

2022年12月22日
サイエンスカフェ
In 静岡

細胞の増殖ルール

～ゲノムを複数持つバクテリアからその普遍性を考える～

大林龍胆（静岡大学）

今日の話

1. バクテリアの増殖ルール
2. ゲノム倍数体から増殖ルールの普遍性を考える
(自身の研究)
3. 将来展望を少しだけ

バクテリア＝細菌

原核生物（核を持たない生物）

地球上の様々な場所に生息している

バクテリア＝細菌

What is true for E. coli is also true for elephants.

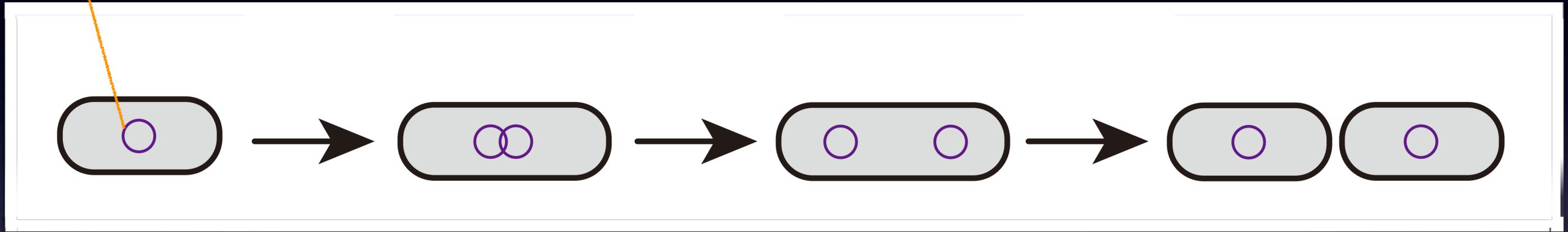
Jacques Monod (1965年ノーベル生理学・医学賞)

Trust the power of microbiology

Arthur Kornberg (1959年ノーベル生理学・医学賞)

細菌の増殖研究

ゲノムDNA

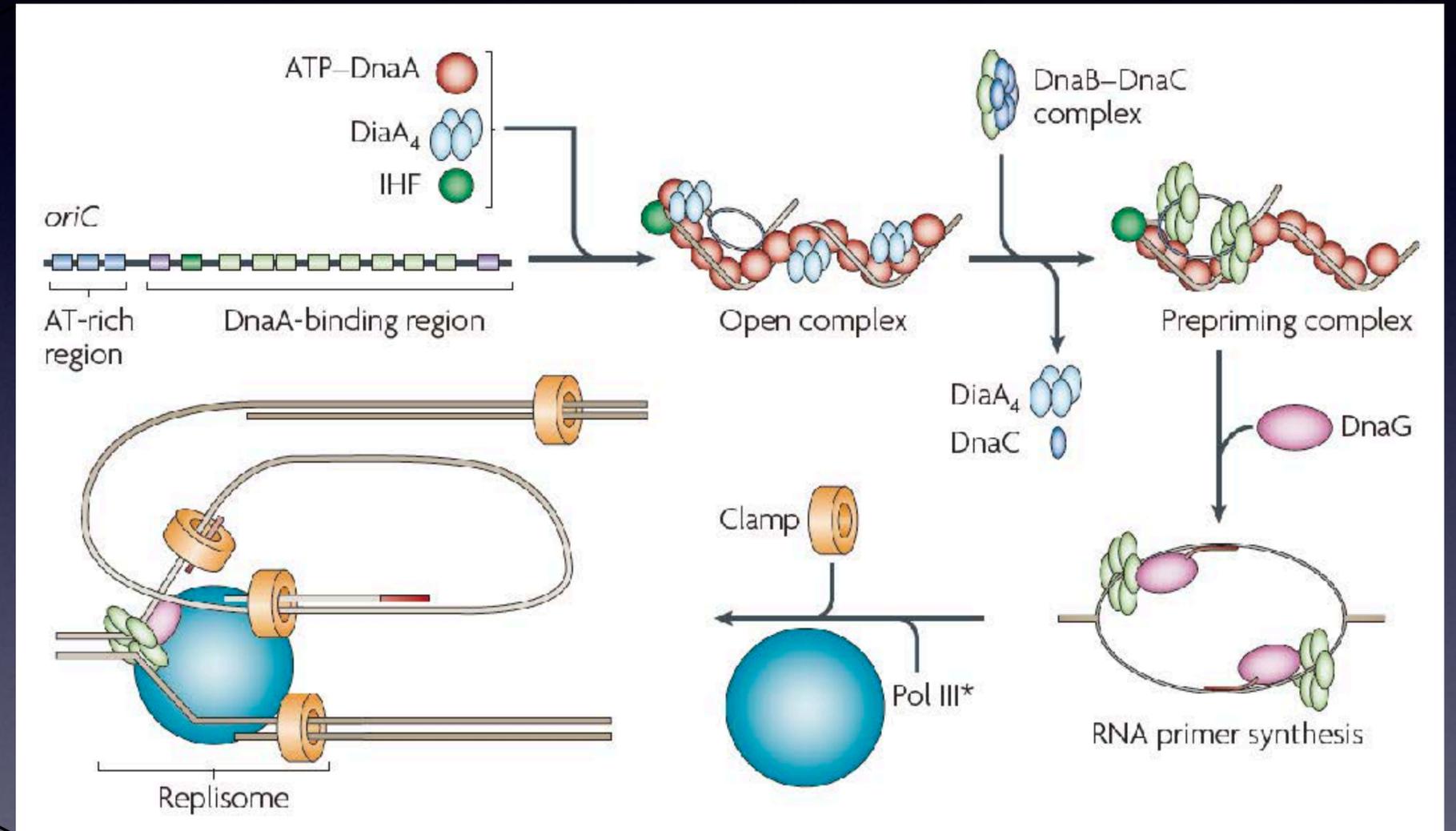
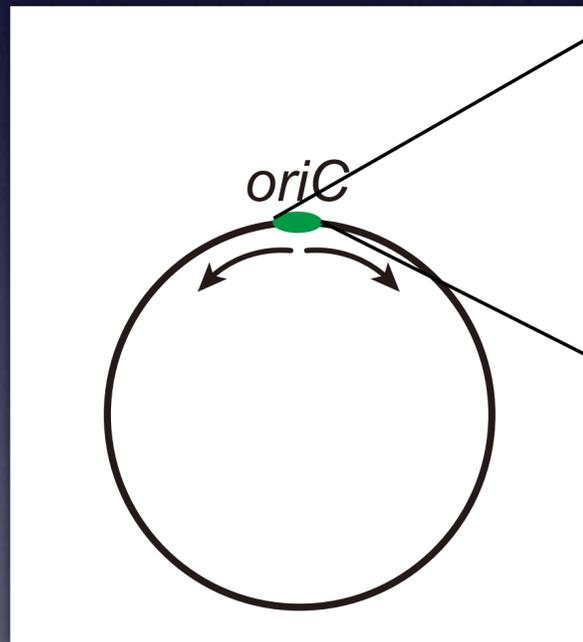


