



平成 23 年 3 月 3 日
千葉大学 大学院園芸学研究科

植物の誕生を可能とした細胞共生の「絆」を解明

—暗闇で植物が生長しない積極的な理由—

<研究成果の概要>

本学園芸学研究科の田中 寛 教授、小林 勇氣 研究員、華岡 光正 テニユアトラック准教授らの研究グループは、中央大学理工学部の今村 壮輔 助教と共同で、葉緑体が放出するシグナル分子（MP^(注1)）が、宿主細胞の核DNAの合成をコントロールする分子機構の詳細を世界で初めて解明しました。これは太古のシアノバクテリア（光合成を行うバクテリア）^(注2)が細胞内に共生し、葉緑体に進化する上で必須であった仕組みの解明であり、Nature Cell Biology（ネイチャー細胞生物学）誌に平成23年3月6日の週に電子版で公開されます（報道解禁：日本時間 平成23年3月7日（月）午前3時）。

光を用いて有機物を合成する「光合成」がなければ、地球上の全ての生命活動は成り立ちません。光合成をおこなう生物には、シアノバクテリアなど細胞核をもたない原核生物と、植物のような細胞核をもつ真核生物があります。このうち進化の上で、光合成のしくみを発明したのはシアノバクテリアのような原核生物です。そして今から十億年以上の昔、シアノバクテリアが光合成をしない真核生物と共生を始め、細胞内に入り込んでできたのが植物の葉緑体だと考えられています。葉緑体で光合成するのが植物なのですから、細胞共生により葉緑体が生まれた時、同時に地球上に植物が誕生したといえるでしょう。細胞共生より以前、シアノバクテリアも、共生の相手となった真核生物も、どちらも独立した生物だったはずで、そのような別々に生きていた二種類の細胞が、どのようにして共生関係を築き、一つの細胞として生きられるようになったのでしょうか。そこには細胞同士の「絆」を結びつけた仕組みがあるはずで、これにより植物の誕生が可能となったと考えることができます。

葉緑体の他、真核細胞内のエネルギー工場であるミトコンドリアも、もとは別の生き物であったバクテリアが太古の昔に宿主細胞の中に入り込み、細胞内共生を行なうことで誕生したと考えられています。葉緑体とミトコンドリアは、今でもバクテリアの名残のDNAをもち、細胞内で活発に分裂増殖を続け、真核細胞の生命活動に欠かせない細胞小器官と

して働いています。細胞が分裂し増える間には、細胞核が DNA の合成を行ない、核分裂（有糸分裂）により二つの娘細胞に正確に分配されます。これと並行して、葉緑体やミトコンドリアもそれぞれ DNA 合成を行ない、祖先バクテリアのように分裂増殖して娘細胞に分配されていきます。高等動物や植物の細胞の中には、細胞核が一個であるのに対して、ミトコンドリアや葉緑体は沢山含まれており、しかもそれらがバラバラなタイミングで（見かけ上は勝手に）増殖しています。このような観察から、これまでミトコンドリアや葉緑体の増殖には厳密な制御がないとされ、細胞核の複製との関係性についても殆ど明らかにされてきませんでした。

グループはこれまでの研究で、細胞の進化の基本となる細胞核と、ミトコンドリアや葉緑体の相互作用を明らかにするために、真核細胞の生きた化石といわれる原始真核細胞（シゾン^{注 3)}）を用いた解析を行なってきました。シゾンは原始的な藻類であり、細胞内にミトコンドリアと葉緑体を一個ずつしか含みません。このため、細胞核とこれらオルガネラの関係性を研究するには最適な材料です。そしてシゾンを用いて核 DNA の合成と、ミトコンドリアや葉緑体（オルガネラ）の DNA 合成との制御関係を詳しく調べたところ、細胞が増殖する際には、オルガネラの DNA 合成がまず起こり（ミトコンドリアと葉緑体の DNA 合成はほぼ同時期に起こるので、ここではオルガネラ DNA 合成とまとめて呼びます）、その後から核の DNA 合成が起こることが明らかになりました。この際、オルガネラの DNA 合成が起こると、葉緑体から MP（テトラピロール合成中間体）と呼ばれる物質が細胞質に放出され、この MP が核 DNA 合成を誘導する働きをもっていました。このシグナルについては、バクテリアの共生由来のオルガネラが、まるで寄生者のように宿主細胞の増殖を支配するように見えることから「パラサイト・シグナル」と呼ぶことにして 2009 年の 1 月に発表しました（図 1）。しかし、このシグナルがどのように核に伝わり、核の DNA 合成を誘導するかについては、これまで未知のままでした。

