

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月 3日現在

機関番号： 63801

研究種目： 新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間： 2008～2012

課題番号： 20114008

研究課題名（和文） シミュレーションによる生命情報の場の再現

研究課題名（英文） *in silico* reproduction of physicochemical field of genetic activities

研究代表者

木村 暁 (KIMURA AKATSUKI)

国立遺伝学研究所・構造遺伝学研究センター・准教授

研究者番号： 10365447

研究成果の概要（和文）：本計画研究課題では、線虫 *C. elegans* の初期胚をモデルとして、遺伝情報を担う染色体を取り巻く環境について空間的視点から定量化し、定量的特徴を再現するシミュレーションモデルの構築を通じて、遺伝情報場の理論を提唱することを目的とした。特に、「場」を規定するパラメータとして細胞や核のサイズに着目し、これらの変化が染色体や紡錘体構造への遺伝情報の収納にどのように影響するかを定量化し、その影響を再現する空間モデルの構築を行った。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this project was to propose theoretical frameworks of how nuclear environment (“genofield”) affects genetic activities. Using *Caenorhabditis elegans* as a model organism, I quantified spatial parameters on genofield, and constructed simulation models that reproduce the quantified features of genofield. I focused on the sizes of cells and nucleus as the spatial parameters, and quantified how the changes in these parameters affect storage of genetic information into chromosomes and mitotic spindles. Based on the quantification, I reproduced these quantitative relationships of genofield *in silico*.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|------------|------------|-------------|
| 2008年度 | 29,100,000 | 8,730,000 | 37,830,000 |
| 2009年度 | 16,000,000 | 4,800,000 | 20,800,000 |
| 2010年度 | 18,000,000 | 5,400,000 | 23,400,000 |
| 2011年度 | 16,000,000 | 4,800,000 | 20,800,000 |
| 2012年度 | 16,000,000 | 4,800,000 | 20,800,000 |
| 総計 | 95,100,000 | 28,530,000 | 123,630,000 |

研究分野： 生物学

科研費の分科・細目： 生物科学・分子生物学

キーワード： 遺伝情報場、コンピュータシミュレーション、細胞核、染色体、線虫

1. 研究開始当初の背景

遺伝情報を担うゲノム DNA は染色体という形で細胞内に収納されている。染色体は

DNA だけでなく、多くの機能性高分子（蛋白質など）からなり、それら的高分子によって染色体の機能が制御されている。一方で、

「染色体上でどのような高分子が機能しているか？」だけではなく、「染色体が細胞内でどのような環境におかれているか？」ということも染色体の機能に影響を与えることが予想されるが、そのような観点での研究はこれまで皆無に近かった。例えば、細胞核の大きさが100倍小さくなれば、細胞核内の染色体の密度は100倍上昇し、細胞核内の反応に大きな影響を及ぼすと予想されるが、細胞核の大きさが染色体の状態にどのような影響を及ぼすかはわかっていなかった。

2. 研究の目的

本研究では、染色体がおかれている環境として、特に細胞や核のサイズに着目し、これらのサイズが変わったときに染色体の状態がどのように変化するかを観測し、その変化を再現する数理モデルを構築することにより、染色体がおかれている環境が染色体に及ぼす影響の理解をめざした。

3. 研究の方法

本研究では、多細胞動物である線虫 (*Caenorhabditis elegans*) をモデル生物として用いた。線虫胚の卵割過程では様々な大きさの細胞・核が生じる。これらの細胞において染色体の状態を定量化し、細胞や核の大きさが染色体に与える影響を評価する。さらに、分子レベルでの知見を組み合わせることで細胞や核の大きさが染色体に影響をあたえる様子を再現するコンピュータシミュレーションモデルを構築する。

4. 研究成果

(1) 染色体分配のシミュレーションによる再現

本研究では細胞分裂に伴う染色体の分配過程について細胞のサイズが影響することを見だし、細胞サイズの変化の効果を定量的に再現するシミュレーションモデルを構築した。まず、我々は線虫 *C. elegans* 初期胚卵割過程において生じる様々なサイズの細胞を調べることによって、染色体の分配を担う紡錘体の伸長距離および速度が細胞のサイズに依存することを見いだした。この紡錘体の伸長について、従来知られていた三量体型 G 蛋白に依存する制御機構以外に、G 蛋白に依存しない機構が存在することを見いだした。これらの結果をふまえ、考えられる紡錘体伸長のモデルをコンピュータ・シミュレーションによって検討し、生体内での定量結果を再現するシミュレーションモデルの構築に成功した。このモデルは紡錘体伸長の細

