

研究報告書

「人工遺伝子回路を利用して発生現象に迫る」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 23 年 12 月～平成 27 年 3 月

研究者: 石松 愛

1. 研究のねらい

生物の発生過程では、多くの細胞の協調により、さまざまな擾乱に対して安定なパターン形成が行われる。パターン形成に大きな影響を与えうる擾乱のひとつに、システムサイズの変化が考えられる。特に、発生場のような、限られた数の細胞からなる小さなスケールのシステムでは、その影響は無視できないものと考えられる。最近の研究により、個体間・種間でのサイズの違いに対して、アウトプットであるパターンがどのように保たれるか、というスケーリング問題に対していくつかのメカニズムが明らかになってきている。一方でシステムサイズは、個体間・種間の違いにとどまらず、発生や成長の進行、外的な要因など、さまざまな状況で変化しうる。さまざまなタイプのシステムサイズの変化に対し、システムは常に同様のアウトプットを示すのか、またその安定性はどのように補償されるのか、といった問いは重要でありながら解明が進んでいなかった。

本研究では、ゼブラフィッシュの体節形成をモデルケースに、システムサイズの変化とそのアウトプットについて、イメージング・擾乱実験・数理モデルを組み合わせることで明らかにしようとした。体節は、背骨などのもとになる、繰り返し構造をもつ組織であり、PSM という未分節の組織が、一定時間おきに一定サイズでくびれきれることによって形成される。この時空間的な周期性は、PSM 内で働く時計遺伝子が示す時空間構造によって規定されることが知られている。PSM サイズが個体差・発生の進行によって変化するとき、時計遺伝子の時空間構造や体節サイズはどのような応答を示すのか、またそのメカニズムはどのようなものなのかについて、「初期サイズに対するスケーリング」に着目した研究を行った。

2. 研究成果

(1) 概要

生物のパターン形成において、システムサイズとそのアウトプットの関係は重要な問題でありながらあまり研究が進んでいなかった。本研究では、イメージング・胚操作において利点の多いゼブラフィッシュをモデル生物に選び、背骨などの繰り返し構造のもととなる体節の形成過程に着目した。さまざまな要因で体節原基(PSM)サイズが変化した場合の、体節およびその形成を司る生物時計の時空間パターンの応答を調べた。

自然界における PSM のサイズ変化の要因としては、個体差や発生の進行などが考えられる。そこで、これらの要因によって PSM サイズが変化した場合の体節サイズの変化を調べたところ、PSM サイズ変化の要因によって異なる結果を得た。すなわち、個体差による PSM サイズ変化に対して体節サイズは PSM/体節サイズの比率を保って変化する(スケーリング)のに対し、発生の進行に伴う PSM サイズ変化に対して体節サイズはスケーリングせずほぼ一定に

保たれたのである。さらに、体節形成過程の途中で、人為的に PSM サイズを縮小させても、体節サイズは変化しないという実験結果も得た。以上から、体節サイズは、PSM の「初期サイズ」に対してスケーリングする、ということが明らかになった。

次に、体節の初期サイズに対するスケーリングを説明するロジックを考察するため、体節形成を説明する新たな数理モデルを考案した。このモデルでは、振動数および結合強度の異なる 3 種類の振動子集団からなるシステムを考える。このモデルは、振動子集団間の境界の効果により、特殊な前提を置くことなく、PSM サイズに対する体節サイズのスケーリングが自然に説明できる。また、体節形成に伴う集団間の境界位置の変化を考慮に入れることで、スケーリングが初期サイズのみ依存して起こるという現象を説明できることがわかった。

本研究では、システムサイズとそのアウトプットの関係として、「初期サイズに対するスケーリング」という新しい現象を発見した。これは、体節形成にとどまらず、生物のパターン形成において普遍的に見出される可能性のある現象である。

(2) 詳細

個体差および発生の進行に伴う PSM サイズの変化に対して、体節サイズがどのように変化するかを調べた。まず、個体差による PSM サイズ変化の効果を調べるため、人為的に胚サイズを縮小させる技術を開発した。また、体節・PSM サイズを正確に定量するため、18 個体を同時に制御温度下でタイムラプスイメージングできる、ハイスループットライブイメージング装置を確立した。このイメージング装置を用いて、対照胚および縮小胚をタイムラプスイメージングし(図 1a)、その PSM サイズと体節サイズの定量を行った(図 1b)。その結果、個体間で PSM サイズが異なる場合には、体節サイズは PSM サイズにスケーリングすることが明らかになった。

