

【領域番号】 3308

【領域略称名】 マトリョーシカ

【領域代表者（所属）】 野崎智義（国立感染症研究所・部長）

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとし、現在どこまで研究が進展しているのか

計画研究、公募研究のいずれもほぼ予定通り進展している。ここでは計画研究を中心に研究目的と進捗状況を概説し、特に重要な成果に関しては公募研究も含めて「成果ハイライト」として示した。

研究項目 A：共生・寄生の成立機構

A01 計画研究（永井）：「細菌の原虫・哺乳動物宿主に対する寄生・共生の分子基盤」

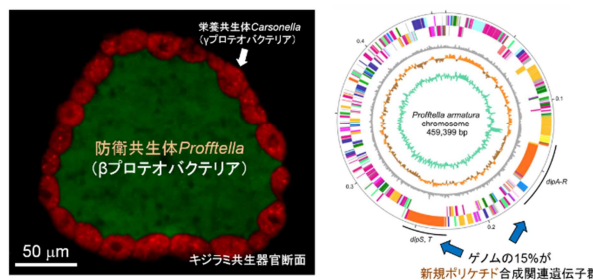
研究目的: マトリョーシカ化へつながる第一歩は、細菌の真核細胞への侵入とそれに続く潜伏・増殖可能なニッチの形成である。この第一歩は今日でも日常的に見いだされる現象であり、それを可能にする仕組みを理解することを目的とする。計画研究では、自由生活性アメーバをリザーバー宿主とする病原菌レジオネラを材料に、両者の攻防を双方の視点からのアプローチにより解析することにより、レジオネラのアメーバ中での生存戦略、およびアメーバの細菌感染に対する生存戦略を明らかにする。

進捗状況: アメーバ中での増殖に特異的なレジオネラ因子(エフェクタータンパク質)の網羅的同定を完了し、それらの機能解析を展開中である。一方、一般的なモデル生物ではないアcantアメーバの研究ツールとして、感染アメーバのイメージング系の構築等を完了した。アメーバ側の生存戦略の解析の一環として、領域内連携(A02 公募班山口、B02 計画班黒田・支援班)により、アメーバ内増殖においてレジオネラと拮抗するアcantアメーバ共生菌のゲノム解析を実施した(Matsuno et al. PLoS One, 2013)。

成果ハイライト-Nakabachi et al. Curr Biol, in press

A01 中鉢ら（公募）は進化的にきわめて安定な特徴を示すオルガネラ様「防衛共生体」*Proffella* を世界で初めて発見した。防衛共生体は二次代謝物を用いて宿主を天敵から守るが、一般に進化的に不安定である。しかし半翅目昆虫ミカンキジラミの共生器官に見出したβプロテオバクテリア *Proffella* は、永続的に垂直感染を繰り返していた。そのゲノムは460 kbと極端に縮小していたが、強い細胞毒性をもつ新規ポリケチド・デアフォリンの合成に15%にも及ぶ領域を費やしており、防衛共生体としての分子基盤が明らかになった。

極小ゲノムを持ち細胞毒を産生するオルガネラ様防衛共生体の発見



A02 計画研究（守屋・大熊）：「先端ゲノム・トランスクリプトーム解析技術を用いた環境微生物の共生原理の解明」

研究目的: 生物間共生における「出会い」のフェーズにある複数の異なる共生系を研究対象として、主にゲノム・トランスクリプトーム解析技術を用いた網羅的な解析研究を行い、共生の仲立ちを行う物質的・遺伝的要因を探ることを目的としている。

進捗状況: 計画研究ではこれまでに、世界に先駆けたシングルセルゲノム・シングルセルトランスクリプトーム解析技術の開発・高度化を当初の予定に沿って着実に実施している。その上でそれらの手法を用いることで、シロアリ共生原生生物における水素を仲立ちとしたシステムを明らかにした他、現在運動共生

