

細胞表現型ゆらぎの適応的意義と 1 細胞統計

Adaptive Roles of Phenotypic Fluctuation and Single-Cell Statistics

若 本 祐 一

Yuichi Wakamoto

東京大学大学院総合文化研究科複雑系生命システム研究センター

要 旨 クローン細胞集団内で観察される様々な表現型のばらつきは、多くの場合、置かれた環境での増殖能や死亡率といった個々の細胞の「適応度」と相関を持つ。このとき、注目する表現型の統計的性質を集団計測から正確に見積もることは原理的に不可能となる。細胞状態変化の本来の性質と、さらにそれらの状態と適応度との相関により決定される集団の性質を同時に理解するには、1細胞レベルの動態計測が必須となる。近年このような計測を実現するマイクロ流体デバイスが開発されつつある。本稿ではまず、細胞表現型の集団内多様性が細胞の適応度差と関係する例として「パーシスタンス現象」に着目し、その1細胞解析で得られた知見を紹介する。さらに、遺伝子発現量などの表現型が適応度と相関をもつとき、集団計測で得られる統計量が細胞の性質とずれることを簡単なモデルをもとに議論し、そのような差が、実際の長期1細胞動態計測で確認されつつあることを述べる。

キーワード：1細胞計測、マイクロ流体デバイス、パーシスタンス、表現型—適応度相関、1細胞統計

1. はじめに

20世紀生物学の成功は「クローン」という概念に支えられていると言っても過言ではない。クローンとは字義的には「同一遺伝情報をもつ細胞、個体」を意味するが、実用上は「同じ性質をもつ細胞、個体」という意味を込めて使われることが多い。

一塩基レベルでDNAなどの配列を読み解くことのできる優れた遺伝情報解析技術と、拡大クローン概念とも言うべきこの便利な考え方によって、遺伝情報とクローン集団の平均的性質の対応関係が、集団内の個体レベルでの遺伝型—表現型マッピングを記述するはずという生物研究の基本姿勢を作り出している。

本稿では、このような生物学の大前提が、近年急速に発展してきている1細胞レベルの詳細な動態計測によりゆらいでいることを述べたい。特にそのなかで、マイクロ流体デバイスを用いた長期1細胞計測の具体例についても紹介する。このような技術が、単に集団計測で埋もれていた1細胞レベルの詳細情報を明らかにするだけでなく、集団計測で得られる統計量の解釈にも一定の変革を迫りつつあることを述べていきたい。

2. クローン集団内の表現型ゆらぎ

たとえ同じ遺伝情報をもつ細胞を同じ環境に置いたとしても、各細胞の形、大きさ、成長速度、内部の遺伝子発現量などの状態（表現型）はばらついている^{1,2)}。細胞ごとに状態にばらつきがあること自体は当たり前かもしれない。問題は、集団の平均値を以て内部の細胞の性質を議論する際、この平均値が細胞の典型的性質をどの程度反映しているのかという点だ。つまり集団内の表現型が、平均値近傍に最頻値をもつ形で分布しているのか、もしくはそれとは大きく異なる分布になっているかによって、平均値のもつ意味が変わってくる。

この観点を明確に意識した研究が、既に1957年にNovickとWeinerにより行われている³⁾。この研究では、ラクトースなどの誘導物質の濃度に応じて β -ガラクトシダーゼなどの特定酵素が発現誘導される大腸菌のシステム（現在で言うところのいわゆる*lac*オペロン）に注目し、同じ集団内の異なる細胞間で誘導される酵素の量が一定か否か調べた。その結果、誘導物質濃度が非常に低いときには全ての細胞で酵素発現が誘導されず、逆に濃度が十分に高いときは全ての細胞で飽和レベルの誘導が確認された。中間的な誘導物質濃度では、集団レベルの平均発現量は中間的な値をとる。しかし1細胞レベルでは、中間的な発現量の細胞は存在せず、飽和レベルで誘導される細胞と全く誘導されない細胞が集団内で混在していることを明らかにした（図1）。つまり、中間的な誘導物質濃度では、酵素量の集団平均は内部のいかなる細胞の状態とも対応しない。実際、中間的な誘導物質濃度における酵素発現量の分布は、双峰性になることが知られている⁴⁾。こ

