

非対称細胞分裂における 極性パターン形成メカニズムの解明

広島大学大学院 理学研究科 数理分子生命理学専攻
中原智弘 (Tomohiro NAKAHARA) 李聖林 (Sungrim Seirin Lee)

概要

初期発生過程における非対称細胞分裂のメカニズム解明は発生生物学において重要な課題の一つである。非対称細胞分裂の初期段階に細胞は細胞膜、細胞質において自らが持つたんぱく質を左右非対称に局在させ極性パターンを形成する。本研究では空間二次元の移流反応拡散方程式系と Phase-field 法を融合させ細胞の形を反映した数理モデルを構築することにより細胞膜、細胞質における極性パターン形成のメカニズムを解明する。

1 導入

我々ヒトの体は一つの受精卵から始まり、最終的には約 200 種類もの細胞を持つようになる。このような細胞の多様化を可能にする一つの仕組みとして初期発生過程における非対称細胞分裂がある。非対称細胞分裂は細胞分化の根幹となる仕組みの一つであり、そのメカニズムの解明は発生生物学における重要な課題の一つである。非対称細胞分裂では、その初期段階に細胞は自らが持つ様々なたんぱく質を左右非対称に局在させ極性パターンを形成し、その後異なる機能を持った二つの娘細胞に分裂する。初期段階におけるたんぱく質の局在（細胞極性）は娘細胞の大きさやその後の運命を決定するためとても重要なプロセスであり、非対称細胞分裂のメカニズムの解明には細胞極性メカニズムの解明が欠かせない。

これまでも細胞極性の研究は多くされてきており、モデル生物としてショウジョウバエや線虫が多く用いられてきた。線虫の受精卵は非対称分裂しその際細胞膜と細胞質で様々なたんぱく質を局在させる。細胞膜においては PAR たんぱく質が極性を形成することが知られている。また、細胞膜での PAR 極性の形成と同時に細胞質では MEX-5/6 が極性を形成することが観察されており、Anterior たんぱく質（PAR-3, PAR-6）とは同位相に、Posterior たんぱく質（PAR-1, PAR-2）とは逆位相に極性を形成する（図 1）。細胞膜と細胞質の極性形成はどちらも精子からのシグナルを受けることで始まり、精子からのシグナルを受ける前には Anterior たんぱく質は細胞膜で、Posterior たんぱく質と MEX-5/6 は細胞質でそれぞれ一様に分布している。精子からのシグナルを受けると Posterior たんぱく質は細胞膜に広がり始め、Anterior たんぱく質ドメインと Posterior たんぱく質ドメインの境界がだいたい細胞の半分の所に到達するまで広がる。細胞膜と細胞質の極性は分裂が始まるまでの間たもたれる。

PAR たんぱく質と MEX-5/6 は相互に影響し合うことでそれぞれの極性を形成することが実験

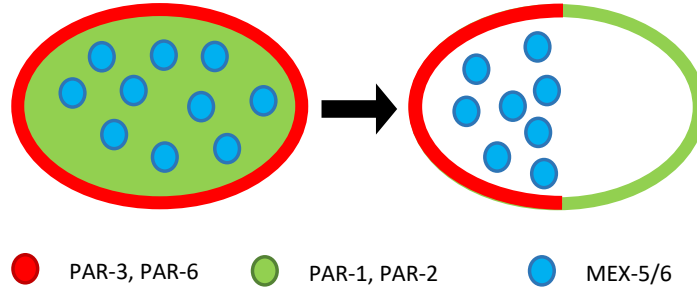


図1 細胞膜と細胞質での極性

からわかっている。しかし、これまでの理論研究のほとんどは PAR たんぱく質にのみ注目しており、PAR たんぱく質と MEX-5/6 の相互関係について考察したものはない。また、実験においても MEX-5/6 がどのように細胞膜での PAR 極性の形成を制御しているかについては明らかにされていない。

本講演では、細胞膜での PAR 極性と細胞質での MEX-5/6 の極性形成を同時に考察した数理モデルを構築し、さらに構築した数理モデルと Phase-field 法を融合させることで細胞の形を反映した数理モデルを構築する。細胞膜だけでなく細胞質、細胞全体におけるたんぱく質の極性形成のより核となるメカニズムを解明する。

