

生物科における「進化」を考える授業開発 —細胞進化の新たな話—

田中 伸也

細胞の起源には様々な説がある。その例として真核細胞中の細胞小器官であるミトコンドリアに関するリン・マーギュリスの共生説によると、ミトコンドリアの起源は好気性細菌がある細胞に共生した結果であるとしている。しかし、遺伝子解析等の最近の知見から、リン・マーギュリスの共生説は現実に起きたこととかなり異なっていた可能性が出てきている。そのため、本稿では新知見を整理し、既存の共生説を教える上で注意すべき点を考察した。

1. はじめに

筆者は生物科における「進化」を考える授業を通して、本校の研究開発課題である科学的思考力や科学的・論理的に物事を処理する力を身につけさせることを意図している。そのため、本校のカリキュラム「サイエンス I B」を利用し、「進化」を扱った独自の教材の開発を行っている。科学的思考力を育成する材料として生物科における「進化」は、未だ学術的に明らかになっていない部分があるものの、それだけに科学的思考力を必要とする題材である。リン・マーギュリスの共生説は細胞進化を説明するため、当時知られていた科学的物事・現象を利用した。その思考過程をなぞらせ、細胞共生説の成立を考察させる場面を設定することが可能である^{[1][2]}。

2-1. リン・マーギュリスの共生説とは

生命の基本単位とされる細胞は、原核生物から真核生物へと進化のプロセスをたどったと考えられている。原核生物と真核生物の相違点は、核、ミトコンドリア、ゴルジ体など多数の細胞小器官が真核生物には存在するが、原核生物には無いという事実である。

この事実をリン・マーギュリスは、

1. ミトコンドリアの起源は好気呼吸する細菌が細胞内共生した結果である。
2. 葉緑体の起源はシアノバクテリアが細胞内共生した結果である。
3. 他の細胞小器官(鞭毛など)の起源も共生の結果である。

と説明した。この説は共生説と呼ばれ、今日でも 1,2 においては支持を集めている。なぜなら、その後の研究においてミトコンドリア、葉緑体は DNA をもち、その解析の結果、好気性細菌であるリケッチアとシアノバクテリアにとっても似ているという結果が出たからである^{[3][4]}。

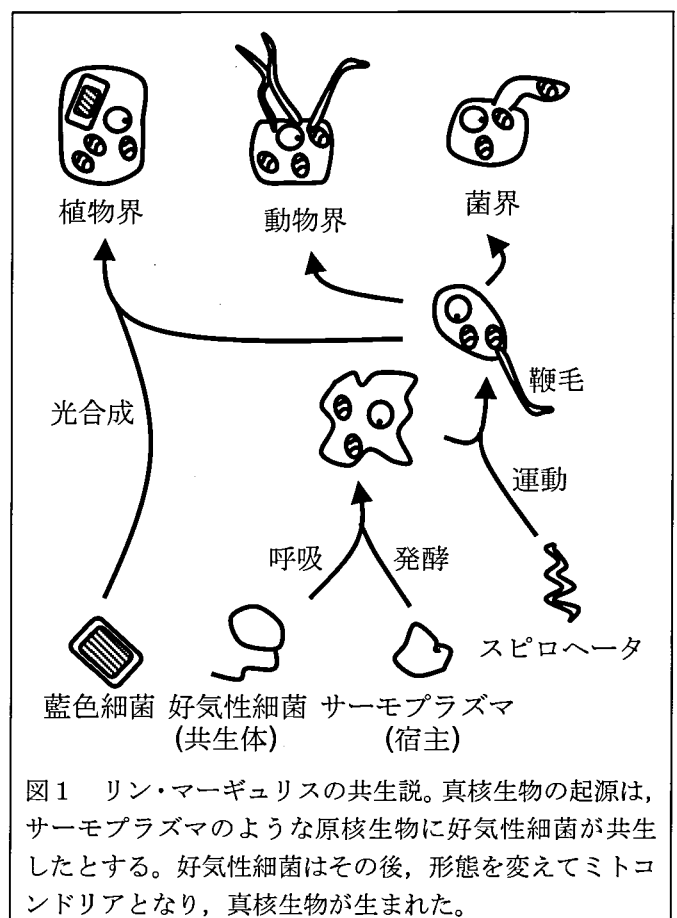


図1 リン・マーギュリスの共生説。真核生物の起源は、サーモプラズマのような原核生物に好気性細菌が共生したとする。好気性細菌はその後、形態を変えてミトコンドリアとなり、真核生物が生まれた。

