

レーされることで、繭に色が付くということになる。繭に色を付ける“絵の具”は桑葉であり、“絵筆”はカイコ体内の水中を駆け巡る小さな潜水輸送艦ということなのであろう。そして白繭に色が付いていない理由、すなわち繭色に違いが生じる理由の少なくともひとつは、この潜水輸送艦の設計図の一部が失われたから、ということになる。

6. おわりに

繭色をつかさどる遺伝子座は、Y以外はコードする遺伝子が明らかとなっていない。最近、ゲノムプロジェクトやマーカー整備の進展によって、カイコの遺伝子のポジショナルクローニングも現実的に可能となった¹³⁾。今後の繭色遺伝子の同定によって、繭に色が付くメカニズムの全貌が明らかになっていくだろう。カロテノイドやフラボノイドは、動植物が普遍的に持つ生理活性色素であり、眼病などにおいて臨床面でも重要な栄養素であるが、体内輸送機構は未知の点が多い。繭色遺伝子は色素の体内輸送機構を研究する上で貴重な遺伝子資源であり、これを明らかにしていくことは医学的な意義も持つと思われる¹⁴⁾。

カイコは昆虫綱鱗翅目カイコガ科に属し、近縁種のクワコから家畜化されたと考えられている。クワコも繭を作るが、その繭はカロテノイドとフラボノイドを共に含有し、薄黄色である。ヤママユガ科やカレハガ科などのその他の絹を作る昆虫(絹糸虫)の多くも色繭を作り、また、クモが吐く糸にも色が付いていることがある。これらの中には季節や環境条件によって大きく色を変えるものもあり¹⁵⁾、カイコも温度条件によって繭の色の濃淡を変える⁷⁾。おそらく絹の色は、蛹という動けない無防備な時期に天敵から隠れるための保護色などの適応的な意義を持っているのだろう。桑葉が秋の紅葉で緑から黄色に色を変えることを考えると、緑色のフラボノイドと黄・赤のカロテノイドを上手に量をコントロールして輸送することで、それぞれの季節に適した繭を作ることができるのかもしれない。CBPはクワコやその他の絹糸虫にも存在するので(中島ら、投稿準備中)、CBPはそのような適応戦略を絹糸虫において普遍的に担っている可能性がある。

- 1) 針塚正樹 (1959) 実験形態学新説, pp. 229-248, 養賢堂。
- 2) 藤本直正, 林屋慶三, 中島計至 (1959) 日本蚕糸学雑誌, 28, 30-32.
- 3) Hirayama, C., Ono, H., Tamura, Y., Konno, K., & Nakamura, M. (2008) *Phytochemistry*, 69, 1141-1149.
- 4) Toyama, K. (1906) *Bull. Coll. Agr. Tokyo Imp. Univ.*, 7, 259-393.

- 5) Tazima, Y. (1964) *The Genetics of the Silkworm*, pp. 88-102, Logos Press, London.
- 6) 森 精 編 (1970) カイコによる新生物実験, pp. 140-144, 三省堂.
- 7) 中島 誠 (1963) 東京農工大学農学部紀要, 8, 1-80.
- 8) Tsuchida, K., Arai, M., Tanaka, Y., Ishihara, R., Ryan, R.O., & Maekawa, H. (1998) *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 28, 927-934.
- 9) Tabunoki, H., Sugiyama, H., Tanaka, Y., Fujii, H., Banno, Y., Jouni, Z.E., Kobayashi, M., Sato, R., Maekawa, H., & Tsuchida, K. (2002) *J. Biol. Chem.*, 277, 32133-32140.
- 10) Tsuchida, K., Jouni, Z.E., Gardetto, J., Kobayashi, Y., Tabunoki, H., Azuma, M., Sugiyama, H., Takada, N., Maekawa, H., Banno, Y., Fujii, H., Iwano, H., & Wells, M.A. (2004) *J. Insect Physiol.*, 50, 363-372.
- 11) Hara, W., Sosnicki, S., Banno, Y., Fujimoto, H., Takada, N., Maekawa, H., Fujii, H., Wells, M.A., & Tsuchida, K. (2007) *J. Insect Biotechnol. Sericology*, 76, 149-154.
- 12) Sakudoh, T., Sezutsu, H., Nakashima, T., Kobayashi, I., Fujimoto, H., Uchino, K., Banno, Y., Iwano, H., Maekawa, H., Tamura, T., Kataoka, H., & Tsuchida, K. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 104, 8941-8946.
- 13) Yamamoto, K., Nohata, J., Kadono-Okuda, K., Narukawa, J., Sasanuma, M., Sasanuma, S.I., Minami, H., Shimomura, M., Suetsugu, Y., Banno, Y., Osoegawa, K., de Jong, P.J., Goldsmith, M.R., & Mita, K. (2008) *Genome Biol.*, 9(1), R21.
- 14) Bhosale, P. & Bernstein, P.S. (2007) *Arch. Biochem. Biophys.*, 458(2), 121-127.
- 15) Yamada, H., & Kato, Y. (2004) *J. Insect Physiol.*, 50(5), 393-401.

