

細胞内構造の配置対称性が決まる仕組みを解明

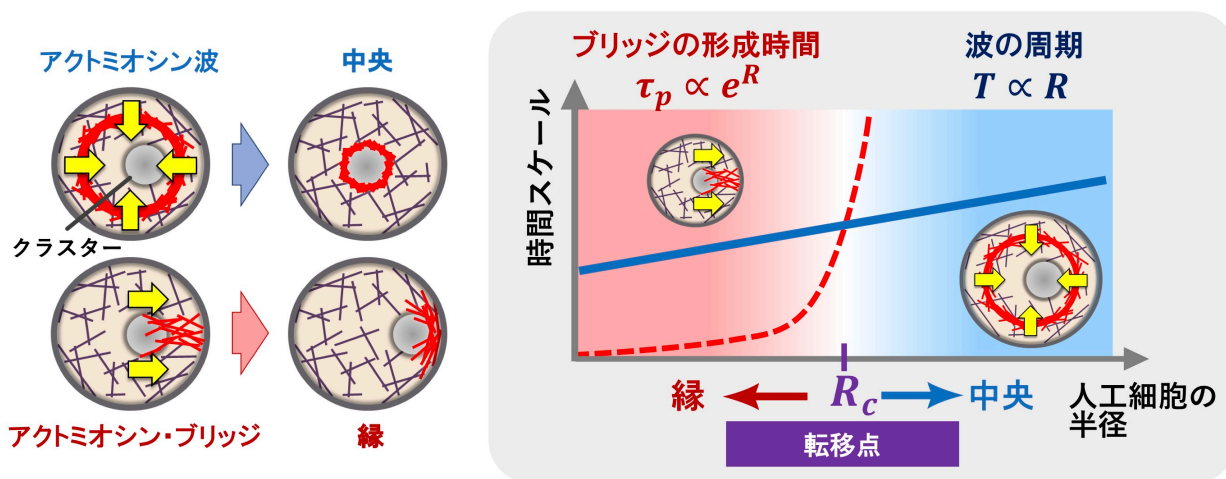
—人工細胞と物理学からメカニズムに迫る—

概要

京都大学白眉センター 宮崎牧人 特定准教授は、九州大学理学研究院 前多裕介 准教授、坂本遼太 同博士課程学生、シンガポール国立大学メカノバイオロジー研究所 平岩徹也 グループリーダー、早稲田大学石渡信一 名誉教授、田邊優敏 同大学院先進理工学研究科修士課程学生（研究当時）、鈴木和也 同助手（研究当時、現：浜松ホトニクス株式会社中央研究所）と共に、生きた細胞を模した人工細胞を構築し、細胞内の対称性を決める仕組みを解明しました。

すべての生命の基本単位は、小さな細胞です。たったひとつの細胞（受精卵）が分裂を繰り返して私たちの身体が出来上がる過程において、様々な機能を持った細胞に分化して行きますが、細胞の運命は、細胞核などの構造を細胞の中央に置くか縁（ふち）に置くかという「配置の対称性」によって決まります。しかし、対称性を制御する普遍的なメカニズムは未解明でした。本研究グループは、細胞内で力発生を担うアクトミオシンと、細胞核を模した構造物（クラスター）を液滴カプセルに封入した人工細胞を構築し、対称性が自律的に決まるメカニズムを探求しました。そして、大きい人工細胞ではクラスターが中央に配置され、小さい人工細胞ではクラスターが縁に寄る「配置対称性の破れ現象」を発見しました。アクトミオシンの収縮現象の解析から、対称性を維持しようとする力と対称性を破ろうとする力が共存しており、綱引きのようなバランスによって対称性が決まることを解明しました。この綱引きによる配置決め機構は、動物細胞に共通した性質である「アクトミオシンが閉じ込められた微小空間」に対して普遍的に成り立つメカニズムであるため、動物細胞全般における細胞内構造の配置決めに新しい理解を与えるものと期待されます。

本研究成果は、2020年6月15日に国際学術誌「Nature Communications」にオンライン掲載されました。



1. 背景

「対称性」は自然界に満ち溢れています。初夏に咲いた花々には、花卉の配置に回転対称性を示すものが多くあります。昆虫や動物は、多くの種で左右対称の形になっている一方で、シオマネキのハサミやメンフクロウの耳の位置のように、あえて左右非対称にすることで特殊な機能を獲得している生物もいます。芸術の世界でも、モナ・リザの非対称性が美しさの理由であると言われるように、対称性は我々人間の美的感覚にも根付いている基本的な概念です。