2-2. ミトコンドリアとは

ミトコンドリアは独自の DNA をもち、多くの動物細胞や植物細胞において存在している。また、ミトコンドリアを形作る脂質二重膜は外膜と内膜の二層構造をとっており、その間に膜間腔という間隙が存在している。膜間腔には水素イオンが含まれ、ミトコンドリアの好気呼吸に関与している。ミトコンドリアの内膜は内側に向か

ってクリステとよばれるひだが発達しているものが多い。これらはミトコンドリアの内側に水素イオンなどを供給するための表面積を大きくする効果があるものと考えられている。クリステの形は、平たい板状のもの、管状のもの、うちわの形のようなもの他に様々なものが報告されている。これらは表面積を増やすために進化を続けた結果、徐々に形成されたものだと考えられている。そのため、真核生物が誕生したころのクリステはほとんど内側に突起しておらず、外膜に沿う形で存在したものと推定される^[4]。

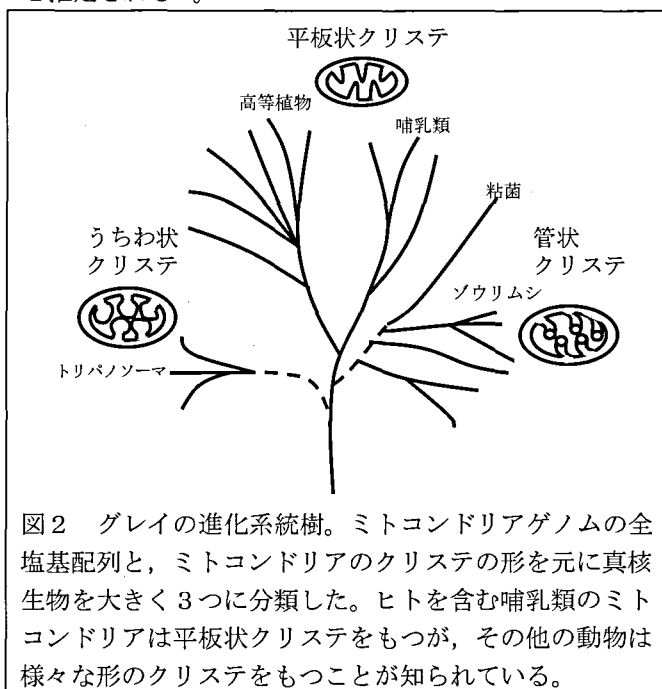


図2 グレイの進化系統樹。ミトコンドリアゲノムの全塩基配列と、ミトコンドリアのクリステの形を元に真核生物を大きく3つに分類した。ヒトを含む哺乳類のミトコンドリアは平板状クリステをもつが、その他の動物は様々な形のクリステをもつことが知られている。

2-3. 微生物の分類

真核生物出現以前の生物は、すべて原核生物だったと考えられている。原核生物は核をもたない生物であり、真核生物と比較すると約10~100倍ほど小さかった。

原核生物の分類はホイタッカーとマーギュリスの5界説に則ると、モネラ界に分類され、さらに細菌類とラン藻類(シアノバクテリア)に分けられる。

一方、分子遺伝学の発展により、原核生物分類の見直しを行なう傾向が強くなっている。rRNAの塩基配列解析を基にしてウーズが提唱した3ドメイン説では「界」の上位概念として「ドメイン」を提唱している。

この3ドメイン説によると、先に記述したモネラ界は古細菌(アーキア)ドメインと真正細菌(バクテリア)ドメインの2系統に分類し、そのうち、ラン藻類は真正細菌に、細菌類は真正細菌と古細菌の2系統に分けて、生物の進化やその分かれた道筋を表している。リン・マーギ

ユリスの共生説において、ミトコンドリアの祖先とされる好気性細菌と、その宿主となったサーモプラズマはホイタッカーとマーギュリスの5界説に従うと共に同じ細菌類に分類される。しかし、ウーズの分類によると先の2種はそれぞれ真正細菌ドメインと古細菌ドメインに分類され、共生関係になったとされる2種の生物は遠縁関係にあったということが推察可能であり、2種の生物の共生は進化の中で大きな出来事だったと考えることが出来る^[5]。