作道 隆, 土田 耕三

(国立感染症研究所放射能管理室)

How is cocoon colored ?

Takashi Sakudoh and Kozo Tsuchida (Division of Radiological Protection and Biology, National Institute of Infectious Diseases, 1-23-1 Toyama, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8640, Japan)

実験室の厄介者、マイコプラズマのひみつ
—モータータンパク質も細胞骨格も使わない細胞運動—

1. はじめに

“マイコプラズマ”と聞くと、生物学になじみのうすい人は、京都の舞妓さんからプラズマ放電の後光がさしていること、“舞妓プラズマ”を想像するらしいです。しかし、生化学会会員の皆さんは、(i)培養細胞のコンタミ微生物、(ii)長引く肺炎の原因、(iii)最小のゲノムを持つ、などを

思い浮かべることでしょう。(i)と(ii)の、読者にとって好ましくない特徴は、マイコプラズマが細胞壁を持たないために一般的な抗生物質が効かないことと、これからお話しするマイコプラズマのスーパーな能力に起因しています。すなわち、マイコプラズマは自身の細胞の片側に膜突起を形成し、この膜突起で動物細胞表面やガラス表面に強固に結合し、さらには結合したままに突起の方向に向かって動き回るので(<http://www.sci.osaka-cu.ac.jp/~miyata/myco1.htm>)。その速さは最速の *Mycoplasma mobile* (以下、モービレと略) では毎秒4ミクロン、すなわち細胞長の5倍に達します。これまでに計12種類の滑走する種が見つかっていて、5種のゲノム配列が決定されています。しかし、驚いたことにそこには既知の細胞運動メカニズムを示唆する遺伝子はありませんし、アクチンホモログもありません。さらに種によってはチューブリンホモログもありません¹⁻⁴⁾。

2. 滑走するマイコプラズマは二系統

Mycoplasma は病原性、あるいは寄生性のバクテリアのグループをさします。遺伝子の解析により、*Mycoplasma* という属名がついていないバクテリアにも近縁のものがいることが明らかになったため、*Mycoplasma* の仲間は *Mollicutes* 綱としてまとめられました。*Mollicutes* 綱は系統上四つに分かれ、そのうち *Hominis* と *Pneumoniae* という二つのグループに、計12種類の滑走する種が見つかります。私達は、淡水魚のエラにネクロシスを起こす最速

のマイコプラズマ、*Mycoplasma mobile* と、ヒトに肺炎を起こす *Mycoplasma pneumoniae* (以下、ニューモニエと略) について研究を行っています。それぞれ、異なったグループに属しており、細胞形態や運動の様子は似ているものの、接着と滑走にかかわるタンパク質のアミノ酸配列における共通点は見つかりません。このことから、マイコプラズマ滑走のメカニズムは二つ存在すると主張する研究者もいます。

3. モービレの滑走装置

モービレは図1Aに示すようにだるま型の細胞形態をしており、だるまの首、“neck”と名づけた部分の全周に滑走装置が存在します。それぞれ123k, 349k, 521kという大きな分子量を持ち、アミノ酸配列の片方の端に膜貫通セグメントを持つタンパク質、Gli123, Gli349, Gli521から滑走装置は構成されています(図1B)。どれかを欠いた変異株は接着も滑走もできません。私達はそれぞれの役割を以下のように考えています。Gli123がない変異株では他の二つのタンパク質の細胞内局在が大きく乱れているため、このタンパク質に他のタンパク質を固定する、“マウント”のような役割があると考えます⁵⁾。Gli349は、八分音符のような形状をしており、結合対象であるシアル酸を結合する活性があります⁶⁾(結合対象については「5. 直接のエネルギー源と結合対象」で議論します)。また、滑走しているモービレにこのタンパク質に対する抗体をかけると、滑走速度が遅くなり最終的には固形物表面からはずれてし

