

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24年 5月 11日現在

機関番号：32686
 研究種目：挑戦的萌芽研究
 研究期間：2010年～2011年
 課題番号：22657061
 研究課題名（和文）真核細胞誕生機構の解明に挑むーミトコンドリア分裂装置のポストゲノム情報を基に
 研究課題名（英文）Reveal the mechanism of eukaryotic cell-on the base of genome information of mitochondrial division apparatus
 研究代表者 黒岩 常祥 （ KUROIWA TSUNEYOSHI ）
 立教大学・理学研究科・特任教授
 研究者番号：5003353

研究成果の概要（和文）：

既に解読した原始紅藻の100%ゲノム情報(Matsuzaki et al. Nature 428,653,2004)を基盤に、MALDI-TOF MSを用いて、単離に成功しているミトコンドリア分裂装置(Yoshida et al. Science 313,1435,2006)の全タンパク質の解析を行い、その由来を追跡して、宿主細胞による共生細菌の統御の視点から真核細胞誕生のしくみを推定することができた。

研究成果の概要（英文）：

On the basis of 100% genome information of the primitive red alga, which we already decoded (Matsuzaki et al. Nature 428,653,2004), we elucidated all proteins and their genes in the isolated mitochondrial division apparatus by using the MALDI-TOF MS. (Yoshida et al. Science 313, 1435, 2006). We have succeeded to elucidate the mechanism of the birth of eukaryotic cells from the perspective of the regulation of symbiotic bacteria by the host cell using the genome the information.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,300,000	0	1,300,000
2011年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,900,000	480,000	3,380,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・進化生物学

キーワード：真核生物起源、植物ゲノム

1. 研究開始当初の背景

ミトコンドリア分裂装置に類似した構造は葉緑体にも存在し、また同様の超小形のリング構造がアメーバのファゴサイトーシスや、脳のシナプシス小胞の形成の際にも現れ、相同の遺伝子が関与していることが分ってきた。これらことから、既に真核細胞の誕生の際に、宿主はファゴサイトーシスに使っていた小胞

の分裂装置を、自律的な細菌(後のミトコンドリア、葉緑体)を捕え、その分裂を統御するための装置へと変換していった、との説を提唱している(Kuroiwa BioEssay 20,344, 1998; Kuroiwa et al. Int Rev. Mol Cell Biol.271, 97, 2008)。分裂装置の構成物質とその遺伝子が解明されれば、真核細胞誕生の謎がとけるはずである。

2. 研究の目的

真核生物は、約 20 億年前に、宿主生物(真核生物様)の細胞内に、自律的な細菌が共生して半自律的なミトコンドリアとなり、誕生したと考えられている。従って真核生物の誕生のしくみを解く鍵の一つは、宿主生物が、どのように共生細菌の分裂・増殖を制御し、半自律的なオルガネラに変換したかを解くことである。申請者は、これまで真核細胞誕生には、共生細菌からの遺伝子の抜き取り、そして分裂装置によるオルガネラの増殖制御が重要との考えを提唱してきた(Kuroiwa Int Rev Cytol 75,1,1982; BioEssay 20,344,1998)。特に分裂装置に関しては、ミトコンドリアと色素体の分裂装置(MDリング、PDリング)を発見し、その構造と機能を解析してきた。その結果、分裂装置はほとんどの真核生物に存在すること、その構造は細菌ゲノム由来のタンパク質からなる内側リングと、宿主生物ゲノム由来の外側のリングとの、二重キメラ構造であることを明らかにした。本研究の目的は、既に解読した原始紅藻の100%ゲノム情報(Matsuzaki et al. Nature 428,653,2004)を基盤に、MALDI TOF-MSを用いて、単離に成功しているミトコンドリア分裂装置(Yoshida et al. Science 313,1435,2006)の全タンパク質の解析を中心に行い、それらの由来を解析して、宿主細胞による共生細菌の統御の視点から、真核細胞誕生のしくみを解明することである。