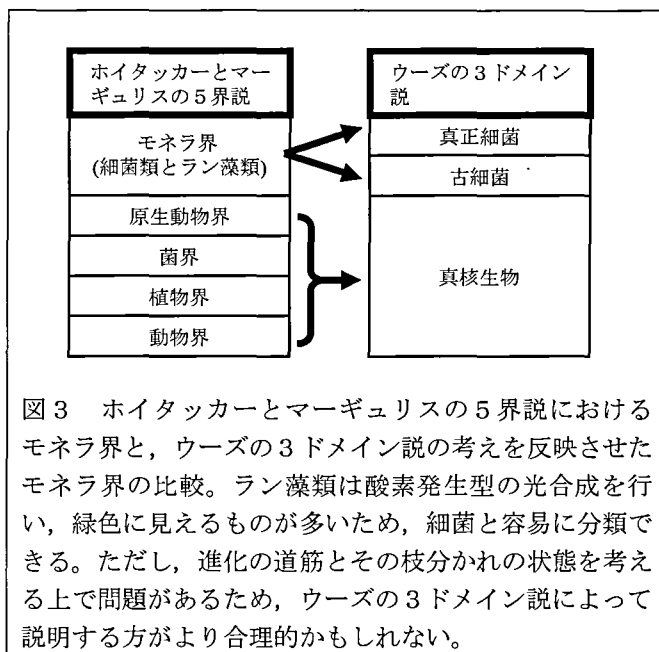


図3 ホイタッカーとマーギュリスの5界説におけるモネラ界と、ウーズの3ドメイン説の考えを反映させたモネラ界の比較。ラン藻類は酸素発生型の光合成を行い、緑色に見えるものが多いため、細菌と容易に分類できる。ただし、進化の道筋とその枝分かれの状態を考える上で問題があるため、ウーズの3ドメイン説によって説明する方がより合理的かもしれない。

3-1. 最近の研究による共生説の課題

リン・マーギュリスの共生説において提唱されている好気性細菌とサーモプラズマの共生はほぼ定説となっていた。しかし、様々な疑問も残っていた。例として、共生を始めた好気性細菌はどのような種だったのか、どのような過程を経てミトコンドリアとなっていたのか、どのような環境下において共生関係が成立したのか。また、核膜をもった真核生物になったのは共生の前なのか、後なのか。これらにおいて、新しい知見が得られており、新しい説も提唱されている。

3-2. ミトコンドリアに近縁なリケッチア

まず、ミトコンドリアとなった生物は、真正細菌に属するプロテオバクテリアであったと考えられている。これは、ミトコンドリアとプロテオバクテリアの塩基配列がとても相同性が高かったため、その中でも現生のプロテオバクテリアの中では、リケッチアがミトコンドリアに最も近縁な生物ではないかと考えられている。なぜ

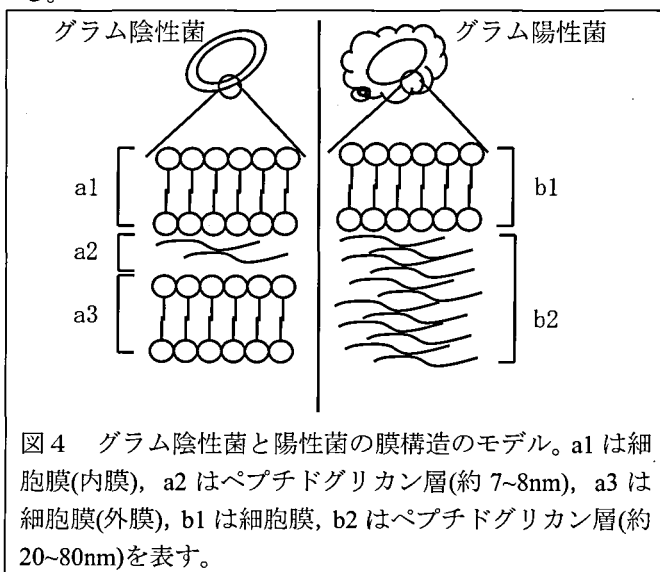
なら、リケッチアはミトコンドリアを髣髴させる様々な生物学的特長を備えているからである。例として、他の生物の細胞の中で寄生生活を行ない、細胞外では増殖することが出来ないことが挙げられている。ミトコンドリアも同様、宿主細胞外で増殖することはできない。また、リケッチアの細胞膜は他の生物のものとは比べると様々な成分の透過性が高く、宿主とリケッチアの細胞質成分等を交換しやすくなっている。そして、リケッチアはやはりミトコンドリアと同じく好気呼吸を行なう^[6]。