細かいメカニズムは非常によく研究されている

バクテリアの増殖研究

ゲノムDNA複製

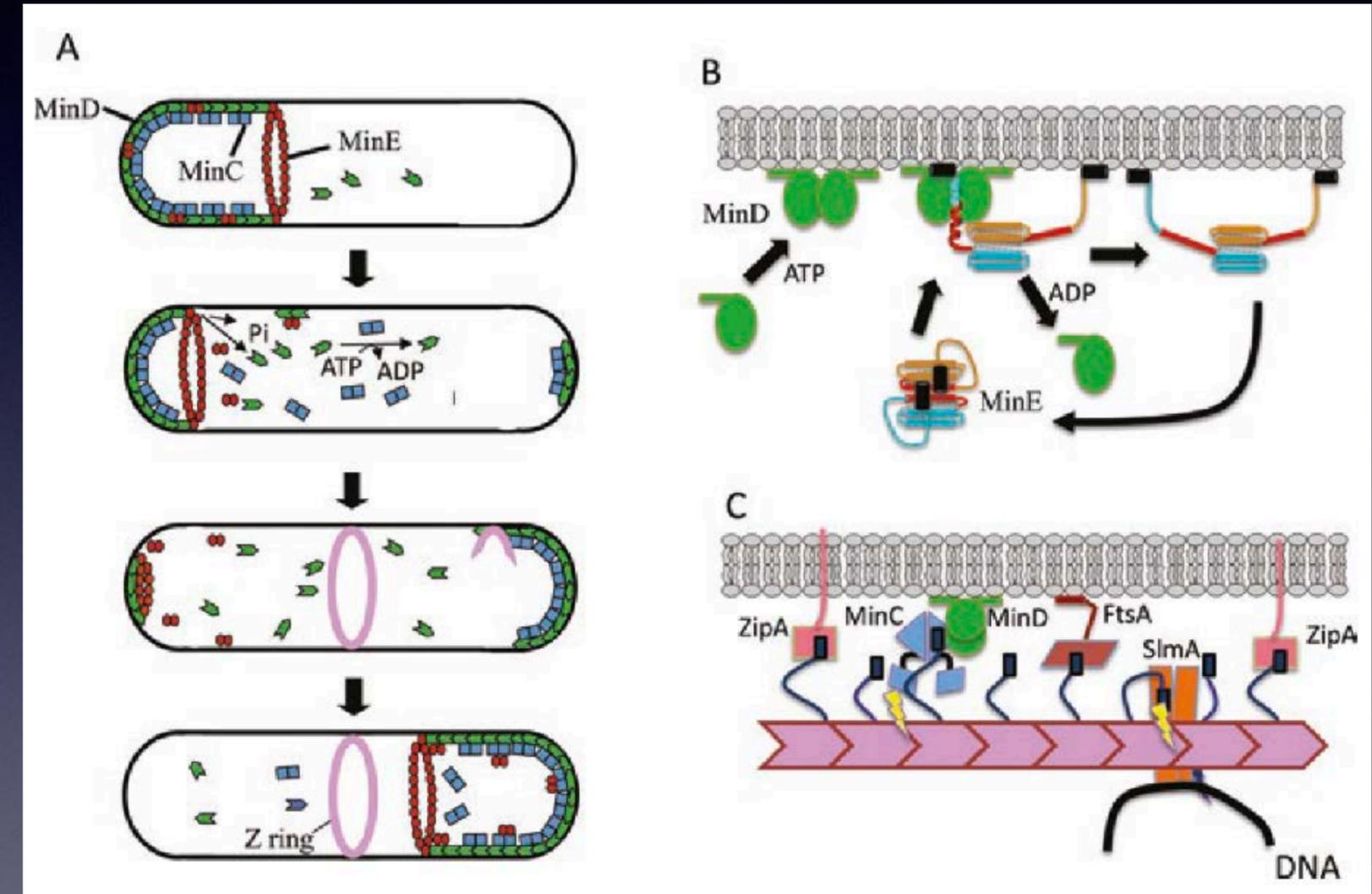
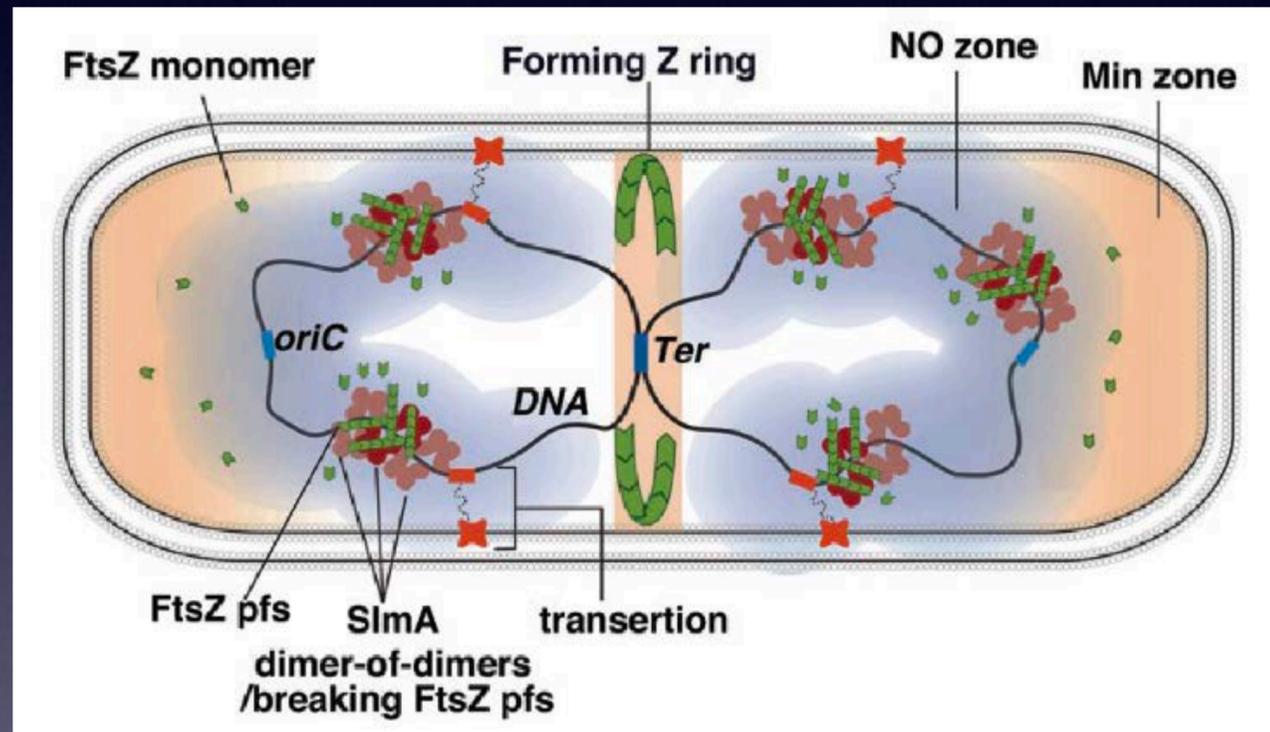
- 複製は一箇所から始まる



