

細胞膜と細胞質における 2つの極性形成メカニズムへのアプローチ

中原智弘 (Tomohiro Nakahara), 李聖林 (Sungrim Seirin-Lee)

広島大学大学院 理学研究科 数理分子生命理学専攻

Department of Mathematical and Life Sciences,

Graduate School of Science, Hiroshima University

1 はじめに

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物質を左右非対称に局在させ、それぞれの娘細胞に異なる物質を受け継がせることで異なる機能を持った娘細胞を生む。このような局在は細胞極性と呼ばれ、細胞極性は娘細胞の大きさや運命を決定するため極めて重要なプロセスである。

そのためこれまでも細胞極性メカニズムの研究は多くされており、モデル生物としてショウジョウバエや線虫がよく用いられてきた。線虫の受精卵は非対称細胞分裂を行う際様々なたんぱく質を非対称に局在させる。細胞膜においては PAR たんぱく質が極性を形成し、細胞質においては MEX-5/6 が極性を形成することが知られている [1]。この極性は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取る前には Anterior たんぱく質 (PAR-3, PAR-6, PKC-3) と Posterior たんぱく質 (PAR-1, PAR-2)、そして MEX-5/6 は細胞膜と細胞質で一様に分布している。そこに精子からのシグナルを受けることで極性形成は始まり、細胞膜において Anterior たんぱく質は分布を狭め、逆に Posterior たんぱく質は細胞膜へと広がり、だいたい細胞の大きさの半分のところまで到達する (図 1)。Anterior たんぱく質が局在する方が前方、Posterior たんぱく質が局在する方が後方となり、MEX-5/6 は細胞質において前方に局在する。この局在は分裂が始まるまで保たれる。細胞膜での PAR 極性と細胞質での MEX-5/6 の極性が形成される際に、細胞膜と細胞質では移流がおきている。細胞の表層では後方から前方への移流が、それが渦を巻くようにして細胞の中央では前方から後方への移流が起きる [2]。

細胞膜での PAR 極性と細胞質での MEX-5/6 の極性は相互に制御し合うことでロバストに形成されることが実験から明らかになっている [3]。しかし多くの理論研究では細胞膜の PAR たんぱく質にのみに注目しており、PAR たんぱく質と MEX-5/6 の相互作用については考慮していない。また、移流の影響について考察している今までの理論研究は、空間 1 次元の数値モデルによって記述されており移流の正確な影響を捉えることは難しい。

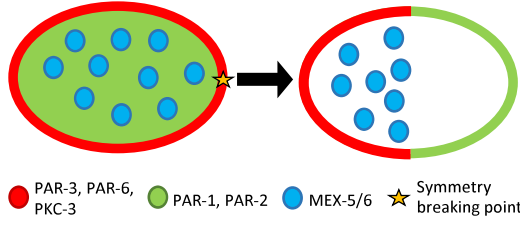


図1 細胞膜と細胞質での極性

そこでこの研究ではまず、PAR たんぱく質と細胞質たんぱく質である MEX-5/6 を同時に考察することのできる高次元数理モデルを構築する。さらに、構築したモデルと 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。そうすることで PAR たんぱく質と MEX-5/6 たんぱく質の相互作用、さらに移流のダイナミクスをより正確にモデルに取り込みどのように極性形成に影響するのかについて考察する。

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。

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

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 [4]、 $[M_f]$ 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単位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 [1]。 $F_{\text{on}}^A(\mathbf{x}, t), F_{\text{on}}^P(\mathbf{x}, t)$ 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。これらの関数については [5] で用いられた形を用いる。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。特に MEX-5/6 は Anterior たんぱく質の細胞質から細胞膜への移動を抑制すると言われているため、 $F_{\text{on}}^A(\mathbf{x}, t)$ には MEX-5/6 の抑制効果が反映されている。PAR たんぱく質は MEX-5/6 を直接的にリン酸化、間接的に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 [1]。 $G_f(\mathbf{x}, t), G_s(\mathbf{x}, t)$ 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り、それぞれ Anterior たんぱく質と Posterior たんぱく質の濃度依存関数で与えられる。

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ト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 [2]。 $\mathbf{v}_m(\mathbf{x}, t)$ 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 [6] 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。