〒153-8902 東京都目黒区駒場3-8-1
TEL: 03-5454-4326; FAX: 03-5454-4326
E-mail: cwaka@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp
2015年4月24日受付

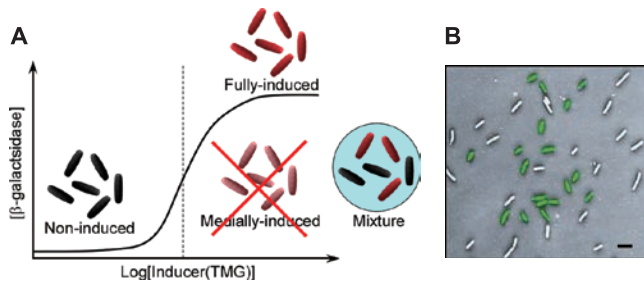


図1 誘導物質に対する Lac オペロンの応答の細胞間差。(A) 誘導物質濃度と酵素発現の関係の模式図。横軸に誘導物質 (thiomethyl- β -D-galactoside, TMG) 濃度, 縦軸に誘導される β -ガラクトシダーゼ量の集団平均をとると, 模式的に黒線のような応答が観察される。中間的な誘導物質濃度 (破線) では誘導される酵素の集団平均も中間的な値となるが, 1細胞レベルでは水色丸内で示した図のように, 酵素を全く発現しない細胞と, 飽和レベルで発現する細胞が集団内に混在する。(B) 中間的な誘導物質濃度において Lac プロモーター下流から GFP を発現させたときの大腸菌の顕微鏡写真。文献4) より許可を得て転載。緑色の細胞は GFP を強く発現している細胞, 白色の細胞はほとんど発現していない細胞。確かに集団中に大きく発現状態が異なる細胞が混在している。スケールバーは $2\mu\text{m}$ 。

のような状況では, 集団平均を内部の細胞の典型的状態と考えることに無理が生じる。

たとえ細胞表現型のばらつきが平均値の周りに単峰的にきれいに分布していたとしても, 集団内のばらつきを無視できない状況も存在する。たとえば, 注目する表現型の差に依存して, 各細胞の成長能力や環境応答特性が変化し, 結果として集団内の一部の細胞の子孫が, その後の集団の性質を支配的に決定してしまうという状況である。このような場合, 集団平均の時間変化の情報には, 集団の性質を決定する真に重要な細胞の状態変化の情報を与えない。また, 注目する表現型の細胞間での差が成長能力などの「適応度 (Fitness)」と相関している場合, 集団平均は細胞の平均的性質と対応しなくなるという問題もある^{5,6)}。

以下では, 具体的な生命現象を例にこのような表現型のばらつきの意義と影響について考えていく。

3. バクテリアのパーシスタンス現象

クローン集団内の表現型のばらつきが重要な役割を果たす現象の例として, バクテリアなどで起こる「パーシスタンス (Persistence)」と呼ばれる現象が挙げられる。これは, 抗生物質などの致死的なストレスにクローン集団をさらした際, 大多数の細胞が死ぬなか, 一部の細胞が遺伝子変異なしに長期間生き残る現象である^{7,8)}。この現象は1944年に Bigger によって発見された⁹⁾。Bigger は, ブドウ球菌に対してペニシリンを投与する実験の中で, 集団中の全ての細胞を死滅させることは極めて困難であること, さらに生き残った細胞を再増殖させ再びペニシリンを投与すると, 初めと同じくこの再増殖集団においても大多数の細胞がやはり死ぬことを明らかにした。この結果から, 生き残った細胞の耐性は遺伝子変異

に依らないことを示唆した。彼はこのような耐性を通して生き残る細胞を「パーシスター (Persister)」と名付け, ひとつの仮説として, パーシスターは集団中に存在する非増殖細胞 (ドーマント細胞) ではないかと述べた。一般的にペニシリンは, 貧栄養環境などで成長できない状態のバクテリアには効果が低い。この知見を援用し, 集団内に分裂を停止した表現型バリエーションが存在すれば, パーシスタンス現象を説明できると考えた。

その後, パーシスタンス現象自体は様々なバクテリア種や抗生物質の組み合わせで見つかり, また抗生物質に限らず, pH ストレス, 酸・アルカリストレス, 放射線ストレスなど, 様々なストレスに対しても一般的に起こることが明らかになっている。一方で「パーシスター」=「ドーマント細胞」という仮説は一定の支持を得つつも, その直接証拠は得られていなかった。

