

令和元年6月10日現在

機関番号：63801

研究種目：基盤研究(B) (特設分野研究)

研究期間：2015～2018

課題番号：15KT0083

研究課題名(和文)細胞分裂を再現する力学モデルの構築と検証

研究課題名(英文)Construction and Experimental Validation of Mechanical Models for Cell Division

研究代表者

木村 暁 (Kimura, Akatsuki)

国立遺伝学研究所・遺伝メカニズム研究系・教授

研究者番号：10365447

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では「細胞分裂」を研究対象とするシステムにおいた。その要素プロセスである「核の中央化」「紡錘体伸長」「細胞質分裂」などについて、数理モデルを構築するとともに、それらを統合し、細胞分裂システム全体を対象とする数理モデルを構築することを目的とした。研究期間内に、「核の中央化」と「紡錘体伸長」過程の統合モデルの構築を行い、その実験検証も行った。また、複数の細胞質流動過程について数理モデルの構築やパラメータ推定を行った。さらには、細胞分裂による細胞配置モデルの構築も行った。一連の研究で細胞分裂システム全体をカバーする数理モデルの構築が進展するとともに、各要素プロセスの統合も進展した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

学術的な意義としては、細胞分裂の各プロセスの数理モデル構築と実験的検証を行うことによって、細胞分裂に関する理解の到達点と未解明な点を明確にできたことである。一連の研究結果を踏まえて、今後、さらなるモデル化のための研究課題が明確となった。また、本研究で推し進めた研究は、生命システムのモデルを構築し実験的に検証する点で生命システム研究の構成的アプローチの先駆的な研究例となった。

研究成果の概要(英文)：We set the dynamics of the spatial organization during cell division as the target system. We constructed models for various processes such as the centration of cell nucleus, the elongation of mitotic spindle, and cytokinesis. Furthermore, we attempted to unify models of a series of processes to model entire cell division. Representative achievements include (i) construction of a unified model for nuclear centration to spindle elongation processes and its experimental validation, (ii) construction of numerical models for 2 different cytoplasmic streaming processes and the estimation of the model parameters, and (iii) construction of a numerical model for the arrangement of cells after divisions. Overall, our models cover major spatial reorganization events during cell division, and contribute to understand the cell division processes as a whole.

研究分野：細胞生物学

キーワード：線虫 胚発生 細胞分裂 細胞骨格 中心体

1. 研究開始当初の背景

細胞分裂は生物が個体を形作り、世代をつなぐことの根幹をなす生命現象である。細胞分裂に伴って、細胞内空間はダイナミックに再編され、そのことが細胞分裂を遂行することに必須である。これまでに細胞内空間の再編に関わる細胞骨格等の分子が多数同定され機能解析が行われてきた。また、これらの分子機能に基づいて、空間再編成の要素プロセスを説明する数理モデルの構築も進んでいる。しかしながら、これらの要素プロセスのモデルを統合し、細胞分裂システムの全体像を理解するための統合モデルの構築は進んでいない。統合モデルの構築の試みは、要素還元的アプローチにおいて要素プロセスに分解された時点で無視された「要素プロセス間の相互関係」を明らかにするという点で、システムの理解に欠かせないと考えられる。

研究代表者がこれまでに構築した数理モデルには、(i)細胞核の中央配置、(ii)染色体の分配(紡錘体の伸長) および(iii)細胞質分裂、という細胞分裂に伴う主要な3つの空間再構成プロセスが含まれている。大雑把に言えば、細胞分裂は、染色体と細胞質を2つの娘細胞に分割するプロセスであり、この分割が細胞の中央で行われることを保証する核の中央配置とあわせて、「核の中央配置」「染色体の分配」「細胞質分裂」が細胞分裂に伴う3つの主要な空間再構成プロセスと考えられる。したがって、研究代表者らが構築してきた3つのモデルを時間的に連結すれば、細胞分裂に伴う主要な空間再構成プロセスを一周期まるごと再現・説明するモデルが構築できる。

2. 研究の目的

本研究では、「細胞分裂」を研究対象とするシステムにおき、その要素プロセスである「核の中央化」「染色体分配(紡錘体伸長)」「細胞質分裂」についてそれまでに研究代表者らが構築してきた数理モデルを統合し、細胞分裂システム全体を対象とする数理モデルを構築することを目的とする。