3-3. プロテオバクテリアはグラム陰性菌

共生したプロテオバクテリアはグラム陰性菌である。グラム陰性菌はグラム染色法によって陰性判定がでたグループであり、その基本的な手法は以下の通りである。

1. 菌体をクリスタルバイオレットやゲンチアナバイオレット等の塩基性染色液で約1分間染色する。その後、水洗する。
2. ルゴール液(ヨウ素・ヨウ化カリウム溶液)で菌体を約1分間染色する。その後、水洗する。
3. アルコール溶液で菌体を脱色する。その後、水洗して風乾する。
4. サフラニンやフクシンなどで約1分間染色する。
5. 検鏡し、菌体の色を判断する。

この方法で菌体の大まかな膜構造が分かる。グラム陽性菌は、1層の脂質二重膜をもち、その外側におおよそ20nm~80nmのペプチドグリカン層が存在する。また、グラム陰性菌は脂質二重膜を2層もち、それぞれ菌体の外側にあるものを外膜、内側にあるものを内膜という。外膜と内膜の間にペプチドグリカン層をもつが、おおよそ7nm~8nmほどのグラム陽性菌に比べて薄い膜である。



グラム染色法の基本法1にあるクリスタルバイオレットやゲンチアナバイオレットは菌体を紫色に染め、基本法2のルゴール液で色素を不溶化する。その後、基本法3のアルコール処理によりグラム陰性菌の外膜を壊し、内部の薄いペプチドグリカン層に不溶化した紫色素を溶出して脱色する。そのため、グラム陰性菌は基本法4のサフラニンやフクシンにより赤色に染色され、検鏡時に菌体が赤く見える。しかし、グラム陽性菌は紫色に染色されるペプチドグリカン層が非常に厚いため、アルコール処理によって紫色素が溶出しにくく、検鏡時に菌体が紫色にみえる。

プロテオバクテリアはグラム陰性菌であることを考慮すると、宿主の共生体は脂質二重膜の外膜と内膜を備えていた可能性が高いと考えられる。また、ミトコンドリアが脂質二重膜の外膜と内膜の二層構造をもっていることを考えると内膜構造が平板状、管状、うちわ形状等、表面積を増やすように構造を変化させていったことが考えられる。

3-4. ミトコンドリアの祖先と水素仮説

共生が起きたのは約20億年前だったと考えられている。当時の地球環境はシアノバクテリアが大量に増加し、その光合成によって酸素が多量に発生していた。その変化に対応できなかった嫌気性細菌は大量に絶滅することになった。一方で、その間隙を縫うように、酸素を利用してエネルギーを作り出す好気性細菌が繁栄し、さらには、その間に好気性細菌と嫌気性細菌が共生関係を結んだとされていた。以上がリン・マーギュリスの共生説の粗筋である。しかし、その過程には疑問符がつけられている。

好気性細菌と嫌気性細菌が共生関係を結ぶには、生息する環境が同じである必要がある。しかし、上記の好気性細菌と嫌気性細菌は同じ環境にいないため、その可能性は低い。そのため、嫌気的環境で宿主と共生体が共生関係を結んだ後、好気的環境に移ったと考えるマーティンとミュラーの水素仮説が提出された^[7]。