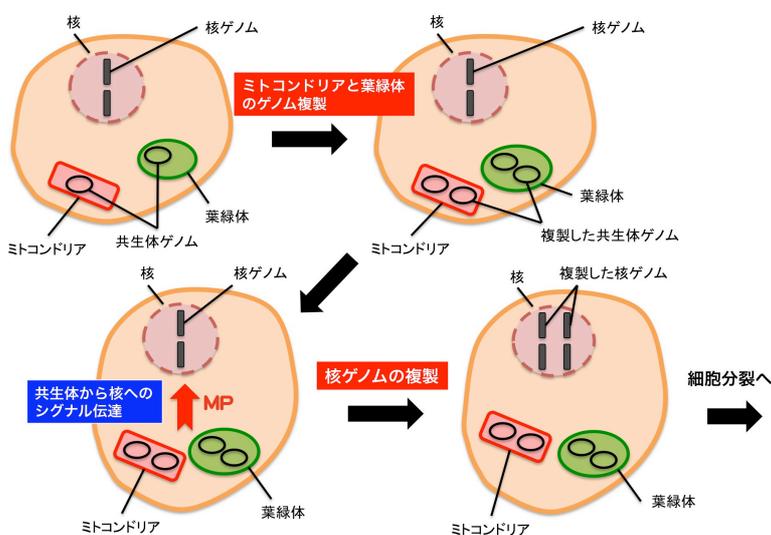


図 1：パラサイト・シグナルによる核ゲノム合成のコントロール

植物細胞の増殖が始まると、まずミトコンドリアと葉緑体がゲノムを合成します。この出来事はパラサイト・シグナル（MP）を介して核に伝えられ、核ゲノムの合成を引き起こします。ミトコン

ドリアと葉緑体でゲノムが合成されないと、シグナルが伝わらないために核ゲノムの合成は起こりません。

今回研究グループは、MP に特異的に結合するタンパク質（MP 受容体）を発見し、このタンパク質が、核 DNA 合成の活性化に関わるサイクリンタンパク質^(注4)の分解に関わることを明らかにしました。光合成のできない暗所では、オルガネラの DNA 合成が起きません。従って、MP も葉緑体から放出されません。このような状況では、上記サイクリンは MP 受容体の働きを介して積極的に分解されており、従って核 DNA の合成は起こりません。一方、光があたり、オルガネラでの DNA 合成が起きると MP が葉緑体から放出されます。そして、これが MP 受容体に結合するとサイクリンの分解が抑制され、それによって活性化されたプロテインキナーゼ（CDK）^(注4)により核 DNA 合成が誘導されるという仕組みが明らかになったのです（図2）。この研究は、もっとも原始的な真核細胞であるシズオンを用いて行なわれましたが、葉緑体をもつ植物に、普遍的に成り立つ共通原理が明らかになったと考えることができます。

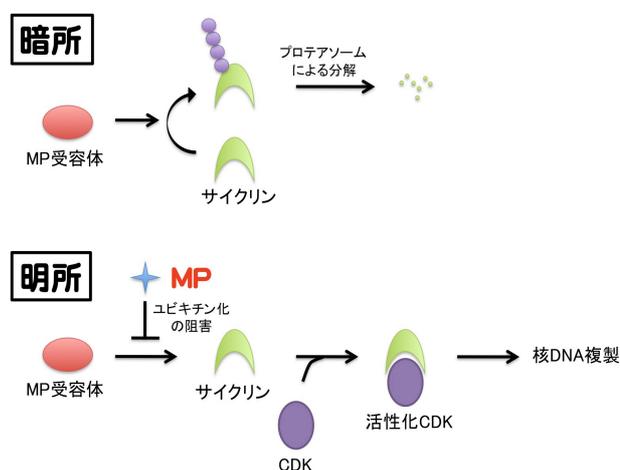


図2：MPによる核DNA合成の活性化の仕組み：暗所ではMP受容体の働きでサイクリンタンパク質がユビキチン化され、分解されています。明所でオルガネラDNA合成が起きるとMPが放出され、サイクリン分解が止まることでプロテインキナーゼ（CDK）が活性化され、核DNA合成が起きます。

