

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 7 日現在

機関番号：63801

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2010～2013

課題番号：22687020

研究課題名(和文)細胞分裂周期と光合成の相互作用による葉緑体分裂増殖制御機構の解明

研究課題名(英文)Analyses of regulatory mechanisms of chloroplast division by eukaryotic cell cycle and photosynthesis

研究代表者

宮城島 進也 (MIYAGISHIMA, Shin-ya)

国立遺伝学研究所・新分野創造センター・特任准教授

研究者番号：00443036

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 19,500,000円、(間接経費) 5,850,000円

研究成果の概要(和文)：葉緑体はシアノバクテリアが真核細胞内に共生して誕生した。恒常的な共生関係は共生体(葉緑体)と宿主細胞の分裂が同調することによって維持されるが、そのメカニズムは不明であった。本研究の結果、葉緑体分裂装置の構成因子をコードする遺伝子群が、宿主細胞周期依存的に発現することにより、一細胞周期に一回葉緑体が分裂することが明らかとなった。さらに、宿主細胞周期進行が、光合成の蓄積量に依存するだけでなく、概日リズムによっても制御されていることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Chloroplasts have evolved from a cyanobacterial endosymbiont. Continuity of chloroplasts has been maintained by synchronization of the host cell cycle and the timing of chloroplast division. In this study, we have shown (1) that timing of chloroplast division is restricted to the S phase by the cell-cycle regulated expression of the chloroplast division genes and (2) that the host cell cycle progression depends on both photosynthetic cell growth and circadian rhythm.

研究分野：基礎生物学

科研費の分科・細目：進化生物学

キーワード：オルガネラ起源

1. 研究開始当初の背景

葉緑体は 10-20 億年前に、シアノバクテリアが真核細胞内に共生して誕生した。細胞内共生バクテリアがオルガネラになる過程において、(i) 共生体遺伝子群の宿主核への転移及びその翻訳産物の葉緑体への輸送機構の獲得 (ii) 葉緑体包膜を介した代謝産物の交換機構の成立 (iii) 宿主真核細胞による共生体の分裂・増殖制御機構の獲得が必須であったと考えられる。

これらのイベントの中で分裂・増殖の制御は、宿主細胞が分裂する際に、共生体を娘細胞に確実に伝播させ、宿主細胞による共生体の恒久的維持を可能とするものである (図 1)。宿主真核細胞による葉緑体分裂の制御機構はこれまでほとんど解析されてこなかったが、制御機構解析の基盤として、葉緑体分裂機構が、近年申請者らを中心とした研究により、以下のように解明され始めた。

葉緑体の分裂は、その分裂面に形成されるリング状の分裂装置が収縮することによって引き起こされ、分裂装置にはシアノバクテリア由来の FtsZ を中心としたタンパク質群と、共生後に宿主真核細胞によって加えられたダイナミンを中心とするタンパク質群が含まれることが明らかとなった。このうち FtsZ はバクテリアのサイトキネシス機構、一方ダイナミンは真核細胞のサイトキネシス機構に由来する。つまり葉緑体分裂は共生体、宿主真核細胞両方に由来する分裂機構の融合装置によって行われる。これらの葉緑体分裂機構に関する知見は、本研究の目的である、葉緑体分裂の制御機構の解析を可能とした。

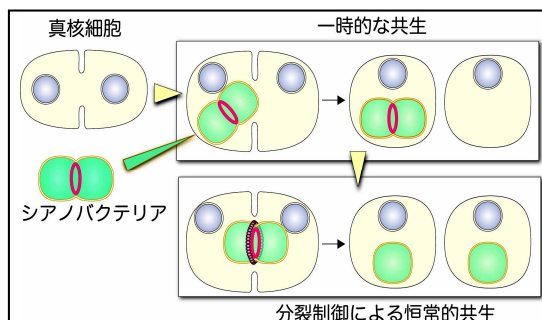


図 1 真核細胞による葉緑体の分裂制御

2. 研究の目的

葉緑体を獲得しまでもなく分岐した藻類は、葉緑体を細胞あたり一ないし数個しか持たないため、葉緑体分裂は宿主細胞周期の決まった時期に一回だけ起きる。この分裂同調化が恒常的な細胞内共生関係を成立させた基盤であると考えられている。宿主の細胞周期と葉緑体分裂の時期がどのようにして連動するかを理解するためには、宿主細胞がその細胞周期を介して、どのように葉緑体分裂装置を制御しているか理解する必要がある。

