

別刷

計測自動制御学会 論文集

年 第 卷 第 号

(P. ~P.)



社団法人 計測自動制御学会

細菌細胞の運動制御モデルと走化性シミュレーション

諸星知広*・辻敏夫*・大竹久夫*

A Model of Bacterial Motor Control and Computer Simulation of the Chemotaxis

Tomohiro MOROHOSHI*, Toshio TSUJI* and Hisao OHTAKE*

This paper proposes a new model of bacteria including not only intracellular information processing but also motor control on the basis of the molecular evidence. *E. coli* is chosen as a target bacterium, which has a simple molecular structure and is amenable to biochemical and genetic analysis. We focus on the bacterial intelligent behavior called *chemotaxis* in order to develop its computer model. Parameters included in the model are determined using an optimization technique in order to maximize a fitness representing a chemotactic ability. Results of the computer simulations are compared with the behavior of *E. coli* to show the effectiveness and validity of the proposed model.

Key Words: bacteria, motor control, chemotaxis, *E. coli*, computer simulation

1. はじめに

生命体も機械や装置と同じようにハードウェアとソフトウェアから成る。外界からの情報を読みとり速やかに処理を行う装置としての生命体ハードウェアの研究に比べて、その情報にตอบสนองするアルゴリズムとしてのソフトウェアの研究は十分に進行していないのが現状である。生命体ソフトウェアの解説を行うことは生命体の本質に迫ることにつながり、そのためには様々な分子装置間における情報伝達ネットワークの解明が重要な鍵となる¹⁾。

本論文で扱う細菌は非常に小さな単細胞生物にもかかわらず環境刺激に応じて泳ぐ方向を変えることができる。また同一の環境刺激が続くと適応機構が働き、その刺激には反応を示さなくなる。このような誘引物質への集積、忌避物質からの逃避を走化性と呼ぶ²⁾。この細菌細胞は生命体ソフトウェアの解説を試みる上で最も単純なモデル系であり、刺激入力から走化性実現のための運動出力に至るまでの内部情報処理経路がわずかに数種類のタンパク質によって実現されているという事実も非常に興味深い。そこで、我々はこの細菌細胞をモデルとし分子生物学の知識に基づいた人工生命体 Bacterial A-life の構築を試みている³⁾。このモデルは複雑系としての生命が有する自律性や可変性、柔軟性を細胞レベルで解析するための一つの手段を提供するとともに、分子生物学と計算機科学をつなぐシミュレータとしての役割を担っている。

これまでも細菌細胞に関する走化性のコンピュータモデルの構築は行われてきた。Brayら⁴⁾⁻⁷⁾は走化性の内部情報処理モデルの構築や最適化によるパラメータ調節を行い、より生物に近い細胞内情報処理の再現を試みている。Hauri and Ross⁸⁾は細菌細胞の走化性メカニズムの中でも特に適応機構に注目し、そのモデル化を行なっている。Barkai and Leibler⁹⁾は走化性の適応機構が反応経路の生化学ネットワークとして実現されていることを示し、そのロバスト性について述べている。しかしながらそれらの研究では細胞内の情報処理の一部をシミュレートしたに過ぎず、刺激の入力から細胞運動までの運動系全体を扱っているわけではない。また内部パラメータが実生命体モデルに基づいて考察されているとは言えず、シミュレーション結果をそのまま実生命体にフィードバックできるようなモデルの構築例も存在しない。

本論文では細菌細胞のうち大腸菌 *E. coli* を取り上げ、外部刺激の入力から内部情報処理ネットワークを介して鞭毛モータに運動信号が伝達されるまでの走化性全体の機構をモデル化するとともに、最適化アルゴリズムを用いて内部パラメータを調節することにより、*E. coli* の走化性を現実の細菌の運動に近いところまでコンピュータ上で再現できることを示す。さらに本モデルと *E. coli* の性質についての比較実験を通じて本モデルが走化性解析用ソフトウェアとして有用であることを示す。以下、2. で現在解明されている *E. coli* の分子情報伝達機能について述べ、3. では分子生物学の知識に基づいて構築した運動制御モデルを提案する。4. では最適化アルゴリズムを用いた速度パラメータの調節法を示し、5. で本モデルと *E. coli* の性質の比較実験を行う。

* 広島大学工学部 東広島市鏡山 1-4-1

* Faculty of Engineering, Hiroshima University, Higashihiroshima

(Received January 22, 1998)

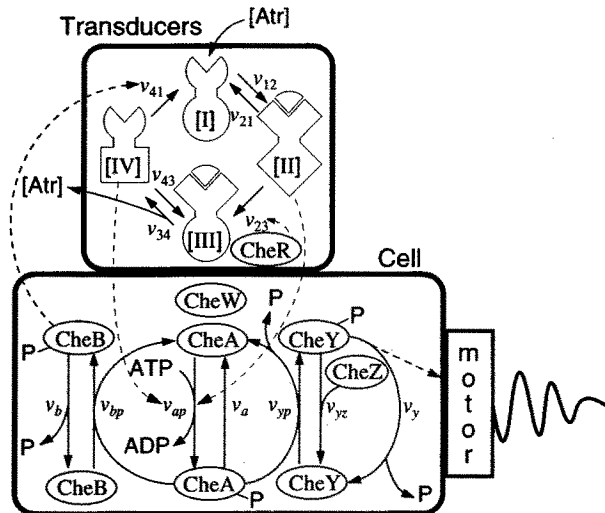


Fig. 1 Schematic illustration of chemotactic signal transduction in *E. coli*

2. 細菌細胞と走化性

2.1 走化性

細菌の走化性は細胞が化学物質の濃度勾配中を移動することによって起こる。走化性は細菌細胞のような基本的な生命体システムの内部情報処理を考える上で極めて重要な現象で、刺激を受けてから短時間のうちに何らかの情報処理が細胞内でなされ、出力としての運動が生じる。