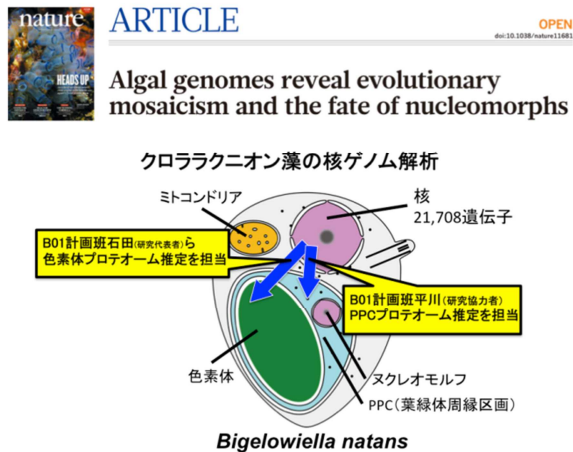
に関わる細胞外共生系やバイオフィーム形成に関する解析を進めている。また、公募班ではそれぞれユニークな材料と技術を駆使した研究を展開している。

研究項目 B：共生からオルガネラへの進化

B01 計画研究（石田・井上・松崎）：「二次共生における共生藻のオルガネラ化過程の解明」

研究目的：葉緑体としての進化段階が異なる3つの生物群（盗葉緑体段階のハテナ・安定した葉緑体段階のクロララクニオン藻・縮退した葉緑体段階のパーキンサス）を材料とし、各進化段階における葉緑体維持機構と依存様式を解明することにより、二次共生による葉緑体獲得（共生藻のオルガネラとしての統合）が駆動する細胞進化のより深い理解を得ることを目的としている。

進捗状況：これまで計画班全体としてはほぼ順調に進んでおり、とくにクロララクニオン藻については系統的に離れた3種の共生藻核ゲノムの全配列を決定し、比較解析により共生藻核ゲノム進化の概要をほぼ解明できるなど予想以上の進展が得られている。また国際共同研究に参画して行った *Bigelowiella natans* の全ゲノム解読（Curtis et al. Nature, 2012・成果ハイライト）において、葉緑体へのタンパク質輸送推定シグナルの多様性からタンパク質輸送機構の多様性の存在を示唆することができた。

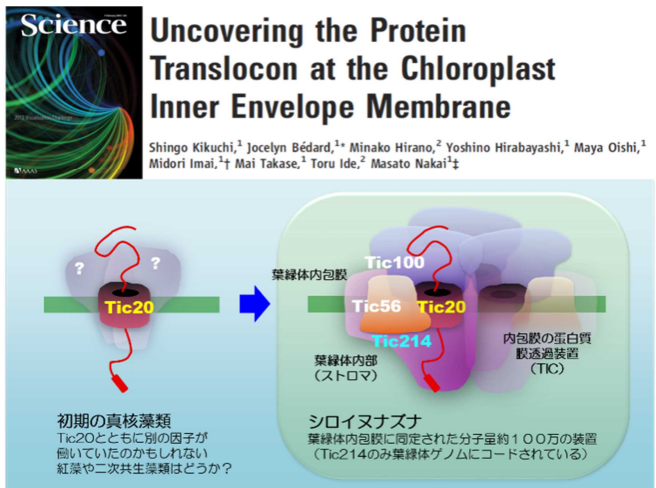


成果ハイライト-Curtis et al. Nature, 2012

B01 石田らは、全ゲノム情報からクロララクニオン藻の核ゲノムの中で色素体へ輸送されるタンパク質（色素体プロテオーム）を推定し、色素体輸送シグナルの多様性を示した。また、B01 平川（研究協力者）は、色素体の4枚の包膜の内側の2枚と外側の2枚の間にあるスペース（色素体周縁区画：PPC）へ輸送されるタンパク質のプロテオームを推定した。本研究は、二次共生によって色素体（葉緑体）を獲得した生物で初めての全ゲノム配列解析であり、二次共生における共生真核藻のオルガネラ化とそれに伴う細胞進化（つまり二次共生におけるマトリョーシカ型進化原理）の理解を飛躍的に進めた。

