



本件の取り扱いについては、下記の解禁時間以降でお願い申し上げます。  
 テレビ・ラジオ・インターネット: 日本時間 平成 26 年 5 月 8 日(木)18 時  
 新聞: 日本時間 平成 26 年 5 月 9 日(金)朝刊

## 昼に光合成、夜に細胞分裂が起こるのはなぜか？その謎を解明！

### <本研究成果のポイント>

- 細胞分裂の起こる時間帯が、一日のうちで限定されている仕組みを解明した。
- 光合成は、活性酸素による酸化ストレスを細胞に与えるが、光合成が起きない夜間に細胞分裂することで、酸化ストレスによる細胞の損傷を最小限に食い止めていることを解明した。

### <概要>

生物のある活動が、一日のうちの決まった時間帯に起こるとい現象は、自然界でよく観察されることです。細胞レベルでもそのことは当てはまり、細胞分裂の起こる時間帯が生物によって限定されていることは、これまでも観察されてきました。では、なぜ、そのような時間帯の制限が存在するのでしょうか。それはどのような仕組みによるのでしょうか。遺伝学研究所の宮城島進也特任准教授らは、細胞分裂の観察が容易な単細胞性の藻類(真核生物の紅藻)を用いて、その謎を突き止めることに成功しました。

紅藻は、光合成を行う水生生物で、夜、細胞分裂が起こることが知られています。宮城島特任准教授らは、まず、細胞分裂の進行をオンにするスイッチは何かを調べました。生物の細胞内に、概日リズムを刻む生物時計(細胞内時計)が存在することはよく知られているのですが、その時計に連動したスイッチがあるはずなのです。そして、詳しく解析した結果、E2F(注 1)と呼ばれるタンパク質がスイッチとしてはたらくことで、細胞分裂は夜引き起こされることが明らかになりました。

次に、そのスイッチを壊す実験を行って、時間帯の制限を解除しました。すると、細胞は昼夜問わず分裂するようになりましたが、それにもかかわらず、全体の細胞分裂数は若干減少しました。そればかりか、活性酸素が引き起こす酸化ストレスが昂進していることがわかりました。活性酸素は、細胞内のミトコンドリアの呼吸や葉緑体の光合成がエネルギーを作り出すときに発生する有害な副産物です。このことから、細胞分裂が起こる時期として、活性酸素のストレスが最も少ない時間帯が選ばれているという事実が見えてきました。すなわち、光合成を行う生物の細胞では、ミトコンドリアや葉緑体が活動する時間帯と細胞分裂が起こる時間帯が分けられることで、活性酸素の子孫細胞に与えるダメージが、最小限にとどめられているのではないかという推測が得られたのです。

宮城島特任准教授らの研究は、今後、さまざまな生物での細胞内時計と酸素毒性対応機構の研究の端緒となるものと期待されます。さらに今回、生物時計の研究においても重要な発見がもたらされました。E2Fスイッチは、従来の細胞内時計と異なる、遺伝子発現に依存しない新規の時計機構(注 2)に誘導されている初の事象と考えられるのです。新たな時計機構の解明への期待も高まります。

注 1: E2F タンパク質

細胞周期の G1 期(細胞成長期)から S 期(染色体複製期)への進行の制御に関与するタンパク質として知られている。細胞周期は、細胞分裂とその準備段階からなる周期。