胞サイズ依存性を説明づける初めての理論モデルである。[Curr Biol 2009] (図1)

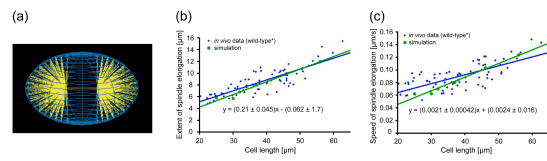


図1. 紡錘体の伸長距離と速度を再現するシミュレーション。(a) シミュレーションの様子。(b, c) シミュレーション結果(緑)と実測データ(青)の比較。(b) 伸長距離を細胞サイズに対してプロット、(c) 伸長速度を細胞サイズに対してプロット。

(2) 遺伝情報収納を担う染色体の凝縮の定量化と力学モデリング (領域内共同研究)

前項(1)の研究の過程で、紡錘体において染色体の集合からなる中期プレート (metaphase plate) の大きさも細胞サイズと相関があることを見いだした。このことは分裂期の染色体の構造または配置も細胞サイズに伴って変化することを示唆した。さらに解析を進めた結果、分裂期の染色体の①配置 (中期プレート内での染色体間の距離) と②構造 (凝縮の程度) の両方ともに、異なる大きさの細胞内で変化していることを見いだした。

①分裂期染色体の中期プレート内での配置については、細胞サイズに直接的に制御される訳ではなく、紡錘体の長さ(両極間の距離)に依存することを遺伝子機能欠損体を用いた解析から明らかにした。すなわち、紡錘体が長ければ分裂期染色体間の距離は長い。また、半数体や倍数体を使った実験から染色体の本数を増やすと中期プレートが広がることから、染色体間には何らかの反発力が働いていることが示唆された。そこで染色体間の反発力と、紡錘体微小管によって染色体同士を近づけようとする力のバランスで中期プレートの大きさが決まるとする数理モデルを仮定した。この仮定したモデルは中期プレートの大きさをうまく説明できた。[Mol Biol Cell 2013] (図2)

一方、②分裂期染色体の凝縮度についても、細胞サイズと相関はあるものの、細胞サイズに直接制御される訳ではなく、間期核のサイズと染色体の量(核相)に依存することが示唆された。このことから、間期の核内における染色体の濃度(混雑度)が染色体の凝縮度に影響を与えるとする新しい仮説を提案した。この線虫での観察結果の普遍性を検証するため、岩渕万里博士との領域内共同研究によりアフリカツメガエル卵抽出液を用いて実験を行った。サイズの異なる核を再構成させた後に、分裂期を誘導し染色体の凝縮度を測定

したところ、線虫での結果と同様に小さい核では染色体がより凝縮していることが示された。以上の結果は、間期核内で染色体がおかれた「場」の混雑度によって、間期染色体の構造に違いが生じ、この間期における違いが分裂期の染色体の凝縮度に違いを生じさせることを示唆した。[*Mol Biol Cell*, in press]

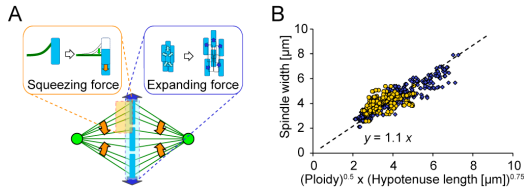


図 2. 中期プレートのサイズを説明する物理モデル。(A) モデルでの仮定：中期プレートは染色体が反発しようとする力と、紡錘体の微小管が染色体を束ねようとする力のバランスで決している。(B) モデルの結果と実測値の比較。核相 (ploidy) を微小管の長さ (hypotenuse length) 荷対して中期プレートのサイズ (spindle width) をプロットすると実験データがモデルで予想される点線付近に存在した。

(3) 染色体動態の定量化とシミュレーションによる再現 (領域内共同研究)