2004年に Balaban らは, マイクロ流体デバイスを用いた1細胞計測により, 大腸菌のある変異株では, 抗生物質アンピシリンに対するパーシスターが確かにドーマント細胞であることを示した¹⁰⁾。

マイクロ流体デバイスとは, 従来半導体作製などに用いられてきた微細加工技術を利用して, ガラスやポリマー樹脂などに微細な溶液流路を構成したものである。現在の微細加工技術では, 細胞サイズよりも小さなサブミクロンオーダーでの加工が可能になっており, 適切にデザインされたデバイスに細胞を導入すると, 通常のスライドガラスや培養ディッシュでは実現しえない細胞計測が可能となる。

Balaban らは, 大腸菌の細胞幅とほぼ同じ幅の溝を PDMS (Polydimethylsiloxane) と呼ばれる透明ポリマー樹脂に構成し, その溝の中に大腸菌を配置し, 顕微鏡で観察した。溝上面は半透膜で覆われており, 半透膜上を流れる培養液を変えることで, 溝中の各細胞の抗生物質に対する応答を観察することができる。

このデバイスを用いた実験により Balaban らは, 大多数の細胞が成長する好環境においても, 成長をほぼ停止したドーマント細胞が少数存在すること, さらにこのドーマント細胞こそがアンピシリン投与下で生き残るパーシスターであることを明らかにした。この結果は, Bigger から続く「パーシスター」=「ドーマント細胞」という見方を支持しているが, 一方でこの実験はあくまでアンピシリンに対する大腸菌のパーシスタンスでの結果であり, 全てのパーシスタンス現象がこの見方で説明できることを保証するものではない。実際我々の研究により, ドーマント細胞に依存しないパーシスタンス様式も存在することが明らかになった¹¹⁾。

我々は, *Mycobacterium smegmatis* と呼ばれるバクテリア種の抗生物質イソニアジドに対するパーシスタンス現象を1細胞計測により解析した。*M. smegmatis* は結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) の近縁種であり, イソニアジドは実際の結核治療でも使われる抗生物質である¹²⁾。

