対数増殖後の世界とその主役達

生物界は大きく、真核生物と前核生物に分けられるが、生物をそのライフスタイルからながめてみると、はっきりした細胞周期の各段階（たとえば M, G₁, S, G₂）を有する生物種に対して、そのような明瞭な段階を示さない細菌のような生物種が存在する⁽¹⁾。そのような生物種の特徴は唯一、その増殖相の相違にある。通常、それらは対数増殖期と定常期に分けられる。従来、細菌を用いた研究は主として対数増殖期に注目してなされてきた。しかし、定常期の細胞はただ休んでいるのではなく、定常期が対数期とどのような点で異なるのか、その分子機構に関してはあまり知られていない。

最近、この定常期の細胞は対数期の細胞と比較して特徴ある様式で次世代に備え、その環境に対応すべく、新しい生活環を形成していることが明らかにされてきた。よく考えてみると、日常我々は微生物を培養するのに種類の栄養培地を用い、大変“リッチ”な栄養状況下で種類の現象を観察しているが、これは細菌にとっては、過保護な状況なのかもしれない。この地球上に細菌が誕生してから今日に至るまで、永い進化の過程において、細菌は常に飢餓状況にさらされていたわけで、現在でも細菌の大部分はいわゆる飢餓の状況下で生活している。そのような環境状況において、細菌がいかに外界の変化に応答して自らを適応させているのか、その分子機構が今日明らかになってきた⁽²⁾。

枯草菌において、孢子形成の調節は栄養源の枯渇が刺激になっており、いわゆるステージ特異的な RNA ポリメラーゼの開始因子であるシグマ (σ) 因子により、ステージ特異的な遺伝子発現が調節されている⁽³⁾。これと類似した機構で、大腸菌の定常期と対数増殖期の調節も行なわれていることがわかってきた。すなわち、大腸菌において、定常期や飢餓状態に対応して働く新しい σ 因子が同定されたのである。それは本来、カタラーゼ産生の調節遺伝子として単離され、*katF* と命名された。*kat*

F 変異株ではカタラーゼ (*katE*) 以外にエクソスクレアーゼ III (*xthA*)、酸性ホスファターゼ (*appA*) や炭素源欠乏により誘導される 16 種の蛋白質の誘導が抑制された。これらの結果は、*katF* 遺伝子がカタラーゼの産生の調節以外にも飢餓状況下で多くの遺伝子の発現を調節する因子であることを示している。また、これらの遺伝子は大腸菌の細胞増殖の定常期において特異的に発現しており、その発現に *katF* が必要であることが明らかになってきた⁽²⁾。また、大腸菌細胞を飢餓状態にすることにより、熱、浸透圧、過酸化水素などの外界刺激に対して抵抗性を示すことが知られているが (starvation-induced resistance)、これらの抵抗性も *katF* 変異株では示さなくなり、環境適応応答性がきわめて弱くなっている。これらの結果から、*katF* は単なる遺伝子発現調節因子というより細胞が種々の環境変化に敏感に適応する時の重要な因子であると考えられる⁽²⁾。

このようなグローバルな環境適応応答を支配する *katF* 遺伝子をクローニングして、その塩基配列を調べた結果、大腸菌の主要シグマ因子である σ^{70} と強い相同性が見つけられ、*katF* は定常期や細胞飢餓状態に対応する大腸菌の σ 因子と考えられ、*rpoS* と呼ばれるようになった⁽⁴⁾。最近、この *rpoS* が大腸菌で多量発現され、精製された。in vitro 転写系において、 σ^{70} の代わりにこの *rpoS* 蛋白質を含んだ RNA ポリメラーゼを用いると、実際に転写開始が生じることが確認された。その結果、*rpoS* (*katF*) 遺伝子産物は分子量 38 kDa にちなんだ σ^{38} と呼称されるようになった⁽⁵⁾。これらの結果から、大腸菌においては定常期や飢餓の状況下に σ^{70} という主要シグマ因子に代わり、 σ^{38} (*rpoS*, *katF*) が RNA ポリメラーゼのコア酵素と結合して、特異的な遺伝子発現制御が行なわれていると考えられる⁽⁶⁾。これらの発見は、明らかに枯草菌における孢子形成の σ カスケードを彷彿させるような事実である。

一方、大腸菌の細胞分裂や増殖の研究を対数期の細胞を用いて長らく研究してきた研究者達は、定常期細胞の

特異性に着目し、その分子機構の研究がなされた。大腸菌は、種々の栄養培地でその世代時間が 20 分から自然環境下で 12 時間と、幅広い範囲でその分裂時間を調節している。定常期の細胞はある意味で、貧栄養下における長い世代時間帯に生殖する細胞と考えられる。実際に、細胞分裂、増殖に働く遺伝子と定常期で働く遺伝子の相関が調べられた結果、従来、細胞分裂の中心的な調節因子と考えられていた *ftsZ*AQ, および大腸菌の形状を球状にする *bolA* 遺伝子とともに定常期に特異的に発現することが示された^(7,8)。また、これらの遺伝子のプロモータ中に見いだされたコンセンサス配列(−10 領域 CGGCAAGT, −35 領域 CTGCAA)は従来の σ^{70} により認識されるプロモータ構造(−10 領域 TATAAT, −35 領域 TTGACA)と大きく異なり、増殖速度の低下とともに発現するという意味で、ギアボックスと呼称されるようになった^(7,9)。定常期が長い世代時間の分裂と分裂の間と考えると、細胞分裂過程をスローモーションで見ているようなもので、従来細胞分裂を対数期で研究していたのが、定常期に注目することでより鮮明に浮かび上がってきたと言えよう。さらに、*bolA* 遺伝子の発現は *katF* で調節されていることが明らかにされている⁽¹⁰⁾。