前項(2)で分裂期の染色体の観察から、間期核内の染色体の構造が核のサイズや混雑度、あるいは線虫の初期胚発生過程に伴って変化することが示唆された。そこで、実際に間期染色体の構造変化を解析した。間期での染色体の構造を検出するために、染色体上の遺伝子座の動きに注目することとした。染色体上のある領域を蛍光蛋白質を利用して可視化し、その軌跡を追跡することにより、異なる発生ステージ・異なる大きさの核内での染色体構造の違いを検討した。その結果、線虫の初期胚発生に伴い、間期染色体の動きは低下することを見いだした。発生に伴い核のサイズは減少するので、この動きの低下は核のサイズの減少とも相関がある。染色体をポリマーと見立てたコンピュータ・シミュレーションを構築し、核のサイズの低下が染色体の動態に与える影響を検討した。その結果、核のサイズの低下に伴い染色体の動態が制限される様子を再現することができた。今後、核のサイズと染色体の動態の間に依存関係があるかについて実験的な検討を加えるとともに、シミュレーションで設定したパラメータなどが妥当かどうかについても検討を加え、間期核サイズという場が染色体の動態に影響をあたえる様子を再現するシミュレーションの完成を目指す。[Sugawara, Arai et al., unpublished]

また、初期胚発生過程で観察された染色体

動態の変化が、ヘテロクロマチン形成やヒストンの修飾とどのような関係にあるのかについても検討を加えた。木村宏博士との領域内共同研究により種々のヒストン修飾の初期胚発生過程での変化を追跡したところ、ヒストンのあるメチル化やヘテロクロマチン形成と染色体動態との間に相関を見いだした。核サイズという「場」の変化が、ヒストン修飾やヘテロクロマチン形成といった染色体の機能ドメインの形成にも影響している可能性が示唆された。[Arai, Kimura H et al., in preparation]

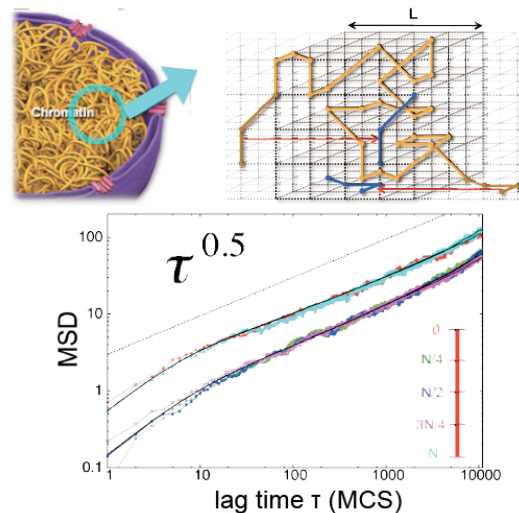


図 3. 間期核内での染色体構造を再現するシミュレーションモデル。染色体を格子状のポリマーに見立て動態を計算。平均二乗変位 (MSD) を時間間隔 (lag time) に対してプロットすると、時間間隔の 0.5 乗に比例する。これは、実際の染色体でも観察され、また、核サイズの変化による見かけ状の拡散係数の変化もシミュレーションで再現できる。

(4) 中央化のシミュレーションによる予想の実験的解析

本研究課題では、前項(1)-(3)のように染色体がおかれている「場」の変化に伴い染色体や紡錘体の構造がどのように変化するかを定量化し、その変化を再現する数理モデルやシミュレーションを構築することを主眼にしている。一方で、構築したシミュレーションから予想される分子基盤を明らかにすることも、シミュレーションを用いた研究では重要である。そこで、細胞核が細胞の中央に配置する様子を再現したシミュレーション (Kimura & Onami, *Dev Cell* 2005; *JCB* 2007) で予想された力の分子基盤を解析した。

細胞の中央に細胞核を配置することは、細胞分裂を経て染色体と細胞質を娘細胞に均等に配分するのに重要である。以前の研究で細胞骨格である微小管の長さに依存した力

を細胞核に作用させるシミュレーションで、中央化をよく再現できることを示していた。しかし、どのように微小管の長さに依存した力を発生し得るか、その分子的な基盤は不明であった。線虫胚において中央化に必要な遺伝子を探し、細胞内のオルガネラ輸送に選択的に必要とされるダイニンモーターのサブユニットを同定した。一方で、オルガネラ輸送を阻害したところ、核の中央への移動に欠損が生じることも明らかにした。これらの結果から、微小管の長さに依存した数のオルガネラが微小管上を滑り、このオルガネラ輸送の反作用として微小管を引っ張る力が生じるとする「中心体-オルガネラ綱引きモデル」を提唱した。[PNAS 2011 (Kimura K & Kimura A)]