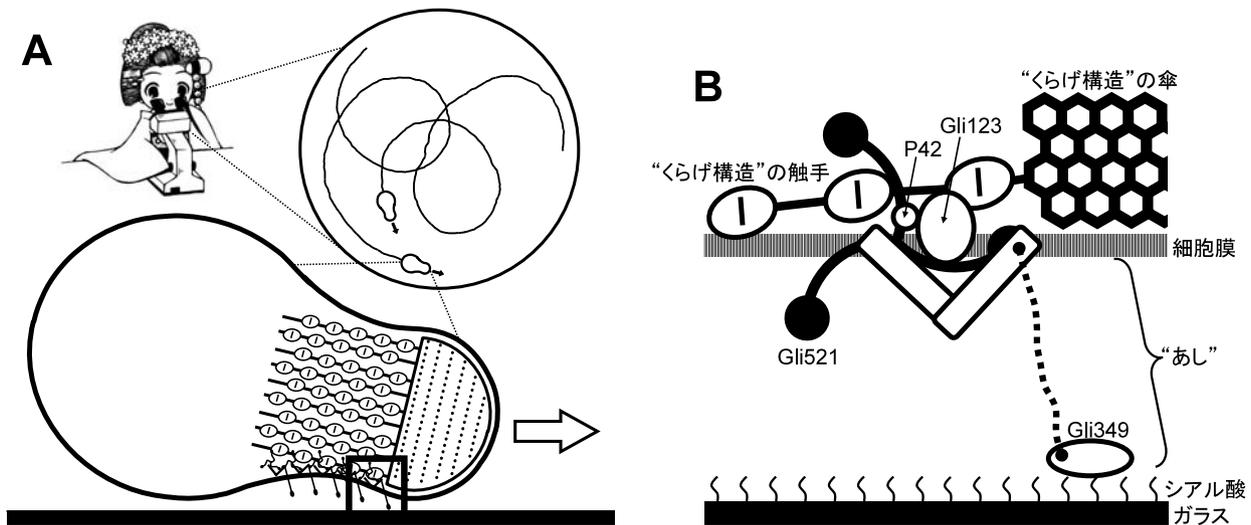


図1 *Mycoplasma mobile* 細胞、くらげ構造(細胞骨格)、滑走装置の模式図

細胞と単離したタンパク質などから得られた結果を統合して表している。(A)の四角で囲った部分を拡大したのが(B)。

まいます⁷⁾。このことからこのタンパク質が滑走の“あし”であると考えます。急速フリーズフラクチャー法でモービレとガラス表面の間を観察すると、50 nmの棒状の構造が細胞から出て先端でガラスに接しているように見えます。私達は、この棒状の構造がGli349でできていると考えています⁸⁾。Gli521はクラスリンのような“みつまた”構造をしています。滑走しているモービレにこのタンパク質に対する抗体をかけると、Gli349の場合と同様に滑走速度が遅くなるのですが、最終的にはモービレは固形物表面にいたまま止まってしまいます。またこのタンパク質にシアル酸を結合する活性は見つかりません。このことから、Gli521はギアのような役割をしていると考えます⁹⁾。これらのタンパク質はそれぞれ細胞あたり約450分子存在していると見積もられました⁵⁾。neckの表面の面積、900×200 nmを考えると三つのタンパク質はneck表面に二次元結晶のような構造を作っていると考えられます。

4. 内部の構造

マイコプラズマには細菌の細胞壁であるペプチドグリカンがなく、また多くの細菌で細胞骨格として機能している、アクチンホモログもありません。さらにモービレには多くの細菌で細胞骨格として機能している、チューブリンホモログもありません。ではモービレはどのようにしてだるま型の細胞を形成するのでしょうか？私達はモービレ細胞を低濃度のトライトンで少しずつ処理することで、滑走の装置を支えているらしい構造を見つけました。それは海などにいる動物に似て見えるため、“くらげ構造”と命名しました。くらげの傘は12 nmのピッチを持つ格子構造で、触手の部分には約20 nm長の粒子が約30 nm周期でついています。モービレ細胞中での位置を見ると、くらげ構造の触手の部分が上述の滑走装置の位置とよく合っています。滑走タンパク質が欠失している変異株ではくらげ構造も乱れていますから、これらが支えあっていることが期待されます。私達はくらげ構造の構成要素として10個のタンパク質を特定しましたが、その中にATP合成酵素の α と β サブユニットにそれぞれ39%と40%のアミノ酸配列の相同性を持つタンパク質が見つかりました。モービレのATP合成酵素はゲノム上の別の位置にフルセットでコードされていますし、ここで見られる β サブユニットホモログには約30 kDaの何にも似ていない余分な配列がついています。ですから、この二つのタンパク質はくらげ構造独自の役割を持っていると考えられます¹⁰⁾。