一方で、葉緑体獲得は、非光合成真核細胞に光合成を統合する過程であり、宿主の

細胞周期 (つまりそれに連動しておこる葉緑体分裂も) が進行するためには、葉緑体による光合成が必須である。つまり、葉緑体の光合成活性と宿主細胞周期進行の協調機構も併せて理解し、分裂同調化が共生体と宿主双方の関与によって如何にして成り立っているのかを解明する必要がある。

本研究では、(1) 葉緑体分裂遺伝子の発現制御を指標として、宿主細胞による葉緑体分裂制御機構を解明し (宿主側からの葉緑体の制御)、(2) さらに葉緑体光合成活性と宿主細胞周期進行の関係 (葉緑体の宿主細胞へ与える影響) を明らかにすることで、宿主細胞と共生体の相互作用による、恒常的共生関係確立の過程を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 宿主細胞周期による葉緑体分裂遺伝子群の発現制御の解析

葉緑体分裂のタイミングが宿主細胞周期によってどのような制御を受けているのかを以下のように調べた。通常の細胞周期、及び、攪乱した細胞周期における、葉緑体分裂装置の形成、葉緑体分裂装置構成タンパク質群、及びそれらをコードする遺伝子群の発現パターンを解析した。さらに、どの葉緑体分裂遺伝子が宿主細胞周期により制御されているのか、また、その藻類における一般性を理解するために、灰色藻、紅藻、緑藻、車軸藻を用いた比較解析を行った。一部の藻類では、葉緑体分裂遺伝子群の一部が葉緑体ゲノムに残っており、これらの挙動を、核コード分裂遺伝子群と比較することで、葉緑体から核への遺伝子転移と分裂周期依存発現との間

(2) 光合成による細胞成長と宿主細胞周期進行の関係の解析

葉緑体光合成活性と宿主細胞周期がどのような関係にあるのかを調べるために、単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae* の明暗同調培養系を用いた。光の強度、明期の時間を変えることで光合成による細胞成長を変化させ、その細胞周期進行への影響を調べた。さらに、G1/S 移行に関わるタンパク質群の特異的抗体を作成し、その細胞内レベル、リン酸化状態の解析を行った。これらの結果を統合して、明期におこる光合成、細胞成長、及び G1/S 移行の関係を解析した。

4. 研究成果

(1) 宿主細胞周期による葉緑体分裂遺伝子群の発現制御の解析

単細胞紅藻 *C. merolae* の明暗同調培養系を用いた解析の結果、葉緑体分裂は S 期におこることが明らかとなった。さらに細胞周期進行阻害剤を用いた解析の結果、細胞周期を S 期で停止させると、細胞分裂はおこらないが、葉緑体分裂が繰り返しおこること、M 期で停

止させた場合は、葉緑体はS期に一回分裂したあと分裂を停止することが判明した。葉緑体分裂装置の構成タンパク質群及びそれらをコードする遺伝子群(すべて核コード)の発現を解析した結果、転写及び翻訳がS期にのみ行われ、葉緑体分裂装置はS期にのみ形成されることがわかった。

次に、緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii*、*Chlorella vulgaris*、灰色藻 *Cyanophora paradoxa*、車軸藻 *Mesostigma viride* を用いて同様の解析を行った結果以下のことが明らかとなった。

(i)核コードの葉緑体分裂遺伝子群(系統によっては一部の遺伝子群のみ)はS期にのみ発現する、(ii)一部の系統において葉緑体ゲノムに残存している分裂関連遺伝子群は細胞周期に関係なく発現する。これらの結果は、(i)細胞周期による葉緑体分裂遺伝子群(一部の遺伝子でも十分)の発現制御により、S期に分裂装置が形成され葉緑体が一回だけ分裂すること、(ii)葉緑体ゲノムから核ゲノムへの遺伝子転移の後に細胞周期制御を受けるようになったことを示している。(iii)さらに、*minD*、*minE*等の葉緑体分裂遺伝子の葉緑体ゲノムから核ゲノムへの転移は、複数の系統で独立におこったと推定されるが、いずれの場合にも、核ゲノムへの転移後に細胞周期による発現制御が成立したことが判明した。