成果ハイライト-Kikuchi et al. Science, 2013

B01 中井ら（公募）は植物の一次共生葉緑体の内包膜におけるタンパク質膜透過装置(TIC translocon)を精製し、その全構成因子をはじめて同定した。なかでも Tic214 は緑色植物の葉緑体ゲノムに特異的で長らく機能不明とされてきた *ycf1* 遺伝子の発現産物であった。このことは、一次共生オルガネラのタンパク質輸送装置が核のみではなく葉緑体ゲノムの積極的な



関与によって構築されており、一次共生葉緑体においても継続的にオルガネラ駆動型の進化が起きていることを示す画期的な成果である。

B02 計画研究（野崎・橋本・黒田）：「ミトコンドリア進化の多様性」

研究目的：土壌や消化管などの自由生活性および寄生性原生生物で見られるミトコンドリアの嫌気条件化での進化を構成因子、輸送・分裂の分子機構を詳細に明らかにする。また特殊進化型ミトコンドリアが寄

生・病原性にどのように貢献しているかを解明する。更に、嫌気性原虫の進化に影響を与える共生を明らかにすることを目的として、次世代シーケンサーによる原生生物の全ゲノム解読により共生細菌・ウイルスを網羅的に同定し、進化における意義を解明する。

進捗状況： 寄生性嫌気性原生生物である赤痢アメーバのミトソームの代謝機能と輸送の分子機構を解明した(Makiuchi et al. Sci Rep, 2013・次ページ**成果ハイライト**; Mi-ichi et al. PLoS NTD, 2012)。他種生物に全く例を見ない新規の機能（硫酸活性化）をもつミトコンドリア由来オルガネラのタンパク質輸送装置の受容体サブユニットの同定、機能解析は、極めて重要な成果であった。分裂装置の解析についても順調に進捗している。自由生活性原生生物フォルニカータの 4 生物種の EST 大量データの解析を終了し、MRO 進化の概

要、特に、嫌氣的 ATP 生成経路の縮退進化、アミノ酸代謝経路の進化、MRO へのタンパク質輸送機構の進化様態を示した。3 種の新奇生物に関してミトコンドリア・核ゲノムの進化に関して、前例のないミトコンドリア DNA コード遺伝子などの知見が得られた (Nishimura et al. PLoS ONE, 2012)。

B03 計画研究 (稲垣・小保方) : 「ミトコンドリア・色素体以外の共生オルガネラ成立過程の解明」

研究目的： 真核生物進化の初期に確立されたミトコンドリア・色素体成立過程 (“古い”マトリョーシカ化イベント) の痕跡は、今日までの真核生物進化中で失われている。B03 研究計画では、ミトコンドリア・色素体よりも進化的に“若い”オルガネラをもつ真核生物種を探索し、宿主と共生体のゲノムなどを解析することで、マトリョーシカ化に関わる変革イベントの痕跡を検出し、その詳細を解明する。また“若い”オルガネラとして確立する以前のモデルとなる、細菌と真核生物の共生系の人工的な構築とその解明を目指す。

進捗状況： 一部の珪藻は窒素固定に特化したシアノバクテリア共生体 (楕円体) をもつ。我々は、これらの珪藻の一種 *Epithemia turgida* の楕円体ゲノムを、世界に先駆けて完全解読することに成功した。今後宿主側のゲノム情報を取得し、楕円体から宿主核へ移行した遺伝子群の同定を行う。色素体とは異なる光合成性シアノバクテリア共生体 (有色体) をもつ有殻アメーバ *Paulinella chromatophora* に関しては、宿主ゲノム情報を取得し、有色体ゲノムから宿主核へ移行した遺伝子の全体像を解明することに成功した。今後、宿主核へ移行した共生体遺伝子の発現が、宿主細胞によりどのように制御されているかを解明してゆく。

