

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：63801

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02414

研究課題名(和文)細胞内の空間配置を制御する力学要素としてのオルガネラの役割の理解

研究課題名(英文)The role of intracellular organelles to regulate spatial organizations of the cell

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) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：細胞内では細胞核が細胞の端から中央まで動いたり、細胞全体で細胞質が流動したりダイナミックな動きが見られる。報告者は細胞内に存在する小胞体(ER)などの細胞小器官が、力を発生したり、力を統合する力学的要素としてこれらのダイナミックな動きに重要な役割を果たしていると提唱している。本研究課題では、細胞分裂の様式や個体の体軸の形成にオルガネラを力学的要素とする細胞内の動きが重要であることを、線虫という生き物を実験材料に使った顕微鏡観察と数理モデルを活用して明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞内小器官は従来は細胞内のエネルギー産生や物質のリサイクルなど、その機能的役割に注目されてきたが、細胞内の相当な体積を占める構造体であり、細胞骨格と連結されているなど細胞内の力学的要素としても重要な役割を果たすことが疑われる。これまで注目されていなかったこの役割に本研究では迫り、細胞がどのように分裂するか、身体の前軸がどのように決定されるか、といった重要な制御にオルガネラが細胞内の重要な力学的要素として関わっていることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Inside the cell, various dynamic movements of its interior structures are observed, such as the cell nucleus's movement from the edge to the center of the cell, or the cytoplasmic streaming throughout the cell. We have been proposing that intracellular organelles such as the endoplasmic reticulum (ER) play an important role in these dynamic movements as mechanical elements that generate and integrate forces. In this research project, we were able to demonstrate that intracellular movements with organelles as mechanical elements are important for cellular dynamics. The dynamics included the mode of cell division and the formation of the body axis of an individual. The studies were conducted by combining microscopic observation of a nematode, *Caenorhabditis elegans*, and mathematical modeling.

研究分野：細胞生物学

キーワード：線虫 細胞核 細胞質流動 オルガネラ 力学 数理モデル

1. 研究開始当初の背景

報告者は研究開始前の段階で、オルガネラ(エンドソームやリソソーム)の移動が中心体の移動の原動力であるとする「中心体-オルガネラ綱引きモデル」を提唱していた(Kimura K & Kimura A, *PNAS*, 2011)。一方、細胞質流動に関してもオルガネラ(ER)が流動を発生させるために必要であることを実験的に示し、実験に基づいた数理モデルも構築した (Kimura K et al, *Nat Cell Biol*, 2017)。2つの研究は当初は独立だったが、どちらも「オルガネラが力を媒介してダイナミックな動きを引き出す」というコンセプトを示唆する。「細胞内の大きな動きを駆動するため、高分子よりも大きなオルガネラを動かす」という考え方の妥当性は直感的にも理解しやすい。このコンセプトの妥当性や一般性を示すためには、力学的要素としてオルガネラが細胞内の空間配置を制御する現象を明らかにし、オルガネラの役割を定量的に理解する必要があると着想した。

2. 研究の目的

本研究では、細胞内での中心体配置や細胞質流動に着目し、オルガネラの力学的な役割やそれによる細胞機能の制御機構を明らかにすることを通じて、『真核生物の細胞内小器官(オルガネラ)が細胞内の大規模な空間再配置に必要な力学的要素として働いている』とするコンセプトを確立することを目指した。

3. 研究の方法

中心体配置や細胞質流動を解析するのに良い実験材料であり、報告者らも研究実績のある線虫 *C. elegans* 初期胚を用いた。細胞内オルガネラを共焦点顕微鏡により観察した。この時、撮影条件などを詳細に検討し最適化した。その上で多焦点面で経時観察を行い、オルガネラの細胞内での配置などを3次元的に、時間をおって追跡した。また、配置や動きに関与する細胞骨格や分子モーターについて遺伝子機能阻害実験を行い、動きの変化を定量化した。一方で、これらの動きを記述する数理モデルを構築してコンピュータ・シミュレーションを実行した。細胞内での動きと数理モデルでの動きを比較して、細胞内でのオルガネラの挙動を定量的に理解することを目指した。また、遠心顕微鏡や磁気ピンセットを用いた細胞内の力測定にも取り組んだ。