バクテリアの増殖研究

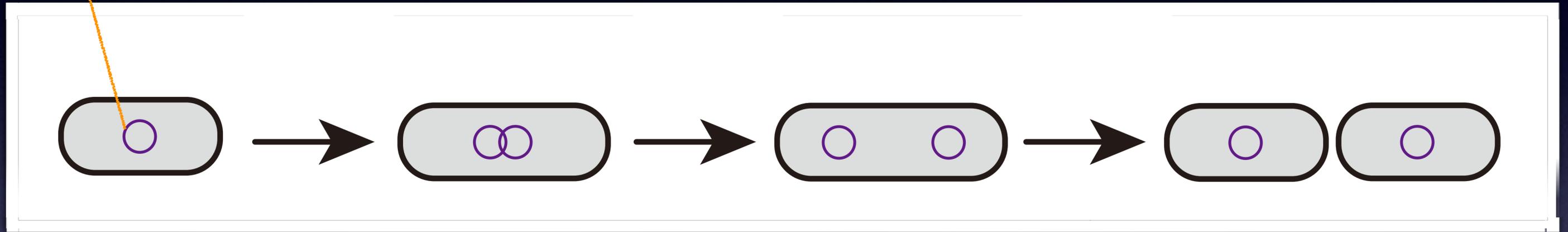
細胞分裂

- 細胞は必ず真ん中で分裂する



バクテリアの増殖

ゲノムDNA



ゲノムを増やし、細胞がふたつに分裂する

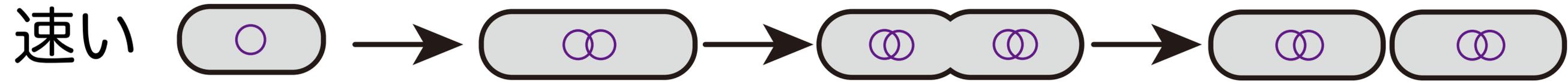
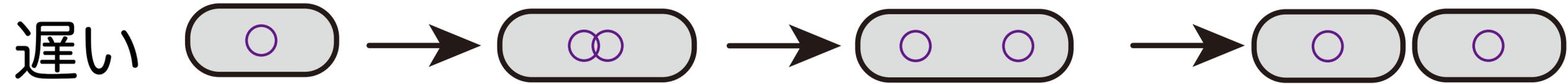
バクテリアの増殖