3. 研究の方法

時間的に連続して起こる「核の中央化」「紡錘体伸長(染色体分配)」「細胞質分裂」について、「核の中央化」と「紡錘体伸長」とを、および「紡錘体伸長」と「細胞質分裂」とを、それぞれ統合するモデルを構築することによって、細胞分裂過程全体をカバーするモデルの構築を行う。

モデルの構築においては、線虫 *C. elegans* の卵割現象を対象とし、実験的検証も線虫胚を材料に行う。実験的検証は細胞(胚)を変形させたり、紡錘体極(中心体)の数を変化させるなどの人為的摂動を与えて、数理モデルが細胞の振る舞いを説明・予測できるかを検討することによって行う。

また、細胞質の物性や細胞骨格の機能を検討するために、細胞質流動現象のモデル化と実験検証も行う。

4. 研究成果

(1) 「核の中央化」と「紡錘体伸長」過程の統合モデルの構築

従来の「核の中央化」と「紡錘体伸長」のモデルでは、両方において主要な原動力となる微小管が発生する力の様式が異なっていた。そこで、「核の中央化」と「紡錘体伸長」を統合するモデルの構築を試みた。本研究によって、両プロセスにおいて、原動力を提供する微小管細胞骨格と細胞表層との相互作用の様式が違うことこそが、それぞれのプロセスを説明するのに必要であることを明らかにした。さらに、紡錘体の伸長において、複数のモデルの比較を行い、細胞の変形を行った際に、それぞれのモデルから予想される挙動が異なることを明らかにした。この予想に基づいて線虫およびウニの胚を用いた実験を行ったところ、微小管細胞骨格と表層の結合位置が固定されているとするモデルを支持する結果を得た。[投稿準備中、学会発表 4, 23]

これまでに構築した力学モデルの妥当性を検証する目的で、通常は2つの中心体を、遺伝子変異体を用いて3つにした細胞を観察し、力学モデルでどこまで説明できるか検討を加える研究を行った。線虫 *C. elegans* 胚において3つの中心体は、中心体が2つの時と同様に分裂前期までに細胞中央に移動する。ここまでの挙動は中心体2つを説明する力学モデルで説明可能であった。次に、核膜崩壊後、3つの中心体を有する細胞は、3角形の紡錘体を形成し、この紡錘体の伸長(3角形の各辺の伸長)の後に細胞分裂を行う。この紡錘体の伸長過程も、中心体が2つの際に形成される2極性紡錘体の伸長における力学モデルを元に説明できることを示した。一方で、3角形の紡錘体が当初、細胞の長軸に対してどの角度に形成されるかが、その後

の分裂の様式(2つに分裂するか、3つに分裂するか)に重要であることを見出した。そして、従来の力学モデルで考慮した要素に加えて、中心体の大きさの非対称性を仮定すると実験で観察された角度分布を再現できることを着想した。この新たな仮定の妥当性を実験的に検証するために、中心体の大きさを測定したところ、確かに中心体の大きさに非対称性が存在することを見出した。以上の結果は、これまで通常の(2つの中心体を有する)細胞に対して構築してきた力学モデルが、3つの中心体の挙動も説明できる、普遍性のあるものであることを示している(図1)。さらに、このモデルを使うことによって、遺伝子変異によって誘導した3つの中心体には非対称性があり、そのことが紡錘体の角度や細胞分裂の様式に影響を与えていることを発見できた。[雑誌論文1]

一連の研究で構築したモデルは、線虫の紡錘体の振動現象や、ヒト細胞での紡錘体回転・細胞分裂面の決定機構に応用可能であることを共同研究において示している。[雑誌論文2, 9]