我々の研究では, 図2A-Cで示したデザインのマイクロ流

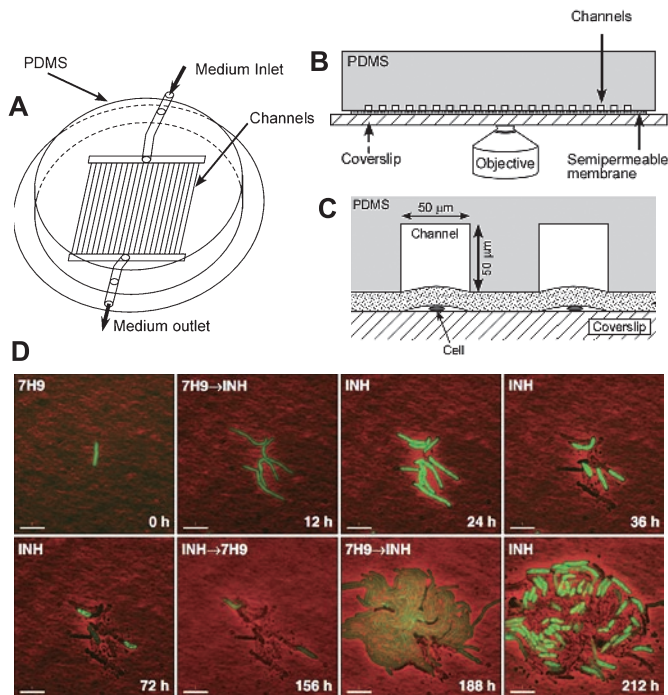


図2 *M. smegmatis* におけるパーシスタンス現象の1細胞計測 (文献11)より許可を得て転載). A-C. 1細胞計測に用いたマイクロ流体デバイスの模式図. A. デバイスの全体図. PDMSと呼ばれる透明ポリマー樹脂に50 μm 幅 \times 50 μm 深さのチャンネルが多数構成され、それらが全てMedium inletとMedium outletにつながっている. デバイス底面はカバーガラスであり、倒立型顕微鏡によりデバイス内部の細胞の様子をタイムラプス観察する. B. デバイス断面図. PDMSとカバーガラスの間にセルロース半透膜が挟まっている. C. デバイス断面の拡大図. 観察する細胞はカバーガラスと半透膜の間に配置される. 半透膜上部のチャンネルに培養液を流し続けることで、細胞の位置を固定したまま、細胞周囲の環境を制御できる. D. このデバイスにより得られたタイムラプス画像. 画像は位相差像(赤)とGFP蛍光像(緑)を重ね合わせたもの. この実験で用いた細胞は恒常発現プロモーターからGFPを発現している. 各画像の左上にはその時点での培養環境が示されている. 7H9は通常の成長培地, INHはこの培地に抗生物質イソニアジドを加えた環境を示す. 各画像右下の数字は観察開始からの経過時間. この実験では観察開始からまず12時間、細胞を成長培地に細胞をおき、小コロニーを形成させた後、6日間(144時間)細胞を抗生物質に晒した. その後一度成長培地に戻して再増殖させた後、再度抗生物質を与えている. 2回目の投与でも、多くの細胞が死んでいることが分かる.

体デバイスを作製した. このデバイスでは、顕微鏡のカバーガラスとセルロース半透膜の間に細胞を挟む. 微細な流路溝が構成されたPDMSパッドを半透膜上に置き、これらをタイトに固定した状態で倒立顕微鏡を用いて内部の細胞を観察する. PDMSパッドの流路に培養液を流すと、流路直下の半透膜とガラスの間で、細胞は平面的に増殖しマイクロコロニーを形成する. 流路中の培養液を、抗生物質を含むものに変えると、個々の細胞の薬剤への応答を観察できる(図2D).

このデバイスを用いた計測により、*M. smegmatis*のイソニアジドに対するパーシスタンスでは、長期間生き残る細胞は

ドーマント細胞とは限らず、投与後短時間で死ぬ細胞とパーシスターのあいだに、成長能力の差は認められないことを明らかにした. さらにKatGと呼ばれる酵素の細胞内発現が1細胞レベルの生死運命と相関していることを明らかにした. 蛍光タンパク質を利用して1細胞レベルでのKatG発現パターンを解析すると、通常その発現量は低く抑えられているが、時折パルス的に上昇することが分かった. パルスの発生は確率的であり、観察中一度もパルスの発現を示さない細胞もいれば、複数回発現する細胞も観察される. 実はこのKatGはイソニアジドを活性化し、毒性を高めることが知られている. このことからKatGパルスを示した細胞は死にやすくなると予想される. 実際解析によりその予想は正しいことが明らかになった. この結果は、細胞内の確率的な遺伝子発現が、1細胞レベルでの生死運命の決定に寄与していることを示している.

KatGはカタラーゼの一種であり、自然界では頻りに遭遇することになる酸化ストレス環境においては細胞内の活性酸素レベルを低下させ、細胞にとって有利に働く. 実際KatGを欠損した細胞株を酸化ストレス環境下に置くと成長能力の著しい低下が見られる¹³⁾. ただイソニアジドの存在下では、KatG発現によって得られるBenefitよりもCostが大きくなる. このように特定遺伝子の発現がある環境では有利に働くが、別の環境では不利になるという状況は一般的に生じうる. しかも、細菌が通常生活する環境では、いつなごき不利な状況が訪れるか分からない. このように環境の不確実性が高い状況では、集団内の遺伝子発現を確率的にし、異なる発現状態の細胞を用意しておくという、いわゆる「合い賭け(Bet-hedging)戦略」の有利性は、進化の観点から表現型のばらつきを正当化するひとつの視点となっている¹⁴⁾.

以上紹介した2つのパーシスタンス現象では、一方では成長状態、もう一方では特定酵素の細胞内発現という差こそあれ、クローン集団内での表現型のばらつきが集団の生存にとって重要な役割を果たす好例となっている. このような知見は1細胞計測によって初めてもたらされたものであり、集団計測では得られない詳細情報を与えたという意味で、1細胞計測の素朴な重要性を示している.