(5) シミュレーション技術の開発

さらに、シミュレーション技術自体についても、今後の核内環境の理解につながる新しい方法の開発を行った。細胞内シミュレーションにおける大きな課題は、パラメータを知ることであるが、細胞の定量結果からパラメータを推定する方法を開発している [PNAS 2011 (Niwayama et al.); PLoS ONE 2012]。

(6) 染色体を取り巻く新たな場の変化の発見

研究課題遂行中に予想外の発見もあった。線虫初期胚において、紡錘体の形成に先立ち、紡錘体が形成される細胞内の「場」に紡錘体構築の材料となるチューブリン蛋白質やモーター蛋白質が蓄積することを見いだした。この蓄積は、核膜崩壊後におこるため、核膜を介した輸送によって行われているわけではなく、未知の機構により達成されていると考えられる。但し、線虫の初期胚では、核膜は完全には崩壊しないことも知られているため、この現象は線虫胚や同様の核膜崩壊を示す細胞種に特有の現象かもしれない。この材料の蓄積の意義についても明確な証拠はないが、紡錘体などの構造体を形成する際に材料を周辺に蓄積することは、構造体の形成を促進する働きを有することが想像できる。紡錘体形成の場に材料を集積させることによって、紡錘体の形成や染色体の分配を促進するという新たな場の存在と役割をこの研究は示唆した。[Mol Biol Cell 2012]

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者は下線)

[雑誌論文] (計 21 件)

1. Hara Y., Iwabuchi M., Ohsumi K. and *Kimura A. Intranuclear DNA Density Affects Chromosome Condensation in

- Metazoans. Mol. Biol. Cell, in press. DOI: 10.1091/mbc.E13-01-0043 査読有
2. Hara Y. and *Kimura A. An allometric relationship between mitotic spindle width, spindle length, and ploidy in *Caenorhabditis elegans* embryos. Mol. Biol. Cell 24, 1411-1419 (2013). DOI: 10.1091/mbc.E12-07-0528 査読有
3. 木村健二, *木村暁 「細胞分裂の力学的理解」細胞工学 32, 280-284 (2013). 査読無
4. Kimura K. and *Kimura A. Rab6 is required for the exocytosis of cortical granules and the recruitment of separase to the granules during the oocyte-to-embryo transition in *Caenorhabditis elegans*. J. Cell Sci. 125, 5897-5905 (2012). DOI: 10.1242/jcs.116400 査読有
5. *Marshall M.F., Young K.D., Swaffer M., Wood E., Nurse P., Kimura A., Frankel J., Wallingford J., Walbot V., Qu X. and Roeder A.H.K. What determines cell size? BMC Biology 10, 101 (2012). DOI: 10.1186/1741-7007-10-101 査読無
6. Okubo Y., Sugawara T., Abe-Koduka N., Kanno J., *Kimura A. and *Saga Y. Lfng regulates the synchronized oscillation of the mouse segmentation clock via trans-repression of Notch signaling. Nat. Comm. 3, 1141 (2012). DOI: 10.1038/ncomms2133 査読有
7. Hayashi H., Kimura K. and *Kimura A. Localized accumulation of tubulin during semi-open mitosis in the *Caenorhabditis elegans* embryo. Mol. Biol. Cell 23, 1688-1699 (2012). DOI: 10.1091/mbc.E11-09-0815 査読有
8. Koyama H., Umeda T., Nakamura K., Higuchi T. and *Kimura A. A high-resolution shape fitting and simulation demonstrated equatorial cell surface softening during cytokinesis and its promotive role in cytokinesis. PLoS ONE 7, e31607 (2012). DOI: 10.1371/journal.pone.0031607 査読有
9. Niwayama R., Shinohara K. and *Kimura A. The hydrodynamic property of the cytoplasm is sufficient to mediate cytoplasmic streaming in the *Caenorhabditis elegans* embryo. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 108, 11900-11905 (2011). DOI: 10.1073/pnas.1101853108 査読有
10. Kimura K. and *Kimura A. Intracellular organelles mediate cytoplasmic pulling force for centrosome centration in the *Caenorhabditis elegans* early embryo. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 108, 137-142 (2011).