細胞が泳動の様子はデジタル画像処理などを用いてキャピラリー周辺に集まる細菌の数をカウントするなど様々な方法で解析が行われてきた¹⁰⁾。それらの研究結果から *E. coli* は幅広い化学物質に対して反応を示すことが知られている。*E. coli* は体長 (約 2 μm) の数倍の長さの螺旋状の鞭毛を 5,6 本持っており、それらが反時計方向に回転するときには一つの束になって推進力を発生し (スイミング状態)、時計方向に回転するときには束が解けて回転するため、その位置に停止して方向転換しているように見える (タンプリング状態)¹¹⁾。

誘引物質の存在下では、空間的な濃度勾配をモニターして鞭毛の回転方向を調節し、濃度の高い方向へ泳いでいくことができる。ただしその体は十分小さいので、ブラウン運動に影響され確率的な挙動を示す。また刺激が続くと適応 (adaptation) と呼ばれる環境への順応がおこる¹²⁾。これはその環境中で新たな刺激を発見するために必要な過程である。

2.2 細菌細胞の分子情報伝達

Fig. 1 に細菌細胞の内部情報伝達モデルを示す。まず、細胞表面の化学物質結合部が環境刺激を受け取ると、膜透過型の情報伝達部であるトランスデューサを通過し、細胞内部の情報伝達ネットワークによって信号がモーター部へ伝達される。これらの伝達はすべてタンパク質相互間での化学物質の拡散、及びタンパク質のリン酸化/脱リン酸化によって調節されている¹³⁾。

トランスデューサは外部刺激に対する細菌細胞の応答を調節している。このトランスデューサは遺伝子の働きによって

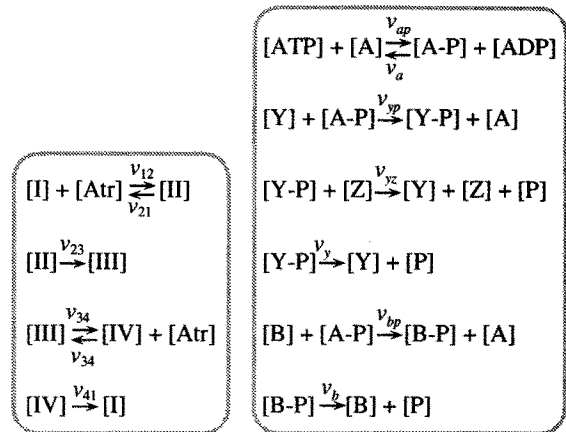


Fig. 2 Conservation equations for the transducer (a) and the chemotaxis proteins (b)

発現するが、大きく分けて 4 つの状態をとる。Fig. 1 の [I] - [IV] はこの 4 つの状態を表している。[I] は初期状態で、誘引物質 *Atr* が結合することによりトランスデューサ自体の内部構造が変化し、[II] \rightarrow [III] \rightarrow [IV] のように反応が進む。[I] \rightarrow [II], [III] \rightarrow [IV] の二組の状態変化に関しては可逆性がある。この一連の構造変化によって情報が内部のタンパク質へと伝達されることが確認されている^{12), 14)}。

一方、細胞内部の情報伝達ネットワークは少なくともタンパク質 *CheY*, *CheZ*, *CheA*, *CheB*, *CheW* を含むものであることが確認されている^{13), 15)}。まずトランスデューサがタンパク質 *CheW* と複合体を形成してタンパク質 *CheA* をリン酸化/脱リン酸化することにより、情報が細胞内に伝達される。このときリン酸化された *CheA* (図中, *CheA-P*) を起点とすると二つの情報伝達経路が存在する。第一は *CheY* への経路で、*CheY* \rightarrow *CheY-P* の反応において *CheY-P* が抑制されると、細胞はスイミング状態をとり易くなる。逆に *CheY-P* が増加するとタンプリング状態となる。したがってこの *CheY* と *CheY-P* の濃度比率が鞭毛モーターへの指令信号と考えることができる。また、第二の *CheB* への伝達経路はトランスデューサに細胞内部の情報をフィードバックする。

細胞内部の二つの伝達経路はトランスデューサの二つの状態 [II], [IV] によって制御されている。状態 [II] の時には *CheA* を脱リン酸化する方向へ反応が促進され、状態 [IV] の時には逆にリン酸化する方向へ反応が促進される。その結果、上述のように *CheY* と *CheY-P* の濃度が変化し、細胞の挙動が決定されることになる。

以上の情報伝達は比較的短い時間で行われる。一般に誘引物質がトランスデューサに結合後、細胞の挙動が現れるまでの応答時間は 1 s 以下、適応期間は 15~60 s、潜伏期間 (トランスデューサから細胞内部への信号の出力時間) は約 0.2 s であることなどが報告されている¹⁶⁾。

