ミニレビュー [Nippon Nōgeikagaku Kaishi Vol.62, No.12, pp.1781~1785, 1988]

= シリーズテーマ =

細胞分化, 遺伝情報の逐次的発現, シグナル伝達モデルとしての微生物

細胞分化, 遺伝情報の逐次的発現, シグナル伝達モデルとしての微生物	小林 泰夫	1781
枯草菌孢子形成初期遺伝子の発現制御	河村富士夫	1786
大腸菌とネズミチフス菌の鞭毛レギュロンにおける遺伝情報発現ネットワーク	沓掛 和弘	1790
放線菌における孢子形成・二次代謝産物合成と遺伝情報発現ネットワーク	堀之内末治, 別府 輝彦	1795
酵母における遺伝情報発現のネットワーク	宇 野 功	1798
異担子菌酵母の性分化: カルシウムイオンをセカンドメッセンジャーとする		
情報カスケード	宮川 都吉, 福井 作蔵	1802

細胞分化, 遺伝情報の逐次的発現, シグナル伝達 モデルとしての微生物†

小 林 泰 夫

(広島大学生物生産学部)

はじめに

微生物における遺伝情報の逐次的発現や, 外部シグナルの伝達については, 大腸菌を中心に詳細な解析がなされてきたが, 組換え DNA 技術の進展に伴って, 1970年代の後半から, 枯草菌, 酵母, さらに放線菌などを中心とするさまざまな系での研究が進んできた。とくに従来の手法ではあまりにも複雑で解析が不十分であった細胞の分化機構や, 遺伝情報伝達様式の解明が, 微生物の系を用いて急速に発展しつつあるのは, 特記すべきことであろう。

細胞分化は厳密には, 「多細胞系において1個の細胞の分裂に由来した娘細胞集団中で, 形態的, 機能的に質的な差を持つ二つ以上のタイプの細胞が生じてくる現象をいう」(生物学辞典(第3版), 岩波書店, 1983)もの

と考えられる。しかし近年, 微生物における孢子やシスト形成, ミクソバクテリアや細胞性粘菌での多細胞構造(子実体)の形成なども, 単純化された細胞分化のモデルとして盛んに研究されている。このような考えを初めて取り入れたのは, 筆者の知る限りでは Halvorson ではないかと思う⁽¹⁾。その後, 英国微生物学会のシンポジウムでこのテーマが取り上げられ, その内容は “Microbial Differentiation” という本⁽²⁾として出版され, その後も同様な視点でまとめられたいくつかの成書がある(たとえば引用文献(3), (4)など)。

微生物における細胞分化の研究がこのように盛んになったのは, 高等生物の系と異なり, 取扱いが簡単で遺伝学的, 生化学的解析が容易であるということにある。その代表的な例が枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の孢子形成である。本レビューでは河村氏が孢子形成開始の調節機構を, 小林氏が孢子形成過程における遺伝子の逐次的発現機構を解説する。また, 大腸菌の走化性にかかわる鞭毛の形成は, 原核細胞におけるオルガネラ形成と, その遺伝情報伝達の見事なネットワークという観点からきわめて

† Microorganism as a Model System for Differentiation, Sequential Gene Expression and Signal Transfer.

Yasuo KOBAYASHI (Faculty of Applied Biological Science, Hiroshima University, Higashi Hiroshima 724)

興味深い現象であるが、これについては杏掛氏に解説していただいた。放線菌は原核微生物のなかで最も複雑に分化した構造を持つものの一つである。このような系での遺伝情報の発現調節は、孢子形成や抗生物質などの二次代謝産物の生成などと密接にからみ合い、きわめて複雑な様相を呈するが、組換え DNA 技術の発展によって非常に多くのデータが蓄積されつつあり、その一端を掘之内、別府両氏にまとめていただいた。

一方、シグナル伝達については、多くの研究が微生物を用いて行われているが、今回は、遺伝学的、生化学的解析の可能な、最も単純かつ有用な真核生物として研究の進んでいる酵母について、宇野氏に細胞増殖制御にかかわるシグナル伝達を G 蛋白質、プロテインキナーゼを中心に、また、宮川、福井両氏には、性分化におけるシグナル伝達のカスケードについて最近明らかになった点を中心に解説していただいた。

枯草菌の孢子形成^(5,6)

枯草菌は培地中の栄養源が枯渇してくると、菌体内に孢子 (endospore) を形成する。孢子形成は形態的、生化学的にはっきりと区別される 7 つの段階をへて進行する (図 1)。孢子形成の各段階に参与している孢子形成遺伝子 (*spo*) は、約 50 種類知られており、その遺伝子に突然変異が生じたとき、孢子形成がどの段階で停止するかによって、*spo0*, *spoII*, *spoIII*, *spoIV*, *spoV*, *spoVI* の 6 つのグループに大別される。各グループはさらに *spo0A*, *spo0B* などいくつかの遺伝子 (またはオペロン) から成り立っている。これらの遺伝子は染色体上に全くランダムに散在しているが、これら遺伝子の逐次的発現機構についての最近の知見を次に紹介する。

