

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：63801

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04372

研究課題名(和文)細胞核が細胞中央へ配置する機構の研究

研究課題名(英文)The mechanism for the positioning of cell nucleus at the cell center

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・教授

研究者番号：10365447

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,800,000円

研究成果の概要(和文)：細胞核はほとんどの細胞で細胞中央に配置する。しかしながら核が中央に配置する機構は未だに議論が別れている。本研究課題で、報告者は細胞骨格である微小管が細胞質全体において引っ張られることにより細胞核が細胞中央に移動する「細胞質引きモデル」を支持する知見を得ることに成功した。メカニズムの理解をさらに進めるために、生きたままの細胞内で細胞核を移動させるのに必要な力を測定することにも成功している。これらの知見により細胞核が細胞中央へ配置する機構の理解は大きく進展した。

研究成果の概要(英文)：In many cell types, the cell nucleus is positioned at the center of the cell. The mechanism to position the nucleus at the cell center is still under debate. In this research project, we obtained results to support 'cytoplasmic pulling model', in which the nucleus moves toward the cell center by the pulling force produced throughout the cytoplasm. Moreover, we have succeeded to measure the forces required to move the nucleus in a living cell. These achievements advanced the mechanism for the positioning of cell nucleus at the cell center.

研究分野：細胞生物学

キーワード：細胞核 線虫 微小管 力

1. 研究開始当初の背景

(1) 細胞核が細胞の中央に配置することは、顕微鏡の発明に伴い細胞が観察された当初から研究者に認識されてきた(例えば[文献①])。『目の見えない細胞核がどうやって細胞の中央へ移動し、とどまることができるのか?』は多くの細胞生物学者の興味を刺激してきた。また、細胞核の配置は細胞分裂時に染色体をわけると紡錘体や、細胞質をわけると分裂溝の位置決定のもとになることから、細胞核が中央に配置できなければ、細胞は均等に分裂することができないという点で、細胞核の中央配置は重大な生物学的意義を有する。

(2) 細胞核の中央化の研究は動物(ウニや線虫)の胚を主な材料として進められてきた。動物の受精直後に精子由来の核が大きな卵細胞の中央に移動する様子が明確に観察できるからである。これまでに細胞骨格の一種である微小管が中央化の原動力を担っていることが線虫等を用いた実験でわかっている[文献②]。微小管が細胞表層に到達した時期に細胞核の移動が開始するウニ胚の様子から、微小管が細胞表層を押し出すことによって細胞核を移動させているとする「押しモデル」が当初提唱された[文献③]。これに対して、1986年に平本幸男博士らは微小管の阻害剤を細胞の局所的に作用させるウニ胚を用いたエレガントな実験で、細胞表層への微小管の到達が中央化に必要なことを示し「細胞質引きモデル」を提唱した[文献④]。

(3) 報告者らはこれまでに、数理モデルと実験測定の比較から「細胞質引きモデル」で細胞核の中央への移動ダイナミクスを再現するのに十分であることを線虫胚で示した[文献⑤]。さらに、「細胞質引きモデル」の力学的実体として、細胞質中の小胞輸送の反作用で微小管が引っ張られるとする「中心体-小胞綱引きメカニズム」を、線虫胚を用いた実験から提案していた[文献⑥]。

(4) しかし、未だに「押しモデル」を支持する研究者も多い(例えば[文献⑦])。その理由として、(A) 近年の実験で「細胞質引きモデル」を支持する知見のほとんどが線虫の研究によってもたらされていて、複数種に共通する普遍的なメカニズムかどうかについて疑念が持たれていたこと、(B) 「細胞質引きモデル」の力学的基盤として報告者らが提唱している「中心体-小胞綱引きメカニズム」に関連して、中心体(と細胞核)が細胞内で動くために必要な力の量がわからなかったことがある。

2. 研究の目的

本研究では以下の2つの目的(A),(B)をたて

た。

- (A) 線虫以外の種において細胞質引きモデルを支持する知見を得ること。
- (B) 中心体(と細胞核)が細胞内で動くために必要な力の量を測定し、「中心体-小胞綱引きメカニズム」の妥当性を検討すること。

3. 研究の方法

目的(A)に対して：

ウニ胚を用いて細胞質引きモデルの妥当性を検証する。Minc博士が確立した、微細加工技術を用いて作成したマイクロチャンバーにウニ胚を入れて変形させる実験系[文献⑧]を用いる。変形胚において細胞質引きモデルのシミュレーションで予想される挙動を示すかどうかを検討し、細胞質引きモデルの予言能力をテストする。

目的(B)に対して

中心体と細胞核を細胞内で動かすのに必要な力を計測する方法を探索する。候補となる方法で力を測定し、「中心体-小胞綱引きメカニズム」の妥当性を検討する。

4. 研究成果

【目的(A)に対して】

細胞質引きモデルに基づいたシミュレーションでは、細胞が四角柱の形状の時に、(通常胚では存在しない)「角」の近傍から中心体が移動を開始した場合、角に対して45度方向に移動を開始することを見出した。これは、四角柱の底面の形状が長方形の場合に、必ずしも長方形の中心に直線的に移動するのではない(長方形の場合、角から45度方向が中心方向ではない)ことを意味している。この場合のシミュレーションでは、異動開始時は角に対して45度方向に移動を開始し、途中で方向転換をして中心体方向へ向かう様子が、シミュレーションにより予想された。

