



細胞サイズの定量生物学：データとモデルの定量化からみえてくるもの

1. 『定量生物学』と細胞のデザイン

「定量生物学」は生物学研究の新たな潮流をあらわすキーワードの一つになりつつある。近年発足した若手研究者の集まり「定量生物学の会 (<http://q-bio.jp/>)」は、その年會に多くの研究者が定員超過のため参加できなかったほど、研究者の注目を集めている。一方で、生物学は他の自然科学同様もともと定量的なものであり、生化学においては酵素反応論、タンパク質精製など、定量性が特に重視されてきた。このため今になって「定量生物学」が新たな潮流であるといわれても違和感を覚える方も多いかもしれない。

近年の「定量生物学」の発信源は、自ら生物実験に密接に参加し始めた「数理系」の研究者である。数理系研究者にとっては現代の分子細胞生物学が定量性が高くないものであるという問題意識が強い。一方で、「実験系」の研究者の中にも数理系研究者が掲げた問題意識に共感するものが多く、より定量的・理論的な解析を積極的に行い始めている。分子生物学の急激な発展に伴い、分業傾向にあった数理系と実験系研究者が互いの守備範囲を自分の足で越え、積極的に交流をもち始めたことが、現在の「定量生物学」の流れに発展していると思われる。

さて、筆者は「実験系」研究者である。大学院では堀越正美先生（東京大学分子細胞生物学研究所）の下で生化学的手法などを学んだ。この間、遺伝子発現における染色体高次構造の重要性に直面し、建築物としての染色体、そして細胞に興味をもち始めた。「細胞がどのようにデザインされ、そのデザインがどのような機能的意義を有するのか」。このような問題に取り組むには複雑な細胞内の時空間ダイナミクスを把握する必要がある。そのためにシミュレーションなどの理論的解析の必要性を感じ、学位取得後、慶應義塾大学の大浪修一先生（現・理化学研究所）の下で研究する機会を得た。本格的なコンピュータシミュレーションや数理的解析は筆者には困難であったが、単純なシミュレーションを行うだけでも新しい示唆を多く得ることができた。シミュレーションは漠然と頭の中で考えて