- 栄養がある時は増え続ける
- 栄養がなくなると増殖を止める
- 栄養状態によって、速く増えたり、遅く増えたりする

多くの細菌は1細胞に一つのゲノム

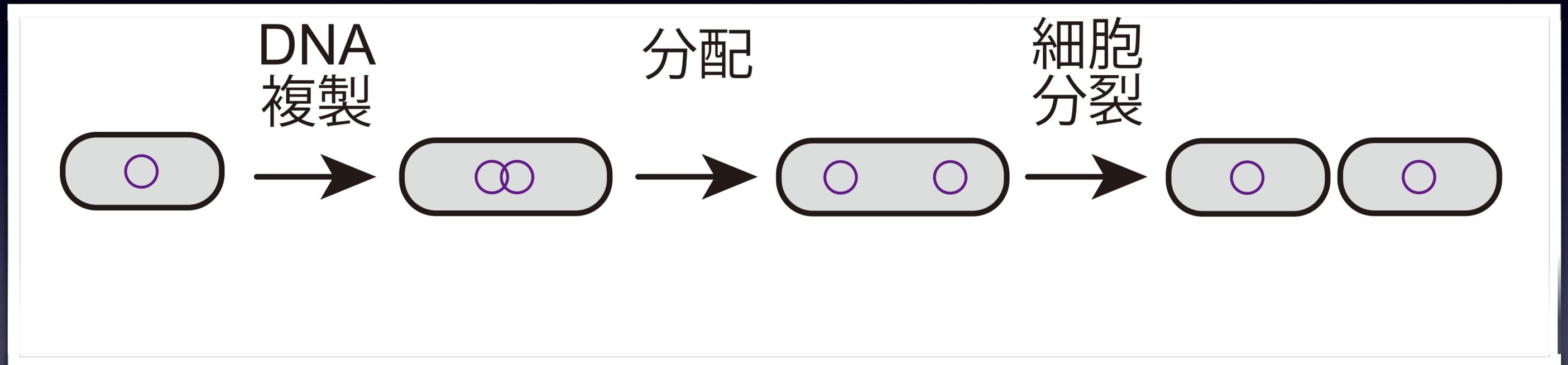
増殖速度：20分～

ゲノム複製速度：30分



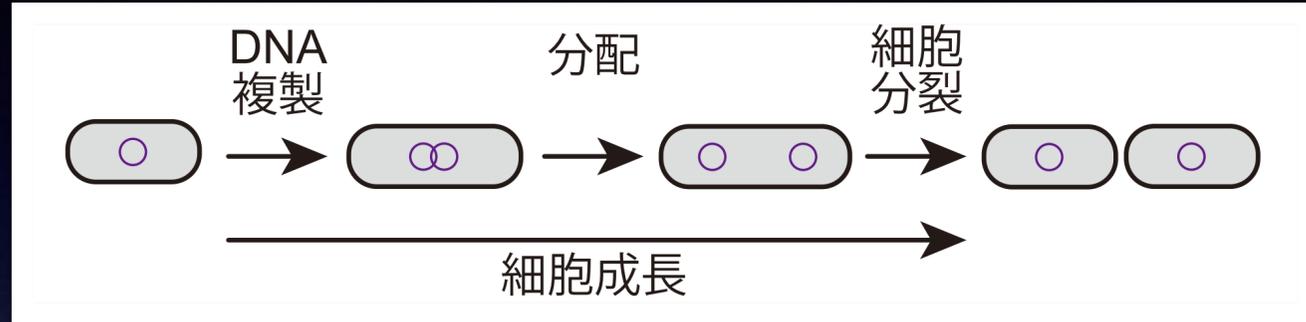
どうすれば、このように規則正しく増殖するのか？

多くの細菌は1細胞に一つのゲノム

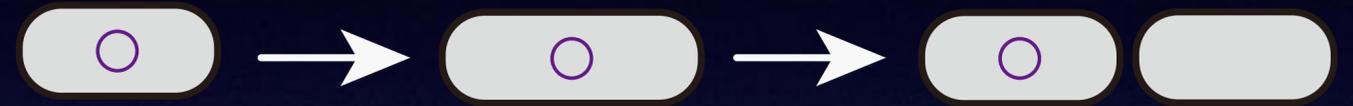


それぞれのプロセスを順番に起動する必要がある

多くの細菌は1細胞に一つのゲノム



複製する前に分裂すると



DNAを持たない細胞ができてしまう

どのようなルールであれば、この順番通りに起動できるのか？

実験的検証

Charles E Helmstetter

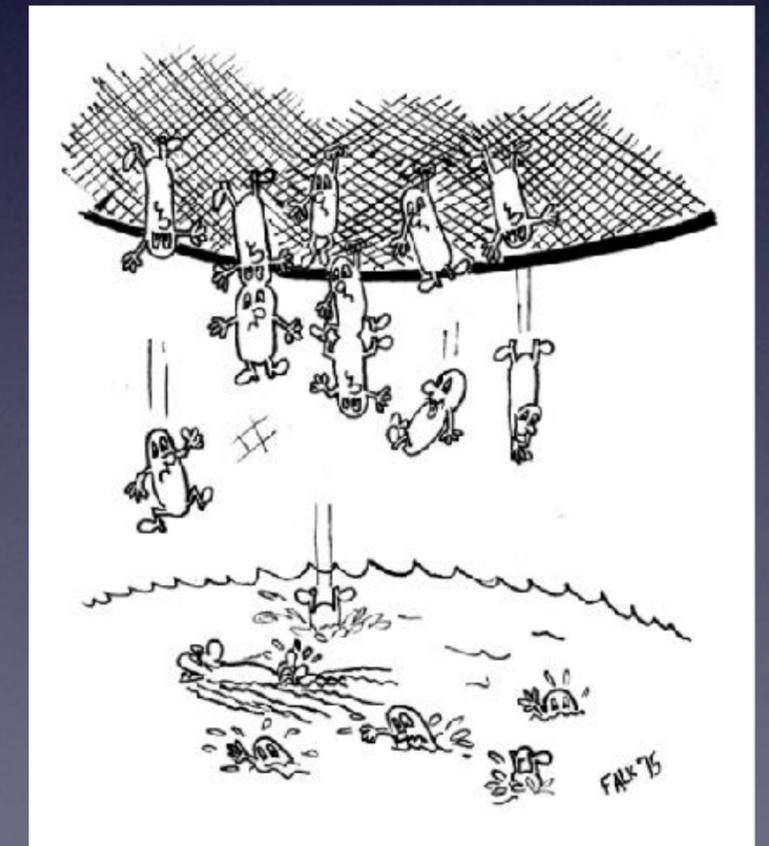
もとは原子物理学、放射線物理学

1958年～

- 研究の方法を思いつくのに4年、それを応用する最適な方法を見つけ出すのに4年、分裂周期のデータを取り、解釈するまでに2年
- 大腸菌K-12を選ばなかったのが一つの幸運
- Joe Coulterがバクテリアをカウントできる装置を持ってくる

