

## 細胞内共生細菌の終着点：そしてオルガネラにならない？

2006年10月13日号のScienceに2本の論文が載った（Nakabachi et al. 2006; Perez-Brocal et al. 2006）。昆虫の細胞内共生細菌のゲノム解読の論文だ。そしてその紹介記事で興味深いことが述べられていた（Andersson 2006）。昆虫の細胞内共生細菌のたどる2種類の運命。一つは、オルガネラ化。ミトコンドリアや色素体がたどった運命だ。そしてもう一つは、新しい細胞内共生細菌によって取って代わられる。一見安定に思われる相互依存の共生関係。その終焉は本当に訪れるのだろうか？

昆虫の多くは体の中に細菌を飼っている。菌細胞と呼ばれる巨大な細胞の中に細菌を抱え込む細胞内共生は昆虫が多様な生態ニッチに広がる上で欠かせないものだった。良く研究されているのはアブラムシと *Buchnera* という細菌の共生関係。アブラムシは植物の師管液だけを飲んで生きている。師管は植物が栄養を運ぶ管。糖分は非常に多いが、アミノ酸に乏しい。多いのは非必須アミノ酸のグルタミン酸とアスパラギン酸である。動物であり、従って10種類の必須アミノ酸を合成できないアブラムシには、2種類のアミノ酸だけで生きていくことはもちろん不可能である。その不可能を可能にしたのが、*Buchnera* との共生関係であった。

アブラムシに抗生物質を投与して *Buchnera* を殺すと、アブラムシはやせ衰えて死んでしまう。逆に *Buchnera* をアブラムシから取り出しても培養することは出来ない。*Buchnera* はアブラムシの中だけで生き続けている。アブラムシの中で子供が成長するとまだ胚の段階で *Buchnera* は子供の菌細胞に潜り込む。この胚の中にも更に子供の胚があり、その中の菌細胞にも *Buchnera* が入り込んでいる。筋金入りの垂直伝播はアブラムシと *Buchnera* の共種分化という現象として現れる。系統樹を書いてみるとアブラムシの系統樹と、その *Buchnera* の系統樹が見事に一致する。この共生関係は1億数千万年前には既に始まっていたらしい。

エンドウヒゲナガアブラムシ *Acyrtosiphon pisum* の細胞内共生細菌 *Buchnera aphidicola* APS の全ゲノムが読まれたのは2000年のことだった（Shigenobu et al. 2000）。*B. aphidicola* APS のゲノムサイズはたった640,681bp。大きな環状染色体の他に2つのプラスミドを持っている。一つは pLeu と名付けられ、7,786bp にロイシン合成に関わる4つの遺伝子 *leuABCD* が乗っている。もう一つは、pTrp でトリプトファン合成の2つの遺伝子 *trpEG* がタンデムにいくつも並んだ構造をしている。全部足しても652,095bp（pTrpの1単位分を加えた長さ）。当時分かっている中では、絶対寄生細菌 *Mycoplasma genitalium* の580,070bpに次いで小さかった。*Buchnera* は大腸菌 *Escherichia coli*（K12株のゲノムサイズは

4,639,675bp) に比較的近縁なことが知られているが、そのたった 1/7 しかない。もちろん遺伝子数も少なく、タンパク質をコードする ORF(open reading frame) は 583 個。特徴的なのはこれらの遺伝子の役割である。持っている遺伝子から見ると、*B. aphidicola* APS はほとんどの必須アミノ酸を合成する能力を備えている。アルギニン、バリン、イソロイシン、ロイシン、フェニルアラニン、トリプトファン、スレオニン、リシン、ヒスチジン。メチオニンとチロシンは合成できないようだが、非必須アミノ酸のグリシンとシステインは合成できる。でも、これらのアミノ酸を一から合成できるわけではない。例えば、スレオニンやリシンの合成系の原料になるアスパラギン酸を合成できない。原料さえ与えられたらアミノ酸を合成できるというわけである。その原料はもちろん宿主であり、*Buchnera* にとっては細胞外環境であるアブラムシの細胞から供給されるのであろう。残念ながらエンドウヒゲナガアブラムシのゲノムは現在解析中なので本当にアブラムシが原料を合成出来るかどうかは定かではない。が、動物らしく合成できるのであろう。アミノ酸合成系の遺伝子を残していながら、*B. aphidicola* APS はリン脂質やリポ多糖といった細菌ならば当然作ってなければならぬようなものを合成することができない。言わば裸なのである。更には、SOS 応答、DNA 修復系の遺伝子も欠いている。外部からの攻撃にはひとまりもない。しかし、外部からの攻撃などあろうはずもない。なぜなら外部とはすなわち *Buchnera* がいなくては困るアブラムシなのだから。