Fig. 2 にこのタンパク質による内部情報伝達過程を化学平衡式によって記述した結果を示す。ここで $v_i \geq 0$ は対応す

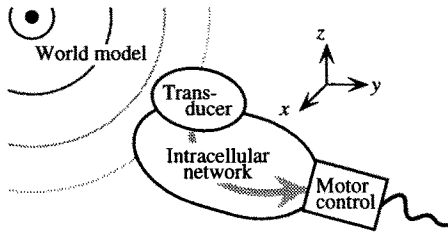


Fig. 3 Chemotactic behavior of the computer model

る反応の反応速度を表す。次節ではこの化学平衡式に基づいた情報処理ネットワークの構成について述べる。

3. 細菌細胞の運動制御モデル

本モデルは基本的に次の3つのコンポーネントから成る (Fig. 3)。まず、外部環境からある化学物質の濃度値を検出し、その情報を細胞内部に伝達するトランスデューサ部、次にトランスデューサからの情報に基づいて鞭毛モータへの指令値を計算する細胞内ネットワーク部、そしてネットワークの出力を受けて細胞の進行方向を決定するモータ制御部である。ここではこれらの各基本コンポーネントについて順に説明する。

3.1 トランスデューサ部

トランスデューサ部の挙動は Fig. 2 に示した化学平衡式に対応して次のような状態方程式を用いて表現する。

$$\dot{C}_1 = v_{41}C_4 - v_{12}C_1C_{atr} + v_{21}C_2 \quad (1)$$

$$\dot{C}_2 = v_{12}C_1C_{atr} - v_{21}C_2 - v_{23}C_2 \quad (2)$$

$$\dot{C}_3 = v_{23}C_2 - v_{34}C_3 + v_{43}C_4C_{atr} \quad (3)$$

$$\dot{C}_4 = v_{34}C_3 - v_{43}C_4C_{atr} - v_{41}C_4 \quad (4)$$

ただし $C_i \geq 0$ は状態 $[i]$ のトランスデューサ濃度, $C_{atr} \geq 0$ は誘引物質の濃度, $v_{ij} \geq 0$ は状態 $[i]$ から $[j]$ への反応の速度パラメータで、各濃度の初期値はトランスデューサの初期状態が全て状態 $[1]$ であることから、 $C_1(0) = 5$, $C_2(0) = C_3(0) = C_4(0) = 0 \mu\text{M}$ とする。また、 v_{41} は細胞内ネットワーク部のリン酸化された CheB の濃度 C_{bp} に比例すると仮定し、

$$v_{41} = f_{41}C_{bp} \quad (5)$$

とおいた。ここで f_{41} は正の定数である。

3.2 細胞内ネットワーク部

一方、細胞内ネットワークにおいても同様に各タンパク質の濃度に関する状態方程式を導出することができる。

$$\dot{C}_{ap} = v_{ap}C_a - (v_{yp}C_y + v_{bp}C_b)C_{ap} \quad (6)$$

$$\dot{C}_{yp} = v_{yp}C_yC_{ap} - v_{yz}C_{yp}C_z - v_yC_{yp} \quad (7)$$

$$\dot{C}_{bp} = v_{bp}C_bC_{ap} - v_bC_{bp} \quad (8)$$

$$\dot{C}_a = v_{yp}C_yC_{ap} + v_{bp}C_bC_{ap} - v_{ap}C_a \quad (9)$$

$$\dot{C}_y = v_{yz}C_{yp}C_z + v_yC_{yp} - v_{yp}C_yC_{ap} \quad (10)$$

$$\dot{C}_b = v_bC_{bp} - v_{bp}C_bC_{ap} \quad (11)$$

ただし、 $C_a, C_{ap}, C_b, C_{bp}, C_y, C_{yp}, C_z$ はそれぞれ対応するタンパク質 CheA, CheA-P, CheB, CheB-P, CheY, CheY-P, CheZ の濃度, $v_i \geq 0$ は対応する反応の速度パラメータを表す (Fig. 2 参照)。また各タンパク質の濃度は文献⁵⁾を参考に以下のように定めた。

$$C_{ap} + C_a = 2.5 \mu\text{M} \quad (12)$$

$$C_{yp} + C_y = 10.0 \mu\text{M} \quad (13)$$

$$C_{bp} + C_b = 2.0 \mu\text{M} \quad (14)$$

トランスデューサからの入力を受ける v_{ap} に関してはトランスデューサの状態 $[IV]$ の濃度と状態 $[II]$ の濃度を用いて

$$v_{ap} = f_{ap}C_4 + k_{ap} - f_aC_2 \quad (15)$$

とした。ただし全てのトランスデューサが状態 $[II]$ の場合 ($C_2 = 5, C_4 = 0 \mu\text{M}$)、CheA のリン酸化反応は起こらない ($v_{ap} = 0$) という条件から、

$$k_{ap} = 5f_a \quad (16)$$

とした。ただし f_{ap}, f_a は正の定数である。

また、 v_{bp}, v_{yp} はリン酸化された CheA の濃度 C_{ap} に比例すると仮定し、

$$v_{bp} = f_{bp}C_{ap} \quad (17)$$

$$v_{yp} = f_{yp}C_{ap} \quad (18)$$

とおいた。ここで f_{bp}, f_{yp} は正の定数である。

3.3 モータ制御部

鞭毛モータの回転方向は、モータへの出力信号である CheY-P の濃度値によって計算される次の無次元量 β を用いて決定する。

$$\beta = 1 - \frac{C_{yp}^h}{2.333(\text{Set}Y_p)^h + C_{yp}^h} \quad (19)$$

ここで、 $\text{Set}Y_p$ は野生種細胞が刺激を受けていない状態の CheY-P 濃度, h は Hill 係数で、ここでは一般的な値 $h = 5.5$ とした⁵⁾。文献より $\text{Set}Y_p = 1.63 \mu\text{M}$ であるから、環境からの刺激入力がない間は $\beta_0 \approx 0.6988$ となり、通常は $\beta \geq \beta_0$ のとき細胞はスイミング状態をとりやすく、逆に $\beta < \beta_0$ のときはタンプリング状態をとりやすくなる⁶⁾。したがって CheY-P の濃度が高いほど β は小さな値となり、タンプリング状態の確率が増加する。逆に CheY-P の濃度が小さいと β は増加し、スイミング状態がよりやすくなる。