4. 適応度と相関する表現型の統計

一般に細胞にとって重要な表現型は、細胞の成長能やストレス環境における死にやすさといった適応度と相関を持つ. KatGの例で言えば、その発現量の細胞間差が、イソニアジド投与下での*M. smegmatis*の生存確率に影響を与えている. 遺伝子発現量の違いが適応度に差を生むのは、何もストレス環境に限ったことではない. 例えば、先に述べたNovickとWeinerの実験でも、同一環境下で観察される β -ガラクトシダーゼを発現していない細胞と、飽和レベルで発現している細胞との間で成長率に差があることが示されている³⁾.

注目する細胞表現型が適応度と相関しているとき、適応度の高い状態にある細胞が集団内で占める割合は相対的に大き

くなる。細胞表現型が安定に子孫細胞に遺伝する場合、このことは自明だが、たとえ表現型自体が時間的にゆらいでおり、必ずしも子孫細胞が同じ表現型を取らない場合でも集団内の表現型比率は影響を受ける^{5,6)}。

このことを具体的なモデルで考えよう。今、細胞内のあるタンパク質の量が時間的に変動している状況を考える。全ての細胞内のタンパク質量の変動は共通の推移確率関数にしたがって変動し、ある一時点での発現量の記憶は時間とともに指数関数的に減衰する（つまり遺伝型のように子孫細胞に安定に依存しない）。もし十分長い時間1細胞の状態変化を常に孤立化させた状態で観察し続け、この時系列に沿ったタンパク質発現量の分布を調べると図3中の黒の分布になったとしよう。この分布の平均は、細胞の内因的な性質としての典型的発現状態を表し、さらに分布の広がりも、典型的状態から細胞の状態がどの程度外れるかを示す。このタンパク質発現量の変動に関する設定の下で、各時点での細胞の分裂確率が、発現量に依存して変化するとしよう。図3では発現量が低いほど分裂確率が上がることを想定しているが、発現量の違いに対する分裂率の依存性によって、集団全体での発現量の分布が、細胞本来の分布からずれてくる（図3、青の分布）。ここで注意すべきは、集団計測によって取得できる分布や平均は、このような適応度との相関に由来するバイアスのかかった分布や平均だということだ。しかも、集団計測だけでは、各細胞の状態にどの程度適応度のバイアスがかかっているかは分からない。したがって、バイアスが存在するとき、集団計測の結果から細胞固有の性質を抽出することは原理的にできないことになる。一般的に細胞にとって真に重要な表

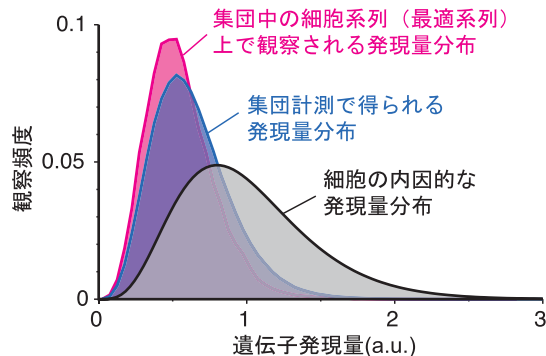


図3 遺伝子発現量と適応度が相関する場合の発現量分布。ここでは、細胞内の遺伝子発現量が確率的にゆらぎ、さらに各時点での細胞の分裂確率が、この遺伝子の発現量によって決まるという状況を考えている。今、発現量が低いほど分裂確率が上がるという設定を課している。黒の分布は、孤立化細胞系列で観察される発現量分布であり、これはいわば、細胞の内因的な発現変動の性質と対応した分布になる。青色の分布は集団計測により得られる発現量分布。黒の分布より発現量の低い方向に偏っている。赤の分布は最適系列上での発現量分布であり、集団分布よりもさらに偏りは大きい。黒の分布の平均を1とすると、青の分布の平均は0.63、赤の分布の平均は0.55となり、同じ細胞集団であっても統計の取り方により得られる平均が変わることが分かる。

現型とは、その状態の差が細胞の適応度の大きな差につながるものと言える。つまり、注目する表現型が細胞にとって重要で適応度と強く相関すればするほど、細胞本来の表現型の特性について集団計測から得られる情報が減るというジレンマに陥る。

