

線虫 *C. elegans* 発生過程のシステム解析

慶應義塾大学大学院理工学研究科

○大浪 修一

A systems biology study on *C. elegans* embryogenesis

Shuichi Onami

Graduate School of Science and Technology, Keio University

The project intends to analyze *C. elegans* embryogenesis using approaches of systems biology. We developed a system that systematically inactivates genes in *C. elegans* embryos using RNAi and quantitatively measures cell division patterns of these embryos using image processing. Using this system, we analyzed approximately half of all *C. elegans* genes whose RNAi results in complete embryonic lethality. We also developed procedures that computationally analyze these division pattern data. A combination of these data, computer simulations and cell biology experiments determined the mechanism that specifies the position of the nucleus in very early embryos.

1. はじめに

生物とは、各生物に固有の遺伝情報により決定される時間的空間的に動的なシステムである。近年のゲノム科学研究の成功により、多種の生物において遺伝情報の実体であるゲノム DNA 配列が明らかにされた。これらの情報を利用して、蛋白質のアミノ酸配列や、転写調節シグナルといった、動的システムの個々の部品の構造に関する情報が現在急速に蓄積してきている。生物学の次の大きな挑戦は、これら個々の部品が全体として作る動的なシステムの機構を明らかにし、動的システムの性質を理解することである。

時間的空間的に動的なシステムを理解するためには計算機シミュレーションを活用した研究戦略が効果的である。対象とする動的システムに対するモデルを作成し、そのモデルに基づいた計算機シミュレーションの結果と現実の動的システムの挙動とを比較することで、作成したモデルの妥当性を検証する。また、このようにして妥当性が検証されたモデルについて様々な条件で計算機シミュレーションを行い、動的システムが持つ性質を理解する。このような計算機シミュレーションを活用した研究戦略の実現のためには、「対象とする動的システムの挙動の定量的な測定」と「動的システムの計算機シミュレーション」の2つの技術が必須である。

多細胞生物の発生は胚の構造の時間的空間的な変化と、遺伝子発現/機能の時間的空間的な変化が相互作用し進行する時間的空間的に動的な過程である。我々は、本研究課題の開始前に、線虫 *C. elegans* 初期胚の細胞分裂パターンを定量的かつ客観的に測定する技術の開発と、初期胚の細胞構造を計算機シミュレーションする技術の開発に成功していた[1]。これらの技術を活用すれば、*C. elegans* 初期胚の細胞構造の時間的空間的な変化の機構と機能の解明が可能となり、*C. elegans* および他の多細胞生物の発生機構の解明が飛躍的に進展することが期待された。

そこで本研究課題では、我々が開発した *C. elegans* 初期胚の細胞分裂パターンの測定技術と初期胚の細胞構造の計算機シミュレーション技術を活用し、時間的空間的に動的な多細胞生物の発生機構を解明する新しい研究戦略の確立を目標とした。

2. 研究開発の成果概要

2.1 4次元ノマルスキー微分干渉顕微鏡画像を用いて *C. elegans* 初期胚の細胞分裂パターンを測定する装置の開発

我々が本研究課題の開始前に開発した *C. elegans* 初期胚の細胞分裂パターンの測定装置を改良した[2]。全操作の GUI 化を行い装置の操作を簡略化し、測定アルゴリズムの改良により誤測定の頻度を大幅に低減した。その結果、計算機科学の専門家でない研究補助員による装置の操作が可能となり、大規模な細胞分裂パターン解析に本装置を適用することが可能となった。

2.2 遺伝子機能を阻害した *C. elegans* 初期胚の細胞分裂パターン解析

線虫の全遺伝子を対象とした RNAi の表現型解析により、RNAi を用いた遺伝子機能の阻害により100%の胚致死表現型を示す遺伝子が線虫には411遺伝子存在することが分かっている。その約60%の240遺伝子について、RNAi による遺伝子機能の阻害を実施し、初期胚の細胞分裂パターンを測定した(図1A)。遺伝子機能を阻害した初期胚の細胞分裂パターンデータから細胞分裂の特徴量を抽出し計算機科学的に解析する手法を開発した(図1B)。これらの手法を用い、機能阻害により細胞分裂のタイミングあるいは胚内の細胞の空間配置のいずれかのみに関連する異常を生じる遺伝子等、機能阻害により興味深い細胞分裂パターンの異常を生じる遺伝子を10種以上検出した。これらのデータを公開するための web サイトを作成した。