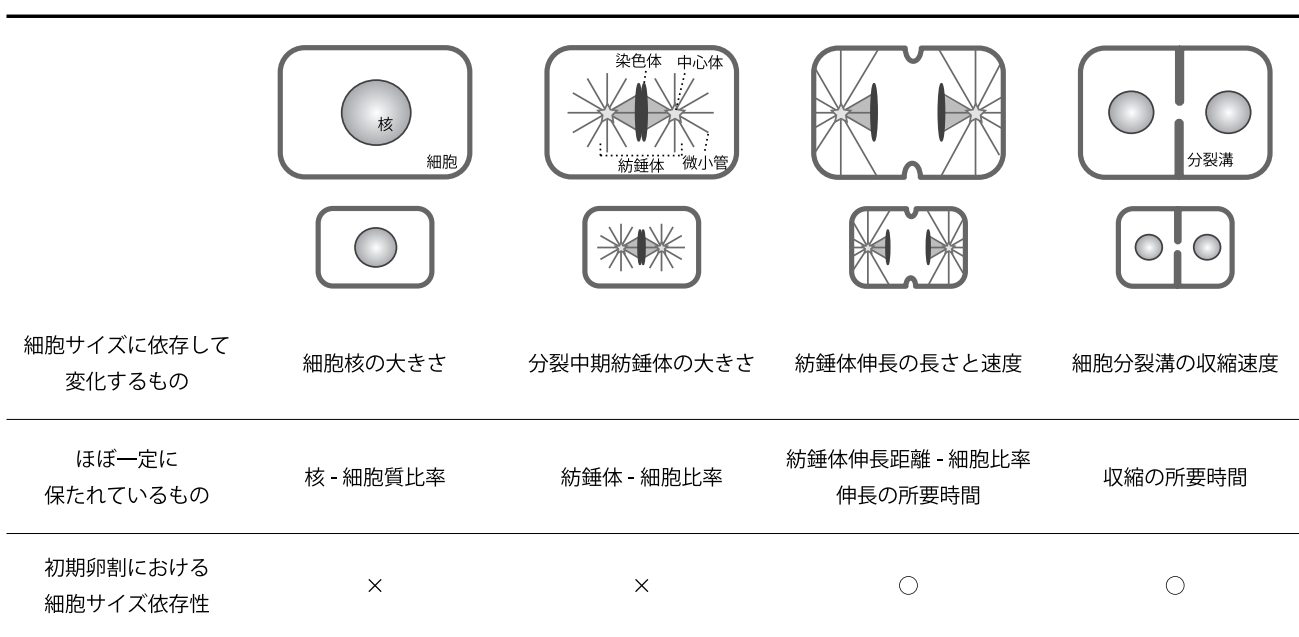


図1 細胞サイズに依存する細胞内構造体とその変形

いたモデルを定式化し、その挙動を定量的に把握することができるという点で、「モデルを定量化」する作業と言える。実験データを定量化し、そして仮説となるモデルを定量化し比較することで、生化学・分子生物学・細胞生物学など異なる階層で得られた知見を総合することができる。

このようなデータの定量化・モデルの定量化が威力を発揮する対象に細胞生物学がある。近年のイメージング技術の発展に伴い細胞内の様々な構造物の動態が可視化できるようになってきた。デジタルカメラを通して得られる座標・輝度などの定量データは情報の宝庫である。その中でも近年、注目を集めつつあるのが細胞サイズと細胞内構造体の動態との相関である(図1)。細胞サイズとの関係を探ることによって細胞内構造体の大きさや変形の制御に迫ることができると考えられる。

2. 細胞サイズと核の大きさの関係

細胞核は細胞内の代表的な構造物だが、核と細胞のサイズには相関があることが古くから観察されてきた¹⁾。核と細胞質の比率(nuclear-to-cytoplasmic (N/C) ratio)は一定の値をとる傾向にある(図1)。最近、Nurseらは分裂酵母で²⁾、Tyersらは出芽酵母で³⁾、それぞれ遺伝学的方法を駆使して、細胞のサイズを35倍まで変化させて核の大きさとの比率を測定した。このように広い範囲で細胞の大きさを変化させてもなお、N/C ratioはほぼ一定であった。

このN/C ratioは細胞周期や細胞分化の進行の「めやす」になるとも考えられている。細胞周期の進行にあたっては、細胞が十分に成長してから分裂することが重要だが、細胞が成長しN/C ratioが一定値を下回ることが細胞周期進行の引き金となることが示唆されている⁴⁾。動物の胚発生において、初期には卵割が連続的に進み細胞数を増した後、その次のステップとして細胞分裂が遅くなり、細胞種に応じた転写が開始する段階がある。この移行を中期胚転移(mid blastula transition: MBT)というが、卵割によって細胞が小さくなり、N/C ratioが一定値を越えることがMBTの引き金になっていると考えられている^{5,6)}。実際にN/C ratioを人為的に操作することによってMBTの時期を前後させることが可能である。

このように核と細胞の大きさに相関があり、その比率が細胞機能の制御に関与していることはわかっているが、「細胞がどのようにして核と細胞の比率を測定しているのか?」、「この比率が一定となるように、どのようにして核や細胞の大きさを調節しているのか?」という疑問に対しては未だに答えがない。

3. 細胞サイズと紡錘体の大きさの関係

細胞サイズがその大きさを制御する細胞内構造物は核だけではない。最近、Mitchisonらはカエルの初期胚卵割過程において生じる様々な大きさの細胞において細胞サイズと分裂中期紡錘体の大きさを体系的に測定した。その結果、卵割がある程度進んだ細胞においては細胞サイズと中期紡錘体の大きさに相関が認められた⁷⁾。我々も、同様の相関を線虫において確認している⁸⁾。紡錘体は細胞分裂期に染色体を分配させる装置であり、姉妹染色体をその赤道面に整列させ、動物細胞では微小管形成中心である中心体を両極にもつ(図1)。分裂中期紡錘体は染色体の整列が完了し、姉妹染色体の分配が開始される直前の状態であり、この両極の距離が細胞サイズと比例する。