5. 直接のエネルギー源と結合対象

ガラス上を滑走しているモービレに界面活性剤であるトライトンをかけると、膜がダメージをうけて、モービレはガラスにはり付いたまま死んでしまいます。しかし、その死んでしまった状態、“ゴースト”にATPを加えると数秒の間にもとと同じ速さで動くようになり、その動きは1時間は続きました。この結果から、私達は運動の直接のエネルギー源がATPであると結論づけました¹¹⁾。上述のGli123, Gli349, Gli521といっしょに転写されていると考えられるタンパク質、P42にはATPを加水分解する活性が認められ、その性質はゴーストから予測されるATPaseの性質に似ていました。そのため、このタンパク質が滑走装置の“モーター”であると考えています¹²⁾。モービレは、動物細胞、ガラス、プラスチック、雲母など多様な表面にはりつくのですが、いろんな構造を認識しているわけではありません。培地に含まれる血清に含まれる、Fetuinというタンパク質はいろんな材質の表面によく吸着されます。Fetuinがシアル酸という糖に修飾されているのです。ご存じのように、シアル酸は、*N*-アセチルノイラミン酸などを含む一連の化合物で、インフルエンザやボツリヌス毒素など多くの病原因子の標的であると同時に、細胞間相互作用のシグナルとしても働いています。モービレも病原因子の一員としてシアル酸を結合の標的としているのです¹³⁾。

6. モービレ滑走のメカニズム

私達は、これまでの全ての実験結果を考慮して図2に示す作業仮説を提案しました³⁾。重要な仮定は、あしに張力がかかることにより段階が次へと移行することです。図の左上の段階ではあしがシアル酸に強く結合しています。熱ゆらぎによりあしに張力がかかると、Gli349上部に構造変化が起こりストロークになります。新しいATPはあしが結合した状態で投入されます。次に、より強まったあしの張力により細胞の実際の動きが起こります。他のあしの作用により細胞がさらに動いて前方に引ばられると、あしはシアル酸を離します。シアル酸を離したあしは、もとの構造にもどり、もう一度シアル酸をつかみます。これはあくまで作業仮説ですが、滑走の力学特性¹⁴⁾や、抗体や変異による効果などを上手に説明することができます。

7. ニューモニエ

滑走がモービレにくらべて遅く、培養条件に依存するため、ニューモニエは、モービレほど滑走についてわかって

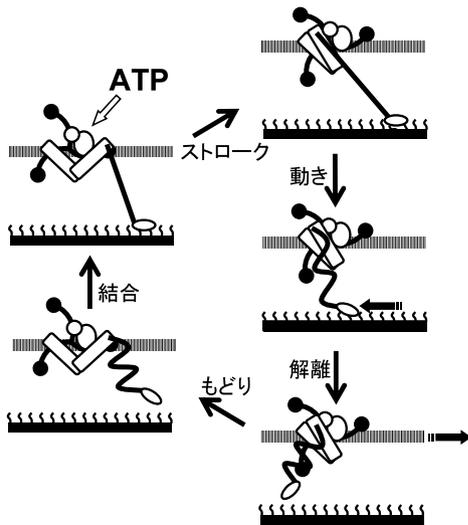


図2 *Mycoplasma mobile* 滑走メカニズムの作業仮説
張力が引き金になりストロークが起こり、細胞全体の動きによりあしが前方へ引ばられることにより、あしがシアル酸を離す。

