



微生物における細胞制御の統合的理解

東京工業大学科学技術創成研究院・化学生命科学研究所 田中 寛

はじめに

すべての生物は細胞から成り立ち、細胞は生命が生命であるための特性を全て備えた基本単位である。それゆえ細胞が単独で生きる微生物、それも原核細胞であるバクテリアは生命の基本を理解するに最適な材料であろう。筆者が研究畑に入った1980年代後半にはセントラグドグマは既に前提とされ、基本的な組換えDNA技術も概ね完成、Sanger法の力を得て多くの遺伝子のDNA塩基配列が明らかにされつつあった。その中で、筆者は細胞の運命が決定される仕組みに興味を惹かれ、バクテリアにおける遺伝子発現、特にその最初の段階である転写調節の研究を開始した。それから40年近く、細胞がどのように外環境の変化に反応するのか、また、反応する細胞の実体たるシステムとは何かについて考えてきた。外界の変化がどのように認識され、遺伝子発現を介した適応や細胞運命の決定に至るのか、研究成果とそれを踏まえた筆者自身の理解について述べる。

1. 2段階構えの環境適応：環境変化への応答と馴化

1-1. バクテリアの環境応答スキーム：シアノバクテリア

外環境の変化はそれぞれの変化に特異的なセンサーに感知され、一定のシグナル伝達系を経て主に転写段階で遺伝子発現の変化を誘起する。バクテリアではHisキナーゼとレスポンスレギュレーター（多くは転写因子）からなる二成分制御系や、リガンドを直接に認識する転写因子群がこれに中心的に関わる。筆者の研究では、酸素発生型光合成を行うシアノバクテリアを材料とし、二成分制御系Hik2-Rrelによる熱ショック応答、NblS-RpaBによる低温・強光応答、転写因子NtcAが炭素/窒素同化の交点となる2-オキソグルタル酸を認識して窒素同化関連遺伝子のマスタースイッチとなること等を明らかにしてきた。

1-2. 環境変化への応答と馴化

シグマ因子はRNAポリメラーゼ (RNAP) のサブユニットであり、プロモーター配列の認識と転写開始反応に必須の因子である。従来から、一つの細胞が持つシグマ因子には複数種あるものの、“コンセンサス型プロモーター”を認識する唯一種の主要シグマ因子が細胞内におけるトランスクリプトームの大枠を決めていると考えられてきた。実際、シグマ因子には主要シグマ因子以外にも多くの置換型シグマ因子が知られるが、これらはストレス応答や細胞分化の際に比較的少数の遺伝子活性化に関わっている。ところがこれに対して、筆者は大腸菌や放線菌、シアノバクテリアなど様々なバクテリアが、主要シグマ因子に加えて特異性のよく似たシグマ因子群（グループ2、もしくは主要型シグマ因子群）をもつことを発見した。大腸菌のRpoS、放線菌のHrdシグマ因子群などはこの例である。これらシグマ因子は上述の特異的な環境応答系の作るネットワークの制御下にあり、大規模にゲノム全体のトランスクリプトーム



図1 バクテリアにおける環境応答の流れ。環境変化やストレスはまず特異的な制御系により直接応答を引き起こす。この初期応答は二次的に、より大規模なプロテオームレベルの変化を引き起こし、細胞のデフォルト値を再設定して変化した環境に馴化した細胞状態を作り出す。

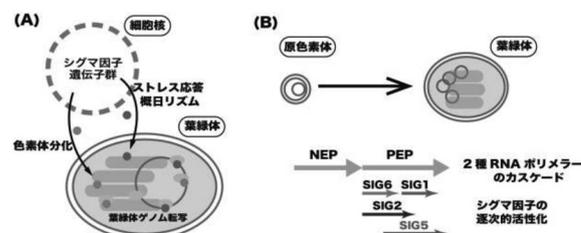


図2 核ゲノムにコードされたシグマ因子による葉緑体転写調節。(A) ストレスや概日リズムにより葉緑体転写をコントロールするだけでなく、(B) 葉緑体分化における逐次的な遺伝子発現調節にも関わっている。