この紡錘体の大きさの違いを説明するために、生化学的解析が試みられている。Mitchisonらは、カエル卵細胞における減数分裂期および、体細胞分裂期の細胞抽出液を用いて紡錘体を*in vitro*で形成させ、ともに*in vivo*と同様の大きさの紡錘体を形成することを示している⁷⁾。Healdらは卵自体の大きさが異なる近縁種のカエルの抽出液を用いて、やはり*in vivo*の紡錘体の大小を*in vitro*で再現できることを示した⁹⁾。

中期紡錘体のサイズを規定する要因については精力的に解析が進んでおり、数理モデルも多く構築されている¹⁰⁾。これらの数理モデルでも細胞サイズはほとんど考慮されていない。これはそもそも紡錘体の大きさの解析が抽出液を用いた解析から得られたことに起因すると考えられる。今回、やはり抽出液を用いて異なるサイズの細胞における紡錘体の大きさの違いを説明付けられたことは、細胞サイズを直接的には考慮しなくてもよいことを示唆するかもしれない。しかし、上記の生化学的解析は、体細胞分裂期と減数分裂期の比較、あるいは異種の比較であり、細胞サイズの効果を直接的に検討できている訳ではない。分裂中期の紡錘体の大きさの制御には細胞サイズを含む複数の要因が想定されており¹¹⁾、今後生化学的解析を始め、複数のアプローチを統合して、その制御機構を明らかにする必要がある。

4. 細胞サイズと紡錘体伸長の関係

これまで見てきたように核や中期紡錘体の大きさは細胞サイズと相関関係にあるが、胚発生の初期は例外であった。この時期は細胞のサイズが大きいが、核や中期紡錘体のサイズには上限があると考えられている^{5,7,8)}。一方で、

このような巨大な細胞でもそのサイズに応じて大きさが決定する細胞内構造物がある。それは分裂終期の紡錘体である。紡錘体は中期において姉妹染色体の整列を完了させた後、後期において対合が解消され、姉妹染色体がそれぞれの極へと引っ張られていき染色体分配を行う。この間、紡錘体自身もその長さを増加させる。我々は分裂後期に伸長した結果生じる（分裂終期の）紡錘体の長さが、線虫の胚発生を通じて細胞サイズと比例関係にあることを見出した（図1）⁸⁾。さらに我々は紡錘体の伸長速度を定量化した。伸長過程の紡錘体の画像を短い時間間隔で撮影し、各画像における紡錘体の長さを画像処理を用いて定量化することによって紡錘体の伸長距離を算出した。その結果、紡錘体の伸長速度も伸長距離と同様に細胞サイズに依存することがわかった⁸⁾。

このように紡錘体の伸長は、核や中期紡錘体の大きさと異なり、発生の初期から細胞サイズとの比例関係が成立し、線虫初期胚では伸長の結果生じる紡錘体の長さは常に細胞の長さの約半分となることが明らかとなった。このことから紡錘体の伸長は細胞サイズによって制御されていると考えられた。このようにして浮かび上がってきた細胞の定量的な特徴を説明付けるためには、定量的な記述・予測が可能な「定量的モデル」が威力を発揮すると我々は考えた。そこで、紡錘体伸長における細胞サイズ依存性を説明付ける定量的なモデルを構築し、そのモデルの定量的な挙動が実細胞と矛盾がないかをコンピュータシミュレーションを用いて検討することにした。

モデルを構築・検証するためには対象とする現象に関わる細胞・分子の情報が必要である。情報が不足していれば、そもそもモデルを構築することができないか、もしくは構築したモデルの妥当性も検証できない。我々は野生株の定量データだけでは実細胞に即したモデル構築ができないと判断し、遺伝子機能欠損体でも同様の定量化を行うことによって紡錘体伸長に関わる分子の特定とモデルの絞り込みを行った。三量体型Gタンパク質は線虫、ショウジョウバエ、培養細胞などで紡錘体の配置や伸長に関与することが知られていた¹²⁾。そこで紡錘体伸長に関与する三量体型Gタンパク質の α サブユニット（GOA-1/GPA-16）やその制御因子であるGPRタンパク質（GPR-1/GPR-2）の機能をRNA干渉法で欠損させた胚において紡錘体の伸長距離および速度を定量化した。その結果、これらの因子を機能欠損させると紡錘体の伸長は完全には阻害されなかったことから、線虫における紡錘体の伸長には、三量体型Gタンパク質に依存する力と、依存しないの力の2種類が関