また鞭毛モータの回転方向は周期 $T_s = 0.2 \text{ s}$ に決定し、細胞のスイミング時の並進速度は簡単のため $v = 5 \times 10^{-5} \text{ m/s}$ とした。タンプリング時は $v = 0 \text{ m/s}$ となる。

3.4 世界モデルと細菌細胞の運動

細菌細胞は化学物質の濃度勾配を感知しながら運動する。世界モデルの濃度勾配は拡散方程式を用いて、

$$C_{atr}(r, t) = \frac{It_I}{(4\pi Dt)^{\frac{3}{2}}} e^{-\frac{r^2}{4Dt}} \quad (20)$$

で記述することができる¹¹⁾。ここで、 I は単位時間当りの化学物質の注入力, t_I は化学物質の注入力時間, r は化学物質の

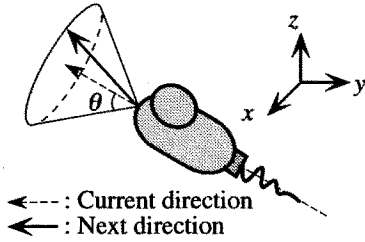


Fig. 4 Change of the movement direction

濃度中心からの距離, D は拡散定数, t は時間を表す. また, 化学物質が十分に存在する場合, (20) 式の C_{atr} は距離のみに依存し一定値に漸近する¹¹⁾.

$$C_{atr}(r) = \frac{I}{4\pi Dr} \quad (21)$$

本論文では, 簡単のため式 (21) を用いて C_{atr} を計算した ($I = 5.027 \times 10^{-9} \mu\text{mol/s}$, $D = 1 \times 10^{-9} \text{m}^2/\text{s}$). ただしキャピラリーの大きさを考慮して $r < 20 \mu\text{m}$ とした. この場合, 中心部の最大濃度は $C_{atr}^* \approx 0.02 \text{ mol/m}^3 = 20 \mu\text{M}$ となる.

一方, 細菌細胞はスイミング時においても直進を続けることはできず, 一回のスイミング時には現在の進行方向から平均して 27° 進行方向が変化する¹¹⁾ (Fig. 4参照). またタンブリング時にはこの進行方向の変化が大きくなることが知られている. そこで, 細胞の進行方向を現在の進行方向ベクトルを中心軸とする円錐の母線を用いて表現し, 一様乱数を用いて一本の母線を選択することにより進行方向をランダムに変化させた. ただし, 軸と母線のなす角度 θ はスイミング時には 27° , タンブリング時には 108° とした.

4. 走化性シミュレーション

前節で示したモデルを用いて走化性のシミュレーションを行なうためには, まず状態方程式に含まれる速度パラメータを決定する必要がある. そこで本論文では細菌モデルの走化性を評価する指標を適応度として定義し, この適応度を最大にする速度パラメータの探索を行った.

最適化アルゴリズムにはLJ探索法¹⁷⁾を用いた. LJ探索法はLuusとJaakolaによって提案された非線形システムの最適化アルゴリズムであり, 本論文ではNairによる修正バージョン¹⁸⁾を用いるものとする.

4.1 速度パラメータの調節

各個体の挙動の評価には個体が移動した軌道上での誘引物質濃度の平均値を用い, これを適応度と定めた.

$$F = \frac{1}{t_f N} \sum_{k=1}^N \int_0^{t_f} C_{atr}^k(t) dt \quad (22)$$

ここで $C_{atr}^k(t)$ は k 回目の試行における時刻 t での個体位置の誘引物質濃度である. t_f はシミュレーション時間で $t_f = 50 \text{ s}$ とした. 本モデルではシミュレーションを行なう際に乱数を用いて進行方向を決定しており, 同じ速度パラメータでも試行毎に適応度のばらつきが生じる. そこでこのばらつきの

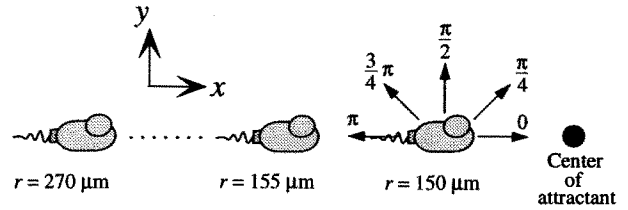


Fig. 5 Initial position and movement direction of the bacteria

影響を押さえるため複数の試行を行って適応度の平均値をとることとし, 試行回数は $N = 125$ とした.

また, 探索対象である速度パラメータのうち, リン酸化されたCheYの脱リン酸化反応の速度パラメータは式 (10) より $v_{yz}C_z + v_y$ であるが, ここでは $C_z = 20 \mu\text{M}$ で固定しているため $v'_y = v_{yz}C_z + v_y$ と置いてパラメータを一つに統合した. よってトランスデュサー部の独立したパラメータは v_{12} , v_{21} , v_{34} , v_{43} , v_{23} , f_{41} の6個, 細胞内ネットワーク部の独立したパラメータは v_b , v'_y , f_{bp} , f_{yp} , f_{ap} , f_a の6個で計12個となる.