シアノバクテリアが細胞内共生する以前、宿主となった真核細胞は既にミトコンドリアを持っていましたが、光合成はせず、光に依存せず暮らしていたはず。彼らは周囲の環境に十分な有機物があれば、昼も夜も光に関係なく増殖していたことでしょう。しかし、有機物が不足してしまうと増殖できません。これに対して、シアノバクテリアは光さえあれば自力で有機物を合成できますから、環境中の有機物が乏しい状況では、宿主にとりシアノバクテリアとの共生には大きなメリットがあったはず。しかし、これは光のある昼の話で、夜の間のシアノバクテリアは光合成もできず、単なる「居候」あるいは「パラサイト（寄生体）」に成り下がってしまいます。これは宿主にとり、共生によるメリットがないということになり、共生など解消した方がよい状況になるというわけです。今回の研究で明らかになった分子機構は、シアノバクテリアが活動できない夜の間に、栄養があっても細胞核の複製を足止めするためのものと考えられます。あるいは、宿主が夜の間に、増えるのを我慢して葉緑体を維持しようとした苦心の跡と考えることもできるでしょう。今回明らかにしたMPシグナルのレセプターは、共生以前にも真核細胞がもっていたタンパク質から進化したものであるようです。これは、宿主と葉緑体が協力して、共生関

係を深める進化を進めてきた結果だと考えることができます。

生命の歴史の中で、シアノバクテリアの共生により現在の植物の祖先が生まれたのは、たった一度だけだったとされています。暗所で核 DNA の合成が起き、そのまま宿主細胞が増殖していけば、居候のシアノバクテリアは細胞から消えていってしまったことでしょう。今回明らかにしたような仕組みにより、細胞内に入り込んだシアノバクテリアは安定に維持されるようになり、着実に葉緑体への進化を歩んでいったと考えることができます。植物が暗所で生長しないのは、光がなければ光合成ができないので至極当然のように思われます。しかし、光合成で作られる栄養が外から与えられた場合でも、暗闇では植物は正常な生長ができません。植物にとって、光は光合成だけのために必要なわけではありません。これには、このような進化的な理由も深く関わっているようです。

*本成果の一部は、文部科学省科学研究費補助金 学術創成研究費（16GS0304）、基盤研究（B）（21370015）、文部科学省「若手研究者の自立的研究環境整備促進」事業、千葉大学「COE スタートアッププログラム」の支援によって得られました。

< 研究の背景と経緯 >

生物の体は細胞からできていますが、これら細胞は核を持たない原核細胞と、核を持つ真核細胞とに分類されます。原核細胞には大腸菌や納豆菌などのバクテリアや、極限環境から多く見つかる古細菌が含まれるのに対し、ヒト、動物、植物、菌類などは全て真核細胞から成り立ちます。真核細胞の中には、核、ミトコンドリア、葉緑体、ゴルジ体など、様々な細胞内小器官（オルガネラ）と呼ばれる構造体が見つかります。このうち、酸素呼吸によりエネルギーを生産するミトコンドリアと、植物において光合成を行う葉緑体とは、それぞれ十億年以上前にバクテリアが真核細胞の中に入り込み、細胞内共生を続けた長い時間の間に、ついに細胞の一部であるミトコンドリアや葉緑体になったものだと考えられています（図3）。ミトコンドリアや葉緑体は現在でも固有のゲノムDNAを保持しており、そのゲノムの構造はそれぞれの祖先バクテリアに似ています。このことから、細胞共生による進化が裏付けられているのです。

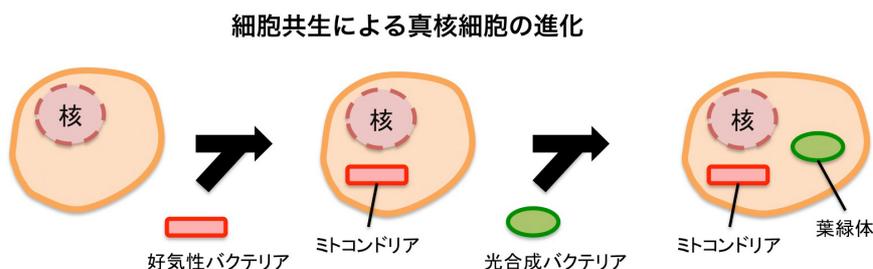


図3：真核生物の進化における細胞共生：真核生物は好気性バクテリアの共生によりミトコンドリアを、光合

成を行なうシアノバクテリアの共生により葉緑体を獲得して進化してきました。

現在の多くの真核細胞では、細胞あたり複数個のミトコンドリアや葉緑体が存在し、これらはバクテリアの様に分裂して増えていきます。しかしこのミトコンドリアと葉緑体の増殖が、細胞の増殖周期とどのような関係にあるのかは、これまであまり理解されてきませんでした。研究グループは、このような謎を解くには、細胞共生の成立当初からの変化ができるだけ少ない原始的な真核細胞を研究するのが良いと考え、生きた化石ともいえる藻類「シゾン」を材料として研究を行いました。シゾン細胞には細胞核の他、ミトコンドリアと葉緑体が一個ずつだけしか含まれていません。細胞共生に由来し、それぞれDNAを含むミトコンドリアや葉緑体の増殖が、細胞の増殖とどのような関係にあるのかを解析するために、シゾンはこのような性質から最適な材料と考えられるのです。

