確認され、双方には矛盾がないことが示された。これが意味することは、「統計的に、任意の1つのアミノ酸残基が他の30カ所の残基と相互作用する」という意味である。これらの結果から、今回の解析法が適応度地形の解析法として有効である可能性が示唆された。

T.Aita, Y.Hayashi, H.Toyota, Y.Husimi, I.Urabe and T.Yomo : Extracting properties of fitness landscape from *in vitro* evolution: application to *in vitro* evolution for infectivity of fd phage