- DOI: 10.1073/pnas.1013275108 査読有
11. 木村暁「細胞サイズの定量生物学」生化学 82, 302-305 (2010). 査読無
 12. *Goshima G. and *Kimura A. New look inside the spindle: microtubule-dependent microtubule generation within the spindle. *Curr. Opin. Cell Biol.* 22, 44-49 (2009). DOI: 10.1016/j.ceb.2009.11.012 査読無
 13. Hara Y. and *Kimura A. Cell-size-dependent spindle elongation in the *Caenorhabditis elegans* early embryo. *Curr. Biol.* 19, 1549-1554 (2009). DOI: 10.1016/j.cub.2009.07.050 査読有
 14. 木村暁「細胞核の大きさと場所はどのように決まるのか」実験医学 (増刊) 27, 2779-2786 (2009). 査読無

[学会発表] (計 35 件)

1. Kimura A. Quantification of Size Scaling Relationship of the Mitotic Spindle in the *Caenorhabditis elegans* Embryo. The 10th NIBB-EMBL Symposium 2013 -Quantitative Bioimaging, Okazaki Conference Center, Okazaki, Japan. 2013.3.17.
2. Kimura A. Allometric Scaling in the Mitotic Spindle. 2012 ASCB Annual Meeting. Special Interest Subgroup E. Building the Cell, The Moscone Center, San Francisco, USA. 2012.12.15.
3. Kimura A. A cellular funicular: one active force generation drives two directional organelle movements. The 50th Annual Meeting of the BSJ. Nagoya University, Nagoya, Japan. 2012.9.22.
4. Constructing Cell Model, to Study the Kimura A. Spatial Organization of the Cell. The 49th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan. University of Hyogo, Himeji, Japan 2011.9.16.
5. Kimura A. An equation to calculate mitotic spindle width as a function of spindle length: a study in *Caenorhabditis elegans* embryos. RIKEN CDB-QBiC Joint Symposium, RIKEN Center for Developmental Biology (CDB), Kobe, Japan, 2011. 7.1.
6. Kimura A. Size-dependency/independency in the spatial organization of the cell: nuclear positioning and chromosome dynamics in *C. elegans* embryos. International Symposium Physicochemical Field for Genetic Activities. Awaji Yumebutai International Conference Center, Awaji, Japan, 2011.1.24-26.
7. Kimura A. 「線虫 *C. elegans* 初期胚における紡錘体伸長と細胞質分裂のモデル構

- 築」日本動物学会第 8 1 回大会. 東京大学駒場キャンパス, 東京, 2010.9.24.
8. Kimura A. Quantitative Measurement and Modeling reveal Cell Size dependent Mechanisms to Elongate Mitotic Spindles in the *C. elegans* embryo. 2nd Joint Meeting of the French and Japanese Societies for Developmental Biology. Institut Pasteur, Paris, France. 2010.5.26.
 9. Kimura A. Force balance models of centrosome centering and spindle elongation in *C. elegans* embryos. The 101st Boehringer Ingelheim Fonds International Titisee Conferences. Schwarzwaldhotel Titisee, Germany. 2010.3.19.
 10. Kimura A. Construction of cell architecture models focusing on centrosome positioning in *C. elegans*. Japanese Molecular Biology Pre-meeting Symposium 2009. Yokohama, Japan 2009. 12.8.
 11. Kimura A. 「線虫初期胚における中心体配置のオルガネラ綱引きモデル」日本遺伝学会第 8 1 回大会, 信州大学 (松本) 2009.9.18.
 12. Kimura A. 「細胞建築の力学的理解をめざして～線虫 *C. elegans* 初期胚を用いた紡錘体伸長の解析～」第 1 回日本数理生物学会年会、東京大学 (東京) 2009.9.9.

[図書] (計 1 件)

1. Hara Y. and *Kimura A. Cell-size-dependent control of organelle sizes during development. In "Cell Cycle in Development" (Kubiak JZ Ed.) Springer Series: Results and Problems in Cell Differentiation 53, 93-108 (2011).

[その他]

1. プレスリリース 2011 年 7 月 5 日 (科学新聞に掲載)
2. プレスリリース 2011 年 1 月 4 日 (科学新聞、山形新聞に掲載)
3. プレスリリース 2009 年 8 月 14 日 (科学新聞、静岡新聞に掲載)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木村 暁 (KIMURA AKATSUKI)

国立遺伝学研究所・構造遺伝学研究センター・准教授

研究者番号： 1 0 3 6 5 4 4 7