シゾン細胞には細胞核、ミトコンドリア、葉緑体が一個ずつ含まれています。シゾン細胞が増殖を開始するには光が必要ですが、光が細胞にあたるとまず、ミトコンドリアと葉緑体のゲノムが合成され、その後に核ゲノムの合成が起こります。前述のように普通の真核細胞では、ミトコンドリアや葉緑体のゲノムの合成は、細胞周期の特定の時期に起こるとは考えられていません。原始的なシゾン細胞でのみ、どうしてこのような現象が観察されるのでしょうか。研究グループは、バクテリアの細胞共生によりミトコンドリアや葉緑体が進化したのであれば、原始的なシゾンで観察される現象こそが基本であり、そこから長い進化の間にしくみを変形されていったのだと考えました。そして、まずシゾンでミトコンドリア、葉緑体、核の関係を明らかにし、その結果を他の真核細胞と比較するという作戦で研究を進めてきました。図1に示したパラサイト・シグナルの発見はその成果であり、今回の発見（図2）はその分子機構の詳細を明らかにしたものです。

<研究の内容>

明所でシゾンを培養して顕微鏡で観察すると、培養液の中には分裂中の細胞、分裂を終えて休んでいる細胞、DNAを合成している細胞など、いろいろな状態の細胞が混在することが判ります。培養を暗所に移すと、全ての細胞は分裂を終えた状態の「間期」と呼ばれる状態に留まるようになり、次に明るくなった際に一斉に増殖を始める状態になります。次に細胞は光を感じると、まずミトコンドリアと葉緑体DNAの合成を行ない、その次に核DNAの合成を行ないます。

酵母や動物細胞では、核DNA合成の開始にはサイクリン依存タンパク質リン酸化酵素（CDK）の活性化が重要であることが知られています。そこで研究グループは、このCDKの活性化と、シゾンにおけるオルガネラと核のDNA合成の関係について詳しく調べました。その結果、ミトコンドリアと葉緑体のDNA合成が起こると、葉緑体で合成されるテトラピロール分子の一種（MP）が細胞質中に放出され、これがCDKの活性化を介して核DNAの合成を誘導していることを発見しました。これが前回の発表までの成果です。

この発見は、暗所でオルガネラのDNA合成が起こらない状態でも、培地中にMPを添加すると核DNAが合成したことを手がかりに得られた成果です。今回の研究でグループは、このMPによく似た効果が、選択的なタンパク質分解に関わる複合体「プロテアソーム^(注5)」の阻害剤でも得られることに気がつきました。これはMPの効果が、特定のタンパク質のプロテアソームによる分解を阻害することだと考えると、うまく説明することができます。さらに研究グループは、その特定のタンパク質が、核DNA合成を誘導するCDKのサイクリンサブユニットであることを突き止めました。暗所では、サイクリンがプロテアソームにより速やかに分解されているためにCDKは活性化されません。このため、プロテアソームを阻害すると、暗所でもCDKが活性化され、核DNA合成が起きたと考えられます。明所でオルガネラDNA合成が起こるとMPシグナルが生じ、これによってもサイクリンが分解されなくなるのでCDKが活性化されるのです。

プロテアソームによるタンパク質の分解は、そのタンパク質に「ユビキチン^(注5)」という分解のための目印となる小さなタンパク質が結合することにより起こります。つまりプロテアソームは、このユビキチンに結合したタンパク質を急速に分解する働きを持っているのです。研究グループは、MPシグナルに結合する受容体タンパク質の検索を行ない、この受容体タンパク質が、サイクリンにユビキチンを結合させる酵素の一部であること、また、MPが結合すると、このユビキチンを結合させる活性が阻害されることを解明しました。これらの結果により、MPによりサイクリンの分解が阻害され、CDKの活性化を介して核DNA合成を誘導するという、MPの作用機構を明らかにすることができました。