4. 研究成果

「中心体-オルガネラ綱引きモデル」による細胞分裂面の数の決定機構の解析と数理モデルの提案

動物細胞において細胞が（3つ以上ではなく）2つに分裂するのは、中心体という細胞内小器官が2つあることによって、染色体と細胞質が2つに分配されるからである。細胞に異常が生じ、中心体が3つ以上になると、細胞も3つ以上に分裂することがあり、それにより染色体の分配異常が生じて細胞のがん化などの異常も生じる。しかし、中心体が3つ以上存在しても、細胞は2つに分裂することもある。報告者らは線虫1細胞期胚を実験材料として、遺伝子の異常により中心体が3つになった細胞に着目し、細胞が2つに分裂するときと、3つに分裂するときの違いが生み出されるメカニズムを解析した。この現象に、我々が以前に提唱したオルガネラ（エンドソームやリソソーム）の移動を原動力とする中心体の細胞内配置モデル「中心体-オルガネラ綱引きモデル」が関与していると考えたからである。

まず、3つの中心体をもつ線虫1細胞期胚を観察したところ、細胞が3つに分裂したのは全体の30%であり（図1A右）、残りの70%は2つに分裂した（図1A左）。染色体を分配する装置である紡錘体は、通常は双極構造を持つが、中心体を3つ有する細胞では3つの極をもつ三角形の構造をとる。定量的な解析から、3つの中心体を頂点とする三角形の紡錘体と細胞長軸のなす角度が、分裂パターンと相関することを見出した（図1B）。紡錘体が細胞の長軸方向を認識するメカニズムとして、報告者らが以前に提唱した「中心体-オルガネラ綱引きモデル」が使われていると考えた。実際に、このモデルに基づいて3極紡錘体の回転と伸長現象を定式化し、コンピュータ・シミュレーションを行ったところ、実際の細胞で観察された3極紡錘体の回転と伸長現象を説明できることがわかった。これにより、オルガネラの細胞内分布を活用して中心体が細胞の形状を認識し、配置するというメカニズムが、細胞分裂面の数や配置の決定にも重要であることが示された。本成果はオルガネラが力学的要素として働くことの新たな役割を明らかにしたものである。（Kondo & Kimura A, *Mol Biol Cell*, 2019）

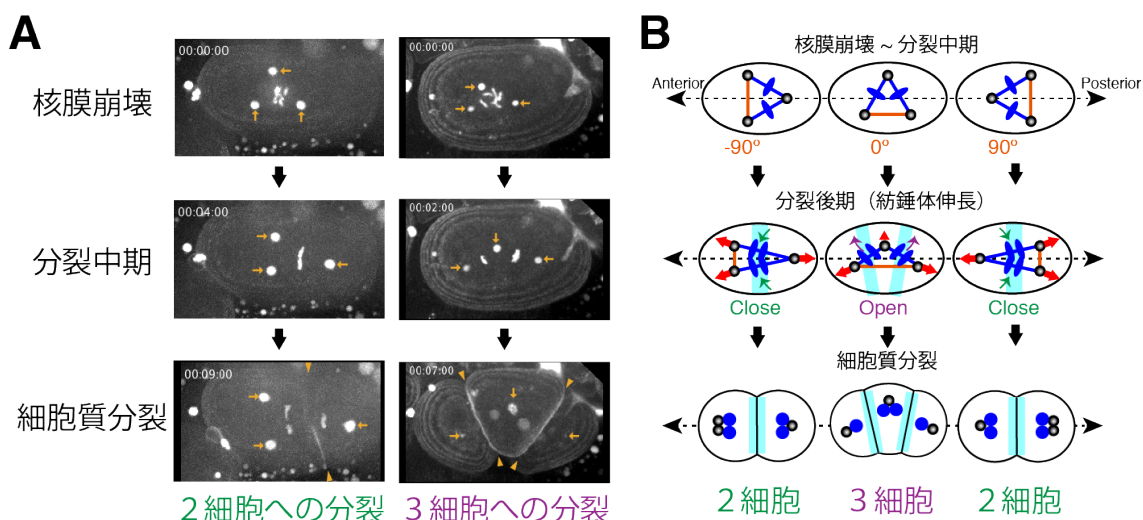


図1：(A) 3つの中心体（矢印）を持った線虫の1細胞期胚。左列の細胞は中心体を2つ有する通常の細胞と同様に2つに分裂する。一方、右列の細胞は3つに分裂した。(B) 3つの中心体を有する細胞の分裂パターンを説明する模式図。3つの中心体が形成する三角形の紡錘体の細胞長軸に対する角度が重要であった。

