

光合成細菌の細胞巨大化、脱巨大化に成功—細胞の本質に迫る

富山県立大学工学部生物工学科応用生物情報学講座 4 年生 野尻茜さんは、酸素非発生型の光合成を行う好気性海洋性紅色細菌ロゼオバクター・リトラリス（通常、直径 1 マイクロ・メートル）のスフェロプラストを直径 10 マイクロ・メートル程度まで巨大化させることに成功しました。さらにその巨大化細胞が繊維化細胞を経て、元のサイズの細胞に戻ることを明らかにしました。通常は二分裂で増殖している細菌が異なる方法で情報（DNA）の分配と細胞分割を行うことが可能であることを示しました。本成果は第 7 回北陸合同バイオシンポジウムにおいて発表し、カッティング・エッジ賞を受けました。

（1） 背景

好気性紅色細菌（カロチノイドにより紅色を呈します）ロゼオバクターは大腸菌と同様にグラム陰性細菌であり、細胞は内膜、細胞壁、外膜で覆われ、酸素非発生型光合成装置を内膜に持っています。植物のような酸素発生型の光合成とは異なり、紅色細菌の内膜では光合成における電子伝達の過程でプロトン細胞内から内膜と外膜の間に輸送し、内膜の内外においてプロトン濃度勾配を形成します。この濃度勾配を駆動力として、ATP 合成酵素により ATP が合成されます。すなわち、呼吸における電子伝達系と同様のことを光のエネルギーを利用して行っているように見えます。そこで、ロゼオバクター・リトラリスの細胞を巨大化し、内膜における呼吸と光合成の関係を見ることにしました。

（2） 方法

呼吸および光合成装置は内膜にあることより、日下・矢部らの開発した方法（蛋白質核酸酵素, 44: 2582-2590）により、細胞壁および外膜を除去し、細胞を内膜だけに覆われるようにしました。まず、リゾチーム処理により細胞壁を除去し、スフェロプラストを作成し、そのスフェロプラストを細胞壁合成阻害剤であるペニシリン存在下でインキュベーションし、細胞分裂することなく、スフェロプラストを巨大化しました。

巨大化したスフェロプラストに対して、吸光度測定を行い、バクテリオクロロフィル *a* の有無を確かめました。さらに、培養中の培養液の pH および酸素濃度を測定しました。光学顕微鏡、蛍光顕微鏡、共焦点レーザー顕微鏡、電子顕微鏡による細胞観察を行いました。

（3） 結果

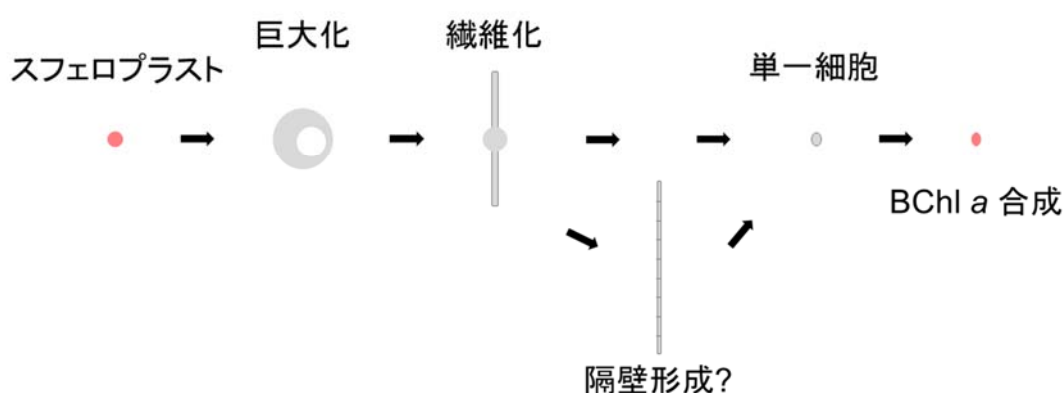
巨大化スフェロプラストの電子顕微鏡観察により、細胞の大部分が内膜のみで覆われていることを確認しました。また、細胞内に液胞様構造体が見られることを確認し、大腸菌や枯草菌での報告と矛盾しないことを確認しました。これまでに光合成細菌の細胞巨大化の報告はなく、巨大化した細胞が元のサイズの細胞に戻る様子を詳細に観察した点においても特筆すべき成果です。

吸光度測定ではバクテリオクロロフィル *a* に特徴的なピークが消失していることを示しました。さらに、巨大化細胞培養液の pH が培養中に単調減少していること、光照射下と暗下において pH 減少レベルの顕著な違いが見られないことを示しました。また、巨大化細胞

においても酸素は消費されており、酸素呼吸をしていることを確認しました。

さらに、大半の巨大化細胞は一部が繊維化し、やがて細長い細胞になり、最終的には元のサイズの細胞となります。その過程において、隔壁が形成され、DNA が分配されている細胞が見られました。元のサイズの戻った細胞は当初白色であり、バクテリオクロフィル *a* も検出できませんでした。しかし、その細胞を2週間程度放置すると、赤色になり、バクテリオクロフィル *a* も検出できることを確認しました（下図参照）。

ロゼオバクター細胞の巨大化と脱巨大化



(4) 考察

一般的なバクテリアと同様にロゼオバクターも通常は二分裂により細胞増殖します。しかし、スフェロプラストを巨大化した場合、巨大化細胞は光合成装置を失い、呼吸によってプロトン濃度勾配を形成し、それによって細胞は生きていると考えられました。さらに、繰り返される DNA の複製により大量の DNA が一細胞に蓄積し、それを分配するために繊維化し、その過程を経て元のサイズに戻ったと考えられます。細胞のサイズが元に戻ってからバクテリオクロフィル *a* の確認ができるまでに長い時間を必要としました。サイズが戻ってから機能が戻る点が重要なことであると考えています。細胞の形態が大きく変化した巨大化細胞においてもゲノム情報の維持と制御が管理されていたため、細胞が元に戻ったと考えています。

巨大化細胞の研究は細胞が地球上に誕生した際の一端を語っていると考え、今後も研究を継続、発展させます。さらに、巨大化細胞を用いたバイオテクノロジー研究も行います。

照会先：西田洋巳（生物工学科 応用生物情報学講座、hnishida@pu-toyama.ac.jp）