研究項目 C : オルガネラによる宿主の支配

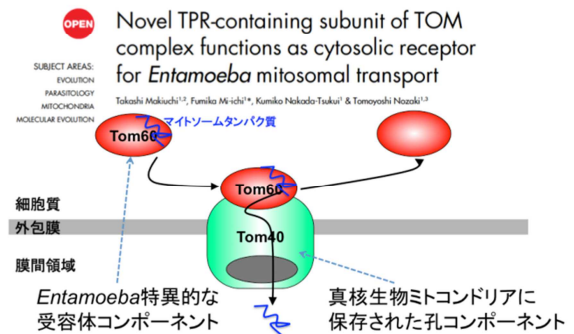
C01 計画研究 (永宗) : 「植物由来共生オルガネラの宿主隷属化機構」

研究目的： オルガネラが本来自分のために使用していた植物ホルモンを利用して、宿主の増殖や分化を制御し、隷属化していった機構を理解しようとすることを目的としている。

進捗状況： サイトカイニンの作用機序とその生合成経路を明らかにした (Andrabi et al. PLoS Pathog, under revision)。また、病原性の異なるトキソプラズマのクローン間および、トキソプラズマに近縁のマラリア原虫、アイメリアの産生する植物ホルモン産生性の異同を明らかにできた。さらにトキソプラズマ

成果ハイライト-Makiuchi et al. Sci Rep, 2013

B02 野崎、B02 見市 (公募) らは高度に進化した嫌気性ミトコンドリアのタンパク質外膜透過装置の構成因子を同定した。通常の好気性真核生物を含め他種生物



に保存されない新規受容体 Tom60 の発見は共生体由来オルガネラが独自の進化を遂げたことを示した。

やマラリア原虫において非常に高濃度に産生されている事を見出したサリチル酸の分解酵素発現マラリア原虫を確立した。

C02 計画研究 (金子・坪井) : 「共生非依存的に進化したオルガネラによるマトリョーシカ化機構」

研究目的 : (A) 赤血球へ侵入するために特殊に進化したマラリア原虫オルガネラの役割と (B) マラリア原虫が感染赤血球内に新規オルガネラを作出し、自らの生存に適するように改変する機序を明らかにすることで、本原虫によるマトリョーシカ化機構を明らかにする事を目的とする。

進捗状況 : (A) 侵入型原虫に発現する分子に対して 165 個の抗体を作製し、順にオルガネラ局在解析・侵入における機能解析を進めた。マイクロネームというオルガネラが複数の膜構造体の集合であることを見出した。マイクロネーム分子一つにつき輸送ドメインを決定した(Sakura et al. Parasitol Int, 2013)。赤血球侵入関連分子群を特定条件下でノックダウンできる組換え原虫の作製を開始した。また、赤血球侵入時に原虫分子の動態を可視化する系を確立した(Yahata et al. PLoS ONE, 2012)。(B) 赤血球に放出される分子の赤血球移行シグナル配列および赤血球膜への移行シグナルを同定した(Zhu et al. Parasitol Int, 2013)。原虫から赤血球への輸送装置の分離を開始した。

C03 計画研究 (洲崎・橋) : 「オルガネラの人工修飾と創成の技術基盤」

研究目的 : オルガネラの創成と進化の理解に根ざしたオルガネラの人為的操作を通して有用生物を創出すること、すなわち人工マトリョーシカ創成への試みを実施することを目的としている。ここでは、共生体の遺伝子が共生体自身と核ゲノムとに分散して存在することのない単純な系 (遺伝子の移行が生じていないミドリゾウリムシ共生クロレラと、遺伝子が完全に核ゲノムに移行している赤痢アメーバのミトソーム) を用いて、マイクロインジェクション法により細胞内共生系に必要な不可欠な因子を探索している。