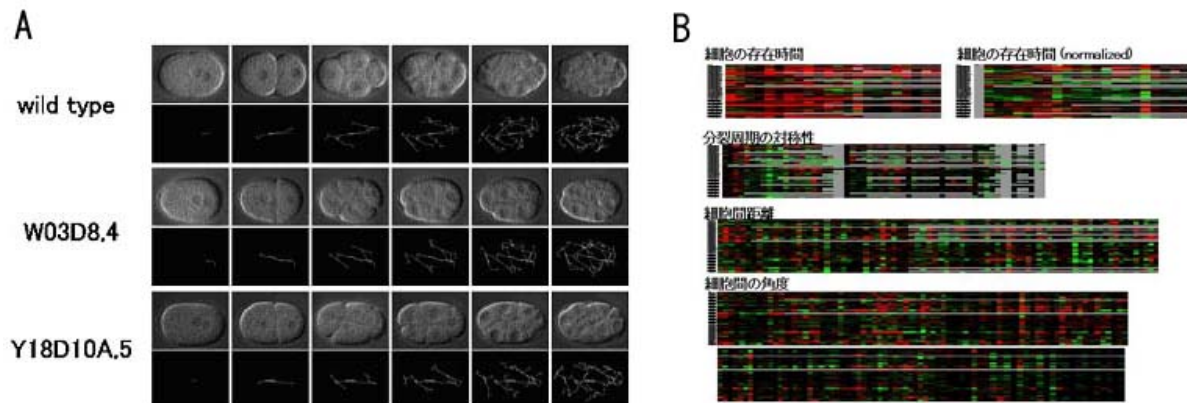


図1 遺伝子機能を阻害した *C. elegans* 胚の細胞分裂パターン解析
(A) 標的遺伝子(左列)を RNAi により機能阻害した *C. elegans* 初期胚の 4 次元 DIC 顕微鏡画像と細胞分裂パターンの測定の一部 (B)細胞分裂パターンデータから抽出した細胞分裂の特徴量

2.3 遺伝子機能を阻害した株の大規模遺伝子発現量データより最少数の制御関係で構成される符号付有向グラフで構成される遺伝子ネットワークを導出する DBRF-MEGN 法の開発

遺伝子機能を阻害した *C. elegans* 胚の細胞分裂パターンデータを解析するアルゴリズムの基礎技術の開発のために、遺伝子機能を阻害した株の大規模遺伝子発現量データ(マイクロアレイデータ)の解析

手法を開発した。我々が以前開発した DBRF 法を改良し、細胞生物学や遺伝学で一般に使用されている規則と同じ規則で遺伝子制御ネットワークを導出する実用的な手法の開発に成功した[3]。本手法が大規模な遺伝子発現量データに適用可能であること、導出されたネットワークの信頼性が高いこと、導出されたネットワークの応用性が高いことを265種の遺伝子に対する遺伝子機能欠失株の遺伝子発現量データを用いて実証した。

2.4 テロメアが相同染色体の対合に及ぼす直接的役割とその機構に関するシミュレーション解析

細胞構造の時間的空間的な変化の機構と機能を解析する計算機シミュレーションを活用した手法の確立のため、分裂酵母の相同染色体の対合過程におけるテロメアおよび核運動の機能を解析した[4]。計算機シミュレーションを用いた解析により、テロメアクラスタは各対合部位の運動の自由度を制限することにより、相同染色体の対合過程を促進することが示された。また、核運動は対合部位の運動の自由度を更に制限することにより、テロメアクラスタによる対合過程の促進効果を増強することが示された。細胞構造の時間的空間的な変化の機構と機能の解明のために、計算機シミュレーションが効果的であることが示された。

2.5 線虫 *C. elegans* における雄性前核の移動機構についてのシミュレーションと定量計測を用いた解析

細胞構造の時間的空間的な変化の機構と機能を解析する計算機シミュレーションを活用した手法の確立のため、*C. elegans* の雄性前核の受精卵中央部への移動機構を解析した[5]。雄性前核の受精卵中央部への移動機構は雄性前核に付着した中心体から伸長する微小管が細胞膜を押し「押しモデル」とそれら微小管が細胞質に引かれる「引きモデル」の2つのモデルが提唱されていた(図2A,2B)が、2つのモデルによる雄性前核の移動様式には定性的な差があることを計算機シミュレーション解析は見出した(図2C, 2D)。細胞分裂パターン測定装置を用いた *in vivo* の雄性前核の移動様式の客観的かつ定量的な測定(図2E)により、*in vivo* の雄性前核の移動様式は引きモデルの特徴を持つことが示され(図2F)、*in vivo* の雄性前核の移動は主に引きモデルの機構に依存することが示された。計算機シミュレーションと画像処理を用いた客観的・定量的な測定を活用した新たな細胞生物学の研究戦略の確立に成功した。