細胞を孤立化させた状態で観察するという手順を具体的にイメージするには、次のような実験を考えるとよい。まず細胞をある小部屋に閉じ込める。細胞周囲の培養環境は常に一定に保つ。そして、小部屋中の細胞が分裂すると、一方の娘細胞をランダムに選び、部屋の外に捨てる。細胞が分裂するたびに、ひとつの娘細胞を捨てるという作業を繰り返せば、ひとつの細胞系列が得られる。このような手順で得られる十分長い細胞系列に沿った統計量は、各細胞の適応度差による影響を受けず、細胞の内因的な性質を反映したものとなる。実際このような計測は、マイクロ流体デバイスと光ピンセットを組み合わせた実験で実現している^{15,16)}。

一方、このような細胞の孤立化を行わず、自然に細胞を増殖させたとき、子孫細胞から先祖の細胞に向かって歴史を遡った時に得られる細胞系列のほとんどは、先の孤立化系列とは異なる統計量を持つことが示される¹⁷⁾。我々は集団中で典型的に得られるこのような細胞系列のことを「最適系列」と呼んでいる。図3では、先と同じ理論モデルにより、最適系列上での発現量分布を得た結果も示してある（赤色の分布）。細胞本来の分布からのこの分布ずれは、集団の分布のずれよりもさらに大きくなる。このように細胞系列の取得の仕方によっても、得られる統計量が異なってくるのも増殖系の特徴である。

以上の結果はあくまでモデル上での話であるが、実際の細胞集団でも、細胞の内因的な表現型量の統計的性質が集団の性質と異なることが、細胞系譜の時系列解析により明らかになっている。この点について次に述べていきたい。

5. 長期1細胞時系列解析

マイクロ流体デバイスを用いた細胞計測技術の進展により、1細胞レベルの状態変化を100世代以上の長期にわたって追尾計測することが可能になってきている。

Wangらは、マザーマシン (Mother machine) と呼ばれる図4に示した形のマイクロ流体デバイスを考案した¹⁸⁾。このデバイスでは、大腸菌が1細胞ずつ縦に並ぶようにサイズを設計された観察チャンネルが、メイン流路から髭のように延びる設計となっている（図4A）。観察チャンネル中の細胞は増殖により入口付近の細胞をメイン流路に押し出す。このとき、メイン流路中には常に培養液が流れており、押し出された細胞はデバイス外に自動的に洗い流される（図4B）。これにより観察チャンネル先端に位置する細胞を長期間観察し続けることができる。バクテリアでは、分裂により生じた2つの細胞を細胞端の古さにより、母細胞、娘細胞と分類できるが、このマザーマシンでは、観察チャンネル先端に残り続ける細胞が常に母細胞側になる。もともとこのデバイスは、大腸菌にお

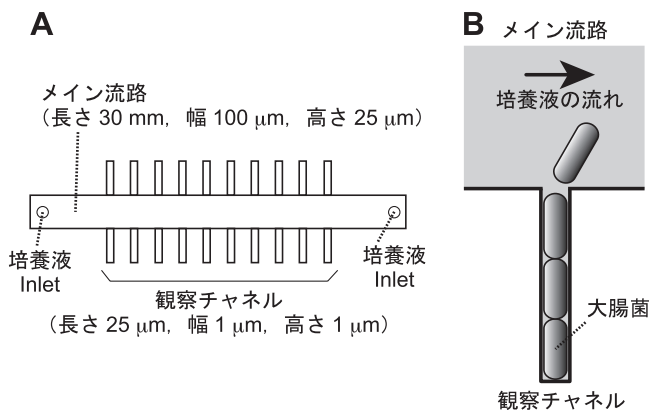


図4 マザーマシン. A. デバイス概要図. PDMSにメイン流路およびそれと直交する観察用チャンネルが構成されている. メイン流路は培養液を送液するためのInletとOutletにつながっている. B. 使用方法. このデバイスでは, 大腸菌が観察チャンネルに縦に並び, 成長・分裂によりメイン流路側の細胞が押し出され, 流れてデバイス外に排出される. 観察チャンネル奥の細胞(母細胞)は安定に観察チャンネル内に保持されるため, 100世代以上の長期にわたってその動態を観察できる.