生命の基本単位である細胞も、対称性という概念抜きには語れません。細胞における対称性の研究の原点は19世紀にさかのぼります。受精したばかりの卵細胞では細胞核が中心に向かって運ばれ、極めて正確に核を配置することが知られています。一方で、細胞は自ら対称性を破る仕組みをもつことが20世紀初頭から現在にかけて明らかにされてきました。私たちの命は一つの細胞から始まり、細胞分裂を繰り返すことで身体が出来ます。この過程では、等しい娘細胞に二分する対称分裂を繰り返しつつも、時折非対称に分裂することで、頭と足、背と腹などの体軸が決まります。また、創傷治癒や形態形成に関わる細胞運動では、形の対称性を破ることで運動の方向が決まります。このように、対称性は生命の運命を決定する重要な概念であり、生命は細胞の対称性とその破れを上手く使い分けています。しかし、細胞生物学の長い歴史において、このような対称性が細胞内でどのように制御されているのか、その基本原則は未解明でした。

2. 研究手法・成果

細胞の仕組みを調べる手法として一般的なのは、生きて細胞を対象とし、着目している現象を制御していると予想されるタンパク質を、遺伝子組換え技術などで欠損させてその影響を調べる、トップ・ダウン的なアプローチです。この方法によって、制御しているタンパク質、つまり”役者”を明らかにすることが出来ます。しかし生きて細胞内は複雑な環境であることに加え、細胞サイズやタンパク質の濃度の操作が困難です。そのため”役者”がどのようにして細胞を制御しているのか、仮説を立てられたとしても、それを実験的に確かめるのが難しいことが長年の課題でした。

そこで私たちはその課題を克服するため、生きて細胞を単純化した「人工細胞」を構築しました。モデル生物として広く使われているアフリカツメガエルの卵から細胞質（細胞の中を満たしている液体）だけを取り出し、それを細胞膜の基本構成物質であるリン脂質で包まれた液滴カプセルに封入することで、細胞内環境を模倣しました（**図1**）。この手法により、細胞の大きさや形、さらに制御に関わっていることが予想されるタンパク質の濃度を自在に操作することが出来ます。あえて人工細胞を使うことで、仮説の実験的検証を可能にしました。

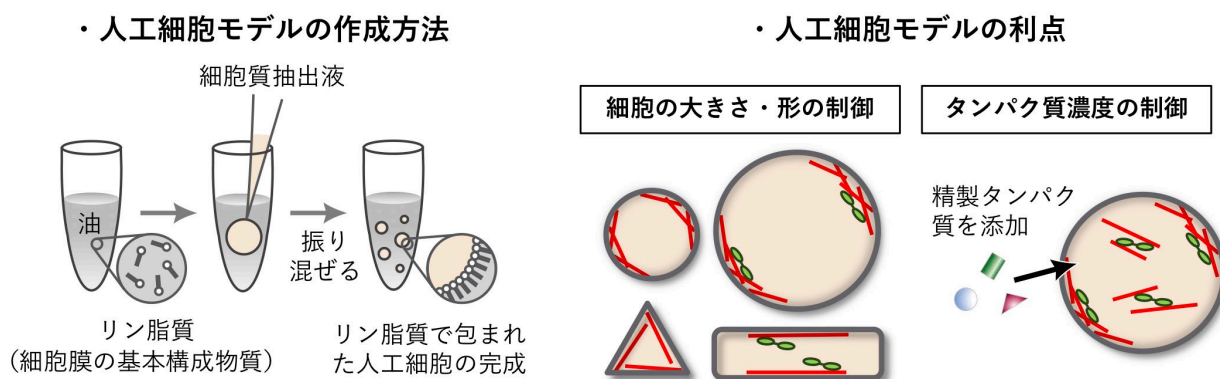


図1：人工細胞モデルの作成方法（左）とその利点（右）

私たちは人工細胞に細胞核を模した球形のクラスターを封入し、クラスターの配置が制御される仕組みを調べました。私たちが用いた人工細胞は回転対称な円形をしています。そこで、クラスターの配置が円の対称性を反映するものになるのか、あるいは不規則に配置されるのかを観察しました。すると、クラスターが配置される場所は、人工細胞の中央もしくは縁のいずれかであることがわかりました。すなわち、クラスター配置は円の回転対称性を担う中央か、対称性を破った縁かという、二状態をとることが明らかになりました。これら二つの状態を詳しく解析したところ、その切り替わりは人工細胞の「大きさ」と関係しており、大きい人工細胞ではクラスターが中央に配置される一方、小さい人工細胞ではクラスターが縁に配置されることを発見しました (図2a)。