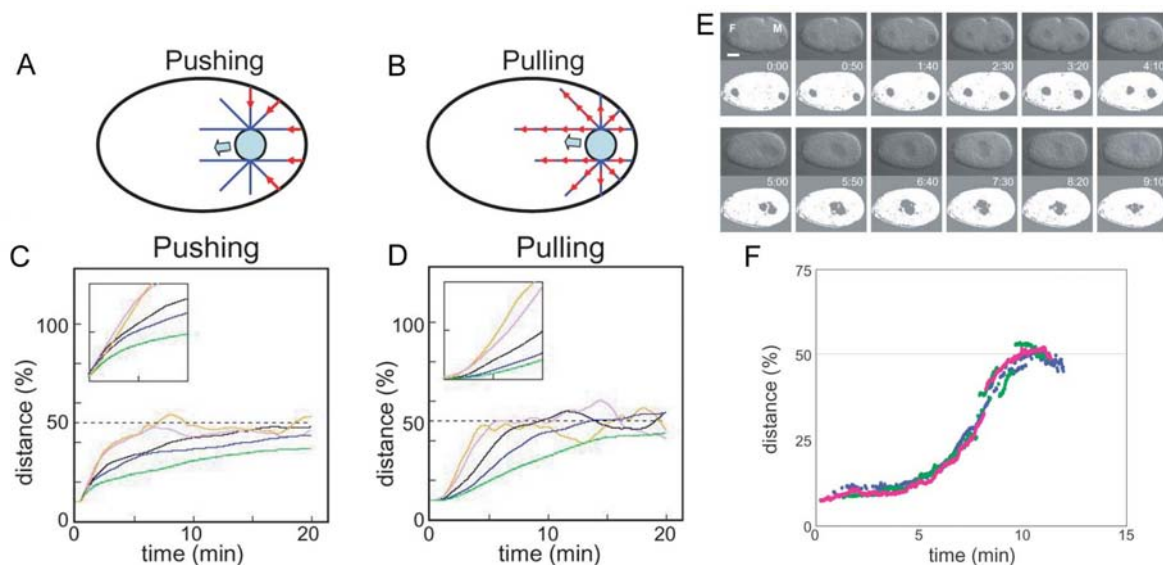


図2 計算機シミュレーションおよび *in vivo* の雄性前核の移動の距離-時間グラフ
 (A) 押しモデル。(B)引きモデル。(C)押しモデルで計算機シミュレーションした雄性前核の移動における時間経過と受精卵の後極からの距離の推移(距離-時間グラフ)。(D)引きモデルで計算機シミュレーションした場合の距離-時間グラフ。(E)画像処理を用いた雄性前核の核の客観的測定。(F)*in vivo* の雄性前核の移動の距離-時間グラフ。

3. まとめ

本研究課題では、遺伝子の機能と胚の構造の時間的空間的な変化を関連付ける客観的かつ定量的な測定データという世界に他に類を見ない独創的なデータを大量に蓄積することに成功した。また、これらのデータを計算機科学的に解析する手法を開発し、胚発生の時間的空間的な制御に機能していることが予想される遺伝子群の導出に成功した。さらに、計算機シミュレーションと画像処理を利用した定量的かつ客観的な形態の測定を利用し、胚や細胞の形態の時間的空間的な変化の機構と機能を解明する新しい細胞生物学の手法/戦略の確立に成功した。このようなデータや手法/戦略は時間的空間的に動的なシステムの解明を目指す今後の発生生物学、細胞生物学において、中心的なデータや手法/戦略になるものと考えている。本研究開発での経験を生かし、今後も新規データの取得、新規測定装置の開発、新規解析アルゴリズムの開発、そして新規研究戦略の開発を続けて行きたいと考えている。

4. 研究開発実施体制

代表研究者 大浪修一(慶應義塾大学大学院理工学研究科)

研究開発題目

(1) 線虫 *C. elegans* 発生過程のシステム解析

グループリーダー 大浪修一(慶應義塾大学大学院理工学研究科)

5. 参考文献

- [1] S. Onami et al., "Automatic acquisition of cell lineage through 4D microscopy and analysis of early *C. elegans* embryogenesis." In *Foundations of Systems Biology*, H. Kitano Ed., The MIT Press, Cambridge, Massachusetts, USA, pp. 39-55 (2001).
- [2] S. Hamahashi et al., "Detection of nuclei in 4D Nomarski DIC microscope images of early *Caenorhabditis elegans* embryos using local image entropy and object tracking." (submitted).
- [3] K. Kyoda et al., "DBRF-MEGN method: an algorithm for deducing minimum equivalent gene networks from large-scale gene expression profiles of gene deletion mutants.", *Bioinformatics*, 20(16), 2662-2675 (2004).
- [4] M. Morohashi et al., "The role of telomeres in homologous chromosome pairing predicted by simulation." (submitted).
- [5] A. Kimura and S. Onami, "Computer simulations and objective in vivo measurements reveal length-dependent pulling force as the primary mechanism for male pronuclear migration in *Caenorhabditis elegans*." (submitted).