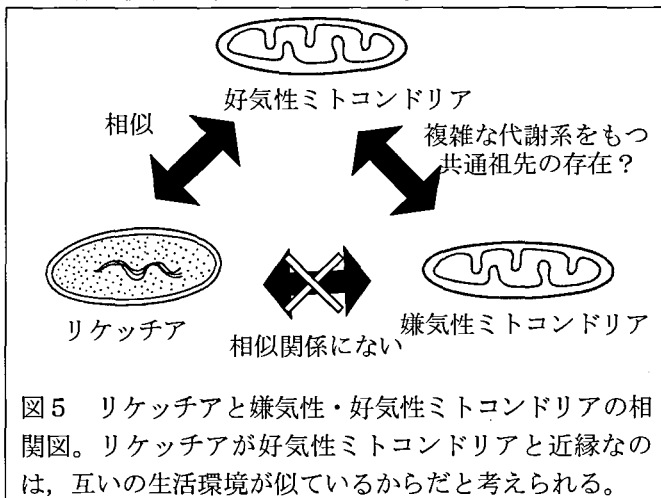
水素仮説はミトコンドリアの祖先であるプロテオバクテリアの代謝能力に関してリン・マーギュリスの共生説と大きく説明を異にしている。それによると、ミトコンドリアの祖先は単純な好気性細菌ではなかったと考えている。その証拠として、ミトコンドリアと同じく二重膜に囲まれた細胞内小器官のハイドロジェノソームの例を挙げている。ハイドロジェノソームは嫌気的条件下で水素と細胞のエネルギー源であるATPを産生する働きをもち、独自のDNAはないと考えられていた。しかし、その後、繊毛虫に発見されたハイドロジェノソームは

DNA をもち、その塩基配列を解析したところ、ミトコンドリアと相同性が高いことが分かった。このことから、ハイドロジェノソームはミトコンドリアと祖先を同じくしていると仮定すると、その祖先の代謝能力に関して2つの仮説が考えられる^{[7-12][20]}。

- 1, ミトコンドリアとハイドロジェノソームの祖先は宿主生物と共生した時点で、単純な代謝系をもち、世代交代を重ねるにつれて様々な代謝系を備えるようになった。
- 2, ミトコンドリアとハイドロジェノソームの祖先は宿主生物と共生した時点で、様々な代謝系をもち、世代交代を重ねるにつれて、いくつかの代謝系を失った。

この仮説はほぼ一定の割合で後者の方の仮説が正しいといわれている。なぜなら、ATP を輸送する膜ポンプ、呼吸に関わる鉄硫黄タンパク質の合成に必要な酵素などがミトコンドリアとハイドロジェノソームで同じ祖先由来だと考えられているからである。また、酸素の代わりに硝酸塩や亜硝酸塩を燃やしてエネルギーを得る嫌気性ミトコンドリアの存在が知られ、ハイドロジェノソームと数個の遺伝子の起源が同じであることも後者の仮説を支持している^{[7][13]}。

つまり、水素仮説は好気性かつ嫌気性細菌がミトコンドリアの祖先なのではないかと考えおり、その候補としてロドバクテリアなど環境に応じて好気呼吸や嫌気呼吸を切り替える様々な代謝系をもつプロテオバクテリアも共生体の候補と考えられている^[14]。



3-5. ミトコンドリアの宿主と水素仮説

ミトコンドリアの祖先はどんな宿主と共生したのか。この謎は、真核生物の誕生と一緒に考察する必要がある。なぜなら、現生生物において、ミトコンドリアをもつていなかったと考えられる真核生物が見つかっていないた

めである。今まで、ミトコンドリアをもたない真核生物の例として考えられていた微胞子虫は、マイトソームというミトコンドリア由来と考えられる痕跡器官をもつことが見出され、さらには、真核生物の核ゲノムを網羅的に調べたところ、必ずミトコンドリア由来と考えられる遺伝子が真核細胞の核ゲノムに移動していることが分かっている。そのため、ミトコンドリアの共生の後に宿主は核膜を獲得した可能性が高くなっている^{[15][16]}。

現在、宿主候補の生物は真核生物の塩基配列を解析した結果古細菌だと考えられている。さらには、水素仮説によると、ミトコンドリアの祖先と考えられるハイドロジェノソームが水素を排出し、メタン生成菌と共生している事例もあることから、その古細菌は酸素の存在下では生きていけないメタン生成菌も候補だとしている^[17]。