とにかく、細胞を同調培養することにこだわった！

BACTERIAL BABY MACHINE



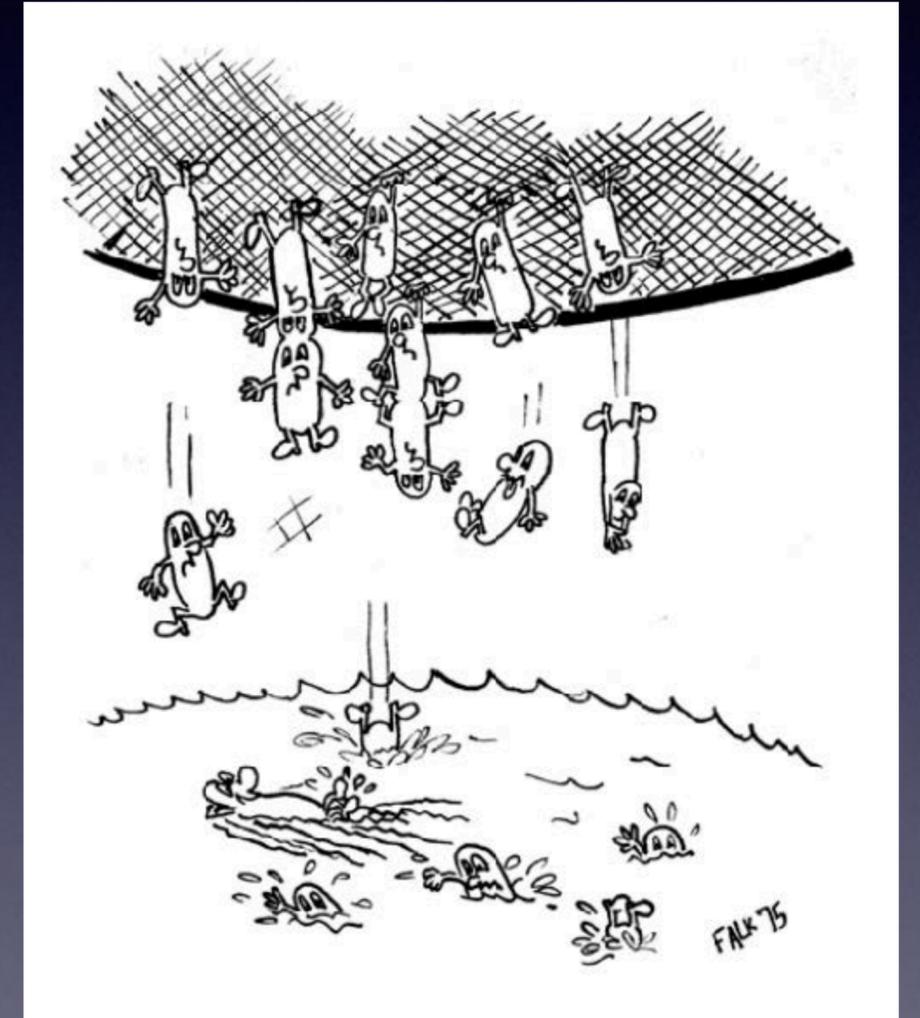
どのように同調したのか？

- 細胞同調とは：ある状態の細胞だけにすること

方法

網に細胞をトラップして、落ちてくる細胞
＝分裂直後の細胞だけを回収する

BACTERIAL BABY MACHINE



複製と分裂の時間的ルール of 提唱 (仮説) 1968年

Cooper-Helmstetter model

- 複製開始時のoriあたりの**体積**は一定
- 複製開始から細胞分裂までの**時間**は一定
- **成長速度**に関わらない

それから長年仮説はあったものの、
検証はされて（できて）いなかった

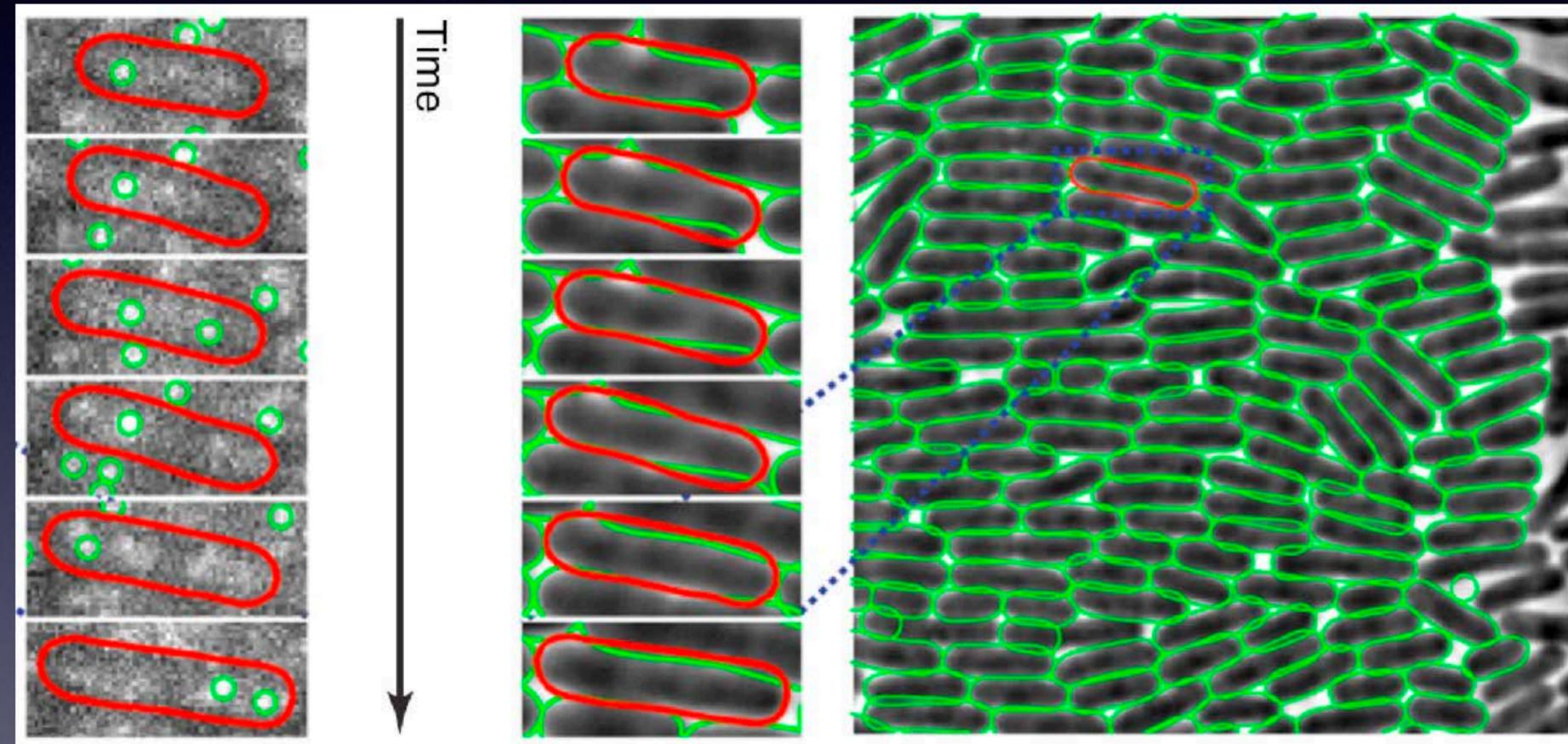
1細胞イメージング技術の発展によるブレイクスルー

バクテリアの増殖を1細胞レベルで解析可能に！

1細胞イメージング技術の発展によるブレイクスルー

DNAポリメラーゼを可視化
DNA複製している細胞

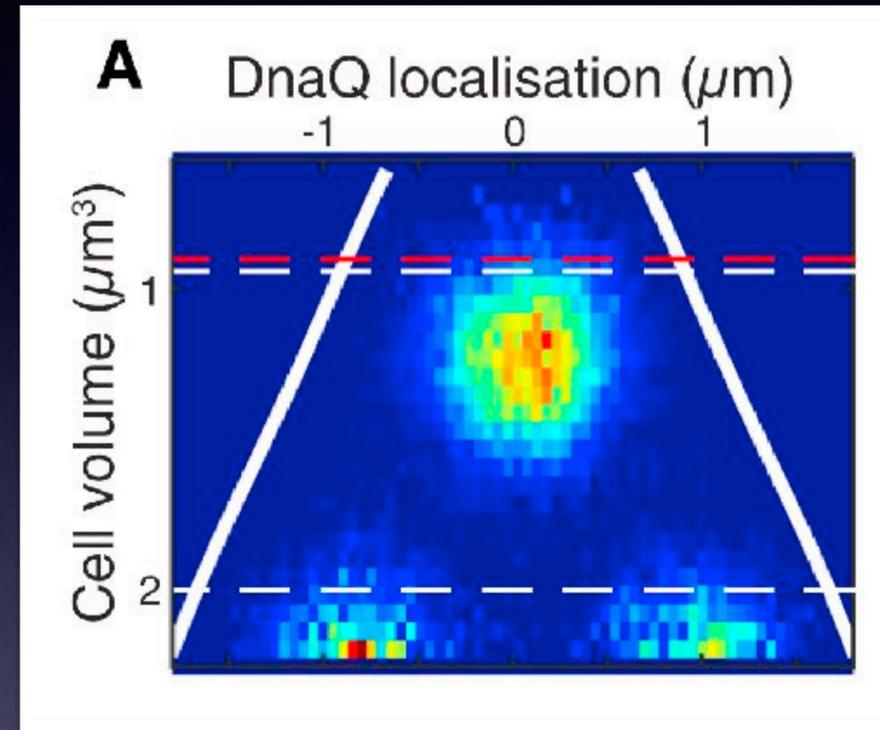
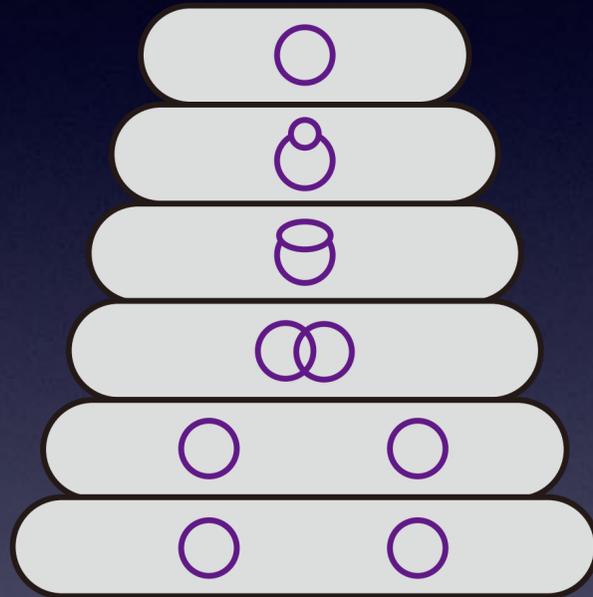
大腸菌細胞



Walled et al., Cell (2016)