人工細胞の大きさを変えるだけで位置が中央から縁に移るという「配置対称性の破れ現象」は、どのような仕組みで起こっているのでしょうか？ 生きた細胞を使ったこれまでの研究から、細胞運動や分裂などを制御しているアクチン細胞骨格が関与していることが示唆されていました。アクチン細胞骨格は主にアクチン線維とミオシン分子モーター (まとめてアクトミオシンと呼ぶ) から構成されるネットワーク構造であり、収縮力を生み出すことが知られています。詳細な顕微鏡観察により、人工細胞の縁から中央へ収縮しながら伝搬するアクトミオシン波がクラスターを中央へ運び、人工細胞の縁とクラスターの間形成されたアクトミオシン・ブリッジが、クラスターを縁に引き寄せていることが明らかになりました (図2b, c)。

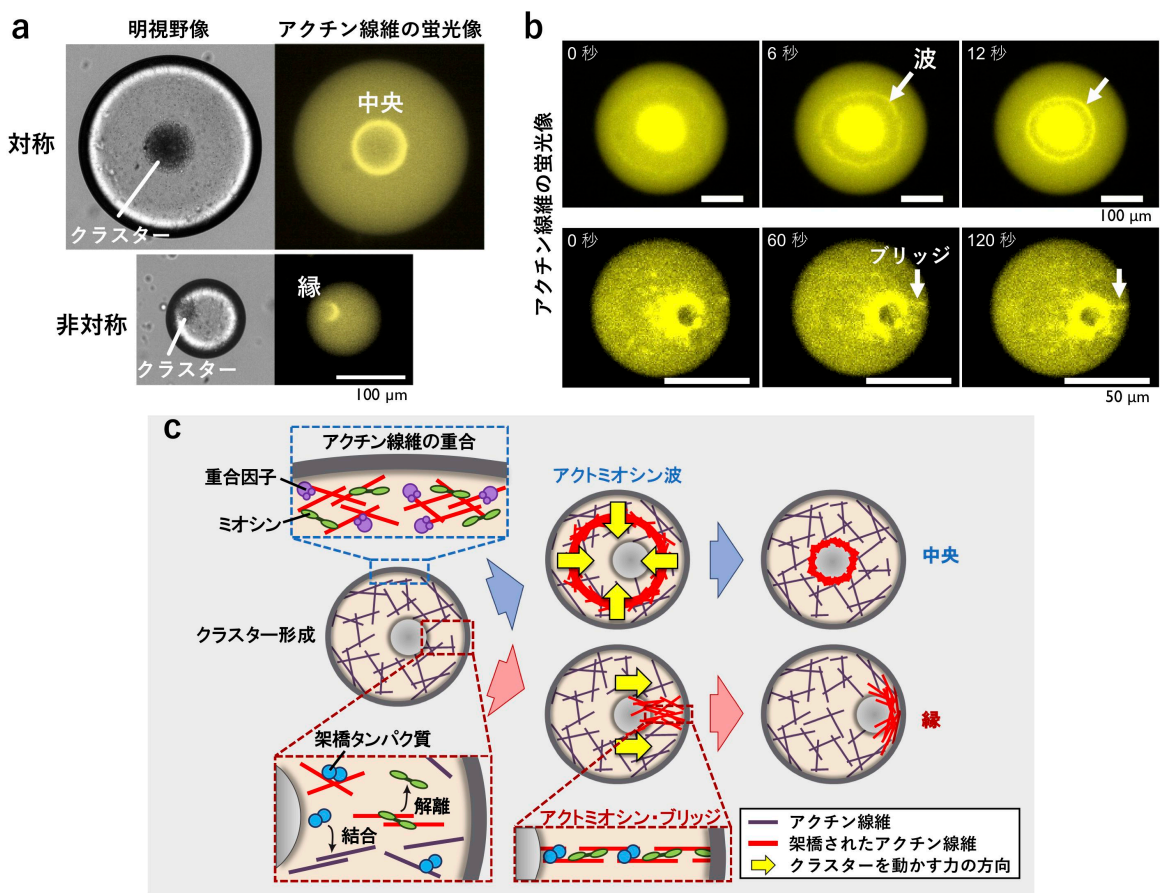


図2：クラスターの配置対称性の破れ現象と、クラスターに作用する2つの相反する力 a. 人工細胞の大きさに依存してクラスター配置の対称性が破れることを発見。b. アクトミオシン波の収縮現象 (上)、クラスターと人工細胞の縁とを繋ぐアクトミオシン・ブリッジ (下)。c. 人工細胞の辺縁部で発生する周期的なアクトミオシン波はクラスターを中央に運び、人工細胞の内側の領域で確率的に形成されるアクトミオシン・ブリッジはクラスターを縁へ運ぶ。