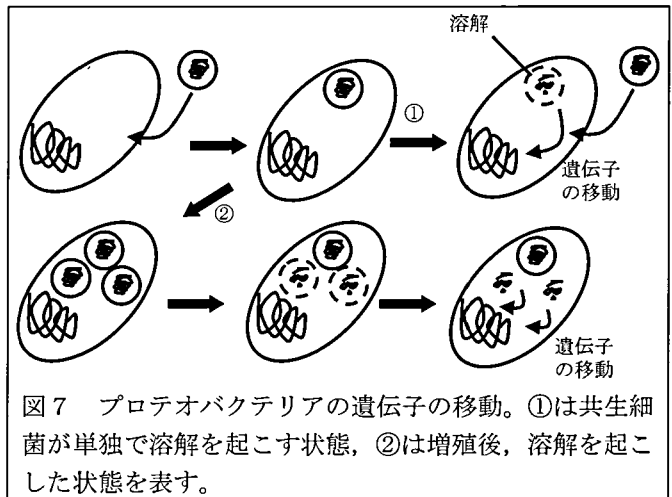
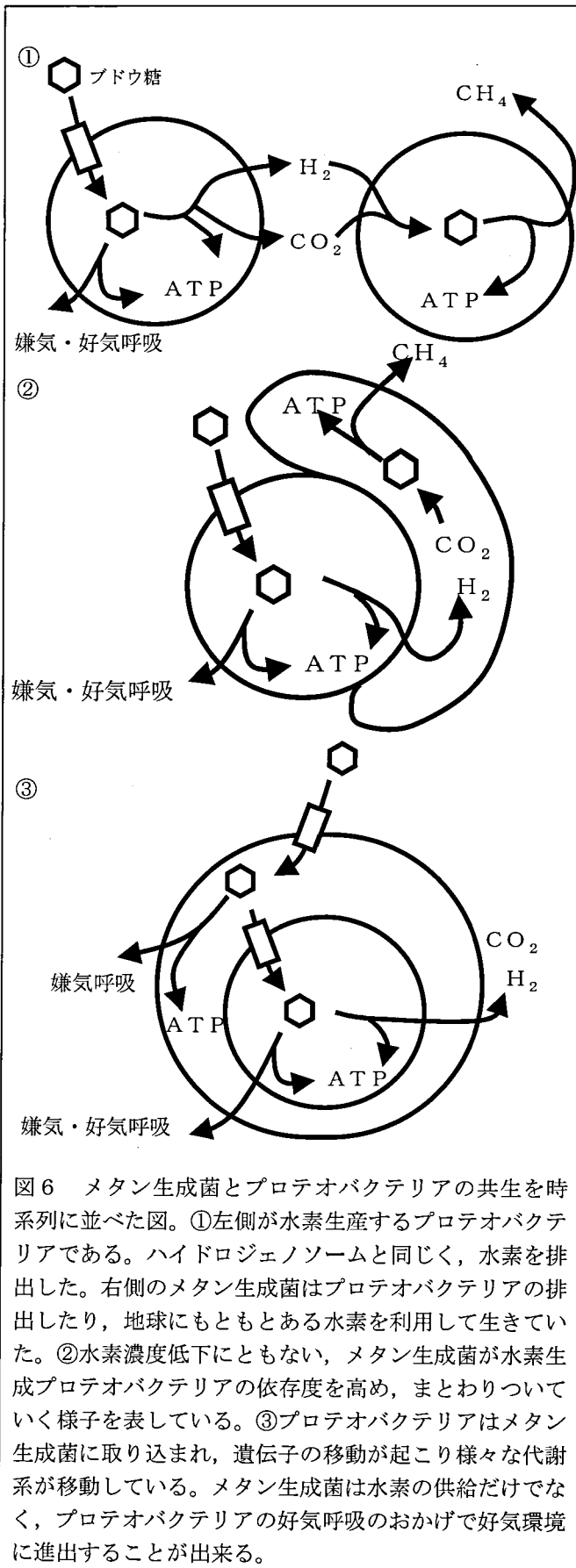
共生に至るまでの水素仮説は以下の通りである。メタン生成菌は水素と二酸化炭素を反応させ、メタンを細胞外に放出しながらエネルギーを得ている嫌気性細菌である。共生が成立した約20億年前の地球では、酸素濃度が上昇していることもあり、メタン生成菌のエネルギー生産をする原材料となる水素(H₂)が酸素と反応して、徐々に減少していた。そのため、メタン生成菌は水素を手に入れるため、水素を生成するプロテオバクテリアと共生しはじめた。プロテオバクテリアは同時に嫌気呼吸や好気呼吸を行なう複雑な代謝系をもつもので、メタン生成菌と生息環境を同じくすることができる。さらには、共生が長い期間にわたるうちに、プロテオバクテリアからメタン生成菌への遺伝子の移動が起こって、メタン生成菌は発酵による嫌気呼吸を行なうようになったとしている^[17]。