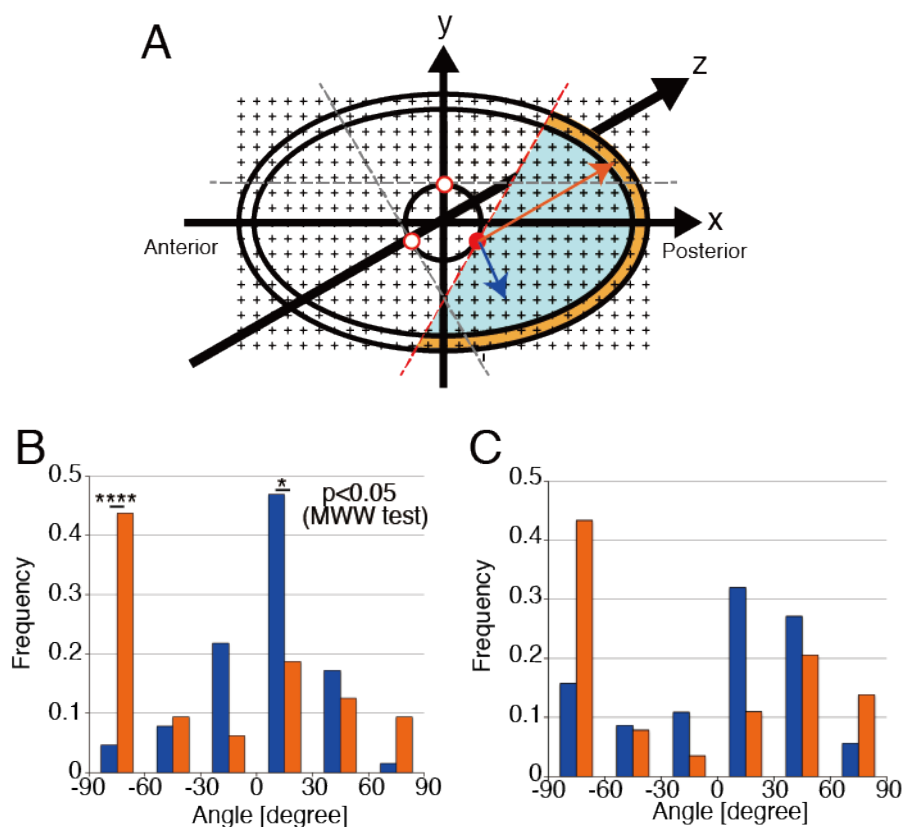


図1 : (A) 3つの中心体(赤丸または赤棒丸)を有する細胞での、中心体(核)の配置と、紡錘体伸長の力学モデルの模式図。ある中心体(図の例では赤丸)には、細胞質全体(水色領域)と、細胞表層(オレンジ領域)からそれぞれ力が働く。(B) 三極紡錘体における染色体を有する辺(青)と、染色体を有しない辺(オレンジ)の角度分布に関する実験観察結果。青の辺は0度付近に多く、オレンジの辺は-90度付近に多い。(C) 構築した力学モデルにおけるシミュレーション結果。実験観察と同様に青の辺は0度付近、オレンジの辺は-90度付近に分布する。(雑誌論文1より。)

(2) 「紡錘体の回転・伸長」と「細胞質分裂」による細胞配置モデルの構築

「細胞質分裂」の結果生じた姉妹細胞は、胚発生の過程で特定の配置をとることによって、周囲の特定の細胞と相互作用し、特定の細胞種へ分化することがある。姉妹細胞の配置は、(a) 母細胞の紡錘体が伸長する方向と、(b) 周囲の細胞や卵殻などの境界による空間的制約によって規定される。しかし、紡錘体の伸長方向と空間的制約がどのように寄与しあうことによって適切な細胞配置が達成されるかは不明であった。他研究グループによる先行研究で、線虫卵割初期過程における紡錘体の伸長方向と空間的制約に関する数理モデルが構築されていた。我々は、卵殻の形状(空間的制約)を人為的に操作する実験系を開発し、空間的制約を変化させた状態での細胞配置を観察したところ、先行研究のモデルでは説明できない部分が多いことを見出した。そして、我々は細胞間の接着力を先行研究のモデルに加えることにより、実験的に観察された挙動を説明可能であることを示すことに成功した。[雑誌論文3]

その後、このモデルを卵割がさらに進んだ時期に適用し、細胞間の接着力が一般的に重要であることを示すとともに、接着力の強さを予想することにも成功しつつある[学会発表3, 5, 14, 16]。一連の研究により、紡錘体の伸長方向と空間的制約を結びつけるモデルの構築に成功した。