このように *B. aphidicola* APS はアブラムシの細胞内で不必要な遺伝子を切り捨て、アブラムシが与えてくれない必須アミノ酸の合成に精を出しているらしい。*B. aphidicola* APS にとってみれば、アブラムシという外部環境に無いものだけを合成していれば生きていけるのである。ただし、アブラムシが死んでしまうと共倒れになってしまうので自分の必要とする量以上に必須アミノ酸を合成して外部環境に放出することで、共生が成り立っているのであろう。

*B. aphidicola* APS のゲノム情報から見えてくるのはその栄養面での相互依存関係だけではない。特記すべきことは他にもある。それは、*B. aphidicola* APS が挿入配列 IS もプロフェージも 30bp 以上の反復配列すら持っていないことである。相同組み換えの必須酵素遺伝子 *recA* も持っていない。ここからは、*B. aphidicola* APS のゲノム構造が非常に安定であることが示唆される。

そのゲノム安定性は続く 2 株の *Buchnera* ゲノムの解析により確かめられた。別のアブラムシ *Schizaphis graminum* の *B. aphidicola* Sg (Tamas et al. 2002)、虫こぶを作るアブラムシ *Baizongia pistacea* の *B. aphidicola* Bp (van Ham et al. 2003) の解析からは、*Buchnera* のゲノム構造が 1 億年以上の間ほとんど変化しなかったことが明らかとなった。DNA 配列レベルでは経た時間相当の変異が確かに蓄積しているのに、ゲノムサイズもほとんど変化せず、遺伝子の並び順もわずか

な違いしか見られない。遺伝子数の違いもわずかだが、興味深いのはそれぞれの株で偽遺伝子化した遺伝子が異なるという事実である。つまり、種分化後にもゲノムの縮小は続いている。これら *Buchnera* 3 株の種分化後の遺伝子の喪失は、まず点変異やフレームシフトが起こって遺伝子が偽遺伝子化し、その後ゲノムから取り除かれるという過程で起こっていることを van Ham らは指摘している。遺伝子の喪失は 1 遺伝子単位で起こっている。これはどの *Buchnera* も *recA* 遺伝子と反復配列を持たないためである。これに対して、*Buchnera* のアブラムシとの共生成立直後にはもっと遺伝子が失われる速度は速かったであろう。3 種の分岐する 1 億年以上前からゲノムサイズは約 600kb と変わっていない。それ以前には大腸菌と *Buchnera* とのゲノムサイズの差に相当する数千 kb が失われているはずだ。この当時には、反復配列も相同組み換え遺伝子群も存在しており、複数の遺伝子をまとめて捨てていたことだろう。そしてある時点で相同組み換への機構を失ってしまった後には、現在見られるような遅々とした速度でゲノムサイズの縮小が進行し続けているのだろう。3 種の共有遺伝子から考えると種分岐後にも 5-15% の DNA が失われている計算になる。