注 2: 遺伝子発現に依存しない時計機構

従来の細胞内時計は、時計遺伝子の遺伝子発現に依存した機構であるが、近年、それに加えて、遺伝子発現に依存しない新たな機構の存在が推測されている。

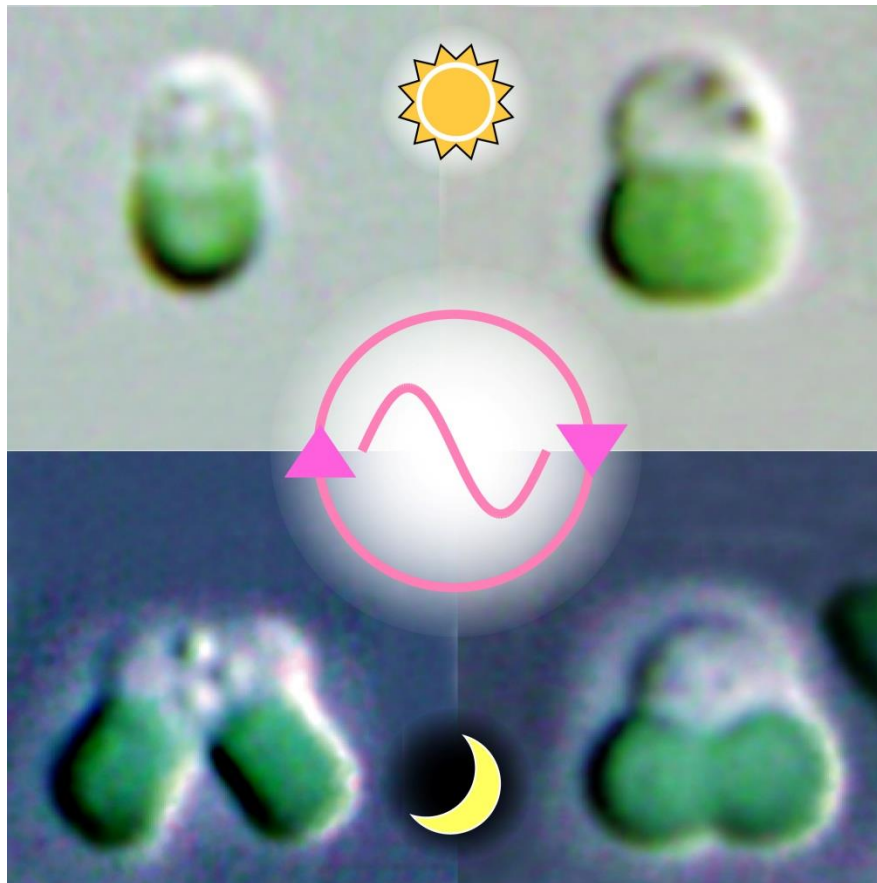


図 1: 概日リズムによる真核藻類の細胞分裂制御。真核藻類は昼間葉緑体(細胞内の緑の部分)による光合成により成長し、夜間に分裂する。

本研究成果は、日本時間平成 26 年 5 月 8 日 18 時(日本時間)に、英国科学誌 Nature Communications に掲載されます。

論文 : Translation-independent circadian control of the cell cycle in a unicellular photosynthetic eukaryote.

著者 : Shin-ya Miyagishima, Takayuki Fujiwara, Nobuko Sumiya, Shunsuke Hirooka, Akihiko Nakano, Yukihiro Kabeya, Mami Nakamura

宮城島 進也(遺伝研・特任准教授、責任著者)、藤原 崇之(遺伝研・日本学術振興会特別研究員)、墨谷 暢子(遺伝研・JST CREST・博士研究員)、廣岡 俊亮(遺伝研・JST CREST・博士研究員)、中野 明彦(東京大学・教授)、壁谷 如洋(遺伝研・博士研究員)、中村 真心(遺伝研・総研大大学院生)

## <研究の詳細>

自然界では、細胞は、一日のうちの決まった時間帯にのみ分裂できるという制約があります。このように細胞分裂の起こる時間帯が限定されていることは、単細胞生物からほ乳類のような多細胞生物に至るまで広く見つかっています。また、時間帯の限定が、細胞内時計(概日リズム)によって制御されていることも知られています。しかしながら、なんのために細胞分裂の時間帯が限定されているのか、またどのような仕組みで限定されているのかについては、ほとんどわかっていませんでした。今回、遺伝学研究所の宮城島進也特任准教授のグループが、その仕組みと理由の一端を解明しました。

細胞分裂が一日のうちのある時間帯に限定される現象は、単細胞性の真核細胞である藻類(植物プランクトン)で顕著に見られます。単細胞性ですので分裂が観察しやすいという利点もあり、今回、藻類を材料にして研究を行いました。具体的には、温泉(pH 1~2)に生息する単細胞紅藻 *Cyanidioschyzon merolae*(シゾン)を用いました。シゾンは、実験室において 12 時間明期と 12 時間暗期を繰り返すことにより細胞集団の時間的同調が容易な点も便利です。またゲノムサイズが、光合成を行う真核生物の中で最小クラスであり、遺伝子の機能解析が効率よく行えるという長所もあります。

さて、細胞分裂の起こる時間帯を解析するためには、1 個の細胞がどのように変化していくかという過程を詳しく知っておく必要があります。細胞の各段階は、G1 期(細胞成長)、S 期(染色体複製)、G2 期(準備)、M 期(分裂=染色体分配と細胞質分裂)に分けられ、この順に段階が進行していきます。自然界において藻類は、夜に細胞分裂を行います。詳しく見ますと、日没後に S 期に進行し、その後に、G2 期、M 期が続きます。G1 期から S 期への進行が日没時に限定される仕組みが、細胞分裂の進行を制御するスイッチが入る時期として重要であると仮定し、詳しく調べました。