バクテリアの細胞成長とDNA複製開始制御

約4000細胞を重ね合わせた結果

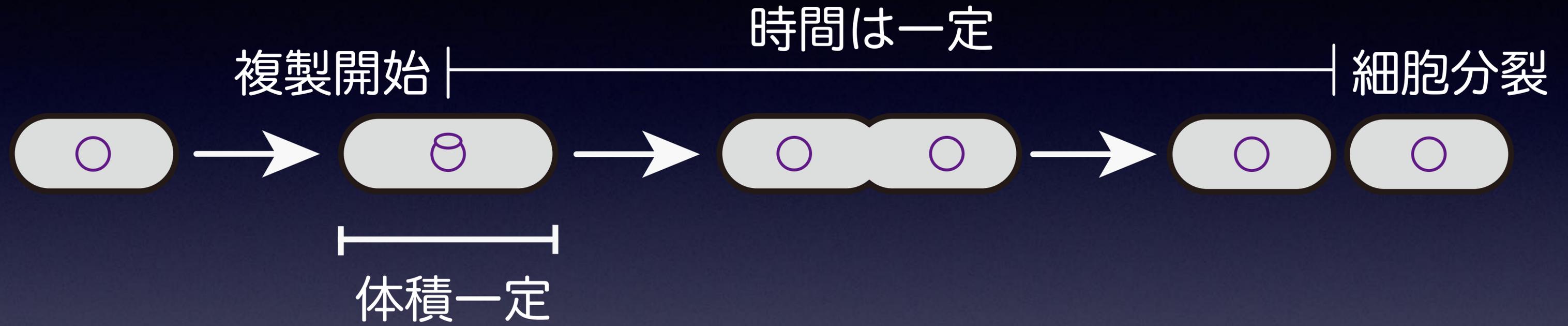


—DNA複製開始する細胞の大きさ

Walled et al., Cell (2016)