を変化させることで、変化した環境にそもそも適した細胞状態を作り上げる(図1)。これは、環境変化への応答に引き続く“環境馴化”と考えられる。筆者の研究ではこのような2段階構えの環境適応をバクテリアで明らかにしたが、同様の環境適応の流れは生物種を超えた一般的な機能とも考えられる。

2. 葉緑体の転写装置：進化と機能構築

2-1. 葉緑体シグマ因子

バクテリアの主要シグマ因子間での保存配列を用い、藻類や植物の核ゲノムにコードされる葉緑体シグマ因子群を発見した(図2)。葉緑体の起源は太古の昔に細胞内共生したシアノバクテリアと考えられ、現在もシアノバクテリアに近縁なゲノムを保持している。葉緑体ゲノムにバクテリア型RNAPコアサブユニット群がコードされる一方で、シグマ因子遺伝子は葉緑体ゲノムからは見つかっていなかった。そこで筆者はシグマ因子は核ゲノムにコードされると確信し、集中的に検索した結果として世界初の同定に成功したものである。近年の植物ゲノム解析による知見からも、葉緑体シグマ因子は例外なく核ゲノムにコードされ、細胞質で翻訳された後に葉緑体に輸送されて機能することが示されている。最近、この細胞核による葉緑体転写コントロールの図式が、二次共生葉緑体由来するマラリア原虫のアピコプラストでも同様であることを示すことができた。関連する制御機能は抗マラリア薬の開発標的になる可能性があり、創薬の観点からも重要な発見と考えている。

2-2. 葉緑体転写装置と環境応答・分化

多くの藻類、植物で複数種の葉緑体シグマ因子が核ゲノムにコードされており、葉緑体の環境応答や分化に関連することが想定される。実際、シロイヌナズナに見出された6種葉緑体シグマ因子のうち、SIG5は強光や低温で誘導され、光化学系IIの修復に関わっていた。さらにSIG5はこのようなストレス条件だけでなく、細胞核による概日時計の情報を葉緑体に伝える役割も果たしていた。また、SIG2は葉緑体ゲノムにコードされるtRNA遺伝子群の転写を活性化し、葉緑体分化時に翻訳やテトラピロール合成を活性化している。維管束植物の葉緑体ゲノム転写にはシアノバクテリア型のPEPの他、ミトコンドリア由来のNEPと呼ばれるRNAPが関わる。筆者らの研究により、葉緑体分化におけるこれら2種RNAPの逐次的活性化、さらにPEPの機能分化にもシグマ因子群が深く関わることを明らかにすることができた(図2)。

3. 細胞共生と真核細胞の構築

3-1. 単細胞紅藻シゾン

植物の葉緑体に比べて、原始的な藻類の葉緑体では祖先シアノバクテリアに近い制御構造が多く残されている。ここから、最も原始的な藻類を研究することで細胞共生の仕組みに迫ろうと考え、極めて単純な細胞構造をもつ単細胞紅藻「シゾン」ゲノムプロジェクトに参画した。そして、その後のシゾン解析系の構築にも尽力し、現在ではシゾンは核ゲノムの相同組換えによる形質転換など、藻類研究の基礎応用を通じてのモデル系として確立されるに至っている。

3-2. 葉緑体の確立と植物光依存性の起源

植物細胞の起源は、シアノバクテリアが特定の真核細胞に細胞内共生して葉緑体となった瞬間にあるといえる。しかし、独立に生きていた異なる細胞が、どのように一つの細胞として振る舞うように進化できたのだろうか。この疑問に上記シゾンを材料として取り組んだ。シゾン細胞には葉緑体やミトコンドリアをはじめとするオルガネラが一つずつしか含まれず、オルガネラ間の相互作用を解析するために最適な材料といえる。シゾン細胞内で、葉緑体やミトコンドリアのゲノムは必ず核ゲノムに先んじて複製する。この仕組みの解析を行なった結果、葉緑体ゲノムの複製と共役して葉緑体から放出されるテトラピロール中間体(MgProto)により、核ゲノム複製開始(G1/S)のチェックポイントが解除されることが明らかになった。暗所では細胞周期開始に必要なサイクリンが特異的にユビキチン化されて分解されている。明所では葉緑体DNA複製が活性化されることで、MgProtoシグナルによりこのユビキチンリガーゼが抑制されて細胞周期が進行する。暗所ではシアノバクテリアに由来する葉緑体は複製できない。もしそこで宿主細胞が増殖すると最終的には共生が解消してしまう。それを防止するために進化した仕組みにより、藻類・植物の増殖が光を必要とするという基本的な性質が作り出されたのだと考えられる。