シゾンを用いて調べた結果、次のようなことがわかりました。(1)概日リズムにより、S 期への進行が夜に限定されている。(2)E2F タンパク質のリン酸化レベルが概日リズムを示し、日没時にピークになる(E2F タンパク質は、S 期進行に必要な遺伝子群の転写に関わるタンパク質として知られている)。(3)E2F リン酸化は、S 期移行に必須のスイッチである。つまり、E2F リン酸化レベルが日没に最大になることにより、S 期移行が日没に限定され、その後、細胞分裂が夜間に起こる。(4)E2F リン酸化の概日リズムは、連続暗黒下または、光合成を阻害して細胞成長および細胞分裂を起こらなくしても持続する。

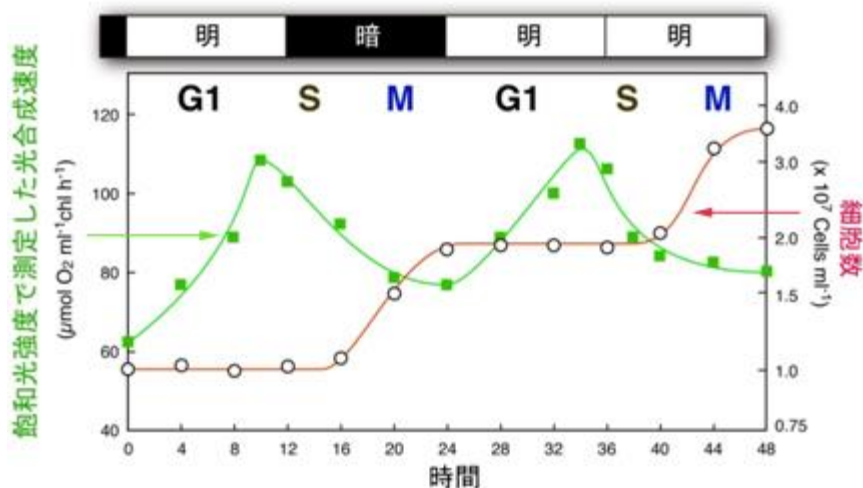


図 2: 光合成活性と細胞分裂のタイミング。概日リズムにより、光合成活性(十分な光を与えたときの酸素発生量)は昼間最大となり、細胞分裂は夜に限定される。連続光照射下でも、細胞分裂は光合成活性が低下する夜であるはずの時間帯(主観的夜)に限定される。

また、細胞は日没にのみ S 期に入りますが、細胞が S 期に移行するには、そもそもまず、その細胞が十分に大きいサイズに成長していること(G1 期を経ること)が必要です。サイズの制御には、RB というタンパク質のリン酸化が関わっていることがわかりました(RB タンパク質は、S 期移行にブレーキをかけるタンパク質として知られている)。

次に、細胞分裂が起こる時間帯の制限を解除する実験を行いました。すなわち、リン酸化 E2F を過剰発現するか、あるいは、RB 遺伝子を破壊し、その影響を調べました。すると、細胞は昼夜問わずに分裂するようになりましたが、それにもかかわらず、全体の細胞分裂数は若干減少しました(増殖速度が上昇しない)。そればかりか、活性酸素種による酸化ストレス応答が昂進することがわかりました。光合成は、光エネルギーを電気エネルギーや化学エネルギーに変換し、それらを使って、糖、アミノ酸、脂質などを合成し細胞に供給するという正の効果を持つ一方で、同時に多量の活性酸素種も生じ、細胞にダメージを与えます。一方、細胞分裂は、DNA の複製や細胞内の構造変化を伴う精密な過程で、それがダメージを受けることは、細胞の生存にかかわる大問題です。そこで、活性酸素種を生み出す光合成(昼)と細胞分裂(夜)の時間帯を分けることが、光合成を行う単細胞性生物の生存に重要であることが、今回の研究結果からわかりました。