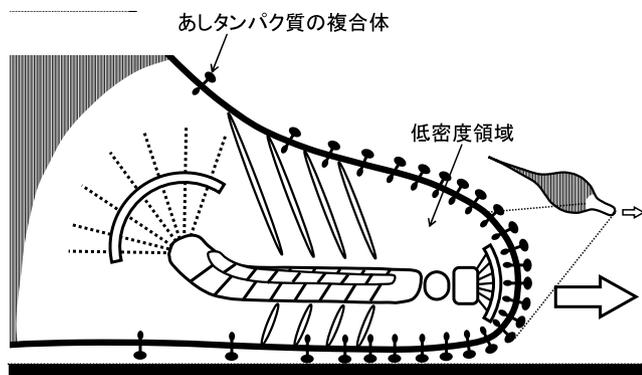


図3 *Mycoplasma pneumoniae* 細胞の細胞骨格とあしの模式図

いるわけではありません。ゲノムにはモービレの滑走装置やくらげ構造のタンパク質はありません。また、変異株の研究からニューモニエの滑走や接着に必要なタンパク質が十数個見つっていますが、それらはモービレのゲノムにはありません。しかし、図3に模式的に示したように、(i)細胞の片側に膜突起が形成される。(ii)固形物表面にはり付いたまま、膜突起の方向にのみ滑走する。(iii)膜突起の内部には細胞骨格様の構造が見られる。(iv)膜突起の表面には“あし”のような構造が見られる。(v)あしに対する抗体をかけると速度が遅くなり最終的にガラスからはずれてしまう。(vi)結合対象はシアル酸である。など、滑走の特徴は共通しています。そのため私達は、これら二つの

種が同じメカニズムで滑走していると考えています^{1,3,4,15)}。

8. 進化的考察

ただ、これまでのところ二つのグループの滑走に関するタンパク質の中間的なアミノ酸配列を持つ種は見つかっていません。そのため、一つの滑走・接着メカニズムができて二つに進化したのか、進化上別々に発生したメカニズムが似たようなものであったかについては答えがありません。一般的に病原微生物の宿主への結合のメカニズムは進化が速く、その過程を追えないことが多いのですが、マイコプラズマも例外ではないようです。これは、寄生性の微生物にとって宿主への接着能力は生き残りのための決定的要因で、常にそれによってスクリーニングされていると言っても過言ではないからです。では、接着ではなく‘滑走’はマイコプラズマの生き残りの何に役に立っているのでしょうか？ マイコプラズマのゲノムには運動性バクテリアのほとんどで運動の制御に働いている二成分制御系がありませんし、明らかな走化性も見られません。ですから、少なくとも他のバクテリアで見ついているような走化性はないと考えられます。この謎に対する現在考えられる答えは以下の三つです。(i)既知の二成分制御系とは異なる化学走性のメカニズムが存在する。(ii)動物や組織によりシアル酸の構造が異なるため、その違いに依存して進行方向が決められる。(iii)方向の制御はなく、宿主組織表面をランダムに分散するために滑走する。

謝辞

ここまで飽きずに読んでいただいた読者の方々、著者らの研究にいろんな場面でコメントしていただいた研究者諸兄に感謝します。これまでいっしょに研究してくれた共同研究者諸氏、特に、未発表データを提供してくれた、中根大介、野中孝裕、舞妓さんのイラストを描いてくれた、今田一姫、各氏に感謝します。

- 1) 宮田真人 (2008) 蛋白質核酸酵素 (*PNE*), 53, 1752-1758.
- 2) 宮田真人 (2008) 現代化学, 446, 27-32.
- 3) Miyata, M. (2008) *Trends in Microbiology*, 16, 6-12.
- 4) 宮田真人 (2007) 日本細菌学会雑誌, 62, 347-361.
- 5) Uenoyama, A. & Miyata, M. (2005) *J. Bacteriol.*, 187, 5578-5584.
- 6) Adan-Kubo, J., Uenoyama, A., Arata, T., & Miyata, M. (2006) *J. Bacteriol.*, 188, 2821-2828.
- 7) Uenoyama, A., Kusumoto, A., & Miyata, M. (2004) *J. Bacteriol.*, 186, 1537-1545.
- 8) Miyata, M. & Petersen, J. (2004) *J. Bacteriol.*, 186, 4382-

- 4386.
- 9) Seto, S., Uenoyama, A., & Miyata, M. (2005) *J. Bacteriol.*, **187**, 3502–3510.
 - 10) Nakane, D. & Miyata, M. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 19518–19523.
 - 11) Uenoyama, A. & Miyata, M. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 12754–12758.
 - 12) Ohtani, N. & Miyata, M. (2007) *Biochem. J.*, **403**, 71–77.
 - 13) Nagai, R. & Miyata, M. (2006) *J. Bacteriol.*, **188**, 6469–6475.
 - 14) Miyata, M., Ryu, W.S., & Berg, H.C. (2002) *J. Bacteriol.*, **184**, 1827–1831.
 - 15) Miyata, M. (2007) in *Molecular Mechanism of Mycoplasma Gliding—A Novel Cell Motility System* (Lenz, P. ed.), pp. 137–175, Springer, New York.