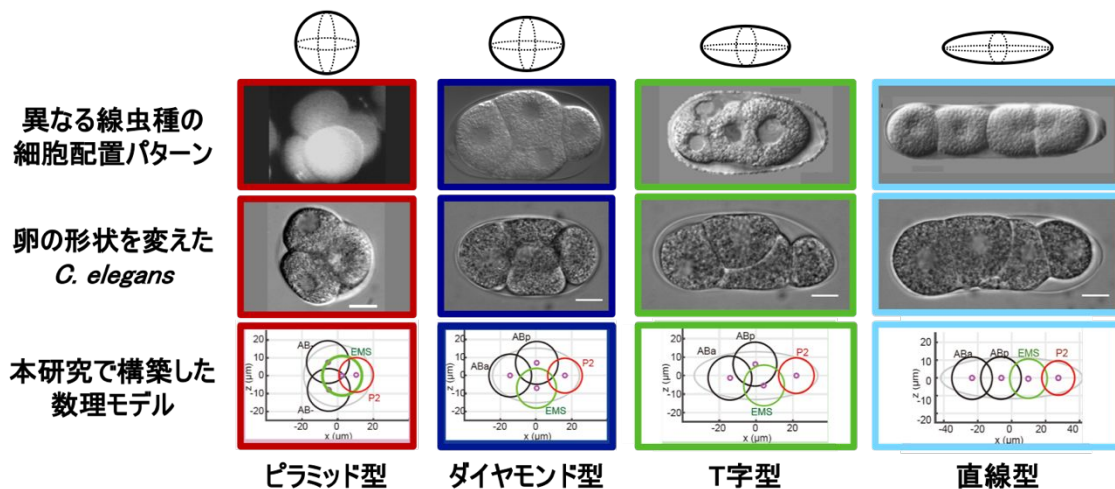


図2：「紡錘体の回転・伸長」と「細胞質分裂」による細胞配置モデル。本研究で構築したモデル(下段)は、卵殻の形状を変えて空間的な制約条件を変更した *C. elegans* 胚での細胞配置(中絶)を説明できるばかりか、異なる卵殻形状を有する天然の異なる線虫種の細胞配置(上段)にも適合する。(雑誌論文3より。)

(3) 複数の細胞質流動過程のモデル構築と、細胞分裂機構への展開

上記(1), (2)の研究を通じて、細胞分裂に伴う一連の細胞内再編成現象を概ね説明することができるようになったが、一方でより力学的に詳細なモデル構築のためには細胞質の物性や細胞骨格の機能についてさらに理解を深める必要があることが明確となった。細胞質の物性や細胞骨格の機能を検討することを目的に、細胞質全体が細胞骨格の働きによって流動する「細胞質流動」現象のモデル化と実験検証にも取り組んだ。真核細胞の主要な細胞骨格であるアクチン繊維と微小管のそれぞれによって駆動される、線虫1細胞期の極性形成時の細胞質流動、および減数分裂時の細胞質流動について、それぞれモデル構築に成功した [雑誌論文6, 8]。

一方で、紡錘体の伸長自体も細胞質で流れを生じ、それが細胞分裂面の規定に寄与しているのではないかとこの着想を得て、細胞質流動という観点から、紡錘体の伸長と細胞質分裂を統合する解析にも着手した。[学会発表 11, 13, 17, 18, 21, 22]

一連の研究を通じて、細胞内での空間配置の再構成についてモデル構築と実験検証を通じて理解を深めることができた。今後は、研究の進展に伴って明らかとなった疑問点を解決するとともに、細胞核内の染色体の挙動についても、モデル構築と実験観察を通じたアプローチで迫りたい。[雑誌論文4, 5, 7]

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計9件)