4. 重層的な細胞システム制御の理解に向けて

真核細胞はバクテリアとアーケアの細胞共生から誕生したと考えられており、そのバクテリアはミトコンドリアとしてオルガネラとなり、細胞内で固有の複製サイクルを維持しつつも、

新しく進化した細胞核との間で階層的な制御構造を作りあげている。バクテリアのような原核細胞でも、古くから微生物生理に基づく分類学では、細胞のエネルギー獲得形式(異化・光合成明反応など)と、同化・生合成の出発点となる炭素源(独立栄養性・従属栄養性)による体系化がなされてきたが、最近の研究で、これらシステムも細胞内で細胞周期とは独立したそれぞれの作動原理をもち、時には周期的な挙動を示すことが見えてきている。これまでの生物学は細胞を徹底的に分割し、個別に装置の機能解明を進めてきた。今後はそれら部品がどのように生命を成立させているかを解くことになるが、それにはまず上記のような個々のシステムを理解し、それらを積み上げるしかないだろう。現在の研究では、好氣的なエネルギー代謝とリボソーム複製プロセスを中心に、細胞プロセスをいくつかの階層に分割した上で、それらの相互関係・作用から細胞全体の挙動を理解することに注力している。

おわりに

バクテリアの環境応答系の研究を進めるうち、結局は細胞の全体像を理解しない限り、部分の挙動も説明できないと考えようになった。オミクスにより全体の動きが見えるようになってからは尚更である。複雑に過ぎる全体像を捉えるには単純化が必要であり、より単純な生物を探していくと進化のことを考えざるをえない。細胞とは歴史的な経緯を満載した精緻な構築物であり、分割された部品の集合体ではないし、現在の計算機の力をもってしても無数のパラメーターから帰納的に一挙に再構築されるものではないだろう。詳細はもちろん必要で、その上で、それを積み上げて全体を想像するには考える時間が足りないことを痛感している。遅々とした歩みではあるが、微生物を用いた細胞システムの考察を今後とも継続したい。

謝辞 筆者を研究の世界に導いてくださいました齊藤日向先生、直接のご指導をいただきました高橋秀夫先生、研究室の先輩として常に叱咤激励いただき、研究生活を共にさせていただきました河村富士夫先生、吉川博文先生、白井誠先生に深く感謝申し上げます。筆者の研究の発端となったシグマ因子の保存配列発見に関してはRoi H Doi先生に貴重な示唆をいただきました。これまで長きにわたってのご指導ご鞭撻をいただきました石浜明先生、内海龍太郎先生、近藤孝男先生、村田紀夫先生、黒岩常祥先生、黒岩晴子先生、北潔先生、大隅良典先生に御礼申し上げます。また、お名前は一々申し上げきれませんが、これまで共同研究いただきました全ての皆様にここに合わせて御礼申し上げます。本研究は東京大学応用微生物研究所第2研究部(遺伝・育種)、同・分子細胞生物学研究所分子遺伝研究室、千葉大学園芸学部微生物工学研究室、東京工業大学資源化学研究所生物資源部門、同・化学生命科学研究所にて行われたものであり、研究室スタッフとして共に研究を進めていただいた金丸研吾博士、華岡光正博士、今村壮輔博士、小林勇気博士、島田友裕博士、大林龍胆博士、吉田啓亮博士、前田海成博士、大坂夏木博士、多くの研究室員の皆様、大勢の学生諸氏の協力・助力なしには進めることができなかったものです。ここに深く感謝の意を表します。