これらの観察結果から、「クラスターには中央に運ぶ力と縁に引き寄せる力の、相反する2つの力が働いており、それらのバランスによって配置が決まる」という仮説を立てました。この仮説から、アクトミオシン・ブリッジの形成頻度を高めるとバランスが変化し、クラスターが縁に配置し易くなると予測されます。実際に、アクチン細胞骨格の連結性を高めるタンパク質を加える分子摂動実験を行い、縁に配置される割合が増えることを確認しました。さらにこの位置変化は、アクトミオシンの収縮現象を記述するアクティブ・ゲル理論モデルで予想される結果と定量的に一致し、「アクトミオシンの波の周期、すなわち波が発生するのにかかる時間 T と、アクトミオシン・ブリッジが形成されるのにかかる時間 τ_p の大小関係でクラスターの配置対称性が決まる」というメカニズムを提唱しました (図3)。

マウスの卵母細胞では、紡錘体と呼ばれる染色体分配を担う構造物の配置決めが重要であり、配置がうまくいかない場合には先天性欠損などの障害が残ることが知られています。本研究では、細胞サイズを変化させるという人工細胞が可能にした手法により、配置の対称性を維持しようとする力と対称性を破ろうとする力が共存していることを突き止め、綱引きのような力のバランスによって対称性が決まることを明らかにしました。このメカニズムは、動物細胞に共通した性質である「アクチン細胞骨格が閉じ込められた微小空間」に対して普遍的に成り立つものであると考えられるため、マウスやカエルのみならず、動物細胞全般における細胞内構造の配置決め機構に新しい知見を与えることが期待されます。