- ある体積に達すると複製が開始する
- 生育速度に関わらず、この法則は成り立つ

増殖ルールをまとめると



このルールだと細胞サイズはどうなるのか？



細胞サイズは種によって決まっている

どうすれば細胞の大きさが同じになるのか？

これまでの仮説

Sizer

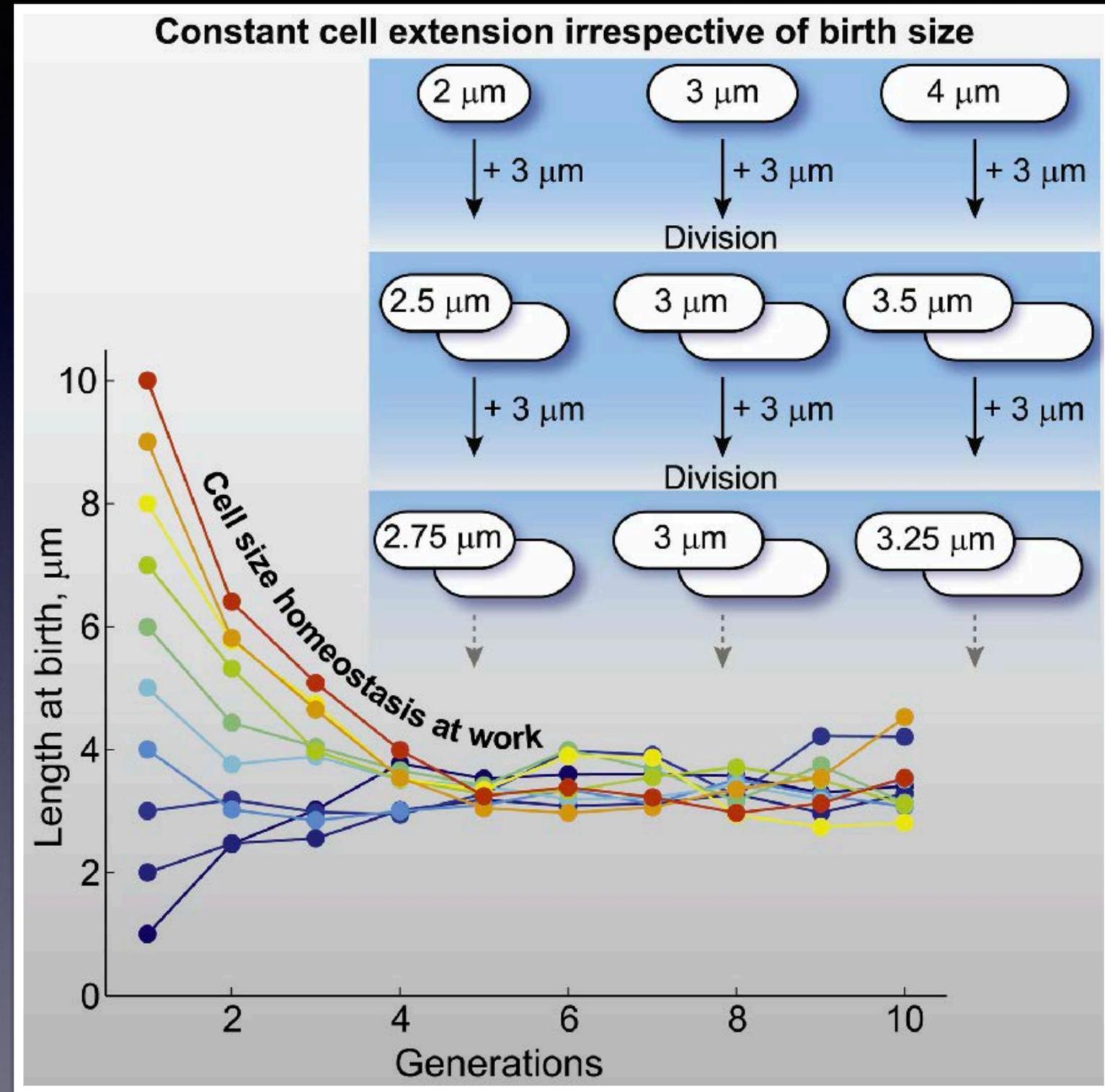
Timer

Adder

バクテリアの細胞成長率に伴う細胞分裂制御

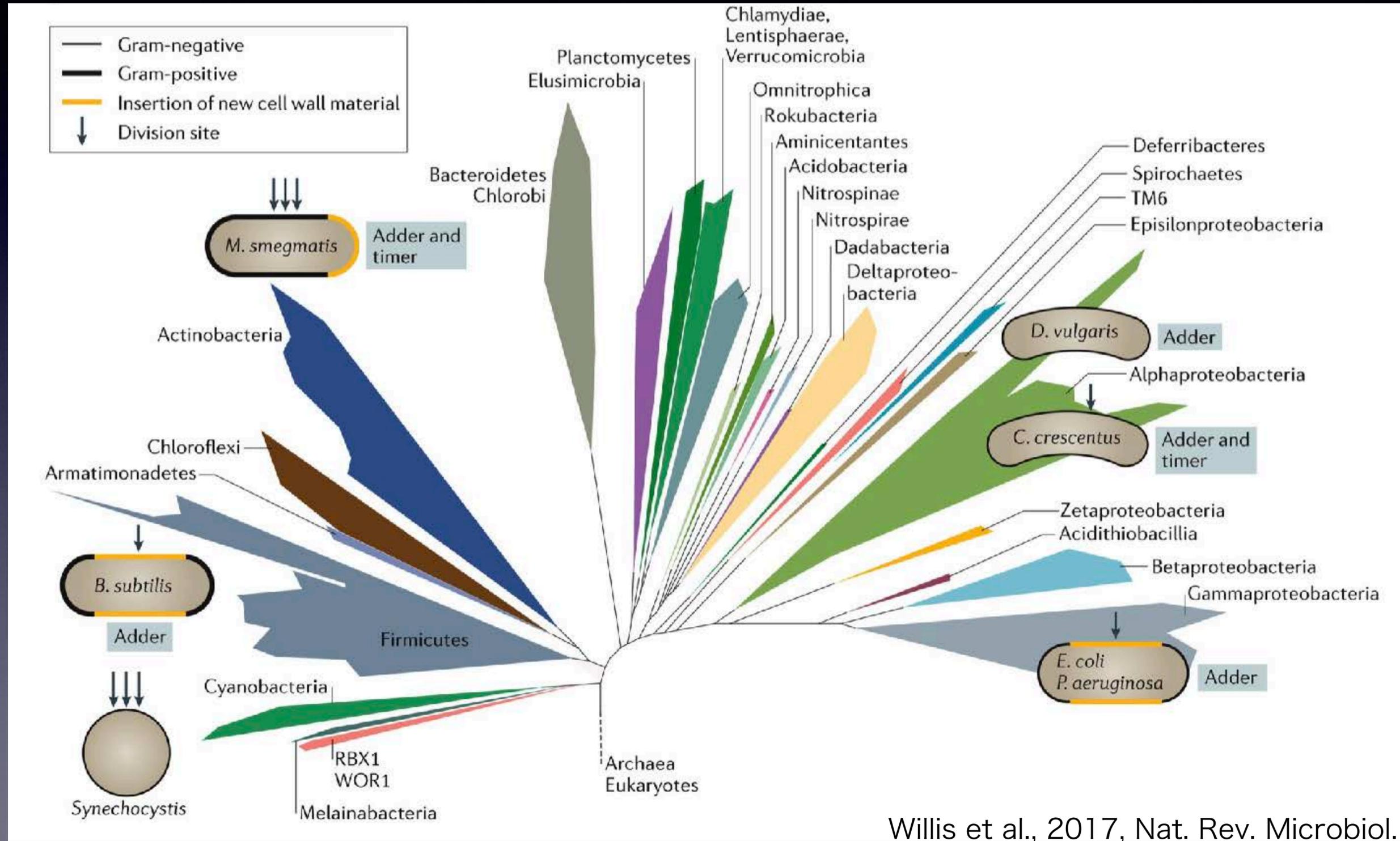
A. Adder model

成長する体積が一定
3 μm 成長すると分裂する

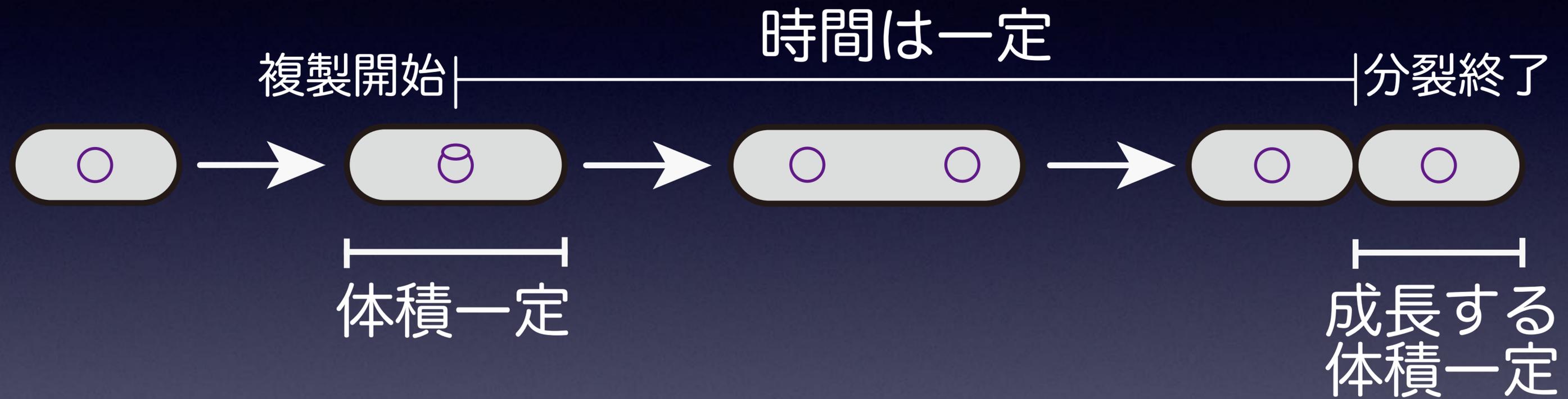


細胞成長率に伴う細胞分裂制御とその普遍性

多くのバクテリアに保存されたルール

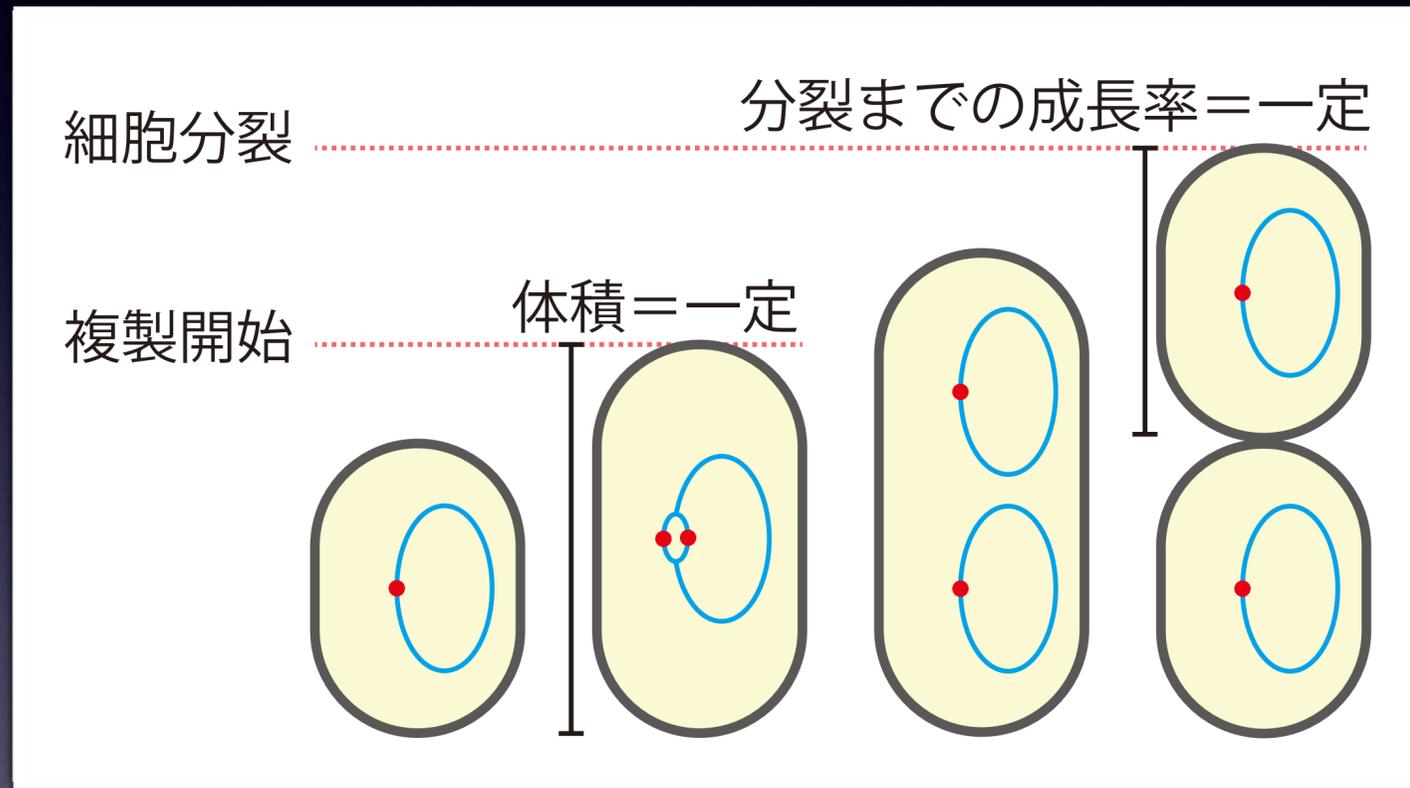