3. 研究の方法

(1) 高度同調培養系を用い、ミトコンドリア分裂装置を単離し、MALDI TOF-MS解析を行い、得られた約 20 余りの未知候補遺伝子を再確認する。(2) 得られた遺伝子について、比較ゲノム、マイクロアレイ等で調べ、その遺伝子が細菌ゲノム由来か、宿主ゲノム由来か決定する。(3) 次にこれらの遺伝子と、葉緑体分裂装置、小胞分裂装置との関連、及び真核生物全体の比較ゲノム解析を行い、遺伝子の変遷過程をとらえ、それによって細菌の自律性が奪われて行く機構をポストゲノム情報を使って明らかにした。

4. 研究成果

(1) 既に解読した原始紅藻の100%ゲノム情報(Matsuzaki et al. Nature 428,653,2004)を基盤に、MALDI-TOF MSを用いて、単離に

成功しているミトコンドリア分裂装置(Yoshida et al. Science 313,1435,2006)の全タンパク質の解析を行った。その結果、ミトコンドリアの分裂装置内にあるタンパク質がオルガネラの全体の分裂増殖を制御していることが分かってきた。そこで改めて各オルガネラの分裂について考察した。

(2) オルガネラは 2 重膜に包まれた3オルガネラ(細胞核、ミトコンドリア、色素体)と単膜に包まれた4オルガネラ(ゴルジ体、ER、小胞体、マイクロボディ)からなる。細胞質分裂はこれらのオルガネラが全部分裂してから最後に生じる。これまでの研究で、ミトコンドリアと色素体は独自の分裂装置を使って分裂増殖することがわかってきた。しかし単膜系のオルガネラに関しては不明であった。

(3) そこで我々はゴルジ体と ER の分裂が細胞核の分裂に依存して起こることを明らかにした。またリソソームとマイクロボディがミトコンドリアの分裂に依存して起こることを明らかにした。

(4) 特にマイクロボディは新たな分裂装置を使って分裂していることが明らかになってきた。これらの知見から、単膜系のオルガネラの分裂も細胞核のゲノム情報が関係していることが強く示唆された。

(5) 次にこれら全オルガネラが分裂してから最後に起こる細胞質分裂に関して新たな知見を得た。従来細胞質分裂は、アクチンとミオシンを主成分とする収縮環によって起こると考えられていたが、原始紅藻シズンでは、これらのタンパク質は合成されず、新たに EF1 α タンパク質が見つかった。詳細な解析の結果、最も原始的な細胞質分裂はEF1 α タンパク質のリングを使って分裂していること、さらに進化した生物では EF1 α と収縮環を使い、真核生物全般へと広がったことが強く示唆された。

(6) 以上の結果から、宿主細胞核による共生細菌の統御がもたらした、真核細胞誕生と進化のしくみについての新たな考えを提示することに成功した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 21 件)