いて母細胞が世代を重ねるにつれて成長率の低下などを伴う加齢(Aging)をするか調べるために開発されたが, その後成長動態の解析¹⁹⁾や, 特定プロモーターのON/OFFスイッチの長時間動態を調べる研究²⁰⁾などに応用されている. また, 我々のグループでは分裂酵母や白血球細胞用のマザーマシンも開発しており, 大腸菌に限らず様々な細胞種で同様の長期1細胞時系列解析が可能になりつつある.

マザーマシンを用いた1細胞計測で得られる細胞の時系列は, 観察チャンネルの一番奥に配置された細胞の時系列であり, 他の細胞の適応度の影響を受けない. もし, 母細胞, 娘細胞の区別が何ら生理的意義をもたず, 両者は基本的に同じ性質をもつものと捉えられるなら, 先に述べた孤立化観察と同様の細胞時系列が得られる. しかし, 細胞集団の中で典型的に観察される細胞時系列は, 一般的に周りの細胞との適応度差の影響を受け, マザーマシンで得られる細胞の内因的な統計量を反映した時系列とは性質の異なる最適系列となる.

我々は, このような集団中の典型的な1細胞時系列の情報を得ることのできるマイクロ流体デバイス「ダイナミクス・サイトメーター(Dynamics cytometer)」を開発した²¹⁾. このデバイスでは, マザーマシンと同様, 観察チャンネルとメイン流路を組み合わせたデザインになっているが, (1)観察チャンネル中に比較的多数(20~40細胞)の細胞が入る, (2)観察チャンネルの両端から細胞が排出される点で異なっている. この場合, どの細胞が観察チャンネルに残り続けるかという点に関して, 細胞の適応度が影響する. その結果, 観察チャンネルに残り続ける1細胞時系列は, 一般的な細胞集団中で典型的に観察される時系列と同じ統計的性質をもつことを明らかにしている.

図5では, *rpsL*プロモーターの下流から蛍光タンパク質(GFP)を発現する大腸菌を用いて, 集団全体での発現量分布

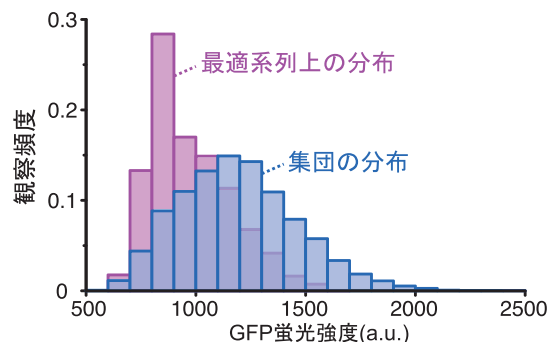


図5 ダイナミクス・サイトメーターにより得られたGFP発現量の集団分布と最適系列上の分布. この実験では, *rpsL*プロモーターの下流からGFPを発現する大腸菌株を用い, 常に30~40細胞の集団サイズを維持しながら, 定常環境下で約100世代にわたって増殖過程を1細胞レベルで観察した. この実験で得られるタイムラプス画像を解析し, 各細胞からGFP蛍光強度(平均強度)の情報を取得し, この情報から集団全体の分布(青)と最適系列上の分布(赤)を評価した. 青の分布の平均は1200, 赤の分布の平均は977であり, 最適系列上の分布の方が値の小さい方へ偏っている.

と最適系列上での発現量分布を比較した結果を示している. このように両者のあいだでは分布がずれ, 最適系列の分布は, 値が小さい方へ寄っている. この結果は, GFPの発現量が低いほど適応度が高いことを示唆している. 注意すべきは, この結果はそれぞれ別の実験で得られたものではなく, 同じ実験で得られたデータに対し, 集団での分布と系列上での分布を評価している点だ. したがって, この差は異なる実験に由来する誤差ではなく, 細胞系列を対象とするのか, 集団を対象とするかで得られる統計量が変わることを表している.

6. まとめ

近年急速に発展しつつある1細胞レベルの動態計測技術は, これまで集団計測で得ていた統計量に対する新たな見方を提供しつつある. 昨今, 1細胞レベルのゲノム・トランスクリプトーム解析の実現を目指す研究・技術開発が進んでいるが, たとえどれだけ精度よく1細胞レベルの情報を, ある一時点の集団から取得できたとしても, その分布は適応度によるバイアスのかかった不正確なものになる. 細胞間での個体差の真の重要性を明らかにするには, 差の情報とともに, その差が各細胞の適応度にどの程度影響を与えるか知る必要がある. そして, その影響を知るには, 細胞系譜も含む細胞動態の情報が必須となる.

