

シゾン研究の意義：今、なぜシゾンか

田中 寛

細胞は細胞から生まれ、さまざまな生命現象は細胞を単位として機能する。このため、細胞システムの理解は従来から生命科学の最も根幹的な目標であった。近年の細胞解析手法の発達は目覚ましい。さまざまなオーム解析に代表されるように、生体分子の動態や相互作用は網羅的に捉えられ、指数的な勢いでデータが蓄積されている。ここから細胞像を再構築するために、これも近年にきわめて強力となったコンピューターが駆使され、細胞制御の全貌解明はもはや時間的问题かとも思われる一方で、調べれば調べるほど逆にその複雑さは浮き彫りにされ、状況は、あたかも情報量の拡大競争のごとくである。ついにはすべてのネットワークを解明できるとする楽観論と、結局は全体像を把握しきれないのではないかという悲観論が拮抗している今日の状況かと思われる。

従来から生物学は「複雑な」生命現象を相手にしてきた学問である。その複雑さを少しでも回避して基本原理を明らかにするために、単細胞のまま一生を終える「微生物」をモデル系とした研究が意識的に進められてきた。特にDNAが遺伝子の本体であることや、そこからRNAを介してタンパク質に流れる情報セントラルドグマの解明には、大腸菌などのバクテリア、そしてそこに寄生するバクテリオファージ群の利用が重要な役割を果たしたことは印象に残る。材料の単純さや均質性、世代時間の短さといった長所がこれら研究の進展には決定的だったのであり、ここで確立された分子生物学がそれ以降の生物学の流れを大きく変えることになったのである。

分子生物学の成功は、DNAに働きかける複製装置や修復装置、また転写や翻訳のマシーナリーがすべての生物に共通性が高く、まさに「大腸菌からゾウまで」が同じプラットフォームで議論し得たことによる。しかし一方で、細胞構造、複製周期やその制御といった観点からすると、大腸菌とゾウでの本質的な違いが際立つ。すなわち、原核細胞と真核細胞の違いである。さらにウーズらにより原核細胞がバクテリアとアーキアとに分けられるに及び、細胞制御の枠組みがバクテリア・アーキア・真核細胞で明確に異なることが明らかになった。ということは、それぞれの細胞は結局、別個に調べていかざるを得ないだろう。筆者らの関心が最も深いヒト、高等動植物などを理解するためには真核細胞を用いた研究が必須で、バ

クテリアをこれ以上見ても先に進めない。それならば単純なモデル微生物系としての酵母を調べればよいだろう。ショウジョウバエ、線虫、マウスなど、さまざまなレベルでの解析に適したモデル生物系の発展と共に、真核細胞生物学が種の壁を越えて発展してきたのが今日の生命科学の主流ということができる。

本特集で扱っているシゾンは真核細胞に含まれる微生物である。酵母という、あらゆる解析ツールの揃った理想的な「モデル真核微生物」があるのだから、今後も、基本原理を追求する細胞研究は酵母に集中していけばよい。これが多くの生物学者の持つ感覚であろう。しかしその中で、筆者らはあえてシゾンが今後の生物学の展開に重要なモデル生物となると考えてきた。細胞共生という概念を中心に据えることで、原核細胞をも統合した「新しい細胞観」が構築できないかというのがその主眼にある。本稿ではその辺の事情について述べてみたい。

シゾンの単純さ（モデル真核細胞としての資質）

シゾンは本特集の前項にもあるように、イタリア、ナポリ近郊の酸性温泉から単離された単細胞紅藻であり、真核細胞として最も単純な構造をもつことが黒岩らに見いだされ、オルガネラ分裂装置研究といった細胞生物学の対象として研究が進められてきた（黒岩の項参照）¹⁾。ハプロイドの非常に小さなゲノムをもち、細胞内で単一の葉緑体、ミトコンドリア、ゴルジ体、ミクロボディーなど、さまざまな細胞構成要素が最小単位からなりたっている。真核細胞は、きわめて複雑な構造をもつものから、このシゾンのようなシンプルなものまできわめて多様な存在として地球上に存在している。その中で、細胞の進化が単純な構造から出発し、次第に複雑な体制を獲得してきたと考えれば、シゾンは真核細胞の起源に近く位置し、真核細胞の初期進化時にできた基本的枠組みを維持した生き物であり、それを理解するのに最適な研究材料といえる。しかし、単に単純であるという基準をとると、多くの寄生性生物も極端な特殊化の道を選んだために、細胞の体制や小器官を「退化」させ単純化させてきたものが多い。これらを区別するためには、まずは細胞の進化についての考察が必要となる。