LJ探索法を用いた探索アルゴリズムは以下の通りである.

- (1) 探索対象である12個のパラメータに初期値と初期範囲を設定する.
- (2) 初期値を中心とした探索範囲内で一様乱数を用いて12個のパラメータの組を100セット生成し, それぞれのセットに対して適応度 F を計算する.
- (3) F を最大とするパラメータセットを次回の初期パラメータとする.
- (4) 探索範囲を10%小さくして(2)に戻る.
- (5) 探索範囲が初期範囲の2%以下になった時点で探索を終了し, この時のパラメータを最適パラメータとする.

細胞内ネットワーク部の各タンパク質濃度は, 細胞が刺激を受けていない場合は変動しないという平衡条件を満足しなければならない. そこで誘引物質濃度 $C_{atr} = 0$ の環境中で各微分方程式を解き, 各タンパク質濃度変化が \dot{C}_a , \dot{C}_b , $\dot{C}_y \leq 10^{-10} \mu\text{M/s}$ になったときの濃度を平衡状態とし, その時点でのCheA, CheB, CheY濃度を初期濃度として用いた.

各試行時の細胞の初期位置は, $x-y$ 平面上で誘引物質濃度中心からの距離 r を $5 \mu\text{m}$ ずつ変化させ, $r = 150, 155, \dots, 270 \mu\text{m}$ の25種類とした. また各個体の初期進行方向は $x-y$ 平面上で変化させ, x 軸とのなす角度 φ を $\varphi = 0, \pi/4, \pi/2, 3\pi/4, \pi \text{ rad}$ の5種類とした ($N = 25 \times 5 = 125$, Fig.5参照).

初期速度パラメータはある程度濃度中心に集積しやすい値を文献値⁵⁾および予備実験で定め, $v_{12} = 4.0$, $v_{21} = 2.0$, $v_{34} = 2.5$, $v_{43} = 4.0$, $v_{23} = 0.2$, $v_b = 0.36$, $v'_y = 7.437$, $f_{41} = 4.0$, $f_{ap} = 18.0$, $f_a = 2.4$, $f_{bp} = 0.04$, $f_{yp} = 0.643$ と設定した. 各パラメータの初期探索範囲については予備実験から経験的に定め $v_{12}, v_{21}, v_{34}, v_{43}, f_{41}, f_{ap}, f_a \in [0, 4.0]$, $v_{23}, v_b, v'_y, f_{bp}, f_{yp} \in [0, 0.5]$ とした. なお式 (1) - (4), 式 (6) - (11)の微分方程式はルンゲクッタ法を用いてサン

Table 1 Initial and evolved parameters of the cells

Intracellular network parameters							Fitness
	v_s	v'_s	f_{sp}	f_{sp}	f_{sp}	f_s	
P ₁	0.36	7.437	0.04	0.643	18	2.4	12
P ₂	0.777387	6.789753	0.393119	1.021133	20.713578	1.717138	8.585688
P ₃	0.333121	7.451863	0.175395	0.59298	16.451796	3.247194	16.235696
Transducer parameters							Fitness
	v_{12}	v_{21}	v_{34}	v_{43}	v_{23}	f_{41}	
P ₁	4	2	2.5	4	0.2	4	1931.2
P ₂	12.121949	6.011131	8.516919	1.787914	0.530937	8.516919	3830.8
P ₃	4.637471	0.767357	2.241447	2.594989	0.242688	4.055422	1536.3

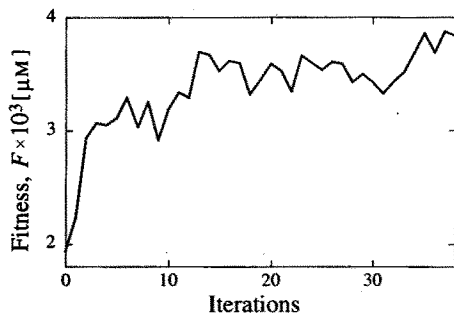


Fig. 6 Change of fitness of the cell

プリング時間 $\Delta t = 0.001$ s で計算した。

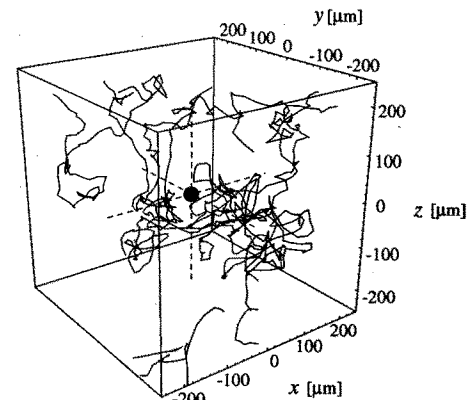
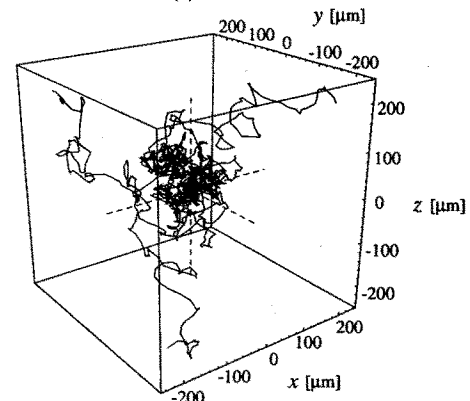
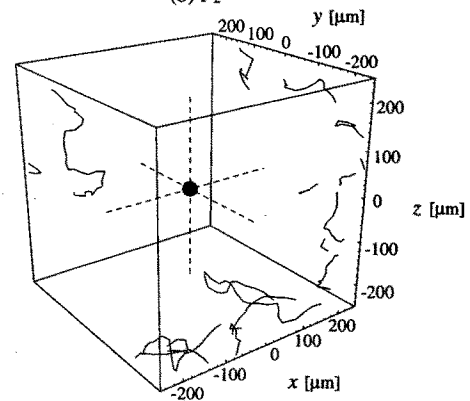
4.2 シミュレーション結果