「中心体-オルガネラ綱引きモデル」による新たな中心体配置機構の理解

さらに、前項のモデルを発展させ、これまで説明できなかった異なる中心体配置のメカニズムについても理解を深めた。細胞核は遺伝情報を有する細胞内の主要なオルガネラであり、細胞内で中心体と会合して存在している。細胞核も中心体を引いているオルガネラの一つであることがわかってきた。しかし、「中心体-オルガネラ綱引きモデル」について、このオルガネラを細胞核として適用し、オルガネラとしての細胞核が中心体配置を制御する機構は明らかではなかった。本研究課題では、細胞全体にわたって中心体の挙動を長時間にわたって細胞毒性が低い条件で共焦点顕微鏡観察する方法を確立した上で、中心体配置における細胞核の役割を「中心体-オルガネラ綱引きモデル」を拡張する形で明らかにした（投稿準備中）。

ER(小胞体)による細胞質流動が核(SPCC)の移動を引き起こし細胞極性を変化させることの発見
 以前の研究で、細胞内に網目状に広がるオルガネラである ER(小胞体)が線虫の減数分裂期における細胞質流動(Meiotic cytoplasmic streaming; MeiCS)を引き起こすことを明らかにしていた。一方で、この流動が細胞機能で果たす役割についてはよくわかっていなかった。本研究課題では、この細胞質流動が線虫において体軸の一つである前後軸を規定する細胞極性の成立に関与することを疑って研究を行なった。その根拠として、この細胞質流動が細胞極性が成立する直前に生じることから、細胞極性を規定する精子が持ち込む核と中心体の複合体(SPCC)の細胞内配置が細胞質流動によって流されるのではないかと考えたからであった。

SPCC の位置に依存して前後軸ができるのは受精から約 30 分後である。受精から 30 分の間どのように SPCC が配置しているかは不明であった。本研究課題において詳細な生細胞の共焦点顕微鏡観察を行ったところ、減数分裂期の細胞質流動が SPCC の位置を変えることが明らかになった。多くの場合、SPCC は精子が入った側(proximal 側)にとどまり、そこを後極側とする (図 2 A 上: PP-type, proximal 側が後極側(posterior)になる)。一方で頻度が低いが、SPCC は時おり精子が入った側(proximal 側)から逆サイド(distal 側)まで流された (図 2 A 下)。SPCC の動きは周囲の細胞質の流れに沿っていた (図 2 B)。精子が入ったのと逆サイド(distal 側)まで流された場合、そちら側が後極側(posterior)となった (図 2 A, C: DP-type)。このような動きは細胞質流動が確率的にふるまうことによるが、この確率的な挙動は報告者らが以前から提唱していた、ER と微小管、分子モーターによる細胞質流動の発生モデルとよく合う。本研究成果は、線虫の発生が型通りに進む前に、細胞内の流れの確率的な特性が体軸決定に重要な SPCC 位置を決めることを初めて示した (図 2 D) ものであり、オルガネラを力学的要素とする細胞内の空間配置現象の新たな役割である。(Kimura K & Kimura A, *Mol Biol Cell*, 2020)