このような1細胞動態計測技術は様々な生物種で実現しつつある. 近い将来, これまでの生物学的知見を1細胞の観点から理解し直していくことも必要になるかもしれない.

謝辞

本稿で紹介した我々の研究は, JST さきがけ, JSPS 科研費(25711008), 文部科学省「生命動態システム科学推進拠点事業」, Bill and Melinda Gates Foundation, Harvey L. Karp

Discovery Fellowship の支援を受けて行われました。また、これらの研究は橋本幹弘, 野添嵩, 中岡秀憲, 大倉玲子, 秋吉沙世, 金子邦彦, Edo Kussell, Alexander Grosberg, Neeraj Dhar, Remy Chait, Katrin Schneider, François Signorino-Gelo, Stanislas Leibler, 安田賢二, 各氏との共同研究として行われました。ここに感謝致します。

文 献

- 1) Eldar, A. and Elowitz, M.B.: *Nature*, **467**, 167–173 (2010)
- 2) Balázsi, G., van Oudenaarden, A. and Collins, J.J.: *Cell*, **144**, 910–925 (2011)
- 3) Novick, A. and Weiner, M.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **43**, 553–566 (1957)
- 4) Ozbudak, E.M., Thattai, M., Lim, H.N., Shraiman, B.I. and Van Oudenaarden, A.: *Nature*, **427**, 737–740 (2004)
- 5) Sato, K. and Kaneko, K.: *Phys. Biol.*, **3**, 74–82 (2006)
- 6) Tănase-Nicola, S. and ten Wolde, P.R.: *PLoS Comput. Biol.*, **4**, e1000125 (2008)
- 7) Lewis, K.: *Nat. Rev. Microbiol.*, **5**, 48–56 (2007)
- 8) Levin, B.R. and Rozen, D.E.: *Nat. Rev. Microbiol.*, **4**, 556–562 (2006)
- 9) Bigger, J.W.: *Lancet*, **244**, 497–500 (1944)
- 10) Balaban, N.Q., Merrin, J., Chait, R., Kowalik, L. and Leibler, S.: *Science*, **305**, 1622–1625 (2004)
- 11) Wakamoto, Y., Dhar, N., Chait, R., Schneider, K., Signorino-Gelo, F., Leibler, S. and McKinney, J.D.: *Science*, **339**, 91–95 (2013)
- 12) Vilchèze, C. and Jacobs, W.R.: *Annu. Rev. Microbiol.*, **61**, 35–50 (2007)
- 13) Ng, V.H., Cox, J.S., Sousa, A.O., MacMicking, J.D. and McKinney, J.D.: *Mol. Microbiol.*, **52**, 1291–1302 (2004)
- 14) Kussell, E. and Leibler, S.: *Science*, **309**, 2075–2078 (2005)
- 15) Wakamoto, Y., Umehara, S., Matsumura, K., Inoue, I. and Yasuda, K.: *Sensors Actuators B Chem.*, **96**, 693–700 (2003)
- 16) Wakamoto, Y., Ramsden, J. and Yasuda, K.: *Analyst*, **130**, 311–317 (2005)
- 17) Wakamoto, Y., Grosberg, A.Y. and Kussell, E.: *Evolution*, **66**, 115–134 (2012)
- 18) Wang, P., Robert, L., Pelletier, J., Dang, W.L., Taddei, F., Wright, A. and Jun, S.: *Curr. Biol.*, **20**, 1099–1103 (2010)
- 19) Taheri-Araghi, S., Bradde, S., Sauls, J.T., Hill, N.S., Levin, P.A., Paulsson, J., Vergassola, M. and Jun, S.: *Curr. Biol.*, **25**, 385–391 (2015)
- 20) Norman, T.M., Lord, N.D., Paulsson, J. and Losick, R.: *Nature*, **503**, 481–486 (2013)
- 21) 若本祐一, 橋本幹弘: 細胞培養装置, 細胞培養長期観察装置, 細胞長期培養方法, および細胞培養長期観察方法, 特許第 5231684 号 (2012)