2 数理モデル

$\Omega \subset \mathbf{R}^n$ を細胞質、 $\partial\Omega \equiv \Gamma$ を細胞膜とする。複数のたんぱく質のダイナミクスを捉えるために以下のような移流反応拡散方程式系を実験の結果をもとに構築した。

$$\begin{aligned}
 \frac{\partial[A_m]}{\partial t} + \nabla_\Gamma \cdot (\mathbf{v}_m(\mathbf{x}, t)[A_m]) &= D_m^A \nabla_\Gamma^2[A_m] + F_{\text{on}}^A(\mathbf{x}, t)[A_c] - F_{\text{off}}^A(\mathbf{x}, t)[A_m] & \text{on } \mathbf{x} \in \partial\Omega \\
 \frac{\partial[A_c]}{\partial t} + \nabla \cdot (\mathbf{v}_c(\mathbf{x}, t)[A_c]) &= D_c^A \nabla^2[A_c] & \text{on } \mathbf{x} \in \Omega \\
 D_c^A \frac{\partial[A_c]}{\partial \mathbf{n}} &= -F_{\text{on}}^A(\mathbf{x}, t)[A_c] + F_{\text{off}}^A(\mathbf{x}, t)[A_m] & \text{on } \mathbf{x} \in \partial\Omega, \\
 \frac{\partial[P_m]}{\partial t} + \nabla_\Gamma \cdot (\mathbf{v}_m(\mathbf{x}, t)[P_m]) &= D_m^P \nabla_\Gamma^2[P_m] + F_{\text{on}}^P(\mathbf{x}, t)[P_c] - F_{\text{off}}^P(\mathbf{x}, t)[P_m] & \text{on } \mathbf{x} \in \partial\Omega \\
 \frac{\partial[P_c]}{\partial t} + \nabla \cdot (\mathbf{v}_c(\mathbf{x}, t)[P_c]) &= D_c^P \nabla^2[P_m] & \text{on } \mathbf{x} \in \Omega \\
 D_c^P \frac{\partial[P_c]}{\partial \mathbf{n}} &= -F_{\text{on}}^P(\mathbf{x}, t)[P_c] + F_{\text{off}}^P(\mathbf{x}, t)[P_m] & \text{on } \mathbf{x} \in \partial\Omega \\
 \frac{\partial[M_f]}{\partial t} + \nabla \cdot (\mathbf{v}_c(\mathbf{x}, t)[M_f]) &= D_f \nabla^2[M_f] & \text{on } \mathbf{x} \in \Omega \\
 D_f \frac{\partial[M_f]}{\partial \mathbf{n}} &= G_f(\mathbf{x}, t)[M_s] - G_s(\mathbf{x}, t)[M_f] & \text{on } \mathbf{x} \in \partial\Omega \\
 \frac{\partial[M_s]}{\partial t} + \nabla \cdot (\mathbf{v}_c[M_s]) &= D_s \nabla^2[M_s] & \text{on } \mathbf{x} \in \Omega \\
 D_s \frac{\partial[M_s]}{\partial \mathbf{n}} &= -G_f(\mathbf{x}, t)[M_s] + G_s(\mathbf{x}, t)[M_f] & \text{on } \mathbf{x} \in \partial\Omega
 \end{aligned}$$

ここで $[A_m](\mathbf{x}, t)$, $[A_c](\mathbf{x}, t)$ は空間 $\mathbf{x} \in \mathbf{R}^n$ と時間 t における Anterior たんぱく質 (PAR-3, PAR-6) の細胞膜と細胞質での濃度を表す。同様に、 $[P_m](\mathbf{x}, t)$, $[P_c](\mathbf{x}, t)$ は Posterior たんぱく質 (PAR-1, PAR-2) の細胞膜と細胞質での濃度を表す。 $[M_f](\mathbf{x}, t)$, $[M_s](\mathbf{x}, t)$ は細胞質における MEX-5/6 の濃度を表す。ただし、MEX-5/6 は細胞質において拡散の大きさの異なった形態で存在するため [2]、 $[M_f]$ は拡散の速い形態、 $[M_s]$ は拡散の遅い形態の濃度を表す。 $D_m^A, D_c^A, D_m^P, D_c^P, D_f, D_s$ はそれぞれ拡散係数である。また $\mathbf{n}$ は細胞質から細胞膜向きの法線ベクトルである。