35～38億年前、細胞は核を持たないバクテリアのよう

特 集

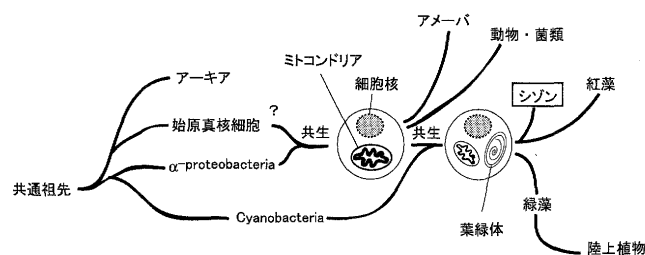


図1. シゾンの進化的位置。真核細胞の初期進化には2度の細胞共生が大きく関わっている。2度目の共生進化により葉緑体が誕生するが、シゾンにはその当時の基本的な仕組みが維持されているものと考えられる。

な存在として地球上に誕生したとされる。それから20億年以上の時を経て真核細胞が突然に出現する。系統学的な解析からは、地球上の生命はすべてが一個の共通祖先 (last universal common ancestor, LUCA) から進化したとされているので²⁾、真核細胞は独自に起源をもつのではなく、原核細胞から生じたと考えるしかない。しかし、その途中段階を示す痕跡がほとんど得られていないことから、その間の経緯はほとんど判らない。一方で、現生の真核細胞の中にはミトコンドリア、葉緑体のようなバクテリア由来のオルガネラが存在し、これらがエネルギー産生や生合成など真核細胞の基本的性質を規定している。これらオルガネラの成立を遡ることはある程度可能であり、葉緑体はすでにミトコンドリアをもつ真核細胞に、シアノバクテリア様のバクテリアが内部共生して生じたことが推定されている。ミトコンドリアについては、 α -プロテオバクテリアの内部共生がその起源であることは間違いないが、宿主となった細胞がすでに核をもつ真核細胞であったのか、ミトコンドリアと核が共生を契機に一度に誕生したのかは定かではない。いずれにせよ、これら2度の細胞共生が現在の真核細胞の枠組みを作っていて、その初期進化に重要な役割を果たしたことは間違いがなさそうだ。この周辺の経緯や事情を掘り下げることが、真核細胞の理解に重要といえるだろう (図1)。

シゾンの場合、葉緑体の共生により光合成独立栄養生物としての基盤が確立し、ここで確立した体制が、酸性温泉という非常に変動の少ない環境の中で維持され、その当時の性質を保存してきたことが推定される。一定の棲息環境、固定化された栄養源に依存した生活は細胞構造を含む特徴の極端な保存性を保証した。寄生性の微生物はこれと対照的であり、宿主との攻防や相互依存により急速な進化が進み、場合によっては非常に単純な構造となっている場合がある。しかし、原型からの変化という観点からはシゾンとは比較にならないほど大きいと考

えることができる。

モデル真核細胞の筆頭である酵母はどうだろう。確かに酵母はシアノバクテリア共生以前の真核細胞の子孫であり、その分は原型に近くてもよいはずだ。しかし、従属栄養性とは本質的に他者の合成した有機物に依存した生き方であり、必然、他者との相互作用は急速な進化を促す。実際、現在の菌類はミトコンドリアの保守性という観点から見ると、祖先の性質から大きく変化してしまっているようだ。細胞共生の経緯を探るという点からは、現時点でシゾンが最も理想に近いモデル細胞であるように思われる。