1.Tagami K., Nanamiya H., Murakami K.,

- Maehashi M., Masuda K., Natori Y., Tozawa Y., Yoshida M., Kuroiwa H., Kuroiwa T. and Kawamura F. A novel ribosome dimerization factor (RDF), YvyD, in *Bacillus subtilis*. *Microbiol. Open*. on line (2012) 査読 有
2. Yagisawa F., Fujiwara T., Ohnuma M., Imoto, Y., Yoshida Y., Kuroiwa H., and Kuroiwa T.: Mitotic inheritance of ER in the primitive red alga *Cyanidioschyzon merolae*. *Protoplasma*. on line (2012) 査読 有
3. Kato S., Imoto U., Ohnuma M., Matsunaga T.M., Kuroiwa H., Kawano S., Kuroiwa T. and Matsunaga S.: Aurora kinase of the red alga *Cyanidioschyzon merolae* is related to both mitochondrial division and mitotic spindle formation. *Cytologia* 76, 455-462 (2012) 査読 有
4. Imoto U., Nishida K., Yagisawa F., Yoshida Y., Ohnuma M., Yoshida M., Fujiwara T., Kuroiwa H., Kawano S. and Kuroiwa T.: Involvement of elongation factor-1 α , but not an actomyosin contractile ring, in cytokinesis in the primitive red alga *Cyanidioschyzon merolae*. *Cytologia* 76, 431-437 (2012) 査読 有
5. Imoto Y., Yagisawa F., Yoshida Y., Kuroiwa H., and Kuroiwa T.: Cytological aspect of cell cycle and organelle dividing cycle. *J. Electron Microscopy*, 60, S117-S136 (2011) 査読 有
6. Ohnuma M., Kuroiwa T. and Tanaka K.: Optimization of cryopreservation conditions for the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 578, 137-143 (2011) 査読 有
7. Yoshida M., Yoshida Y., Fujiwara T., Misumi O., Kuroiwa H. and Kuroiwa T.: Proteomic comparison between interphase and metaphase of isolated chloroplasts of *Cyanidioschyzon merolae* (Cyanidiophyceae, Rhodophyta). *Phycol. Res.* 59, 1-15 (2011) 査読 有
8. Ohnuma M., Misumi O. and Kuroiwa T.: Phototaxis in the unicellular red algae *Cyanidioschyzon merolae* and *Cyanidium caldarium* *Cytologia* 76, 295-300 (2011) 査読 有
9. Itoh K., Izumi A., Mori T., Dohmae N., Yui R., Sano K., Shirai Y., Kanaoka M., Kuroiwa T., Higashiyama T., Murakami-Murofushi K., Kawano S and Sasaki N.: DNA packaging proteins Glom and Hlom2 coordinately organize the mitochondrial nucleoid of *Physarum polycephalum*. *Mitochondrion* 11, 575-586 (2011) 査読 有
10. Kobayashi, Y., Ohnuma, M., Kuroiwa T., Tanaka, K., and Hanaoka, M.: The basics of cultivation and molecular genetic analysis of the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*. *J. Endocytobiosis Cell Res.* 20, 53-61 (2010) 査読 有
11. Yoshida Y., Kuroiwa H., Misumi O., Yoshida M., Ohnuma M.¹, Fujiwara T., Yagisawa F., Hirooka S., Matsushita K., Kawano S. and Kuroiwa T. Plastid division is driven by glycoprotein PDR1 with poly-glucan filaments. *Science* 329, 949-953 (2010) 査読 有
12. Sakajiri, T., Asano, K., Hirooka, S., Ohnuma, M., Misumi, O., Yoshida, M., Fujiwara, T., Doi, S., Kuroiwa, H. and Kuroiwa T. The Overexpression of *Cyanidioschyzon merolae* S-adenosylmethionin synthetase enhances salt tolerance in transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Cytologia* 75, 341-352 (2010) 査読 有
13. Mori, T., Hirai, M., Kuroiwa T., and Miyagishima, M.S.: The Functional Domain of GCS1-based Gamete Fusion Resides in the Amino Terminus in Plant and Parasite Species. *Plos one.* 5, e15957 (2010) 査読 有
14. Fujiwara T., Yagisawa F., Ohnuma M., Yoshida Y., Yoshida M., Nishida K., Misumi O., Kuroiwa H. and Kuroiwa T.: The vacuole binding to mitochondria by VIG1 contributes an equal inheritance of the vacuoles in *Cyanidioschyzon merolae*. *Cytologia* 75, 189-194 (2010) 査読 有
15. Hirabaru C., Izumo A., Fujiwara S., Tadokoro Y., Shimonaga T., Konishi M., Yoshida M.,