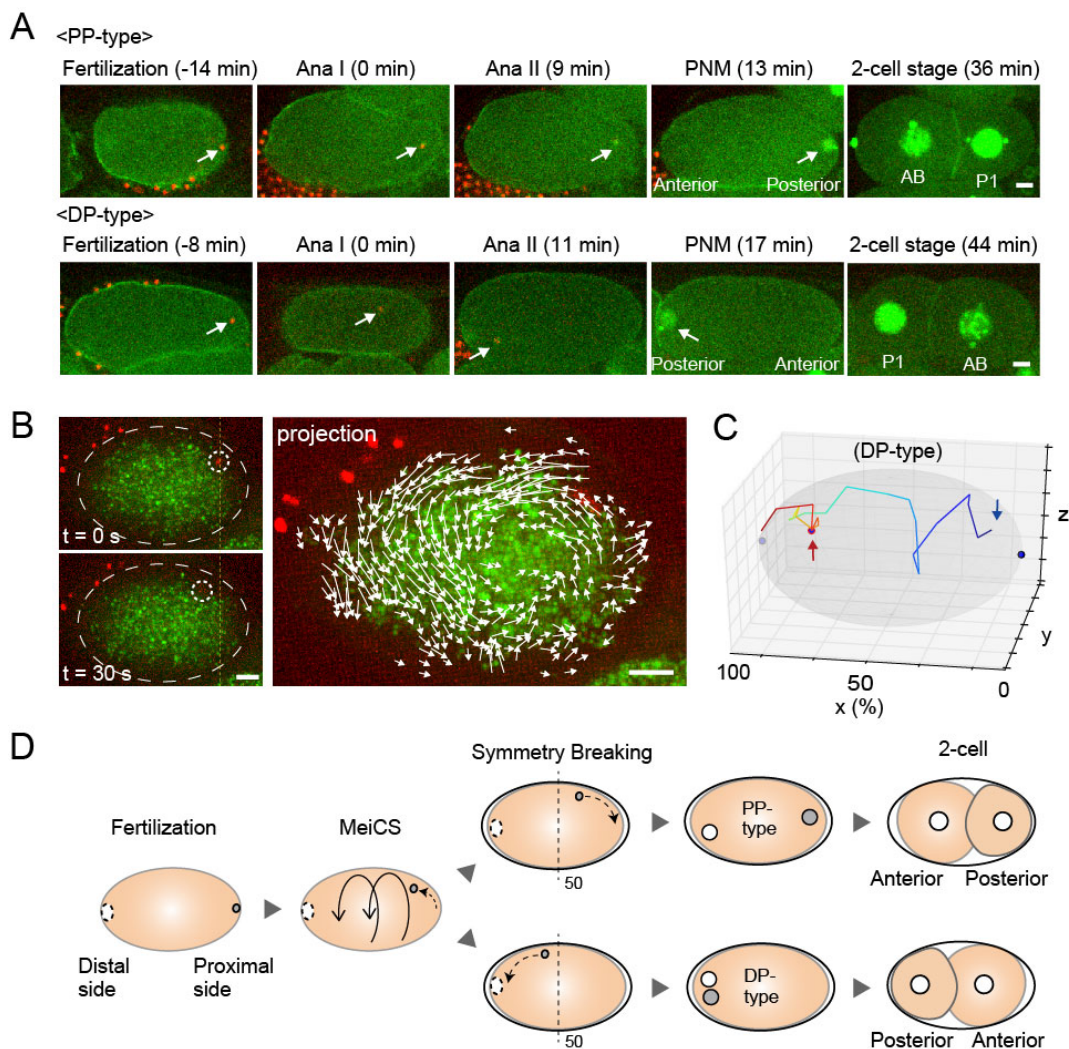


図 2 : (A) 受精直後(Fertilization)から、減数第一分裂後期 (Ana I)、減数第二分裂後期 (Ana II)、雌雄前核会合(PNM)を経て第一分裂(2-cell stage)までの線虫受精卵。白矢印で精子由来の核と中心体の複合体(SPCC)の位置を示した。上段 PP-type、下段 DP-type (B) SPCC の移動 (白丸) と細胞質の流れ (白矢印) は一致した。(C) DP-type における SPCC 軌跡例 (D) 細胞質流動(MeiCS)は SPCC を押し流して前(anterior)後(posterior)軸の決定に影響する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Torisawa Takayuki, Kimura Akatsuki	4. 巻 8
2. 論文標題 The Generation of Dynein Networks by Multi-Layered Regulation and Their Implication in Cell Division	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 22
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fcell.2020.00022	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kimura Kenji, Kimura Akatsuki	4. 巻 31
2. 論文標題 Cytoplasmic streaming drifts the polarity cue and enables posteriorization of the <i>Caenorhabditis elegans</i> zygote at the side opposite of sperm entry	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Biology of the Cell	6. 最初と最後の頁 1765 ~ 1773
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1091/mbc.E20-01-0058	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kondo Tomo, Kimura Akatsuki	4. 巻 30
2. 論文標題 Choice between 1- and 2-furrow cytokinesis in <i>Caenorhabditis elegans</i> embryos with tripolar spindles	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular Biology of the Cell	6. 最初と最後の頁 2065 ~ 2075
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1091/mbc.E19-01-0075	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 CAMPOS MEDINA Manuel Alejandro, IEMURA Kenji, KIMURA Akatsuki, TANAKA Kozo	4. 巻 42
2. 論文標題 A mathematical model of kinetochore-microtubule attachment regulated by Aurora A activity gradient describes chromosome oscillation and correction of erroneous attachments	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomedical Research	6. 最初と最後の頁 203 ~ 219
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2220/biomedres.42.203	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Torisawa Takayuki、Kimura Akatsuki	4. 巻 -
2. 論文標題 Sequential accumulation of dynein and its regulatory proteins at the spindle region in the <i>Caenorhabditis elegans</i> embryo	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 09.14.460385
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/2021.09.14.460385	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 KIMURA Kenji、KIMURA Akatsuki	4. 巻 61
2. 論文標題 Butterfly Effect on Cell Polarization in <i>C. elegans</i> Zygotes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Seibutsu Butsuri	6. 最初と最後の頁 248 ~ 250