与していることが示唆された。ここで重要なことに、三量体型Gタンパク質に依存する力での紡錘体の伸長は距離・速度ともに細胞サイズに相関があるが、三量体型Gタンパク質に依存しない力での伸長は、距離は細胞サイズと相関があるものの速度は細胞サイズによらず一定であるという定量結果が得られた。このことは、紡錘体の伸長には(i)細胞サイズと相関する伸長速度を生み出す三量体型Gタンパク質に依存する力と、(ii)細胞サイズによらず一定の伸長速度を生み出す三量体型Gタンパク質に依存しない力、という2種類の性質の異なる力が組み合わさって働いていることを示唆する⁸⁾。

そこで、これらの2種類の力をそれぞれ説明付けるモデルを構築し、実細胞から得た定量データを説明付けるモデルをシミュレーションを用いて絞り込んだ。その結果、我々は細胞サイズに依存して紡錘体の伸長度合いを変化させるために2種類のしくみを使っていることを提案した。第一のしくみは細胞サイズによって細胞の表面積が異なることを利用する。紡錘体の伸長の原動力は細胞表層から紡錘体の極を引く力である。細胞サイズが増減すると細胞表面積が増減し、それに伴い力の発生源の個数も増減すると考えられる。特に、我々がモデル系として観察している卵割の過程では、力の発生源の大幅な生産がなければ細胞分裂に伴って生じる小さい細胞では、細胞あたりの力の発生源は減少すると考えられる。このように力の発生源の個数を増減させることにより紡錘体の伸長距離も速度も細胞サイズに応じて変化させることができる（図2a）。第二のしくみは角度の相似を利用する。紡錘体の伸長においては、伸長が停止する点において紡錘体を伸長させる力と収縮させる力の釣り合いが保たれているはずである。この力の釣り合いを達成させる角度がどの細胞でも同じだとすると、

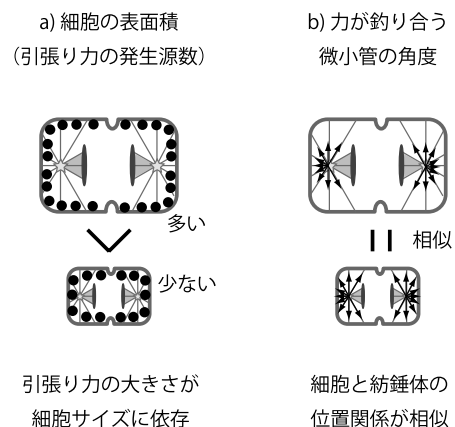


図2 細胞サイズに依存して紡錘体が伸長する二つの要因

細胞のサイズと紡錘体のサイズは相似となる (図 2b)。コンピュータシミュレーションを行うと、これら二つの要因を組み合わせることにより野生型胚および三量体型 G タンパク質機能欠損胚における紡錘体の細胞サイズ依存性を定量的に再現することができた⁸⁾。我々のモデルは細胞内構造物の大きさ制御の様式を細胞サイズから直接説明付ける初めてのモデルである。データの定量化とモデルの定量化を組み合わせた解析戦略は細胞のデザインに関わる問題に効果的であると考えている。

5. 細胞サイズと細胞分裂速度

最近、同じく線虫を用いて Oegema らは細胞分裂の際の分裂溝の進行速度も細胞サイズに比例することを報告した¹³⁾。大きい細胞では分裂溝が速く進行し、小さい細胞では遅くなるというものである (図 1)。これによって、細胞サイズに関わらず一定の時間で細胞質分裂が完了できる。これは、我々が見出した染色体分配の際の紡錘体の伸長速度が細胞サイズに比例し、従って紡錘体の伸長にかかる時間が細胞サイズによらずほぼ一定になることと対応していると考えられる⁸⁾。Oegema らは、この定量的な結果に基づいて細胞サイズと収縮の進行が比例するモデルを考え、FRAP (fluorescent recovery after photobleaching) 法など細胞生物学的な手法を駆使してモデルを支持する知見を集めた。