孢子形成遺伝子の逐次的発現

Mandelstam ら⁽⁷⁾は、孢子形成遺伝子に関する二重突然変異株 (たとえば *spo0A* と *spoIIA* の突然変異を持つもの) を多数作成した。それらが孢子形成のどの段階

図 1 孢子形成過程の模式図と各過程に参与する孢子形成遺伝子

第 0 期, 栄養細胞; 第 II 期, 隔膜が細胞の一方に片寄って (非対称) 形成され, その結果 2 つのコンパートメントができる。小さいほうをプレスポア (将来孢子になる部分), 大きいほうを母細胞という; 第 III 期, プレスポアが細胞膜につつま込まれフォアスポアとなる (二重膜の形成); 第 IV 期, フォアスポアの二重膜の間にコルテックス (ペプチドグリカン) が沈着する; 第 V 期, フォアスポアの外部に母細胞で作られたスポアコート蛋白質が沈着する; 第 VI 期, 成熟期; 第 VII 期, 成熟した孢子が母細胞から遊離する。孢子形成開始 (T_0) から第 VI 期まで 6~8 時間, 第 VII 期まで 24 時間かかる。*, クローン化された遺伝子; +, 2 個以上の遺伝子からなるオペロン; □, シグマ因子をコードしている遺伝子; □, シグマ因子の C 末端に存在する DNA 結合部位のアミノ酸配列とホモロジーを持つ蛋白質をコードしている遺伝子。 T_n , 孢子形成開始後 n 時間を示す。

で停止するかを調べたところ、多くの場合2つの変異のうちの早いほうの段階（たとえば *spo0A*, *spoIIA* 株では第0期）で孢子形成が停止していた。このことは、孢子形成過程は一連の逐次的過程であって、前の段階の遺伝子の発現が抑えられると、それ以後の遺伝子は発現されないことを示唆している。この点について Mandelstam と Errington⁽⁹⁾ は、多数のクローン化された孢子形成遺伝子を用いてさらに詳細な研究を行った。すなわち、クローン化された孢子形成遺伝子と *lacZ* 遺伝子との融合遺伝子を作成し、これを各種の *spo* 変異株染色体に組み込んで、 β -ガラクトシダーゼ活性の発現と所在を調べることにより、当該遺伝子が、母細胞で発現するのか、フォアスポアで発現するのか、また、その発現は孢子形成期のどの時期に始まり、どの *spo* 遺伝子に依存しているのかを解析した。その結果、孢子形成遺伝子の孢子形成期における逐次的発現の骨格が明らかとなった(図2)。

孢子形成遺伝子の発現とシグマ因子

ところでこれらの *spo* 遺伝子の転写は、孢子形成期の枯草菌細胞に出現するいくつかのシグマ因子のカスケードによって行われていることが示唆されている。枯草菌には9種類のシグマ因子が存在する⁽⁶⁾(図3)。これらのシグマ因子のうち $\sigma^{43}(\sigma^A)$ は、枯草菌の主要なシグマ因子であり、大腸菌の σ^{70} に相当する。栄養細胞、孢子形成期の細胞で機能する。 $\sigma^{37}(\sigma^B)$, $\sigma^{32}(\sigma^C)$, $\sigma^{28}(\sigma^D)$ はマイナーなシグマ因子で、栄養細胞に存在して特殊な遺伝子の転写に関与していると考えられる。なかでも

$\sigma^{28}(\sigma^D)$ は、そのC末端のアミノ酸配列が、大腸菌鞭毛レギュロンの重要な調節因子である *flhB* 遺伝子と相関性が高く(脊掛の項参照)、またN末端領域は *flhB* 遺伝子とオペロンを作っている *flaI* 遺伝子のアミノ酸配列の一部とホモロジーがある。 $\sigma^{28}(\sigma^D)$ をコードしている遺伝子(*sigD*)に突然変異が起きると、菌体は filamentous になりフラジェリンを合成できない。このことから $\sigma^{28}(\sigma^D)$ は鞭毛レギュロンの発現に関与するシグマ因子と考えられている⁽⁹⁾。