宮田 真人

(大阪市立大学大学院理学研究科)

Secrets of *Mycoplasma*, both in our lab—Cell motility without motor proteins or cytoskeletons—

Makoto Miyata (Graduate School of Science, Osaka City University, Sumiyoshi-ku, Osaka 558–8585, Japan)

脳内グリア細胞における ATP センサーを介した情報伝達

1. はじめに

脳内グリア細胞の新しい役割に注目が集まっており、これまでニューロンのみで展開されていた脳機能研究にグリア細胞の視点を導入する重要性が認識されるようになってきた。グリア細胞は大きく分類すると、アストロサイト、オリゴデンドロサイト及びミクログリアからなる。このなかで最大数を占めるアストロサイトは、シナプスを取り囲む構造を呈し、各種神経伝達物質受容体を発現しており、ニューロン活動に依存してシナプス外に漏出した化学伝達物質に反応して、液性因子『グリア伝達物質 (gliotransmitter)』を放出することにより、グリア細胞、ニューロンさらに血管系の細胞と極めてダイナミックにコミュニケーションをとっている¹⁾。従って、アストロサイトの生理及び病態生理は脳の生理機能及び病態の解明に直結するとして注目されている。また、オリゴデンドロサイトがミエリン鞘を形成することは古くからよく知られており、ニューロンの伝導速度に強く影響を与えるだけでなく、その機能不全が種々の病態と関連することが報告されている。これら外胚葉由来のアストロサイト及びオリゴデンドロサイト

と異なり、ミクログリアは中胚葉由来で、血液脳関門が未熟な頃に脳内に進入した血球系の細胞が定住して脳に特化したと考えられている。脳内免疫担当細胞として知られ、種々のサイトカイン放出、傷害部位への遊走能²⁾、貪食能を呈して抗原提示を行う。本稿では、特にミクログリアの機能に焦点を当て、脳が障害を受けた際のミクログリアと傷害ニューロンのコミュニケーションについて述べる。これらコミュニケーションにアデノシン三リン酸 (ATP) 等細胞外ヌクレオチドが重要な役割を果たしている。

2. 細胞間情報伝達物質としての ATP とその受容体

ATP は、エネルギーの通貨としてあまねく細胞内に存在するよく知られた分子である。しかし、ATP は種々の刺激に反応して細胞外に放出され、細胞間情報伝達物質としても重要な役割を果たす。これを認識する ATP センサー P2 受容体の分子の実態は 1993 年に初めて明らかとされ、以来チャンネル型 P2X 受容体 7 種類 (P2X₁₋₇) 及び G タンパク質共役型 P2Y 受容体 8 種類 (P2Y_{1,2,4,6,11-14}) の存在が明らかとなった。注目すべき点は、ほとんどすべての臓器・組織は、何らかの P2 受容体を発現していることであり、その広範な分布から ATP は多種多様の生理機能とリンクしている可能性が示唆されている。

ミクログリアには、P2X₄、P2X₇ 及び P2Y₁₂ 受容体が発現していることが既に報告されており、種々の重要な生理機能と係わっている。例えば 2003 年に津田らが報告したように、P2X₄ 受容体は神経因性疼痛モデル動物の脊髄ミクログリア特異的に発現が亢進し、触刺激を痛みと感じてしまうメカニカルアロディニアを引き起こす³⁾。メカニカ

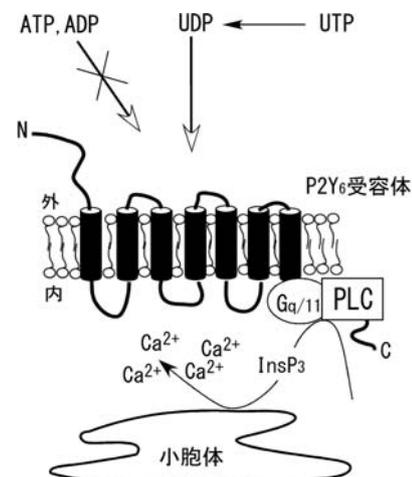


図1 P2Y₆受容体リガンド及び細胞内シグナル