6. おわりに

本稿では細胞サイズと細胞内構造体の関係についての近年の研究を紹介した。いずれの研究も出発点は、それぞれの構造体と細胞サイズの定量と比較だが、その後解析を進展させた方向は、遺伝学的手法を用いた細胞操作、生化学的手法を用いた要因の追求、シミュレーション解析を用いた力学モデルの追及、細胞生物学的手法を用いた現象の追求、と多様である点は興味深い。このことは、データの定量化が様々な方向に発展し得ることを示すと同時に、多様な解析を組み合わせれば、さらに研究が発展する可能性を示している。データの定量化、モデルの定量化は複雑な生命現象を解析する基盤であり、また多様な専門性をもつ研究者をつなぎとめる拠り所として、今後ますます重要性をもつと考えられる。

- 1) Wilson, E.B. (1925) *The Cell in Development and Heredity*, Macmillan., New York.
- 2) Neumann, F.R. & Nurse, P. (2007) *J. Cell Biol.*, 179, 593–

- 600.
- 3) Jorgensen, P., Edgington, N.P., Schneider, B.L., Rupes, I., Tyers, M., & Futcher, B. (2007) *Mol. Biol. Cell*, 18, 3523–3532.
- 4) Jorgensen, P. & Tyers, M. (2004) *Curr. Biol.*, 14, R1014–1027.
- 5) Newport, J. & Kirschner, M. (1982) *Cell*, 30, 675–686.
- 6) Edgar, B.A., Kiehle, C.P., & Schubiger, G. (1986) *Cell*, 44, 365–372.
- 7) Wuhr, M., Chen, Y., Dumont, S., Groen, A.C., Needleman, D. J., Salic, A., & Mitchison, T.J. (2008) *Curr. Biol.*, 18, 1256–1261.
- 8) Hara, Y. & Kimura, A. (2009) *Curr. Biol.*, 19, 1549–1554.
- 9) Brown, K.S., Blower, M.D., Maresca, T.J., Grammer, T.C., Harland, R.M., & Heald, R. (2007) *J. Cell Biol.*, 176, 765–770.
- 10) Mogilner, A., Wollman, R., Civelekoglu-Scholey, G., & Scholey, J. (2006) *Trends Cell Biol.*, 16, 88–96.
- 11) Dumont, S. & Mitchison, T.J. (2009) *Curr. Biol.*, 19, R749–761.
- 12) Gotta, M. & Ahringer, J. (2001) *Nat. Cell Biol.*, 3, 297–300.
- 13) Carvalho, A., Desai, A., & Oegema, K. (2009) *Cell*, 137, 926–937.

木村 暁

(国立遺伝学研究所 新分野創造センター
細胞建築研究室)

Quantitative biology on the size of cellular architectures
Akatsuki Kimura (Cell Architecture Laboratory, National Institute of Genetics, Yata 1111, Mishima, Shizuoka 411-8540, Japan)

コリンキナーゼアイソザイムの機能

1. はじめに

ホスファチジルコリン (PC) は動物の細胞膜を構成する主要なリン脂質であるとともに、リポタンパク質や胆汁などの構成成分としても重要であり、その産生および分解がコレステロール等を含めた個体全体の脂質代謝に影響をおよぼすことが示されてきた¹⁾。図 1 に示すように PC の生合成経路には CDP-コリン経路と、ホスファチジルエタノールアミン (PE) メチル化経路の二つが存在する。後者は PE メチルトランスフェラーゼ (PMT) によって PE に三つのメチル基が付加されることにより PC が産生される、肝臓に特異的な経路である。他の臓器での主な PC の生合成はもう一方の CDP-コリン経路を介して行われ、コ