(2) 光合成による細胞成長と宿主細胞周期進行の関係の解析

単細胞紅藻 *C. merolae* を用いて、光合成による細胞成長と細胞周期進行の関係を解析した結果、以下のことが明らかとなった。(i) 昼間の光合成により細胞は成長し、ある一定のサイズを超えた細胞のみ、G1期からS期へ移行できる。(ii) G1期からS期への移行は主観的黄昏に限定される (iii) S期に進行

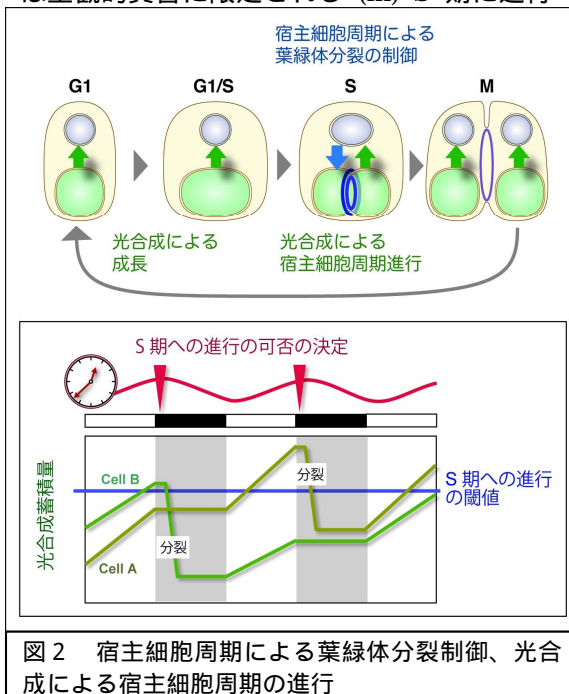


図2 宿主細胞周期による葉緑体分裂制御、光合成による宿主細胞周期の進行

しない場合、細胞のサイズは夜間も維持される(図2)。これらの結果は、G1/S移行が光合成による細胞成長に伴う因子と、概日リズム(生物時計)によって制御される因子の両方により制御されていることを示している。さらに、細胞成長と概日リズムの情報がタンパク質のリン酸化を介して、同一のG1/S移行転写因子複合体に感知される事を明らかにした。

光合成活性、並びにそれに付随する炭酸、硝酸、硫酸同化などは、古くから生物時計の制御を受けることが知られており、この結果は、細胞内共生において、宿主と共生体の代謝活性及び成長・分裂を統合し制御するために、生物時計が重要な役割を担っていることを示唆するものである。

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10件)

Yukihiro Kabeya and Shin-ya Miyagishima (2013) Chloroplast DNA replication is regulated by the redox state independently of chloroplast division in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol.*, 161, 2102-2112, 査読有り, DOI: 10.1104/pp.113.216291

Shin-ya Miyagishima, Kenji Suzuki, Kumiko Okazaki, and Yukihiro Kabeya (2012) Expression of the nucleus-encoded chloroplast division genes and proteins regulated by the algal cell cycle. *Mol. Biol. Evol.*, 29, 2957-2970, 査読有り, DOI: 10.1093/molbev/mss102

Yamato Yoshida, Shin-ya Miyagishima, Haruko Kuroiwa, and Tsuneyoshi Kuroiwa (2012) The plastid-dividing machinery: formation, constriction and fission. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 15, 714-721, 査読有り, DOI: 10.1016/j.pbi.2012.07.002

Shin-ya Miyagishima, Hiromitsu Nakanishi, and Yukihiro Kabeya (2011) Structure, regulation, and evolution of the plastid division machinery. *Int. Rev. Cell. Mol. Biol.* 291, 115-153, 査読有り, DOI: 10.1016/B978-0-12-386035-4.00004-5