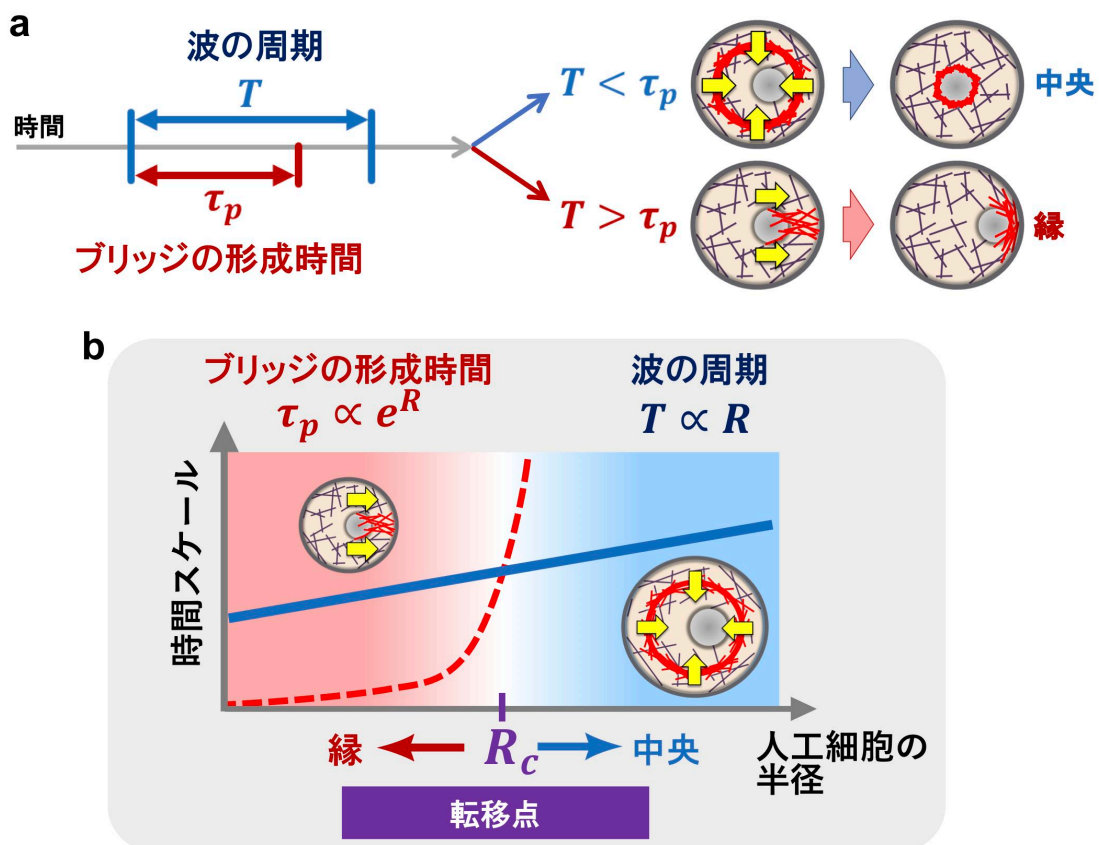


図3：クラスターの配置対称性が決まるメカニズム a. 波が形成されるまでにかかる時間 T と、ブリッジ形成にかかる時間 τ_p 、どちらが短いかでクラスターの位置が決まる。b. 実験と理論から、波の周期 T は液滴の半径 R に緩やかに比例する（青線）のに対して、ブリッジ形成にかかる特徴的な時間 τ_p は液滴の半径 R に強く（指数関数 e^R ）依存する（赤線）ことが分かった。このことから、人工細胞の大きさを変化させたときに、この2つの時間スケールが入れ替わることでクラスター配置の対称-非対称転移が生じていることがわかった。

3. 波及効果、今後の予定

本研究では、人工細胞内で確率的に形成されるアクトミオシン・ブリッジの存在を見出しました。このような構造の形成は、パーコレーション理論と呼ばれる、ネットワークの連結性を記述する理論で一般的に理解されます。これまで、細胞よりずっと大きな系では、アクトミオシン・ネットワークで現れるパーコレーション現象の存在が広く知られており、物理的な解析も進められていました。本研究の結果は、細胞サイズの微小な系でもパーコレーション現象が存在し、さらに細胞機能にも関わっていることを示唆しており、生命現象の中に潜む普遍的物理現象の探求にも新しい道筋を示すものです。

また、細胞内構造の対称性の破れが関わる生命現象として、細胞運動が挙げられます。細胞運動は、発生過程から創傷治癒に至るまで多くの生命現象を支えるために重要です。細胞が動くときの重要な特徴は、細胞核の配置の対称性が破れているという点です。本研究では、対称性の破れた人工細胞が自発的に運動する現象も発見しました。今後は人工細胞の利点を活かして、細胞が動く仕組みの探求へと研究を展開していく予定です。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、下記の補助金による支援を受けて実施されました。

日本学術振興会科研費・新学術領域研究「発動分子科学」(18H05427：前多裕介、19H05393：宮崎牧人)

日本学術振興会科研費・若手研究(A) (16H06165：宮崎牧人)

日本学術振興会科研費・若手研究(B) (16K17777：平岩徹也)

日本学術振興会科研費・基盤研究(S) (22227005：石渡信一)

日本学術振興会科研費・基盤研究(B) (17KT0025：前多裕介、16KT0077：宮崎牧人)

日本学術振興会科研費・挑戦的萌芽研究 (15K14497：宮崎牧人)

日本学術振興会科研費・特別研究員奨励費 (19J20035：坂本遼太)

Human Frontiers Science Program・Research Grant (RGP0037/2015：前多裕介)

公益財団法人千里ライフサイエンス振興財団・岸本基金研究助成 (宮崎牧人)

早稲田大学・特定課題研究助成費 (2015S-086：宮崎牧人)

京都大学・白眉プロジェクト研究費 (宮崎牧人)

<研究者のコメント>

細胞を細胞たらしめている仕組みを探るには、生きている細胞の環境から極端に外れた条件を試してみることが重要であると考えています。そのために人工細胞を開発して来ました。人工細胞は、大きさや形を自由に変えられます。タンパク質の濃度を少しだけ増減させて(摂動)、生じる変化(応答)を調べることも可能です。これらの利点を最大限に活かして、複雑な生命システムの解明に挑んでいきます。

<論文タイトルと著者>

タイトル: Tug-of-war between actomyosin-driven antagonistic forces determines the positioning symmetry in cell-sized confinement (アクトミオシンが生み出す相反する力の綱引きが、細胞内構造の空間配置対称性を決める)

著者: Ryota Sakamoto, Masatoshi Tanabe, Tetsuya Hiraiwa, Kazuya Suzuki, Shin'ichi Ishiwata, Yusuke T. Maeda, Makito Miyazaki

掲載誌: Nature Communications DOI: 10.1038/s41467-020-16677-9