Fig. 6 に LJ 探索法の繰り返し回数に伴う平均適応度の変化を示す。横軸は繰り返し回数、縦軸は平均適応度で、繰り返し回数が進むにつれて平均適応度が増加している様子がわかる。

一方、探索したパラメータによる細菌細胞モデルの挙動を Fig. 7 に示す。Fig. 7 (a) は初期パラメータを用いた個体 P₁, (b) は LJ 探索法により求めた最大適応度の個体 P₂ の運動を 3 次元空間上に示したもので、1 試行 200 秒のシミュレーションを初期位置 $(x_0, y_0, z_0) = (-200, -200, -200)$, $(200, -200, 200)$, $(-200, 200, 200)$ μm に対して 3 試行行い、0.5 秒毎の個体位置をプロットした。いずれも座標系の原点 $(x, y, z) = (0, 0, 0)$ μm に誘引物質の濃度中心がある (図中、黒丸)。Fig. 7 から最大適応度の個体が初期個体比べて優れた走化性を示していることがわかる。また Fig. 7 (c) は初期パラメータから適応度を下げる方向に速度パラメータが変化した場合の個体 P₃ の運動である。この場合は濃度勾配に関係なくランダムに泳動するだけで Fig. 7 で示した一辺 500 μm の立方体の外に出てしまっている。このように速度パラメータによっては全く走化性を示さないことがわかる。この時の各個体のパラメータ値、及び適応度の平均値を Table 1 に示す。

5. 細胞運動の解析

前節までに行ったモデルの構築および速度パラメータの調節により *E. coli* の走化性がある程度再現できることを示した。しかし実生命体の走化性は単なる誘引物質への集積にとどまらず、環境変化や時間変化に応じて特徴的な挙動を示す

(a) P₁(b) P₂(c) P₃Fig. 7 Generated trajectories of the cells P₁, P₂ and P₃

ことがわかっている¹⁹⁾。本節では同一環境下での本モデルと実生命体の細胞挙動を比較してその挙動に共通性が見られることを指摘するとともに、トランスデューサ部の感度を調節することにより様々な性質を有する細胞個体を構築できるこ

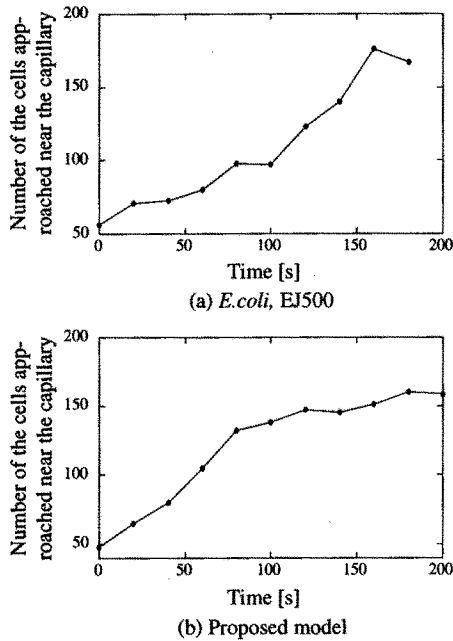


Fig. 8 Chemotactic responses of *E. coli*, EJ500, and the proposed model

とを示す。

5.1 実生命体との比較

実生命体の集積個体数の計測は以下のようにして行った。*E. coli*の中でも運動性の高いEJ500株を4mlの液体培地で約12時間培養し、培養液100 μ lをさらに4mlの別の液体培地に移し約2時間培養した。培養液1ml中の菌体を遠心分離、buffer溶液による洗浄を数回繰り返す、最終的に観察しやすい菌体濃度になるまでbuffer溶液で希釈した。そして、小型チューブ内にbuffer溶液1mlと寒天粉末0.01g、誘引物質としてL-アミノ酸セリンを濃度 10^{-5} , 5×10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 5×10^{-3} , 10^{-2} Mになるように加えて湯浴中で溶解させた。調製したサンプルはキャピラリーに注入して約10 μ lの菌体溶液とともに顕微鏡観察し、ビデオ画像として取り込んだ。ビデオ画像の解析方法は文献¹⁹⁾を参考にして行った。

コンピュータシミュレーションでの集積個体数の計算方法は、まず誘引物質の濃度中心からx軸上に $r = 0 \mu\text{m}$ から2.5 μm 毎に200個体の細胞を配置し、初期進行方向はランダムに設定してシミュレーションを行う。そして一定時間経過後に誘引物質の濃度中心からの距離が120 μm 以内に存在する細胞数をカウントした。