- Fujita N., Nakamura Y., Yoshida Y., Kuroiwa T., and Tsuzuki M.: The primitive rhodophyte *Cyanidioschyzon merolae* contains a semi-amylopectin-type, but not an amylose-type α -glucan.
Plant Cell Physiol. 51, 682-693 (2010) 査読 有
16. Kuroiwa T.: Origin of eukaryotic cells as deduced from organelle division machineries.
Proc. Jpn. Acad. Seri. B. 86, 455-471 (2010) 査読 有
17. Imoto Y., Fujiwara T., Misumi O., Nishida K., Kuroiwa H. and Kuroiwa T.: Division and segregation of cell nucleus, mitochondrion and microbody mediated by centrosomes (mitotic spindle pole bodies) in the primitive red alga *Cyanidioschyzon merolae*.
Protoplasma 241, 3-74 (2010) 査読 有
18. Itoh K., Kawano S., Kuroiwa H., Kuroiwa T., Higashiyama T., and Sasaki N., Murakami-Murofushi K.: New protein Pmn34 with an exonuclease motif localizes in the mitochondrial nucleoid periphery of *Physarum polycephalum*.
Cytologia 74, 401-407 (2009) 査読 有
19. Kuroiwa T.: Review of cytological studies on cellular and molecular mechanisms of uniparental (maternal or paternal) inheritance of plastid and mitochondrial genomes induced by active digestion of organelle nuclei (nucleoids).
J Plant Res 123, 207-230 (2010) 査読 有
20. Kuroiwa T. 100 years since discovery of non-Mendelian plastid phenotypes.
J Plant Res. 123, 125-129 (2010) 査読 有
21. Fujiwara, T., Yagisawa, F., Misumi, O., Tashiro, K., Nishida, K., Yoshida, Y., Yoshida, M., Mori, T., Kuroiwa, H., and Kuroiwa T.: VLIg is essential for the vacuole inheritance in *Cyanidioschyzon merolae*.
Plant Cell 22, 772-781 (2010) 査読 有
- [学会発表] (計 9 件)
1. 青山洋昭、黒岩常祥、中村宗一: クラミドモナスの培養日数がミトコンドリアに与える影響。日本植物学会 75 回大会。2011 年 9 月 17 日 東京大学
2. 廣岡俊亮、華岡光正、黒岩晴子、黒岩常祥、田中寛: 葉緑体分化に関わる色素体シグマ因子 SIG6 の機能解析。日本植物学会 75 回大会 2011 年 9 月 17 日 東京大学
3. 黒岩常祥、吉田大和、井元裕太、大沼みお、黒岩晴子: シゾンの運動性を利用した自然(非無菌)純化・同調培養法の開発。日本植物学会 75 回大会 2011 年 9 月 17 日 東京大学
4. 松崎素道、増田功、黒岩晴子、黒岩常祥、野崎久義、北潔: 蛍光融合タンパク質を利用したパーキンソラス色素体およびミトコンドリアの細胞学・生化学的解析。日本植物学会 75 回大会 2011 年 9 月 17 日 東京大学
5. 井元裕太、吉田大和、大沼みお、藤原崇之、吉田昌樹、三角修己、八木沢芙美、廣岡俊亮、黒岩晴子、河野重行、黒岩常祥: 原始紅藻シゾンにおけるマイクロボディ分裂制御遺伝子の解析。日本植物学会 75 回大会 2011 年 9 月 17 日 東京大学
6. 大沼みお、吉田大和、井元裕太、藤原崇之、黒岩常祥: オルガネラの分裂または分配に関わる新規遺伝子の探索と解析。日本植物学会 75 回大会 2011 年 9 月 17 日 東京大学
7. 黒岩晴子、黒岩常祥: 被子植物ゼラニウムの受精前後における胚嚢の変動について。日本植物学会 75 回大会 2011 年 9 月 17 日 東京大学
8. 三角修己、小林優介、中村真心、藤田亜希子、黒岩晴子、黒岩常祥: 硫化水素泉から採取された新規原始紅藻類の特性について。日本植物学会 75 回大会 2011 年 9 月 17 日 東京大学
9. 黒岩常祥: 真核細胞の誕生機構をオルガネラの分裂装置のゲノム科学解析から読む。日本ゲノム微生物学会。2012 年 3 月 11 日。立教大学
- [図書] (計 2 件)
1. 黒岩常祥他編 生物学辞典 東京化学同人 2011 年 1615p
2. 黒岩常祥、浅島誠、小原雄治編 現代生物学入門 全 10 巻 2011 年 2140p
1. 青山洋昭、黒岩常祥、中村宗一: クラミド

〔産業財産権〕

○出願状況（計1件）

名称：LC-MALDIで得られたデータの比較解析方法

発明者：黒岩常祥 吉田昌樹

権利者：立教大学

種類：特許

番号：PCT/JP2011/069885

出願年月日：2011.9.1

国内外の別：国内

○取得状況（計1件）

名称：LC-MALDIで得られたデータの比較解析方法

発明者：黒岩常祥 吉田昌樹

権利者：立教大学

種類：特許

番号：W02012/29900

取得年月日：2012.3.8

国内外の別：国内

6. 研究組織

研究代表者

黒岩常祥 (KUROIWA TSUNEYOSHI)

立教大学・理学研究科・特任教授

研究者番号：50033353