しかし、どの *Buchnera* でもこのようなゆっくりとしたゲノム縮小が起こっているわけではない。調べられた *Buchnera* の中で最もゲノムサイズが小さいのが、*Cinara cedri* に共生する *B. aphidicola* BCc だ。他の *Buchnera* の株と比べても 200kb ほど小さく、全長は 416,380bp であった (Perez-Brocal et al. 2006)。他に pLeu に相当する 6,045bp のプラスミドを持っている。ゲノムサイズの小ささが示すように、この *B. aphidicola* BCc には、362 個の ORF しかない。注目すべきは、*B. aphidicola* BCc ではリボフラビンとトリプトファンを合成する遺伝子群が失われているという事実である。近縁種 *Cinara tujaefilina* の *B. aphidicola* BCt ではトリプトファン合成系の遺伝子 *trpE* と *trpG* の存在がプラスミドに確認されている。ならば、トリプトファンはどこから補われているのか。著者らは *Buchnera* の他に *C. cedri* の菌細胞に細胞内共生するもう 1 種類の細菌、*Serratia symbiotica* に着目した。*Serratia* では、*B. aphidicola* BCc で失われたトリプトファン合成遺伝子 *trpE* の存在が確認された。以上から著者らは *B. aphidicola* BCt はもはや共生細菌としての地位を失って *Serratia* に取って変わられつつあるのではないかと考えている。そして同義置換に対する非同義置換の頻度が高くなっていることをその傍証として示している。実際に、アブラムシの中には *Buchnera* を持たず、代わりに真菌類と共生しているグループがある。*C. cedri* でも *Buchnera* は最終的に失われてしまうのだろうか。

ただし、彼らの議論には難もある。*B. aphidicola* BCc では上記に加えてアルギニンとシステインの合成遺伝子群が失われている。しかし、実は、*Baizongia pistacea* の *B. aphidicola* Bp でもこの 2 群の遺伝子は失われているのである。従っ

てトリプトファン合成系の喪失が食物の違いによる種差に過ぎない可能性も否定できない。師管液に含まれるアミノ酸の種類は植物毎に異なる。よって異なる植物に付くアブラムシでは *Buchnera* に要求されるアミノ酸合成能には違いがあつてしかるべきである。*Serratia* を実験的に除くなどの検証が必要であることは言うまでもない。

個体によっていたりいなくなつたりする共生細菌は facultative symbiont と呼ばれる。訳語はまだない。*Buchnera* のように絶対にいなくては困る細菌は obligate symbiont である。二次共生細菌 (secondary symbiont)、一次共生細菌 (primary symbiont) という用語もあるが、植物で見られる一次共生、二次共生と混乱を招くのでここでは、facultative、obligate を用いることにする。エンドウヒゲナガアブラムシでは 3 種類の facultative symbiont が見つかっている。すなわち、*Regiella insecticola* (旧名 PAUS)、*Serratia symbiotica* (同 PASS)、*Hamiltonella defensa* (同 PABS) である。*Cinara cedri* の場合には、*S. symbiotica* は obligate symbiont に昇格したのかもしれない。

facultative symbiont と食物の関係について興味深い研究結果がある (Tsuchida et al. 2004)。日本のエンドウヒゲナガアブラムシの主な食物はカラスノエンドウ *Vicia sativa* とシロツメクサ *Trifolium repens* である。シロツメクサ上に住むアブラムシは高い頻度で *Regiella insecticola* を共生させている。実験的に *Regiella* を取り除いたアブラムシは、カラスノエンドウの上では産仔数に変化は無かったが、シロツメクサでは *Regiella* を持つ場合の半分程度にまで低下した。そして *Regiella* を注射によって再感染させてやるとシロツメクサでの産仔数が回復したのである。*Regiella* はカラスノエンドウ上では facultative symbiont に過ぎないが、シロツメクサ上では必須機能を担う obligate symbiont であると言い換えることができるだろう。これが食物の栄養成分の違いに因るのか、あるいは、二次代謝産物による成長阻害によるのかは今後の解明を待たねばならないが、obligate symbiont と facultative symbiont との境界は厳密なものではないことを示す好例である。