Anterior たんぱく質と Posterior たんぱく質は細胞膜と細胞質の間を行き来することが知られている [3]。 $F_{\text{on}}^A(\mathbf{x}, t)$, $F_{\text{on}}^P(\mathbf{x}, t)$ は Anterior たんぱく質と Posterior たんぱく質の細胞質から細胞膜への移動率を表す on-rate 関数であり、 $F_{\text{off}}^A(\mathbf{x}, t)$, $F_{\text{off}}^P(\mathbf{x}, t)$ は細胞膜から細胞質への移動率を表す off-rate 関数である。on-rate 関数と off-rate 関数にはたんぱく質同士による制御の効果が反映されている。PAR たんぱく質は MEX-5/6 をリン酸化、脱リン酸化することで MEX-5/6 の拡散の大きさを制御することがわかってる [3]。 $G_f(\mathbf{x}, t)$, $G_s(\mathbf{x}, t)$ は PAR たんぱく質による MEX-5/6 の制御の効果を表す関数である。

線虫の受精卵では細胞極性の形成時に、細胞の表層を覆うように存在するアクチンミオシンが収縮する。この収縮に伴い細胞の表層と細胞質で移流が起こる [4]。 $\mathbf{v}_m(\mathbf{x}, t)$ は細胞膜での移流の速度を表し、 $\mathbf{v}_c(\mathbf{x}, t)$ は細胞質での移流の速度を表す。

この移流反応拡散方程式系に Phase-field 法を [5] を元に融合させることで細胞の形を反映した数理モデルを構築した。

$$\begin{aligned} \frac{\partial B(\phi)[A_m]}{\partial t} + \nabla \cdot (B(\phi)\mathbf{v}_m[A_m]) &= D_m^A \nabla \cdot (B(\phi)\nabla[A_m]) + B(\phi)\{F_{\text{on}}^A(\mathbf{x}, t)[A_c] - F_{\text{off}}^A(\mathbf{x}, t)[A_m]\} \\ \frac{\partial \phi[A_c]}{\partial t} + \nabla \cdot (\phi\mathbf{v}_c[A_c]) &= D_c^A \nabla \cdot (\phi\nabla[A_c]) - B(\phi)\{F_{\text{on}}^A(\mathbf{x}, t)[P_c] - F_{\text{off}}^A(\mathbf{x}, t)[A_m]\} \\ \frac{\partial B(\phi)[P_m]}{\partial t} + \nabla \cdot (B(\phi)\mathbf{v}_m[P_m]) &= D_m^P \nabla \cdot (B(\phi)\nabla[P_m]) + B(\phi)\{F_{\text{on}}^P(\mathbf{x}, t)[P_c] - F_{\text{off}}^P(\mathbf{x}, t)[P_m]\} \\ \frac{\partial \phi[P_c]}{\partial t} + \nabla \cdot (\phi\mathbf{v}_c[P_c]) &= D_c^P \nabla \cdot (\phi\nabla[P_c]) - B(\phi)\{F_{\text{on}}^P(\mathbf{x}, t)[P_c] - F_{\text{off}}^P(\mathbf{x}, t)[P_m]\} \\ \frac{\partial \phi[M_f]}{\partial t} + \nabla \cdot (\phi\mathbf{v}_c[M_f]) &= D_f \nabla \cdot (\phi\nabla[M_f]) + B(\phi)\{G_f(\mathbf{x}, t)[M_s] - G_s(\mathbf{x}, t)[M_f]\} \\ \frac{\partial \phi[M_s]}{\partial t} + \nabla \cdot (\phi\mathbf{v}_c[M_s]) &= D_s \nabla \cdot (\phi\nabla[M_s]) - B(\phi)\{G_f(\mathbf{x}, t)[M_s] - G_s(\mathbf{x}, t)[M_f]\} \end{aligned}$$

ここで ϕ は Phase-field 関数であり、 $\phi = 1$ となる空間を細胞質、 $\phi = 0$ となる空間を細胞の外、 $0 < \phi < 1$ となる空間を細胞膜とする。 $B(\phi)$ は ϕ に依存した関数であり、 $\phi = 0, 1$ で $B(\phi) = 0$ となり $0 < \phi < 1$ では $0 < B(\phi) < 1$ となる (図 2)。