細胞周期を細胞共生から考える

繰り返しになるが、シゾン細胞には核・ミトコンドリア・葉緑体が1個ずつ含まれ、細胞分裂期にはこれらが細胞内で個別に複製し、その後に細胞分裂が起こる。また、これら3種オルガネラはどれも球状や円盤状であり、細胞周期の特定の時期に分裂することが顕微鏡により容易に観察できる³⁾。それぞれに含まれるDNAの複製についても、前項 (小林ら) に述べたように細胞周期の特定の時期に起きている。これらの意味するところは重要で、つまりこの細胞では核・ミトコンドリア・葉緑体のそれぞれについて、DNA複製期 (S期) と分裂期 (M期) からなる細胞周期のような“オルガネラ複製周期”が定義できるのだ。さらに、これらイベントが細胞周期の特定の時期に起こることから、それらの前後関係が厳密に規定されていることが想像される。すなわち、前のイベントを確認してから後のイベントを開始するための「チェックポイント機構」の存在が示唆される。実際、小林らにより前項で述べられたように、オルガネラDNAの複製が、テトラピロールシグナルを介してチェックポイントを解除し、核DNA合成を誘導することが明らかにされた^{3,4)}。

このように、シゾン細胞では核・ミトコンドリア・葉緑体の3つの増殖サイクルが共役し、1個の真核細胞としての複製サイクルが作られていると考えることができる。酵母を含むその他の真核細胞では、ミトコンドリアは通常、細胞周期の特定時期にDNAを合成することではなく、また分裂・融合を常時繰返しているとされる。これは上記のような、オルガネラ複製周期の共役という観点から細胞を考察することがシゾン以外ではそもそも非常に難しいということを意味している。細胞共生によるオルガネラの起源が、独自の複製周期をもつバクテリアが真核細胞と出会い、お互いの複製周期を共役させながら一体化した過程であるとするならば、シゾンで観察され

る複製周期の共役は、まさにここで期待される初期進化の結果をみていることになる。

葉緑体の起源と光シグナルチェックポイント

シゾンは増殖に光が必須な光合成独立栄養生物であるが、その進化は少なくとも2度の主要な細胞共生を経験した。すなわち、ミトコンドリアと葉緑体の誕生である。シアノバクテリアに近い光合成細菌が共生して葉緑体となるが、ここで宿主となったのはミトコンドリアを持つ従属栄養型真核細胞。したがって、光合成能を持つ真核植物はまさにこの共生により誕生したといえることができる。この際に宿主となった真核細胞はそれまで、光とは関係なく生活していたはずである。しかしその結果として生じた植物は、光がないと増殖できなくなってしまった。直感的には、藻類や植物は光合成に依存した生物なので、暗所ではエネルギーを獲得できないために増殖しないのは当然に思える。しかし、暗所で増殖しない（できない）のはエネルギー供給の問題ではなく、葉緑体の獲得により二次的に進化した形質ということになる。

葉緑体の成立に関して、著者らは次のようなシナリオを考えている。内部共生の初期段階では、葉緑体となった光合成細菌は宿主内で比較的自由に増殖していたことだろう。光が利用できる限り葉緑体は増殖することができ、細胞が破壊されぬよう、宿主は葉緑体の過剰な増殖を抑制していればよい。しかし、暗所では光合成ができないので葉緑体の増殖が不可能となり、他方で宿主が従属栄養的に増殖してしまうと葉緑体は取り残されてしまう。特に葉緑体が細胞内に単一な場合、宿主の分裂は葉緑体のない細胞を生じ、せっかく成立した共生は解消することになる。これを防ぐため、増殖が難しい暗所では葉緑体が宿主細胞の増殖を抑制し、増殖できる状況でのみチェックポイントを解除することで、共生関係を安定化する制御機構が進化したのであろう。本特集の前項(小林ら)で述べられたように、葉緑体からのシグナル分子(テトラピロール)は核DNA複製を活性化する^{3,4)}。これは、このような「暗所における抑制、および明期におけるその解除」の分子機構をよく説明するものである。