更に進んだ例がヨコバイの仲間に見られる。アブラムシと同じ半翅類に属するヨコバイの一種 *Homalodisca coagulata* の菌細胞には、2 種類の共生細菌が住んでいる。一つは、*Buchnera* にも近縁な  $\gamma$  プロテオバクテリアの *Baumannia cicadellinicola*、もう一つは、バクテロイデスの仲間 *Sulcia muelleri* である。そして、この内、*Baumannia cicadellinicola* の全ゲノム配列が 2006 年の 6 月に決定されている (Wu et al. 2006)。*Baumannia* のゲノムサイズは 686,192bp。ORF の数は 605 個。どちらも *B. aphidicola* APS と大きな違いはない。しかし内容は大きく異なる。まず、*Baumannia* はほぼ完全な相同組み換え酵素群を持っている。そして、83 個の遺伝子がビタミンや補酵素の合成に関わる遺伝子なのである。ピ

タミン B 群のチアミン (B1)、リボフラビン (B2)、ナイアシン (B3)、パントテン酸 (B5)、ピリドキシン (B6)、ビオチン (B7)、葉酸 (B9) が含まれている。中でもリボフラビン、葉酸、ピリドキシン、チアミンは、無機物から合成することが可能である。逆にアミノ酸合成の遺伝子はほとんど持っていない。例外的にヒスチジン、メチオニン (ホモセリンが供給された場合)、コリスミ酸 (芳香族アミノ酸の合成中間体) の合成は可能である。ヨコバイの食物は植物の導管液であり、アブラムシの飲む師管液よりも栄養の貧困な食物である。従って、食物から必要量の必須アミノ酸を摂取するなど望むべくもない。では、どこから必須アミノ酸を得るのか。その最有力候補はもう一つの共生細菌、*Sulcia muelleri* である。

もちろん、*Sulcia* のゲノム配列を決定すればその真偽は見えてくるはずである。しかし、残念ながら予算がない。そこで Wu らは *Baumannia* のゲノム DNA にコンタミしてきた *Sulcia* のゲノム配列を使うことにした。*Baumannia* のゲノム DNA にコンタミしてきた細菌 DNA は 2 つの細菌に由来することがわかった。一つは、寄生性の  $\alpha$  プロテオバクテリアである *Wolbachia* の仲間、そしてもう一つが *Sulcia* である。著者らは慎重に *Sulcia* からのコンタミ配列を選別し、最終的に 146,384bp のゲノム配列を得た。この中には 166 のタンパク質がコードされていた。その内 31 個はアミノ酸合成に関わる遺伝子であり、そこからスレオニンの合成系が完全に再現できた。また、ロイシン、バリン、イソロイシン、リシン、アルギニン、トリプトファンの合成系の遺伝子のかなりの部分が見つかった。*Sulcia* の配列情報が不十分なことを加味すると、*Sulcia* のゲノムには主にアミノ酸合成系の遺伝子が乗っていると言って良さそうである。更に、*Baumannia* が合成できない補酵素であるユビキノンとメナキノンの合成遺伝子が *Sulcia* の数少ない補酵素合成遺伝子から見つかっている。*Baumannia* と *Sulcia* とは、お互いに無いものを補い合っているらしい。この相互扶助こそがヨコバイの誕生以前から 2 種の共生細菌の共生が維持され続けてきた理由なのだろう。

この事実を *Cinara cedri* に当てはめると共生細菌の交換に加えて別の未来が見えてくるのではないだろうか。遺伝子の喪失は確率的な現象である。*B. aphidicola* BCt が失うよりも早く *Serratia* が必須アミノ酸の合成に関わる遺伝子を失ってしまった場合には、アブラムシはどちらの共生細菌も捨てることはできない。すなわち 3 種の生物による絶対共生関係が成立することになる。そしてその共生は新しい共生細菌がやってくるまで続くだろう。もちろん、*B. aphidicola* BCt が遺伝子を失う速度が速ければ *Serratia* によって完全に取って代わられ 2 者による新しい共生が始まるだろう。ここからは細胞内共生の非常に動的な進化を見えてくる。obligate symbiont のゲノム縮小により必須遺伝子が失われた場合には、facultative symbiont による機能代替が起こり、2 者の共存関係が生まれる。ある