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

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)。

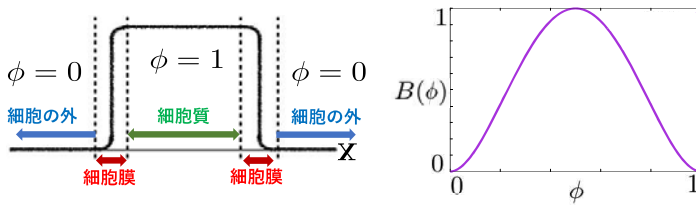


図 2 ϕ と $B(\phi)$ に関する図

3 結果

構築した数理モデルを用いて、同時に形成される細胞膜での PAR 極性と細胞質での MEX-5/6 極性について得ることができた (図 3)。

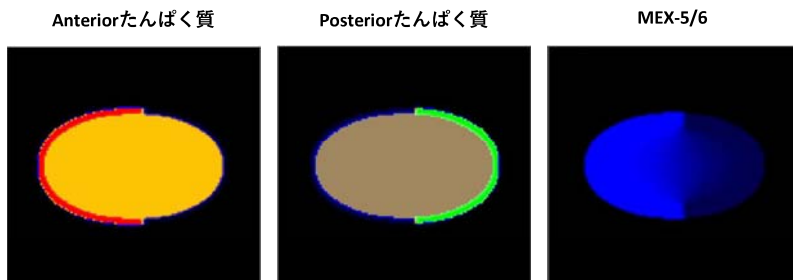


図 3 数値計算から得られた細胞極性

次に細胞質たんぱく質である MEX-5/6 の拡散の大きさが細胞膜での PAR 極性形成の時間スケールに影響し得ることがわかった (図 4A)。MEX-5/6 の拡散が小さい時には拡散が大きい時に比べて、Posterior たんぱく質は細胞膜上を速く広がった。これは、MEX-5/6 の拡散が小さい場合には MEX-5/6 は細胞膜周辺にとどまりやすく、Anterior たんぱく質への抑制効果が強く働いたことが影響したと考えられる。一方で、時間が十分にたつと PAR 極性に違いが見られなくなったことから、MEX-5/6 の拡散の大きさは PAR 極性の最終的なドメインのサイズには影響しない事がわかる。

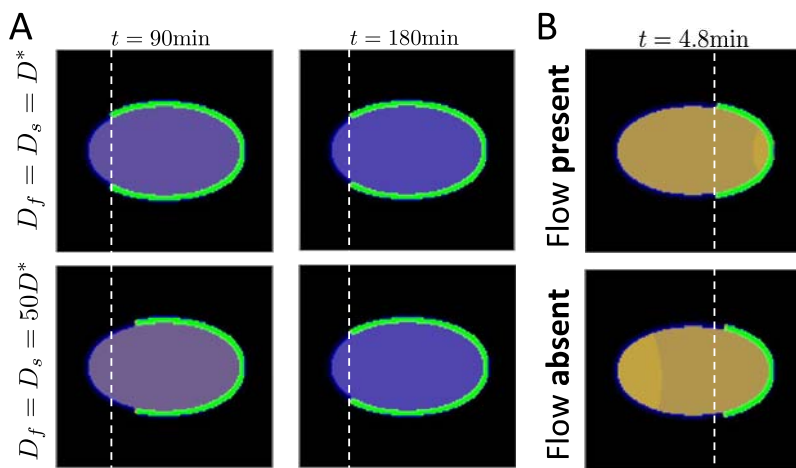


図 4 PAR 極性のタイムスケールに影響するもの ((A): MEX-5/6 の拡散係数を変えた時の PAR 極性、 (B): 移流が起きる場合と起きない場合の PAR 極性の比較)

さらに移流も極性形成の時間に影響する事がわかる (図 4B)。Posterior たんぱく質は移流が起きる場合には、起きない場合に比べて速く細胞膜上を広がった。ただし移流が起きない場合でも PAR 極性は形成されており、移流は細胞極性の形成において補助的な役割を持つ事がわかる。

4 おわりに

近年、PAR たんぱく質だけでなく細胞質たんぱく質である MEX-5/6 にも注目が集まっており、MEX-5/6 の極性形成メカニズムが実験と理論の融合的アプローチにより解明されつつある。それらの研究と異なる本研究の特徴は MEX-5/6 の極性形成と細胞膜での PAR 極性形成を同時に考察できる数理モデルを構築した点である。本稿では、MEX-5/6 の拡散の大きさが細胞膜の PAR 極性形成の時間に影響する事、さらには移流が極性の形成時間を短くする補助的な役割を持つことを示した。MEX-5/6 極性のメカニズム、MEX-5/6 の PAR 極性形成における役割についての理論的結果に関しては特に MEX-5/6 に注目している [7] を参考されたい。

参考文献

- [1] Carsten Hoege and Anthony A. Hyman. Principles of PAR polarity in *Caenorhabditis elegans* embryos. *Molecular Cell Biology* 14, 2013, 315-322.
- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] Sungrim Seirin-Lee, Tatsuo Shibata. Self-organization and advective transport in the cell polarity formation for asymmetric cell division. *Journal of theoretical biology*, 2015, 382: 1-14.
- [6] 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 computational biology*, 2017, 13.1: e1005354..
- [7] Tomohiro Nakahara, Sungrim Seirin-Lee. Role of cytoplasmic protein MEX-5/6 on cell polarity formation of asymmetric cell deviation, *submitted*.