1. Kondo T, *Kimura A. Choice between 1- and 2-furrow cytokinesis in *Caenorhabditis elegans* embryos with tripolar spindles. *Mol Biol Cell* (in press, Published Online:20 Feb 2019) (2019) DOI:10.1091/mbc.E19-01-0075 (査読有)
2. Sugioka K, Fielmich L-E, Mizumoto K, Bowerman B, van den Heuvel S, Kimura A, *Sawa H. The tumor suppressor APC is an attenuator of spindle-pulling forces during *C. elegans* asymmetric cell division. *Proc Natl Acad Sci USA* 115, E954-E963 (2018). doi: 10.1073/pnas.1712052115 (査読有)
3. Yamamoto K, *Kimura A. An anisotropic attraction model for the diversity and robustness of cell arrangement in nematodes. *Development*, 144, 4437-4449 (2017). doi: 10.1242/dev.154609 (査読有)
4. Arai R, Sugawara T, Sato Y, Minakuchi Y, Toyoda A, Nabeshima K, Kimura H, *Kimura A. Reduction in chromosome mobility accompanies nuclear organization during early embryogenesis in *Caenorhabditis elegans*. *Scientific Reports*, 7, 3631 (2017). doi:10.1038/s41598-017-03483-5 (査読有)
5. Sugawara T, *Kimura A. Physical properties of the chromosomes and implications for development. *Dev Growth Diff*, 59, 405-414 (2017). doi: 10.1111/dgd.12363. (査読有)
6. Kimura K, Mamane A, Sasaki T, Sato K, Takagi J, Niwayama R, Hufnagel L, Shimamoto Y, Joanny J-F, Uchida S, *Kimura A. Endoplasmic Reticulum-Mediated

- Microtubule Alignment Governs Cytoplasmic Streaming. *Nature Cell Biology*, 19, 399-406. (2017) DOI: 10.1038/ncb3490 (査読有)
7. *Sato Y, Kujirai T, Arai R, Asakawa H, Ohtsuki C, Horikoshi N, Yamagata K, Ueda J, Nagase T, Haraguchi T, Hiraoka Y, Kimura A, Kurumizaka H, *Kimura H. A genetically encoded probe for live-cell imaging of H4K20 monomethylation. *J Mol Biol* 428, 3885-3902 (2016). DOI: 10.1016/j.jmb.2016.08.010 (査読有)
 8. Niwayama R, Nagao H, Kitajima TS, Hufnagel L, Shinohara K, Higuchi T, Ishikawa T, *Kimura A. Bayesian Inference of Forces Causing Cytoplasmic Streaming in *Caenorhabditis elegans* Embryos and Mouse Oocytes. *PLoS ONE* 11, e0159917 (2016). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0159917> (査読有)
 9. *Matsumura S, Kojidani T, Kamioka Y, Uchida S, Haraguchi T, Kimura A, Toyoshima F. Interphase adhesion geometry is transmitted to an internal regulator for spindle orientation via caveolin-1. *Nature Communications* 7, 11858 (2016). DOI: 10.1038/ncomms11858 (査読有)

[学会発表] (計 2 5 件)

1. 木村暁. 遠心顕微鏡で細胞核を動かし、力を定量する. 定量生物学の会第9回年会. 大阪 (2019)
2. 山崎孔敬. Cortical flow に着目した細胞質流動シミュレーション. 定量生物学の会第9回年会. 大阪 (2019)
3. Motomuro M. Mechanical Modeling of Cell Migration During the Early Embryogenesis of *C. elegans* to Reveal the Mechanism for Controlling Cell Arrangement. The Seventh Annual Winter Q-Bio Meeting. Hawaii, USA. (2019)
4. 山崎孔敬. In silico 及び in vivo 実験による有糸分裂期中心体位置制御機構の解明. 第2回慶應ライフサイエンスシンポジウム. 横浜 (2018)
5. 本室美貴子. 線虫初期胚における細胞位置決定モデルの構築. 第2回慶應ライフサイエンスシンポジウム. 横浜 (2018)
6. Kimura A. Microtubule-dependent positioning of the nucleus in the *C. elegans* embryo. EMBO/EMBL Symposia: Microtubules: From Atoms to Complex Systems. Heidelberg, Germany (2018)
7. Kimura A. Cytoplasmic Streaming in the nematode, *C. elegans*. Active Matter Workshop 2018. Kyoto, Japan. (2018)
8. 木村暁. 核の細胞内配置を (数理モデルで) 造る・ (実験的に) 操作する. 2017 年度生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017) 神戸 (2017)
9. Kimura A. A self-organization model for the emergence and reversal of meiotic cytoplasmic streaming in the *C. elegans* embryo. International Symposium on Fluctuation and Structure out of Equilibrium 2017 (SFS2017). Sendai, Japan (2017)
10. Kimura A. Emergence and reversal of cytoplasmic streaming in the *C. elegans* nematode zygote. International workshop on Active Soft Matter and Ethology. Sapporo, Japan (2017)
11. 木村暁. 細胞核はどうして細胞の中心に配置できるのか? - 遺伝学、計算、マイクロデバイス、遠心顕微鏡を使った解析 - 日本大学文理学部生命科学セミナー「細胞核機能の発現と制御」東京 (2017)
12. 木村暁. バイオ画像解析支援をうけた細胞内の力発生メカニズムの理解. 生命科学4プラットフォーム成果シンポジウム. 東京. (2017)
13. 吉見祐亮. 細胞質流動に着目した細胞質分裂位置決定モデルの構築. 第1回慶應ライフサイエンスシンポジウム
14. 本室美貴子. 線虫初期胚における細胞位置決定モデルの構築. 第1回慶應ライフサイエンスシンポジウム. 横浜 (2017)
15. Kimura A. Measurement of intracellular forces using centrifuge polarization microscope (CPM). International Workshop on Quantitative Biology. Yokohama, Japan. (2017)
16. Motomuro M. Mathematical modeling of cell migration during the early embryogenesis of *C. elegans*. International Workshop on Quantitative Biology. Yokohama, Japan. (2017)
17. Yoshimi Y. Determining the position of cleavage furrow at cytokinesis by focusing on cytoplasmic streaming, International Workshop on Quantitative Biology. Yokohama, Japan. (2017)
18. Yoshimi Y. Cell shape deformation simulation using MPS method for understanding cytoplasmic flow contribution in cytokinesis. Sixth Annual Winter Q-BIO Meeting. (2017)
19. Kimura A. Mechanism of spontaneous alignment of microtubules during meiotic cytoplasmic streaming in the *C. elegans* zygote. Hierarchy of biological functions