3-6. 遺伝子の移動と真核生物の誕生

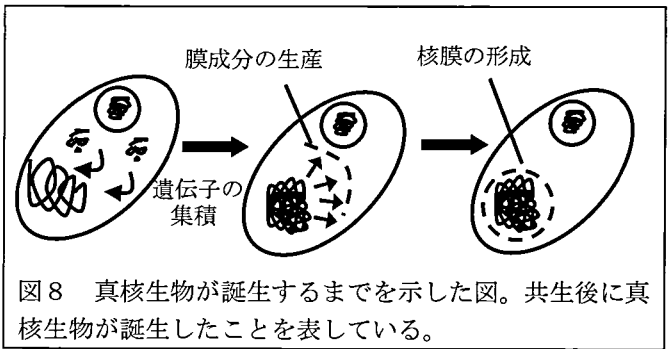
共生体から宿主へ遺伝子の移動が起こる条件は大きく2つに分けて考えられている。

1. 宿主が共生体を細胞内に含んだとき、バクテリアにとっては養分の供給が立たれた状態になる可能性がある。その場合、宿主内で溶解を起こし、バクテリアのDNAを宿主細胞に放出する。このむき出しのバクテリアDNAが宿主のDNAに取り込まれる。その前後、新たな共生体が宿主に入り込む。
2. 宿主の中でバクテリアが増殖を続け、やがてプラトーに達したものが宿主内で溶解を起こす。その後①と同様に遺伝子が移動する。

ミトコンドリアDNAの核への移動は現在でも観察される現象であり比較的短い時間で行なわれること、ハイドロジェノソームがミトコンドリア由来であると考えられることから、おそらく後者のような現象が起こっていると考えられる^{[7][18][21]}。



多種ではなく1種のプロテオバクテリアが共生して、遺伝子の移動が行なわれたとすると、その移動はプロテオバクテリアDNAから古細菌への一方向のみに起こると考えられる。さらに、そのプロセスが真核生物の核の起源を示す可能性がある。なぜなら、宿主細胞のDNAに移動したプロテオバクテリアDNAの中にはプロテオバクテリアの細胞膜を作るための遺伝子もあったと考えられ、DNAの移動の後、宿主細胞がプロテオバクテリア由来の細胞膜を生産しても細胞質内のどこに輸送するのか決まらず、宿主細胞の染色体周囲に集まり核膜を形成したのかもしれないからである。真核生物の核膜が1層であること、細胞分裂時に核膜が消失することもプロテオバクテリア由来の細胞膜がその行き場を失ったためだという可能性がある」とマーティンは指摘している^[19]。



4. 今後の細胞進化の扱い

グラム陰性菌であるプロテオバクテリアがミトコンドリアの祖先であることはほぼ間違いなさそうである。そのため、これまでに宿主の食作用によってミトコンドリアの祖先が飲み込まれたとする説の論拠と成っている「ミトコンドリアの2層の細胞膜のうち、内膜は共生体自身の膜であり、外膜は宿主がミトコンドリアの膜を包み込んだときの宿主細胞の膜に相当する。そのため、ミトコンドリアは2層の膜である」という筋書は可能性が

低いと考える。なぜなら、グラム陰性菌自身が外膜と内膜の2層の細胞膜をもち、仮に宿主に包み込まれたときの宿主細胞の膜が残ったとすると、ミトコンドリアは細胞膜が3層存在しなければならないことになる。

また、全ての真核生物にミトコンドリアの祖先がいる、もしくはかつていたというのは定説になっている。そのため、リン・マーギュリスの共生説を説明する図においてしばしば見られる真核生物にミトコンドリアの祖先が取り込まれたという図は現実には起こった真核生物誕生時の状況と異なる可能性がある。

これらのことより、リン・マーギュリスの共生説など細胞進化の取り扱い仮説としての扱いに留め、その進化は現実には起きたことと異なる可能性に留意した指導を考えなければならない。