ミトコンドリアの立場

宿主細胞は、葉緑体を獲得することにより光を利用して生きようになったが、細胞増殖には光のみでなく、炭素や窒素に代表される栄養源、さらに酸素なども必要である。この事情は葉緑体を獲得する以前の真核細胞にしても同じだったことだろう。だから、葉緑体の初期進化には光が決定的な役割を果たしたことが想像される。

一方、真核細胞の進化の流れとしては、葉緑体の獲得以前に、細胞共生によるミトコンドリアの獲得があったとされる。現在の真核細胞において、ミトコンドリアの果たす最重要な役割は酸素呼吸であり、これは祖先 α -プロテオバクテリアの能力に由来する。この共生に際しても、宿主もバクテリアもすでに独立した細胞であったわけだから、葉緑体の時と同様に細胞周期の共役が重要だったことが想像される。酸素呼吸が共生のメリットであったと素直に考えれば、酸素呼吸のできない(ミトコンドリアが増殖できない)状況において宿主の増殖を足止めする、そんな仕組みが真核細胞成立の根底にあったのかもしれない。近年になって、ミトコンドリアが細胞機能に果たす役割は、ますます注目されるようになってきている。シゾンを用いた視点や実験系が、ミトコンドリアと細胞核の関係理解に重要な示唆を与える可能性は大きいと考えている。

シンクロニシティ

動物細胞の中には多数のミトコンドリアが含まれる。また、ほとんどの陸上植物の細胞には、これも多数の葉緑体やミトコンドリアが含まれている。特殊な場合を除き、細胞内には核は1つだけなので、核を中心とした増殖周期は明確に定義することができる。しかし葉緑体やミトコンドリアは多数が1細胞中にあり、それぞれが個別のタイミングで増殖を繰り返す。すなわち、これらは非同調的に増殖する集団であり、何割がDNA合成期、何割が分裂期にあるかなど、個々がどの状態にあるかは確率でしか表すことができない。たとえば、葉緑体はその複製周期の特定時期にのみ核にシグナルを送るとしても、核からすれば恒常的に何割かの葉緑体からのシグナルを受け取ることになる(図2)。

これでは、お互いの増殖周期の共役機構があったとしても、非同調性の陰に隠されてしまう。これが、オルガネラの増殖同調性が保証されたシゾンでの解析が有利な理由である(図2A)。単一のオルガネラからシグナルが出るのであれば、それは必ず特定の時期に限定されるからだ。多数のオルガネラを持つ植物細胞でも、たとえば培養細胞の増殖定常期ではすべてのオルガネラ増殖が停止しており、新鮮な培地に希釈した直後に同調的にオルガネラ増殖が開始する³⁾。このような状況でのみ、高等植物であっても細胞内オルガネラ集団のシンクロニシティが得られているため、シゾンと同様のシグナル応答が観察される。このような状況は実際の多細胞系でも限定的に起きており、器官形成など多細胞集団の挙動に重要な意義をもつ可能性が考えられる(図2B)。

特 集

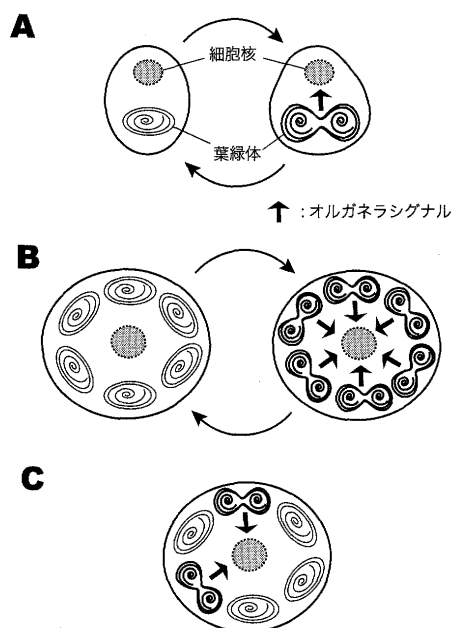


図2. オルガネラ・核シグナル伝達のシンクロシティ。オルガネラが単一である場合、その増殖周期の特定の時期に発せられたシグナルは、そのまま核に受容される (A)。オルガネラが複数である場合、同調的にオルガネラが増殖している限りはAと同様であるが (B)、非同調的に増殖する場合には、核はシグナルを常に平均値としてしか受容できない (C)。この図では単純化のため、葉緑体が分裂期にシグナルを出すような場合について示した。