そこで、底面が長方形の四角柱形状に加工したマイクロチャンバーにウニ胚を入れた実験を行った。その結果、細胞質引きモデルに基づいたシミュレーションの予言通りの結果となった。すなわち、長方形の角付近から出発した中心体は、異動開始時は角に対して45度方向に移動を開始し、途中で中心方向へ方向転換をして長方形の中心まで到達した。この結果は、細胞質引きモデルに基づいたシミュレーションに予言能力があることを示していて、細胞質引きモデルを支持する新たな根拠である。

上記の結果は[発表論文 8]の一部として国際誌に発表した。この論文では、他にもMinc研究室のMincリーダー、谷本研究員との共

同研究でウニ胚で細胞質引きモデルを支持する複数の根拠を得ることに成功したことを発表している。これにより線虫以外の種において細胞質引きモデルを支持する知見を得ることに成功し、この分野の進展に貢献した。

【目的(B)に対して】

中心体と細胞核を細胞内で動かすのに必要な力を計測する方法として、遠心偏光顕微鏡(CPM, 文献⑨)に着目した。これは、サンプルに遠心力を加えた状態で高倍率(40倍)の対物レンズで撮影できる方法である。連携研究者であり CPM の開発者の一人である合田真博士の協力を得て、CPM で様々な遠心力存在下での線虫胚の細胞核の移動を計測し、そこから細胞内で核を動かす力の測定方法を確立した[学会発表 1-3]。この結果については現在、論文執筆中である。

<引用文献>

- ① Wilson EB. (1925). The cell in development and heredity (New York: The Macmillan Company).
 - ② Albertson DG. (1984). Formation of the first cleavage spindle in nematode embryos. *Dev Biol* 101, 61–72.
 - ③ Chambers EL. (1939). The movement of the egg nucleus in relation to the sperm aster in the echinoderm egg. *J Exp Biol* 16, 409–424.
 - ④ Hamaguchi MS, Hiramoto Y. (1986). Analysis of the role of astral rays in pronuclear migration in sand dollar eggs by the colcemid - UV method. *Dev Growth Differ* 28, 143–156.
 - ⑤ Kimura A, Onami S. (2005). Computer simulations and image processing reveal length-dependent pulling force as the primary mechanism for *C. elegans* male pronuclear migration. *Dev Cell* 8, 765–775.
 - ⑥ Kimura K, Kimura A. (2011). Intracellular organelles mediate cytoplasmic pulling force for centrosome centration in the *Caenorhabditis elegans* early embryo. *Proc Natl Acad Sci USA* 108, 137–142.
 - ⑦ Laan L, Pavin N, Husson J, Romet-Lemonne G, van Duijn M, López, MP, Vale RD, Jülicher F, Reck-Peterson SL, Dogterom M. (2012). Cortical Dynein Controls Microtubule Dynamics to Generate Pulling Forces that Position Microtubule Asters. *Cell* 148, 502–514.
 - ⑧ Minc N, Burgess D, Chang F. (2011). Influence of cell geometry on division-plane positioning. *Cell* 144, 414–426.
 - ⑨ Inoué S, Knudson RA, Goda M, Suzuki K, Nagano C, Okada N, Takahashi H, Ichie K, Iida M, Yamanaka M. (2001). Centrifuge polarizing microscope. I. Rationale, design and instrument performance. *J Microscopy* 201, 341–356.
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には下線)
- [雑誌論文] (計 8 件)
1. 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)
 2. 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*. *Sci Rep* 7, 3631 (2017). DOI:10.1038/s41598-017-03483-5 (査読有)
 3. Sugawara T, *Kimura A. Physical properties of the chromosomes and implications for development. *Dev Growth Differ* 59, 405-414 (2017). DOI:10.1111/dgd.12363 (査読有)
 4. Hara Y, Adachi K, Kagohashi S, Yamagata K, Tanabe H, Kikuchi S, Okumura S-I, *Kimura A. Scaling relationship between intra-nuclear DNA density and chromosomal condensation in metazoan and plant. *Chr Sci* 19, 43-49 (2016). DOI:10.11352/scr.19.43 (査読有)
 5. 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. *Nat Cell Biol* 19, 399-406. (2017) DOI:10.1038/ncb3490 (査読有)
 6. 谷本博一, 木村健二, 木村暁. 核はどのようにして細胞の中心を見つけるのか? *生物物理* 56 (5), 271-274 (2016). DOI:10.2142/biophys.56.271 (査読有)

7. Niwayama R., Nagao H., Kitajima T. S., 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). DOI:10.1371/journal.pone.0159917 (査読有)
8. Tanimoto H., *Kimura A., *Minc N. Shape-motion relationships of centering microtubule asters. *J Cell Biol* 212, 777-787 (2016). DOI:10.1083/jcb.201510064 (査読有)

[学会発表] (計3件)

1. Akatsuki Kimura. Microtubule-dependent positioning of the nucleus in the *C. elegans* embryo. EMBO/EMBL Symposia: Microtubules: From Atoms to Complex Systems. EMBL Heidelberg, Germany. 2018.5.30
2. 木村暁、合田真「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) Kobe Port Island, Kobe, Japan. 2017. 12.8
3. Akatsuki Kimura. Measurement of intracellular forces using centrifuge polarization microscope (CPM). International Workshop on Quantitative Biology 2017 [Oral, Invited] Keio University, Yokohama, Japan. 2017.4.15

[図書] (計0件)

[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

<https://www.nig.ac.jp/nig/ja/research/organization-top/laboratories/kimura>

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・教授

研究者番号：10365447

(2) 連携研究者

合田 真 (GODA, Makoto)

浜松医科大学・光先端医学教育研究センター・研究技術職員

研究者番号：70442960