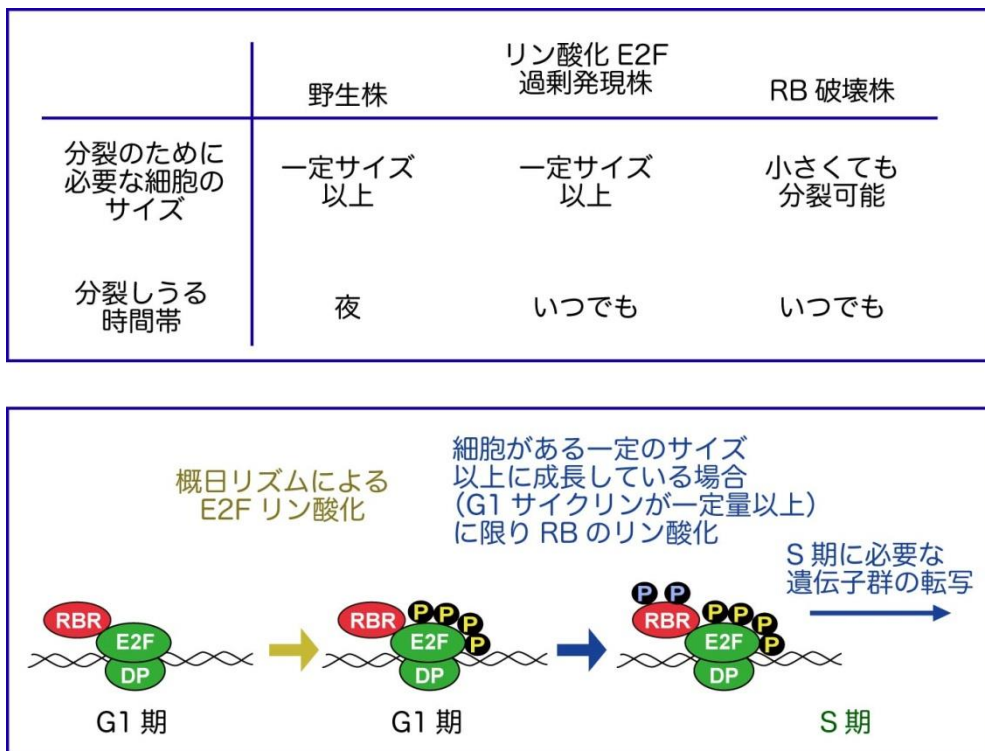


図 3: E2F・RB による細胞分裂の時間・細胞サイズ制御。リン酸化 E2F を過剰発現すると、ある一定サイズ以上に成長した細胞は昼夜を問わずいつでも分裂できるようになる。RB 遺伝子を破壊すると、細胞のサイズ及び時間に関係なく細胞分裂がおこるため小さな細胞が生じる。細胞内時計により、E2F リン酸化レベルが概日リズムを示し、夕方ピークになる。E2F がリン酸化されている間のみ RB (E2F の転写活性を抑制している) がリン酸化されうる。この時まで十分に成長した細胞(G1 サイクリンが一定量以上蓄積した細胞)では、RB がリン酸化され(不活性化され)E2F により S 期に必要な遺伝子群が転写(発現)される。



ミトコンドリアで行われる呼吸(細胞内呼吸)は、葉緑体の光合成と同様に活性酸素種を生み出します。酸素は、電子を受け取りやすい物質であるため、それを利用して多大なエネルギーを得ることができますが、同時に活性酸素種も生み出すのです。最近、出芽酵母を用いた研究で、エネルギーを産生する反応として、細胞内呼吸が主にはたらく時間帯と解糖系が主にはたらく時間帯が 4~5 時間の周期で繰り返されることが見いだされました。そして、細胞の S 期移行が起こるのが、解糖系の時間帯であることがわかりました。解糖系は、酸素を使わない非効率的なエネルギー産生系です。併せて考えると、単細胞性生物は、活性酸素種を生み出す細胞内呼吸や光合成の時間帯を避けて細胞分裂をすることで、酸化ストレスによる子孫へのダメージを最小限に食い止めているのではないかと推測されます。

今回の結果を基に研究を進めることで、細胞内時計を利用した生命の酸素毒性への対応機構などが解明されると期待されます。また、光合成と細胞分裂の関係に関する今回の結果は、藻類培養の手法の向上のための重要な知見であると考えられます。

さらに、今回の研究成果は、生物時計の解明においても重要な発見をもたらしました。E2F タンパク質のリン酸化レベルが示す概日リズムは、細胞に含まれる遺伝子の新たな発現(転写や翻訳)を停止させても、そのリズムが持続していました。つまり、このリズムは、遺伝子発現に依存しないことがわかりました。これまで真核生物の細胞内時計が示す概日リズムは、時計遺伝子が、さまざまな現象に関わる遺伝子群の発現を決まった時間帯に誘導することで生じると考えられてきました。したがって、E2F リン酸化レベルのリズムは、近年その存在が想定されている未知の時計機構によって生み出されているものと推測され、その研究が推進されることが期待されます。

#### <研究支援>

本研究は、科学研究費補助金・基盤研究(A)、JST・CREST「藻類・水圏微生物の機能解明と制御によるバイオエネルギー創成のための基盤技術の創出」の支援を受けました。

#### <問い合わせ先>

国立遺伝学研究所 新分野創造センター 共生細胞進化研究室 特任准教授 宮城島進也

国立遺伝学研究所 広報 室長 鈴木睦昭