一方、孢子形成遺伝子の発現に関与するシグマ因子としては、 $\sigma^{30}(\sigma^H)$, $\sigma^{29}(\sigma^E)$, *spoIIAC* 遺伝子産物, *spoIIIG* 遺伝子産物(σ^G), σ^{27} の5種類が知られている。孢子形成開始遺伝子のうちで、最も重要な役割を果たしているのは、*spo0A* 遺伝子であるが(河村の項参照)、*spo0A* 遺伝子の発現には *spo0H* 遺伝子が関与する。*spo0H* 遺伝子は $\sigma^{80}(\sigma^H)$ をコードしているが、その活性は T_0 で最高になり次第に低下する。*spoIIAC* 遺伝子の産物はシグマ因子(SpoIIAC)で、この遺伝子に突然変異が起こると孢子形成は第II期で停止する。*spoIIAC* 遺伝子の発現には *spo0H* が必要であるが、*spoIIIG* は不要である。*spoIIAC* 遺伝子は $E\sigma^{43}(E\sigma^A)$ (E : コア酵素)によって転写されるが、その転写には *spoIIF*, *spoIIM* が必要である(図2参照)。

spoIIIG オペロンは *spoIIIGA* と *spoIIIGB* 遺伝子とからなる。 $\sigma^{29}(\sigma^E)$ は *spoIIIGB* 遺伝子の産物であり、 $T_2 \sim T_4$ 期の細胞に存在する。*spoIIIG* オペロン

図2 孢子形成期における孢子形成遺伝子の逐次的発現と局在化

実線で囲まれた遺伝子は直接その発現が調べられたもの。点線で囲まれた遺伝子は直接発現が測定されていないもの。実線は依存性が直接測定されたもの。点線は依存性が示唆されるが、直接測定されていないもの。

a) 遺伝子の発現時期

b) 14K蛋白質, GerE蛋白質の作用機作

図4 後期孢子形成遺伝子の発現調節モデル

14K蛋白質は $E\sigma^{27}$ とともに *spoIVC* 遺伝子の転写を促進するが, *cotA*, *cotD* 遺伝子の発現を抑える. GerE蛋白質は *cotA* (*cotD*) 遺伝子の発現を抑えるが, *cotC* 遺伝子の発現は促進する.

とともに *spoIVC* 遺伝子の発現を促進, 次に14K蛋白質が消失 (たとえば, スポアコートへの組込み) すると *spoIVC* 遺伝子の発現は停止し *cotA*, *cotD* 遺伝子が転写され, 次に *gerE* 遺伝子が発現すると *cotA* が抑えられ *cotC* の発現が促進される. このように形態形成とカップルした遺伝子発現調節機構は, 大腸菌鞭毛レギュロンの *flaU* 遺伝子の発現⁽¹³⁾で示唆されていたが (沓掛の項参照), 枯草菌の孢子形成過程においても, 同様の調節機構を示唆する結果が *spoIIG* オペロンやスポアコート蛋白質遺伝子の発現調節において示されたことは, 細胞分化における形態形成とカップルした遺伝子発現調節機構の普遍性を示唆するものとして興味深い. これらの調節機構の実態を明らかにすることが, 今後の重要な研究課題であろう.

- (1) H. O. Halvorson: "Function and Structure in Microorganisms," The 15th Symposium of the Society for General Microbiology, Cambridge University Press, Cambridge, 1965, p. 343.
- (2) J. M. Ashworth and J. E. Smith (ed.): "Microbial Differentiation," The 23rd Symposium of the Society for General Microbiology, Cambridge University Press, Cambridge, 1973.
- (3) R. Losick and L. Shapiro (ed.): "Microbial Development," Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1984.
- (4) J. A. Hoch and P. Setlow (ed.): "Molecular Biology of Microbial Differentiation," American Society for Microbiology, Washington, D. C., 1985.
- (5) R. Losick, P. Youngman and P. J. Piggot: *Annu. Rev. Genet.*, **20**, 625 (1986).
- (6) Y. Kobayashi: "Bacillus subtilis-Molecular Biology and Its Industrial Application," ed. by B. Maruo and H. Yoshikawa, Kodansha Scientific, Tokyo, in press.
- (7) J. G. Coote and J. Mandelstam: *J. Bacteriol.*, **114**, 1254 (1973).
- (8) J. Mandelstam and J. Errington: *Microbiol. Sci.*, **4**, 238 (1987).
- (9) J. D. Helmann, L. M. Mároquez and M. J. Chamberlin: *J. Bacteriol.*, **170**, 1568 (1988).
- (10) P. Stragier, C. Bonamy and C. Karamazyn-Campelli: *Cell*, **52**, 697 (1988).
- (11) E. S. Masuda, H. Anaguchi, K. Yamada and Y. Kobayashi: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, in press (1988).
- (12) K. Sandmann, L. Kroos, S. Cutting, P. Youngman and R. Losick: *J. Mol. Biol.*, **200**, 461 (1988).
- (13) Y. Komeda: *J. Bacteriol.*, **168**, 1315 (1986).