時間経過に伴う細胞の集積個体数の変化をFig. 8に示す。実生命体ではセリン濃度 10^{-3} Mのキャピラリーを用い、シミュレーションでは中心部の最大濃度20 μ Mの濃度勾配中でそれぞれ集積個体数を計測した。集積速度には差があるもののいずれのグラフも時間経過に従って集積個体数が増加していることがわかる。さらに一定時間経過後は定常状態に入り集積個体数が変動しなくなることも共通している。

また誘引物質濃度に対する細胞の集積個体数の変化をFig. 9

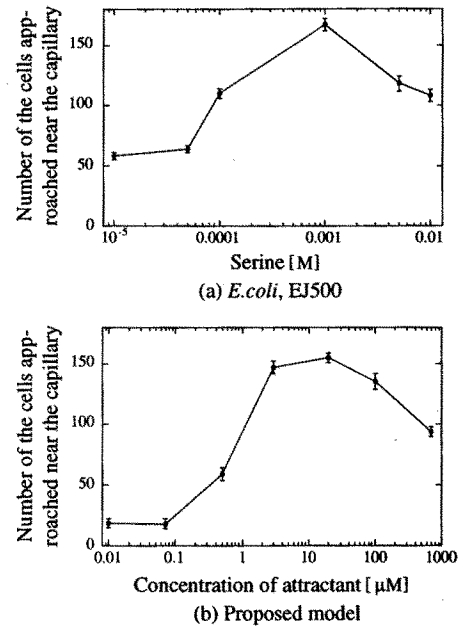


Fig. 9 Concentration-response curve of *E. coli*, EJ500, and the proposed model

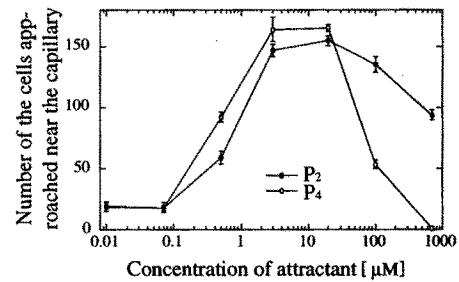


Fig. 10 Change of the chemotactic sensitivity of the cells

に示す。集積個体数は計測開始から180s経過後に測定し、試行回数5回の平均値と標準偏差を算出した。どちらの場合も誘引物質濃度が高くなるにつれて集積個体数が増加するが、ピークを過ぎるとその数ははだいに減少しはじめる傾向が見られる。この特徴が実生命体で一般的に観察されることは文献¹⁹⁾でも確認されており、本モデルも同じ特徴を示すことがわかる。以上より実生命体の走化性をかなり高い精度で再現することができた。

5.2 トランスデューサ部の感度解析

本論文で構築した細胞モデルを用いれば、実際の生物学では簡単に実験できないような場合でも、速度パラメータによる細胞運動の変化や異なる環境中での挙動の様子などをコンピュータシミュレーションにより事前に予測することができ、生物学の実験に対する指針を与えることができる。

Fig. 10は、特定の誘引物質濃度が高い適応性を示す細胞個体を構築したもので、図中の黒丸はFig. 7 (b)と同じ最適細胞P₂、白丸はトランスデューサ部の速度パラメータのうち、 v_{12} , v_{34} の値を2倍に変更した変異細胞P₄である。いずれも試行回数5回の平均値と標準偏差を示す。細胞内ネット

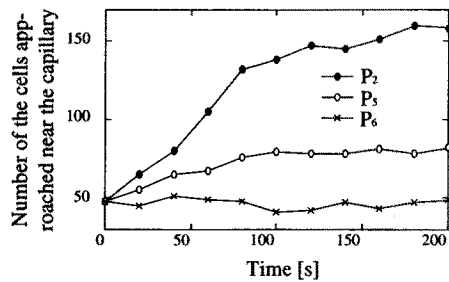


Fig. 11 Change of the chemotactic ability depending on the concentration of CheR

ワーク部に信号を伝達するトランスデューサ [II], [IV] 型が蓄積しやすくなるため、外界の情報に対して感度が高くなったものと思われる。

次にトランスデューサをメチル化するタンパク質 CheR の感度解析を行った。Fig. 1より CheR 濃度は v_{23} と比例関係にあることから v_{23} の値を変えることで等価的に CheR の濃度を変化させることができる。Fig. 11に CheR 濃度を変化させた場合の細胞挙動の違いを示す。図中の黒丸は Fig. 7 (b) と同じ最適細胞 P₂、白丸は CheR 濃度を 1% 増やした個体 P₅、×印は CheR 濃度を 1% 減らした個体 P₆ による集積個体数の時間変化を示している。図から CheR 濃度をわずか 1% 変化させただけでも個体の集積能力が大幅に低下することがわかる。トランスデューサをメチル化するタンパク質 CheR が細胞の情報伝達においても重要な役割を果たしていること、また CheR 濃度のバランスが生体内で厳密に保たれている必要があることが推察される。

6. ま と め

本論文では分子生物学の知識に基づいて細菌細胞の運動制御機構をコンピュータモデルとして構築し、このモデルが実生命体の走化性をかなり高い精度で再現できるだけでなく、細菌細胞の情報伝達機構に基づく走化性解析用ソフトウェアとして有効であることを示した。ここで提案したモデルは自律的な進化的型コンピュータモデルに発展できる可能性があるだけでなく、実生命体の振る舞いの生物学的、遺伝学的解析に何らかの示唆を与える可能性があると考えている。

