

枯草菌の孢子形成開始期におけるシグナル伝達

Protein phosphatase による phosphorelay の制御

東京大学大学院農学生命科学研究科 中村 顕

枯草菌は周囲の環境が変化して自己の増殖に適さなくなると、菌体外酵素を生産してデンプンなどのそれまで資化できなかった栄養素を資化しようとしたり、competenceを発達させて外界にあるDNAを取り込んで新たな形質を獲得しようとしたり、あるいは最終手段として、孢子を形成して自己の保存を図る。この孢子形成過程は細胞分化のもっとも単純なモデルとして考えられ、以前から多くの研究がなされてきた。

枯草菌の孢子形成はKinAおよびKinB protein kinaseが、未同定の孢子形成開始シグナルを感知して活性化され、Spo0Fタンパクをリン酸化し、さらにそのリン酸基がSpo0B phosphotransferaseを経由してSpo0Aタンパク質に受け渡されることにより開始される。¹⁾リン酸化Spo0Aタンパク(Spo0A~P)は転写調節因子として、孢子形成初期遺伝子の発現を活性化させるとともに、栄養増殖に関与する遺伝子の発現を抑制する。したがって細胞内Spo0A~P濃度によって、その細胞が栄養増殖を続けるか、あるいは孢子形成へと向かうかが決定されると考えられる。孢子形成開始を制御する要因としては、グルコースなどの栄養源の枯渇、cell cycle、DNA複製、あるいは細胞密度などが考えられているが、これらの要因からどのような形でシグナルが出され、上記のリン酸転移反応(phosphorelay)へと伝えられていくかは明らかになっていない。

上で述べたphosphorelayは孢子形成を正に制御する過程であるが、最近になって負に制御するメカニズムの存在も明らかになってきた。spo0E遺伝子は以前から孢子形成に対する負の調節因子をコードしていることが知られていたが、実際にその産物がSpo0A~Pに対する特異的なprotein phosphataseとして機能することが示された。²⁾Spo0Eタンパクは85アミノ酸からなっており、そのうちのC末端側14アミノ酸を欠失させるとphosphatase活性が約5倍に上昇することが示された。またこの変異を持つ株は、孢子形成欠損の表現型を示した。以上のことから、Spo0EタンパクのC末端側にはその活性を調節する領域があり、この領域を通じてphosphorelayを負に調節する何らかのシグナルを感知するものと考えられている。

Spo0Eとは別のprotein phosphataseをコードする遺伝子として、rapAおよびrapBが同定された。³⁾rapA遺伝子は以前からその変異がspo0L変異として分離されていたが、最近になってクローン化されたものであり、またrapB遺伝子は、現在世界的に進行している枯草菌ゲノムプロジェクトの過程で機能未知の遺伝子として同定されていたものであるが、rapA遺伝子との相同性(約60%が同一のアミノ酸)からrapA遺伝子と同様の機能を持つことが示された。RapAおよびRapBタンパクは、Spo0EタンパクがSpo0A~Pを基質とするのに対して、phosphorelayの中間産物であるSpo0F~Pを特異的な基質とする点で大きく異なっている。RapAとRapBタンパクの間には、機能的な差はほとんど認められないが、遺伝子発現のパターンには差が認められる。したがってこれらのphosphataseの細胞内での活性は、主にそれぞれの遺伝子の発現レベルでコントロールされているものと思われる。

ところが、rapA遺伝子の下流に位置するphrA遺伝子がRapAおよびRapB phosphataseの制御因子をコードしていることが示され、タンパク質レベルでの活性制御も存在することが明らかとなった。⁴⁾PhrAタンパクは44アミノ酸からなるペプチドであるが、分泌された後切断を受け、さらにSpo0K oligopeptide permeaseを経由して再び細胞内に入ってRapAおよびRapB phosphataseの活性を阻害する。

phosphorelayは自己の置かれた環境に由来するシグナルを感知して、孢子形成をオンにするためのシグナル伝達系であると考えられてきたが、複数のprotein phosphataseとさらにその活性を制御する因子の発見により、正負を問わず多様な種類のシグナルを個別に感知して孢子形成の開始を制御する複雑なsignal integration circuitとして捉え直すことができる。今後は個々のシグナルがどのような形のもので、どのようにしてこのcircuitを構成するタンパクへと伝えられるのかを明らかにしていく必要がある。

1) Hoch, J. A.: *Bacillus subtilis and Other Gram-Positive Bacteria*, (Sonenshein, A. L. et al.), p. 747, American Society for Microbiology, Washington D.C. (1993).

2) Ohlsen, K. L. et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 1756 (1994).

3) Perego, M. et al.: *Cell*, **79**, 1047 (1994).

4) Perego, M.: *Eighth International Conference on Bacillus*, p. 13 (1995).