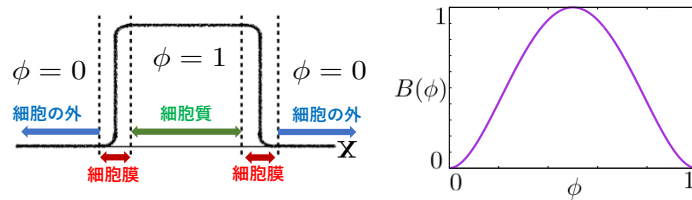


図 2 ϕ と $B(\phi)$ に関する図

3 細胞極性と結果

本研究では構築した数理モデルを用いることで、細胞膜での PAR 極性と細胞質での MEX-5/6 の極性の形成に成功した (図 3)。さらに以下のような結果を得た。[6]

- MEX-5/6 の極性は PAR 極性に必ずしも必要ではないが、PAR 極性を制御しうる。
- MEX-5/6 の極性形成において、PAR たんぱく質のバランスの良い制御が重要である。
- 移流は MEX-5/6 の拡散形態の変換を促す。
- 極性の始まる位置は PAR 極性と MEX-5/6 極性の形成に影響を与える。

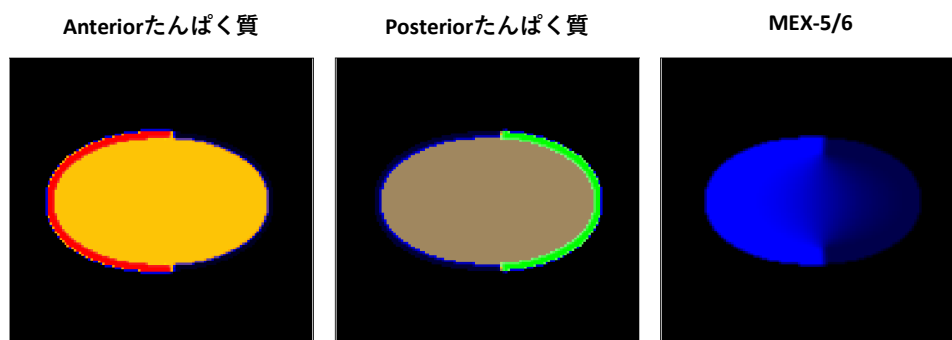


図 3 数値計算から得られた細胞極性

4 結論

本研究では PAR たんぱく質だけでなく細胞質の MEX-5/6 にも注目し数理モデルを構築することで、細胞膜での極性形成と細胞質での極性形成を同時に考察することができた。このことにより、これまで明らかにされていなかった細胞全体での極性形成のよりコアなメカニズムについて提案できた。また、細胞の形を反映した数理モデルを用いたことから細胞質におけるたんぱく質のより正確なダイナミクス、細胞の形の影響などを捉えることができた。本研究のモデリング手法はどんな細胞の形でもそれを反映した上で分子のダイナミクスを考察できるため、極性パターン形成研究の分野における反応拡散方程式のさらなる応用が期待される。

参考文献

- [1] Adrian A. Cuenca, Aaron Schetter, Donato Aceto, Kenneth Kemphues, Geraldine Seydoux, Polarization if the *C. elegans* zygote proceeds via distinct establishment and maintenance phase, *Development* 130, 2002, 1255-1265.
- [2] Brian R. Daniels and Terrence M. Dobrowsky and Edward M. Perkins and Sean X. Sun and Denis Wirtz, MEX-5 enrichment in the *C. elegans* early embryo mediated by differential

- diffusion, *Development* 137, 2010, 2579-2585.
- [3] Carsten Hoege and Anthony A. Hyman, Principles of PAR polarity in *Caenorhabditis elegans* embryos, *Molecular Cell Biology* 14, 2013, 315-322.
 - [4] Nathan W. Goehring and Philipp Khuc Trong and Justin S. Bois and Debanjan Chowdhury and Ernesto M. Nicola and Anthony A. Hyman and Stephan W. Grill, Polarization of PAR Proteins by Advective Triggering of a Pattern-Forming System, *Science* 334, 2011, 1137-1141.
 - [5] Weikang Wang and Kuan Tao and Jing Wang and Gen Yang and Qi Ouyang and Yugang Wang and Lei Zhang and Feng Liu, Exploring the inhibitory effect of membrane tension on cell polarization, *PLOS*, 2017.
 - [6] Tomohiro Nakahara, Sungrim Seirin-Lee, The role of cytoplasmic proteins on cell polarity of asymmetric cell division, *submitted*