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophys.61.248	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 木村暁
2. 発表標題 線虫胚で "人工細胞核を造る" に向けた我々の取り組み
3. 学会等名 第2回人工細胞核を創る会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kimura A
2. 発表標題 Architectonics of the cell, as a crossroad of physics and genetics
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木村暁
2. 発表標題 基礎生物学における新発見にデータ同化はどうか?
3. 学会等名 科学基礎論学会2019年度秋の研究例会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木村暁
2. 発表標題 遠心偏光顕微鏡 CPM を用いた細胞内の力の定量化
3. 学会等名 定量生物学の会北海道キャラバン2019(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kimura A
2. 発表標題 Measurement of physical forces that position the nucleus at the cell center in <i>C. elegans</i> .
3. 学会等名 Chromosome Dynamics 2019: An international symposium on chromatin and chromosome stability. (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木村暁
2. 発表標題 細胞の構造計算と力学測定: 線虫 <i>C. elegans</i> 胚における細胞核配置
3. 学会等名 「細胞を創る」研究会12.0
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木村暁
2. 発表標題 「力」に着目して分子の集団が細胞内の核配置を制御する仕組みを紐解く
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木村暁
2. 発表標題 Physical forces behind the spatial organizations of the cell
3. 学会等名 線虫研究の未来を創る会2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kimura A
2. 発表標題 Microtubule-dependent positioning of the nucleus in the <i>C. elegans</i> embryo
3. 学会等名 EMBO/EMBL Symposia: Microtubules: From Atoms to Complex Systems (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 木村暁
2. 発表標題 遠心顕微鏡で細胞核を動かし、力を定量する
3. 学会等名 定量生物学の会第9回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木村暁
2. 発表標題 二光子スピニングディスク顕微鏡を用いた線虫胚発生の低退色・低毒性イメージングの可能性
3. 学会等名 多次元生細胞イメージング研究会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kimura A
2. 発表標題 Measurement of cellular forces bringing the nucleus to the cell center using the Centrifuge Polarization Microscope (CPM)
3. 学会等名 The 58th Annual Meeting of the Biophysical Society Japan
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kimura A
2. 発表標題 Mechanics and self-organization of cytoplasmic steaming
3. 学会等名 RIMS Workshop on Mathematical Mechanobiology（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 木村暁	4. 発行年 2019年
2. 出版社 工学社	5. 総ページ数 127
3. 書名 細胞建築学入門	

1. 著者名 Akatsuki Kimura	4. 発行年 2022年
2. 出版社 Springer Nature Singapore	5. 総ページ数 144
3. 書名 Quantitative Biology-A Practical Introduction	

〔産業財産権〕

〔その他〕

国立遺伝学研究所細胞建築研究室 http://cellarchlab.galaxy.birccloud.jp/home_jp.html 2つに分裂するか、3つに分裂するか、それが問題だ https://www.nig.ac.jp/nig/ja/2019/04/research-highlights_ja/rh20190304.html 細胞内の流れが卵の極性決定因子を押し流す https://www.nig.ac.jp/nig/ja/2020/07/research-highlights_ja/rh20200528.html
--

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------