最新の生物学ではトランスデューサ部がさらに細分化されていることや、複数のトランスデューサによる忌避物質に対する逃避行動などが知られており、今後はこれらの事実に基づいたモデルを導入することでさらに複雑な走化性を再現する必要があると考えている。なお本研究を進める上で有益な助言をいただいた本学 金子真教授、大学院生の橋本直樹氏、福田修氏、田中良幸氏に感謝します。また本研究の一部は文部省科学研究費補助金（重点領域研究 [264]:創発的機能形成のシステム理論・08233218）の援助によるものであり、ここに改めて謝意を表します。

参 考 文 献

1) 大竹久夫, 加藤純一, 黒田章夫: “細菌細胞のソフトウェア”, パ

イオサイエンスとインダストリー, 52-9, 11/16 (1994)

- 2) 大竹久夫, 加藤純一, 黒田章夫: “細菌の走化性トランスデューサー型蛋白質ファミリー”, 蛋白質 核酸 酵素, 41-2, 146/153 (1996)
- 3) H. Ohtake, T. Yako, T. Tsuji, J. Kuroda, A. Kato, and M. Kaneko: “An Approach to Molecular Artificial Life: Bacterial Intelligent Behavior and its Computer Model,” Workshop on Artificial Life V, 362/368 (1996)
- 4) D. Bray, R. B. Bourret, and M. I. Simon: “Computer Simulation of the Phosphorylation Cascade Controlling Bacterial chemotaxis,” *Molecular Biology of the Cell*, 4, 469/482 (1993)
- 5) D. Bray, and R. B. Bourret: “Computer Analysis of the Binding Reactions Leading to a Transmembrane Receptor-linked Multiprotein Complex Involved in Bacterial chemotaxis,” *Molecular Biology of the Cell*, 6, 1367/1380 (1995)
- 6) D. Bray, and S. Lay: “Computer Simulated Evolution of a Network of Cell-Signaling Molecules,” *Biophysical Journal*, 66, 972/977 (1994)
- 7) D. Bray: “Protein molecules as computational elements in living cells,” *Nature*, 376, 306/312 (1995)
- 8) D. C. Hauri, and J. Ross: “A Model of Excitation and Adaptation in Bacterial chemotaxis,” *Biophysical Journal*, 68, 708/722 (1995)
- 9) N. Barkai, and S. Leibler: “Robustness in simple biochemical networks,” *Nature*, 387, 913/917 (1997)
- 10) H. C. Berg, S. M. Block, M. P. Conley, A. R. Nathan, J. N. Power, and A. J. Wolfe: “Computerized video analysis of tethered bacteria,” *Rev. Sci. Instrum.*, 58-3, 418/423 (1987)
- 11) H. C. Berg 著, 寺本英, 佐藤俊輔 訳: “生物学におけるランダムウォーク”, 20, 法政大学出版局 (1988)
- 12) 香川靖雄: “エネルギーの生産と運動”, 94, 岩波講座—分子生物学 7, 岩波書店 (1990)
- 13) R. M. Macnab: “Motility and Chemotaxis,” *Annu. Rev. Biochem.*, 732/759 (1984)
- 14) G.L. Hazelbauer, R. Yaghamai, G.G. Burrows, J. W. Baumgartner, D.P. Dutton, and D.G. Morgan: “Transducers: Transmembrane Receptor Proteins Involved In Bacterial Chemotaxis,” 46th Symposium of the Society for General Microbiology Jointly Organized with The British Society for Cell Biology, Held at the U. of York, 108/119 (1990)
- 15) R. B. Bourret, K. A. Borkovich, and M. I. Simon: “Signal Transduction Pathways Involving Protein Phosphorylation In Prokaryotes,” *Annu. Rev. Biochem.*, 60, 401/441 (1991)
- 16) B. E. Knox, P. N. Devreotes, A. Goldbeter, and L. A. Segel: “A molecular mechanism for sensory adaptation based on ligand-induced receptor modification,” *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 83, 2345/2349 (1986)
- 17) R. Luus, and T. H. I. Jakkola: “Optimization by Direct Search and Systematic Reduction of the Size of Search Region,” *AIChE Journal*, 19-4, 760/766 (1973)
- 18) G. G. Nair: “Suboptimal Control of Nonlinear System,” *Automatica*, 14, 517/519 (1978)
- 19) T. Nikata, K. Sumida, J. Kato, and H. Ohtake: “Rapid Method for Analyzing Bacterial Behavioral Responses to Chemical Stimuli,” *Applied and Environmental Microbiology*, 58-7, 2250/2254 (1992)

[著者紹介]

諸星知広



1994年広島大学工学部第三類(化学系)に入学。1997年同大学工学部発酵工学課程に配属,現在に至る。主として細菌走化性の情報処理モデルの構築をはじめとする人工生命体の研究に従事。

辻 敏 夫 (正会員)



1985年,広島大学大学院工学研究科博士課程前期修了。同年同大学工学部助手。94年同大学助教授。92年イタリア共和国ジェノバ大学客員研究員。人間とロボットの運動制御,ニューラルネット,マン・マシンシステムなどの研究に従事。電気学会,日本ロボット学会,IEEEなどの会員(工学博士)。

大 竹 久 夫



1978年,大阪大学大学院工学系研究科発酵工学専攻博士課程修了。同年鳥根大学農学部助手。80年同大学助教授。83年東京大学応用微生物研究所助教授。85年米国ワシントン大学客員助教授。86年米国イリノイ州立大学客員研究員。90年広島大学工学部教授。研究分野は生命情報工学。日本生物工学会,日本農芸化学会などの会員(工学博士)。