進捗状況 : 現在までに、それぞれの系において共生体の単離と純化に成功し、技術的基盤は確立した。既に、クロレラ包膜の構成分子解析を終えている。また、ミトソームの異種間移植実験にも着手し、これに関連して近縁の新種アメーバの分離とゲノム解読も実施している。

応募時に研究領域として設定した研究の対象に照らしてどのように発展したか

1. 既存の学問分野の枠に収まらない新興融合領域の創成に向けた成果

現在、各研究項目に関して共同研究に携わっている研究者の主たる専門分野を右表に示した (◎=研究代表者、○=分担研究者、△=公募研究者)。ヒアリングで提案した異分野間の研究交流は間違いなく展開されている。既存の学会等では通常遭遇しないような異分野間での共同研究により新たな学問領域が創成されつつある。

	A01	A02	B01	B02	B03	C01	C02	C03
細菌学	◎	△		○				
環境・生態学		◎			△			
藻類学			◎		◎			
原生動物学	△	○	○		△			◎
寄生虫学				◎		◎	◎	○
昆虫生理学	△	△						
海洋学	△							
医科学		△						△
植物学			△	○/△	○	△		
免疫学							△	
生物工学							○	△

2. 他の研究領域に大きな波及効果をもたらす成果

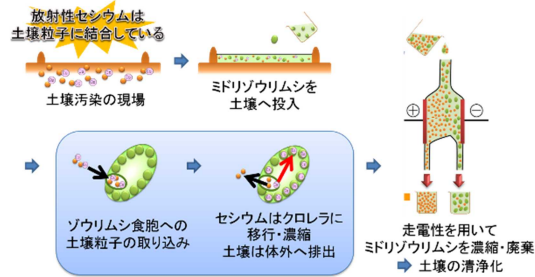
限られた期間の中で得られた、他分野に波及効果をもたらすと期待される成果は以下の通りである。

- a. オルガネラ工学による光駆動エネルギー変換機能の追加 (Hara et al. Sci Rep, 2013・成果ハイライト)
- b. マトリョーシカ型生物によるセシウムの除去 (特願 2012-252102・成果ハイライト)

成果ハイライト-特願 2012-252102

C03 洲崎らは、人為的に操作可能なマトリョーシカ型生物であるミドリゾウリムシを利用し、土壌からの放射性セシウムの除去法を考案した。ミドリゾウリムシは粘土粒子を捕食し、セシウムのみを内部共生体であるクロレラに 300 倍以上濃縮した。土壌懸濁液中のミドリゾウリ

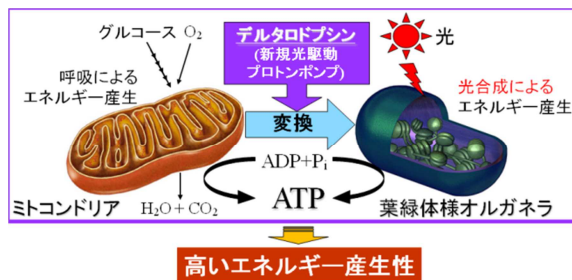
ミドリゾウリムシを用いたセシウム汚染土壌の新規処理法開発



ムシを走電性により分離することで、汚染土壌からの放射性セシウム除去が可能になると期待できる。

成果ハイライト-Hara et al. Sci Rep, 2013

C03 原ら（公募）は、哺乳類培養細胞のミトコンドリアにデルタロドプシンを発現させ、光依存的にプロトン駆動力を生み出すことに成功した。この光駆動ミトコンドリアは、葉緑体のように光エネルギーを細胞内エネルギー(ATP)に変換することができ、植物で見られる光合成の一部を哺乳類細胞で再現した画期的な成果



と言える。本研究成果は人工マトリョーシカの具体的な成果であり、再生医療技術との融合によりパーキンソン病などの治療にも役立つ可能性をもっている。