参考文献

- [1] 文部科学省：『学習指導要領等によらない教育課程編成を認める制度について』（2009）
- [2] 広島大学附属福山中・高等学校『中等教育における科学を支える「リテラシー」の育成を核とする教育課程の開発』（2009）
- [3] Lynn Margulis et. al 『Handbook of Protoctista』（1990）
- [4] 黒岩常祥『ミトコンドリアはどこからきたか』（2000）
- [5] Woese C, Kandler O, Wheelis M (1990). Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proc Natl Acad Sci U S A* **87** (12): 4576-9
- [6] Andersson, S.G.E., Zomorodipour, A., Andersson, J.O., Sicheritz-Ponten, T., Alsmark, U.C.M., Podowski, R.M., Näslund, A.K., Eriksson, A.-S., Winkler, H.H. & Kurland, C.G. (1998) The genome sequence of *Rickettsia prowazekii* and the origin of mitochondria. *Nature* (London) **396**, 133-140
- [7] Boxma B, de Graaf RM, van der Staay GW, van Alen TA, Ricard G, Gabaldón T, van Hoek AH, Moon-van der Staay SY, Koopman WJ, van Hellemond JJ, Tielens AG, Friedrich T, Veenhuis M, Huynen MA, Hackstein JH. (2005). An anaerobic mitochondrion that produces hydrogen. *Nature* **434**, (7029)74-79.
- [8] Nick lane 『Power, Sex, Suicide: Mitochondria and the Meaning of Life』 *Oxford Univ Pr (T)*; New edition (2006)
- [9] Horner, D. S., Hirt, R. P., Kilvington, S., Lloyd, D. & Embley, T. M. Molecular data suggest an early acquisition of the mitochondrion endosymbiont. *Proc. R. Soc. Lond. B* **263**, 1053-1059 (1996)
- [10] Bui, E. T. N., Bradley, P. J. & Johnson, P. J. A common evolutionary origin for mitochondria and hydrogenosomes. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **93**, 9651-9656 (1996).
- [11] Germot, A., Philippe, H. & Le Guyader, H. Presence of a mitochondrial-type 70-kDa heat shock protein in *Trichomonas vaginalis* suggests a very early mitochondrial endosymbiosis in eukaryotes. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **93**, 14614-14617 (1996)
- [12] Roger, A. J., Clark, C. G. & Doolittle, W. F. A possible mitochondrial gene in the early-branching amitochondriate protist *Trichomonas vaginalis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **93**, 14618-14622 (1996).
- [13] Tielens, A. G. M., Rotte, C., van Hellemond, J. J. & Martin, W. Mitochondria as we don't know them. *Trends Biochem. Sci.* **27**, 564-572 (2002)
- [14] Fitzpatrick, D. A., Creevey, C. J. & McInerney, J. O. Genome phylogenies indicate a meaningful α -proteobacterial phylogeny and support a grouping of the mitochondria with the Rickettsiales. *Mol. Biol. Evol.* **23**, 74-85 (2006).
- [15] Goldberg AV, Molik S, Tsaousis AD, Neumann K, Kuhnke G, Delbac F, Vivares CP, Hirt RP, Lill R, Embley Localization and functionality of microsporidian iron-sulphur cluster assembly proteins. 2008 *Nature* **452**(7187):624-8.
- [16] Sabrina D. Dyall, Mark T. Brown, Patricia J. Johnson (2004) Ancient invasions: from endosymbionts to organelles. *Science* **304**.(5668):253 - 257
- [17] Martin W and Müller M (1998). "The hydrogen hypothesis for the first eukaryote". *Nature* **392** (6671): 37-41.
- [18] K. L. Adams, J. D. Palmer, Molecular Phylogenetics and Evolution. *Mol. Phylogenet. Evol.* **29**, 380 (2003)
- [19] Martin, W. (1999). A briefly argued case that mitochondria and plastids are descendents of endosymbionts, but that the nuclear compartment is not. *Proc. R. Soc. Lond. B.* **266**, 1387-1395.
- [20] Akhmanova A, Voncken F, van Alen T, van Hoek A, Boxma B, Vogels G, Veenhuis M, Hackstein JH (1998). "A hydrogenosome with a genome". *Nature* **396** (6711): 527-8.
- [21] Abrahamsen, M.S, et al. Complete genome sequence of the apicomplexan *Cryptosporidium parvum*. *Science*. 2004; **304**:441-445.
- [22] van der Giezen M, Tovar J. Degenerate mitochondria. *EMBO Rep.* 2005 **6**(6):525-30.