<今後の展開>

今回の研究は、ミトコンドリアと葉緑体をもつ植物細胞を対象として行なわれ、光と植物の増殖との関係について、多くの示唆を与えてくれるものです。真核細胞とシアノバクテリアが共生を始めた時、その真核細胞は既にミトコンドリアを共生により獲得していて、有機物を分解することで暗所でも増殖していたはずですが、ここに光を栄養とする葉緑体が共生体として参加することで、暗所では増殖しないという植物の性質が生まれたのでしょう。このように、葉緑体の誕生について研究を進めることで、植物特有の多くの性質の進化が明らかになってくることなのでしょう。また、植物の生長を制御する新しい手法の開発に繋がるかもしれません。さらに、このような共生関係が生まれた事情については、ミトコンドリアが誕生した際にも共通であった可能性があります。ミトコンドリアは私達の体の中にも存在し、私達の活動や様々な病気にも関わることが判ってきており、ミトコンドリアの働きを理解することは、健康な生活や疾病の克服など、応用面にも重要な示唆を与える可能性が高いと言えます。

<掲載論文名および著者名>

'A tetrapyrrole-regulated ubiquitin ligase controls algal DNA replication'

(テトラピロールシグナルにより調節されるユビキチンリガーゼが藻類の核DNA合成をコントロールしている)

Nature Cell Biology

Online Early Edition (10.1038/ncb2203)

(<http://www.nature.com/ncb/journal/vaop/ncurrent/index.html>)

Yuki Kobayashi, Sousuke Imamura, Mitsumasa Hanaoka, and Kan Tanaka

(小林 勇気、今村 壮輔、華岡 光正、田中 寛)

本件に関するお問い合わせ先

田中 寛 (タナカ カン) 教授

千葉大学 大学院園芸学研究科 微生物工学研究室

〒271-8510 松戸市松戸 648

Tel : 047-308-8866/090-5429-6798

(Fax : 047-308-8866)

E-mail : kntanaka@faculty.chiba-u.jp

<用語解説>

注1) MP (テトラピロール生合成中間体)

ヘムやクロロフィル(葉緑素)はそれぞれ呼吸や光合成の機能に重要な生体物質であり、4個のピロール環がつながった構造からテトラピロールと呼ばれている。真核細胞では、これらテトラピロールは複雑な生合成経路により、ミトコンドリアや葉緑体の中で合成される。本研究でシグナル伝達物質として同定されたMPは、このテトラピロール合成の途中で作られる化合物の一つ(マグネシウムプロトポルフィリン9)であり、このような物質を総称してテトラピロール生合成中間体と呼んでいる。

注2) シアノバクテリア

植物と同じ酸素発生型の光合成を行なうバクテリアの一群。30億年以上前に地球上に生まれ、光合成によって酸素を発生させることで、地球の酸素に富む大気を作り出したと考えられている。また10億年以上前に真核細胞と共生し、細胞内に入り込むことにより葉緑体となり、植物細胞を進化させたのもシアノバクテリアの仲間とされる。

注3) シゾン

シゾン(学名 *Cyanidioschyzon merolae*)はイタリアの温泉で見つかった単細胞性の紅藻(海苔の仲間)で、東京大学(現・立教大学)の黒岩常祥教授らにより、葉緑体やミトコンドリアなどオルガネラの分裂装置研究に最適な、もっとも単純な構造をもつ真核細胞として紹介された。真核生物として初めて100%の核ゲノムが決定されるなど、モデル植物、モデル真核生物としての基盤情報の整備が進んでおり、真核生物の初期進化や基盤的な制御機構の解明に向けた研究が開始されている。

注4) CDK とサイクリン

真核細胞の核DNA合成は、CDK(サイクリン依存プロテインキナーゼ、サイクリン依存タンパク質リン酸化酵素)の活性化により誘導されることが判っている。CDKは二つのタンパク質から構成されることが判っており、一つはプロテインキナーゼ活性をもつサブユニット。もう一つは、調節サブユニットであるサイクリンである。今回の研究では、暗所でこのサイクリンタンパク質が速やかに分解されることで、CDK活性が阻害されていることを見いだした。MPシグナルは、この分解を阻害することでサイクリンが増加させ、CDK活性の上昇を誘導していた。

注5) ユビキチンとプロテアソーム

真核細胞では、個々のタンパク質の量を調節するために、タンパク質の合成だけでなく分解の段階が重要な役割を果たすことが多い。特定のタンパク質が分解を受ける場合には、そのタンパク質に「ユビキチン」という小さなタンパク質が幾つも連結される。それを目印に、プロテアソームと呼ばれる強力なタンパク質分解酵素が、そのタンパク質を急速に

分解することになる。どのタンパク質を分解するかは、どのタンパク質にユビキチンが連結されるかで決まり、この連結酵素はユビキチンリガーゼと呼ばれ、この研究で見つかった MP 受容体もこのユビキチンリガーゼの一種であると考えられる。