- connected by concept of active matter. Hakodate, Japan. (2017)
20. Kimura A. Imaging and modeling of cytoplasmic streaming in the *C. elegans* embryo. BSJ-ASB joint symposium on Live Cell Imaging (The 54th Annual Meeting of the BSJ). Tsukuba, Japan (2016)
 21. Yoshimi Y. Determining the position of cleavage furrow at cytokinesis using hydrodynamic simulation. International Workshop on Hydrodynamic Flows in/of Cell. Tokyo, Japan. (2016)
 22. Yoshimi Y. Determining the position of cleavage furrow at cytokinesis using hydrodynamic simulation Japan Q-Bio Week–Mishima Symposium. Mishima, Japan (2016)
 23. Tada S. Influence of cellular aspect ratio to pole-pole distance during anaphase. Japan Q-Bio Week–Mishima Symposium. Mishima, Japan (2016)
 24. Kimura A. How a cell-wide cytoplasmic flow with unstable direction emerges reproducibly? Japan Q-Bio Week–Tokyo Symposium. Tokyo, Japan (2016)
 25. Kimura K, *Kimura A. A mechanism of self-organization in meiotic cytoplasmic streaming of the *C. elegans* embryo. The 53rd Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan (BSJ2015). Kanazawa, Japan (2015)

〔図書〕(計1件)

1. 木村暁「細胞分裂の定量生物学 - 細胞骨格・細胞膜・細胞質の力学 - 」 in 「定量生物学」 (小林徹也編、化学同人) pp. 56-69 (2018年8月)

〔産業財産権〕

- 出願状況(計0件)
- 取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

国立遺伝学研究所木村研究室：http://cellarchlab.galaxy.bindcloud.jp/home_jp.html

慶應義塾大学舟橋研究室：<https://fun.bio.keio.ac.jp/>

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名： 舟橋 啓
 ローマ字氏名： (FUNAHASHI, Akira)
 所属研究機関名： 慶應義塾大学
 部局名： 理工学部
 職名： 准教授
 研究者番号(8桁)： 70324548

(2)研究協力者

研究協力者氏名： 広井 賀子
 ローマ字氏名： (HIROI, Noriko)
 研究協力者氏名： 多田 昌平
 ローマ字氏名： (TADA, Shohei)
 研究協力者氏名： 吉見 祐亮
 ローマ字氏名： (YOSHIMI, Yusuke)
 研究協力者氏名： 本室 美貴子
 ローマ字氏名： (MOTOMURO, Mikiko)
 研究協力者氏名： 山崎 孔敬
 ローマ字氏名： (YAMAZAKI, Yoshitaka)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。