細胞生物学では通常、1細胞で現象を追えば、その細胞周期は必ず同調していると考えられる。しかし、ミトコンドリアや葉緑体がそれ自体、非同調的な集団を形成しているとするならば、1細胞でも同調系とは言えず注意が必要だ。真核細胞はそれ自体で共生コミュニティとして扱うべき性質を持っている。これはシゾン系を研究するうちに得られた重要な教訓となっている。

共生体としての真核細胞観

シゾンの核ゲノムには現在4775のタンパク質遺伝子が同定されており、葉緑体・ミトコンドリアゲノムにコードされるタンパク質を合わせると5000強のタンパク質ですべての細胞機能が営まれていることになる⁵⁻⁷⁾。普通の真核細胞であれば、イントロンのスプライシング変種により、遺伝子よりはるかに多くのタンパク質を合成するが、シゾン遺伝子にはイントロンがほとんどないため、この数は実数に近いだろう。ミトコンドリアと葉緑体ではリボソームやDNAゲノムを中心とした細胞機能が営まれ、それぞれに1000から2000程度のタンパク質

局在が推定される。そうすると、細胞質 (+核)、ミトコンドリア、葉緑体のプロテオームの規模はそれほど変わらない。細胞共生より前、ミトコンドリアや葉緑体の祖先は少なくとも2000～3000程度の遺伝子を持っていただろうから、それらが宿主となった細胞と合体し、そのままの規模のプロテオームを維持しつつ共生体として進化してきた。それがシゾン細胞のイメージである。

ミトコンドリアや葉緑体の内部は、共生から10億年以上を経た現在でもバクテリア固有のコード (遺伝コード、タンパク質局在機構 etc) や論理で動く世界である。一方、オルガネラを取り囲む二重膜の外側には、サイクリン・CDK、ユビキチン・プロテアソーム系、MAPKカスケード、イノシトールリン酸系など、真核細胞に固有のタンパク質群 (eukaryotic signature proteins, ESPs) が大活躍しており、それらが巨大なネットワークを形成して各種オルガネラを支配していると考えるのが普通の真核細胞像である。しかし、シゾンではこれらが、共存する3種細胞システム間の調整役として存在しているかのような印象を受ける。前述のように、ある時点まで統一的な枠組みで進んできた分子細胞生物学は、原核細胞と真核細胞の間を埋められずに、それぞれを別の分野として発展を続けている。しかし、進化的な立場から細胞共生を間に置けば、お互いの位置関係が明確となり、統一された細胞生物学として同じプラットフォーム上で議論できるようになるのではないだろうか。このような考察を進めるのに、シゾンは筆者にとり、この上ない助けとなる生き物である。本特集の他の記事にあるように、分子遺伝学的手法をはじめとして、シゾンを用いた研究ツールも実用段階に入りつつある。基礎的・応用的な細胞研究の材料として、今後シゾンがさらに汎用的な選択肢となることを心より期待する。

文 献

- 1) Kuroiwa, T. *et al.*: *Int. Rev. Cytol.*, **181**, 1 (1998).
- 2) Theobald, D. L.: *Nature*, **465**, 219 (2010).
- 3) Kobayashi, Y. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 803 (2009).
- 4) Kanasaki, Y. *et al.*: *Plant Signal. Behav.*, **4**, 1190 (2009).
- 5) Matsuzaki, M. *et al.*: *Nature*, **428**, 653 (2004).
- 6) Misumi, O. *et al.*: *Plant Physiol.*, **137**, 567 (2005).
- 7) Nozaki, H. *et al.*: *BMC Biol.*, **5**, 28 (2007).