Shin-ya Miyagishima (2011) Mechanism of plastid division: from a bacterium to an organelle. *Plant Physiol.*, 155, 1533-1544, 査読有り, DOI: 10.1104/pp.110.170688

Shin-ya Miyagishima and Yukihiro Kabeya (2010) Chloroplast division: squeezing the photosynthetic captive. *Curr. Opin. Microbiol.* 13, 738-746, 査読有り, DOI: 10.1016/j.mib.2010.10.004

Ayumi Minoda, Andreas P. Weber, Kan Tanaka and Shin-ya Miyagishima (2010) Nucleus-independent control of the rubisco operon by the plastid-encoded transcription

factor Ycf30 in the red alga *Cyanidioschyzon merolae*. *Plant Physiol.* 154, 1532-1540, 査読有り, DOI: 10.1104/pp.110.163188

Yukihiro Kabeya, Hiromitsu Nakanishi, Kenji Suzuki, Takanari Ichikawa, Youichi Kondou, Minami Matsui, and Shin-ya Miyagishima (2010) The YlmG protein has a conserved function related to the distribution of nucleoids in chloroplasts and cyanobacteria. *BMC Plant Biol.* 10, 57, 査読有り, DOI: 10.1186/1471-2229-10-57

Kenji Suzuki and Shin-ya Miyagishima (2010) Eukaryotic and eubacterial contributions to the establishment of plastid proteome estimated by large-scale phylogenetic analyses. *Mol. Biol. Evol.* 27, 581-590, 査読有り, DOI: 10.1093/molbev/msp273

Kumiko Okazaki, Yukihiro Kabeya, and Shin-ya Miyagishima (2010) The evolution of the regulatory mechanism of chloroplast division. *Plant Signal Behav.* 5, 70-73, 査読無し, DOI: 10.4161/psb.5.2.10461

〔学会発表〕(計9件)

宮城島 進也, The coordinating mechanisms of eukaryotic cell and chloroplast proliferation, 日本微生物生態学会大会シンポジウム, 2012年9月22日, 豊橋市

宮城島 進也, オルガネラ分裂から見た細胞内共生と植物細胞の進化, 日本植物学会大会シンポジウム, 2012年9月16日, 姫路市

宮城島 進也, 細胞と葉緑体の分裂同調化機構の解析, クラミドモナス・ワークショップ, 2011年11月26日, 岡崎市

宮城島 進也, 細胞内共生: ミトコンドリアと葉緑体, 地文台シンポジウム&東工大流動機構国際ワークショップ 2011年11月1日, 東京

宮城島 進也, Evolution and Regulation of the Chloroplast Division Machinery: Permanent Inheritance of Endosymbiotic Organelles, 日本生化学会大会シンポジウム, 2011年9月23日, 京都市

宮城島 進也, 壁谷 如洋, 藻類細胞周期による葉緑体分裂制御機構, 日本植物学会大会, 2011年9月17日, 東京

宮城島 進也, 葉緑体の分裂機構と分裂制御機構, 日本分子生物学会・日本生化学会合同大会, 2010年12月9日, 神戸市

宮城島 進也, 細胞と葉緑体の分裂同調化機構の解析, 日本植物学会大会, 2010年9月10日, 春日井市

宮城島 進也, 真核細胞と葉緑体の協

調増殖機構, 日本植物細胞分子生物学会シンポジウム, 2010年9月2日, 仙台市

〔図書〕(計2件)

宮城島 進也, 壁谷 如洋 (2011) 葉緑体の分裂機構, *細胞工学*, 30巻11号 1177-1184.,

<http://gakken-mesh.jp/journal/detail/9784780901245.html>

Shin-ya Miyagishima and Hiromitsu Nakanishi (2010) Chloroplast division machinery: origins and evolutions. In *Red Algae in Genomic Age*. (eds. J. Seebach, D. J. Chapman, and A. Weber), Springer, pp3-24, DOI: 10.1007/978-90-481-3795-4

〔その他〕

<http://www.nig.ac.jp/section/miyagishima/miyagishima-j.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮城島 進也 (MIYAGISHIMA, Shin-ya)

国立遺伝学研究所・新分野創造センター・

特任准教授

研究者番号: 00443036

(2) 研究分担者

無し

(3) 連携研究者

無し