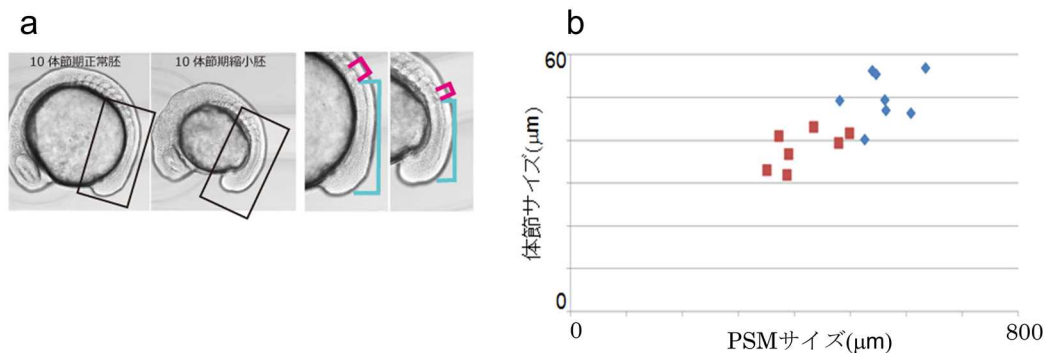


図 1. サイズ縮小胚作成技術と個体間での体節スケーリング。a. 対照胚と縮小胚の PSM (青枠) と体節 (赤枠)。b. 対照胚 (青) と縮小胚 (赤) における PSM と体節サイズの定量。

同様の計測手法を用いて発生段階を追った計測も行い、この場合には、PSM サイズが変化するにもかかわらず体節サイズはほとんど変化しないことを見出した。さらに、実験的に PSM サイズを変えた場合にも、体節サイズは変化しなかった。以上から、体節サイズは、PSM の「初期サイズ」に対してスケーリングする、ということが明らかになった。

初期サイズに対するスケーリングは、これまでに報告のない現象であり、モデリングもチャレンジングなものであるが、結合振動システムに動的な境界を考慮することで、大部分が説明できることが明らかになりつつある。

3. 今後の展開

本研究によって、スケーリングに関する新たな知見を得た。今後は、数理モデルと実験の緻密なフィードバックによる、メカニズムの解明を第一に行う。また、発生におけるパターン形成にとって、初期サイズスケーリングは安定性という観点からのメリットが大きく、他の組織でもおこっている可能性が高い。さまざまな組織におけるスケーリングのパターンを網羅的に記載し、その背後に潜む普遍性を見出したい。また、メカニズムを探る際に必須となる、合成生物学的アプローチに関しても、今後取り組む所存である。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

体節におけるシステムサイズの問題について、初期値依存性スケーリングという、当初の期待以上の発見をすることができた点は高く評価したい。一方で、ゼブラフィッシュを使った合成生物学はこれからの課題である。研究の進め方については、研究場所の海外への異動という選択により、研究が飛躍的に進んだ。異動にかかった費用を鑑みても価値のある異動であった。

ゼブラフィッシュという高等多細胞生物を用いて、イメージングをハイスループットかつ定量的に行う研究は現在でも数少ない。本研究の発展の先には、細胞抽出液や培養細胞では行えないような、空間多次元データに基づく遺伝子・薬剤スクリーニング技術といった技術革新を見据えている。また、基礎科学の面でも、発生学のもっとも本質的な問題である「サイズと形」に新たな視点で切り込めたのは意義深く、今後もそのバリエーション・普遍性を探求したい。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

さきがけ期間中に、海外への移動というイベントがありながら、体節サイズは、PSMの「初期サイズ」に対してスケーリングする、「初期値依存性スケーリング」という事象を見出したことは、大きい成果と評価します。この事象をもとに、分子をスクリーニングして、その本体の物質が何かを突き止めていただきたい。

その同定した物質が、ゼブラフィッシュの体節形成にとどまらず、生物のパターン形成において、普遍的に見出される物質かどうかは、大変、興味深い研究対象になります。その過程での体節形成を説明する数理モデルについては、慎重に進めていただきたいと思います。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. 現在、執筆中。

(2) 特許出願

特になし

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)