いは昆虫の寄主植物の変更に伴って facultative symbiont の持つ遺伝子が必要になる場合もある。2 者の共存関係はやはり遺伝子の喪失によって確率的に、(1) 旧 obligate symbiont の排除と新 obligate symbiont の成立、(2) 旧 obligate symbiont と新 obligate symbiont 両者の維持、の 2 つの過程へと進む。そして再び新たな facultative symbiont がやってくる。究極の細胞内共生細菌たるミトコンドリアや色素体すらこの過程から逃れ得ない。

昆虫の細胞内共生細菌の歴史とは不必要な遺伝子を捨てていく過程そのものである。ゲノム縮小こそが obligate symbiosis の基盤なのだから。その究極の形をキジラミ *Pachypsylla venusta* の共生細菌 *Carsonella ruddii* に見ることができる。ゲノムサイズはなんと 159,662bp。大ききだけ見れば既にオルガネラだ。環状ゲノムの上に 182 個の ORF が密に載っている。細胞膜や脂質、ヌクレオチドの合成すら全て切り捨てた *Carsonella* のゲノムでは、翻訳とアミノ酸合成の 2 つのカテゴリーの遺伝子だけでその 50% 近くを占める。必須アミノ酸合成の遺伝子は多く残っているが、それでもなお、遺伝子から見るとは必須アミノ酸の全てを合成することはできず、経路上にいくつかの遺伝子の喪失が見られる。例えば、コリスミ酸合成過程の *aroE* (dehydroshikimate reductase) と *aroK* (shikimate kinase)、スレオニン合成の *thrB* (homoserine kinase) はゲノム上に見あたらない。*Pachypsylla venusta* は他に共生細菌を持たないので、これらの酵素は全て *Pachypsylla venusta* 自身から供給されているはずである。すなわち、核ゲノムへの遺伝子の移行が起こっている可能性がある。昆虫側のゲノムを読まない限りは仮説に過ぎないわけだが。

ゲノムサイズの縮小に伴うさまざまな進化を昆虫の細胞内共生に見た。

Nakabachi A, Yamashita A, Toh H, Ishikawa H, Dunbar HE, Moran NA, Hattori M.

The 160-kilobase genome of the bacterial endosymbiont *Carsonella*.

Science. 2006 Oct 13;314(5797):267.

Perez-Brocail V, Gil R, Ramos S, Lamelas A, Postigo M, Michelena JM, Silva FJ, Moya A, Latorre A.

A small microbial genome: the end of a long symbiotic relationship?

Science. 2006 Oct 13;314(5797):312-313.

Andersson SG.

Genetics. The bacterial world gets smaller.

Science. 2006 Oct 13;314(5797):259-260.

Shigenobu S, Watanabe H, Hattori M, Sakaki Y, Ishikawa H.

Genome sequence of the endocellular bacterial symbiont of aphids *Buchnera* sp. APS.  
Nature. 2000 Sep 7;407(6800):81-86.

Tamas I, Klasson L, Canback B, Naslund AK, Eriksson AS, Wernegreen JJ, Sandstrom JP, Moran NA, Andersson SG.

50 million years of genomic stasis in endosymbiotic bacteria.  
Science. 2002 Jun 28;296(5577):2376-9.

van Ham RC, Kamerbeek J, Palacios C, Rausell C, Abascal F, Bastolla U, Fernandez JM, Jimenez L, Postigo M, Silva FJ, Tamames J, Viguera E, Latorre A, Valencia A, Moran F, Moya A.

Reductive genome evolution in *Buchnera aphidicola*.  
Proc Natl Acad Sci U S A. 2003 Jan 21;100(2):581-6.

Tsuchida T, Koga R, Fukatsu T.

Host plant specialization governed by facultative symbiont.  
Science. 2004 Mar 26;303(5666):1989.

Wu D, Daugherty SC, Van Aken SE, Pai GH, Watkins KL, Khouri H, Tallon LJ, Zaborsky JM, Dunbar HE, Tran PL, Moran NA, Eisen JA.

Metabolic complementarity and genomics of the dual bacterial symbiosis of sharpshooters.  
PLoS Biol. 2006 Jun;4(6):e188.

2006/11/30

小島 健司 著  
禁 無断複写転載