*ftsZ*AQ や *bolA* が対数期でも細胞周期調節因子として重要な働きをしているように、*rpoS* そのものも対数期に細胞増殖分裂に重要な関与をしていることが示唆される。しかしながら、定常期を含めて種々のストレス下に働くすべての遺伝子が σ^{38} により認識されるというわけではない⁽²⁾。今後さらに詳細な研究により、さらなる σ 因子や新しい細胞増殖相の調節因子が発見されるものと思われる。実際、*rpoS* 遺伝子そのものの発現は培地環境下により微妙に調節されている。アデニレートシクラーゼ遺伝子欠損株において、*rpoS* 遺伝子の発現を調べた結果、*rpoS* の発現は cAMP により抑制されることが明らかにされた⁽¹¹⁾。さらに興味深いことに、*rpoS* の発現は *p*-アミノ安息香酸により正に調節されている⁽¹²⁾。また最近、cAMP に依存して、細胞分裂を調節する遺伝子として同定された *fic* 遺伝子の発現も定常期特異的に *rpoS* に依存していることが示された⁽¹³⁾。*fic* は *pabA* とオペロンを形成して、*p*-アミノ安息香酸の生成に関与している。*p*-アミノ安息香酸は葉酸の前駆体で、*fic* 遺伝子の発現調節は細胞内葉酸プールに大きな影響を与える⁽¹⁴⁾。このような結果は、細菌細胞の定常期の調節因子の主役は σ^{38} であるが、その主役が舞台に登場するために、トリガーなシグナル分子である cAMP と葉

酸が関与していることを示している。

以上、述べてきたように、細胞の増殖と分裂の織り成す一大ドラマは対数期の幕が降りるとすべてが終了したかのようにみえているが、その舞台裏でもう一度、新たな主役達が次の幕が開くための芝居を演じていたというわけである。このように、定常期の細胞は明らかに対数期の細胞と異なる世界を構築し、次の世代に備えていると考えられる。定常期には自然突然変異の頻度が高まるという事実も含め⁽¹⁵⁾、永い進化の過程で獲得されてきた細菌の真の姿がこの世界に存在することを我々は改めて知る必要がある。

- 1) 柳田友道: “微生物科学 2”, 学会出版センター, 1981, p. 45.
- 2) D. A. Siegel & R. Kolter: *J. Bacteriol.*, 174, 345 (1992).
- 3) 定家義人: 蛋白質 核酸 酵素, 37, 2196 (1992).
- 4) M. R. Mulvey & P. C. Loewen: *Nucleic Acids Res.*, 17, 9979 (1989).
- 5) K. Tanaka, Y. Takayanagi, N. Fujita, A. Ishihama & H. Takahashi: *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, in press.
- 6) 高橋秀夫, 田中 寛: 蛋白質 核酸 酵素, 37, 2279 (1992).
- 7) M. Aldea, T. Garrido, J. Pla & M. Vicente: *EMBO J.*, 9, 3787 (1990).
- 8) R. Lange & R. Hengge-Aronis: *J. Bacteriol.*, 173, 4474 (1991).
- 9) M. Vicente, S. R. Kushnet, T. Garrido & M. Aldea: *Molecul. Microbiol.*, 5, 2085 (1991).
- 10) D. E. Bohannon, N. Connell, J. Keener, A. Tormo, M. Espinosa-Urgel, M. M. Zambrano & R. Kolter: *J. Bacteriol.*, 173, 4482 (1991).
- 11) R. Lange & R. Hengge-Aronis: *Molecul. Microbiol.*, 5, 49 (1991).
- 12) M. R. Mulvey, J. Switala, A. Borys & P. C. Loewen: *J. Bacteriol.*, 172, 6713 (1990).
- 13) 内海龍太郎ら: “Work Shop '92 原核細胞における細胞複製制御の新展開” 要旨集, 1992, p. 15.
- 14) T. Komano, R. Utsumi & M. Kawamukai: *Res. Microbiol.*, 142, 269 (1992).
- 15) P. L. Foster: *J. Bacteriol.*, 174, 1711 (1992).

(内海龍太郎^{*1}, 川向 誠^{*2}, 田中 寛^{*3}, ^{*1}近畿大学農学部, ^{*2}島根大学農学部, ^{*3}東京大学応用微生物研究所)