細胞成長と協調したゲノム複製、細胞分裂



Campos et al., Cell (2014)
Walled et al., Cell (2016)
Si et al., Curr. Biol. (2017)

今後の課題

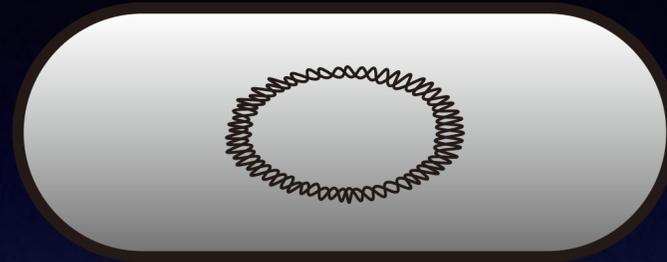


- どのように細胞サイズを感知しているのか？
- どのように成長率を感知しているのか？
- 複製と分裂はカップリングしているのか？

このシステムは普遍的なのだろうか？

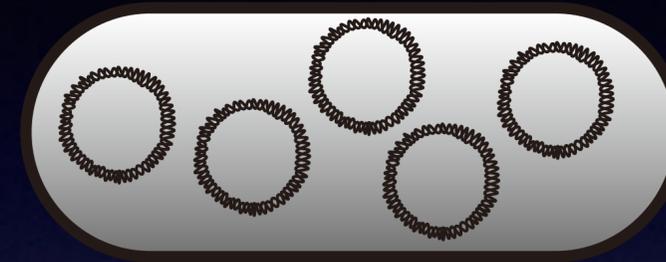
大林の研究：なぜ多倍数化するのか？

1倍体



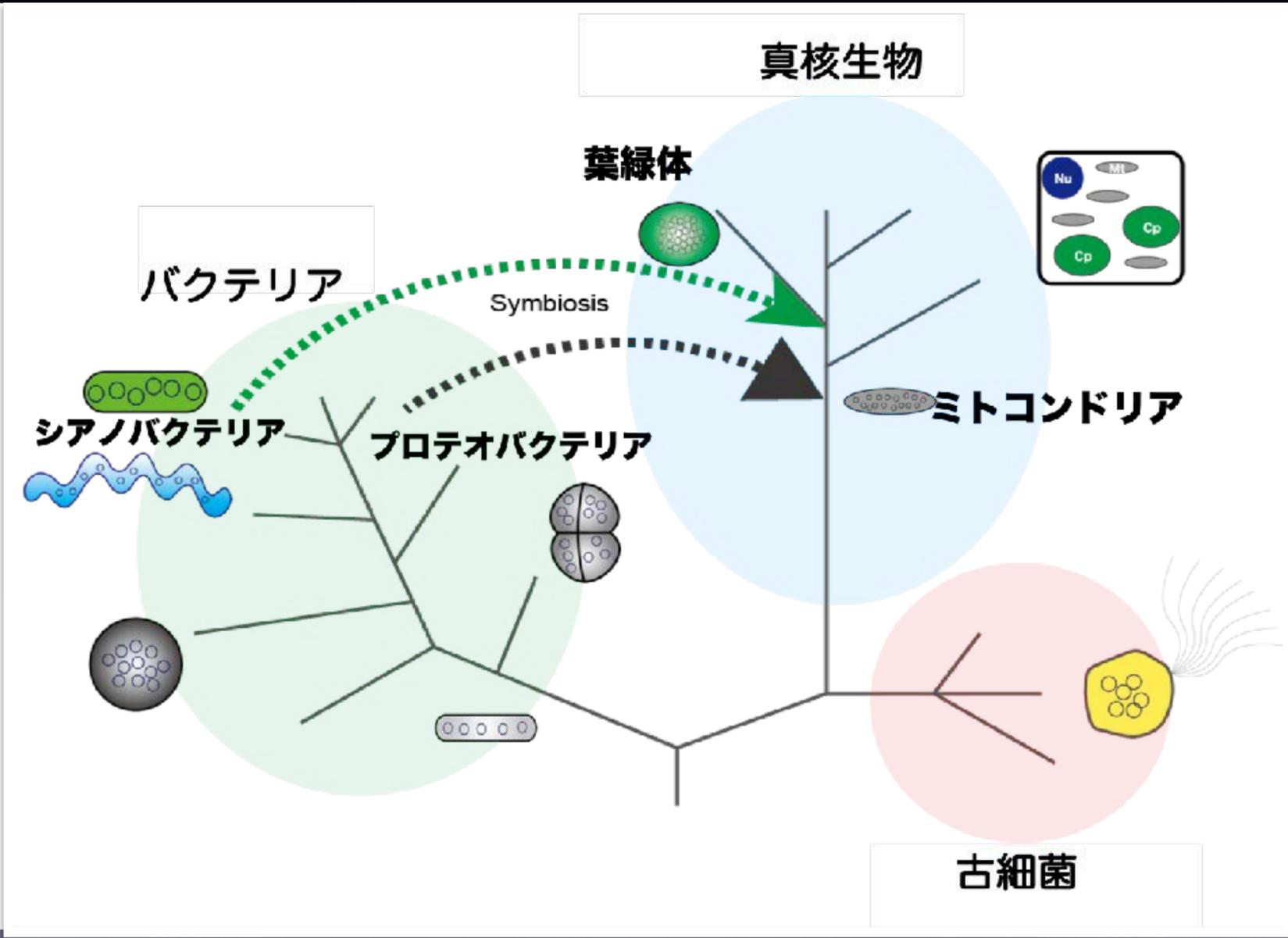
モデルバクテリア
大腸菌、枯草菌など

倍数体



シアノバクテリアなど
共生、寄生細菌

多くの共生細菌に共通にみられるゲノム倍数化に着目



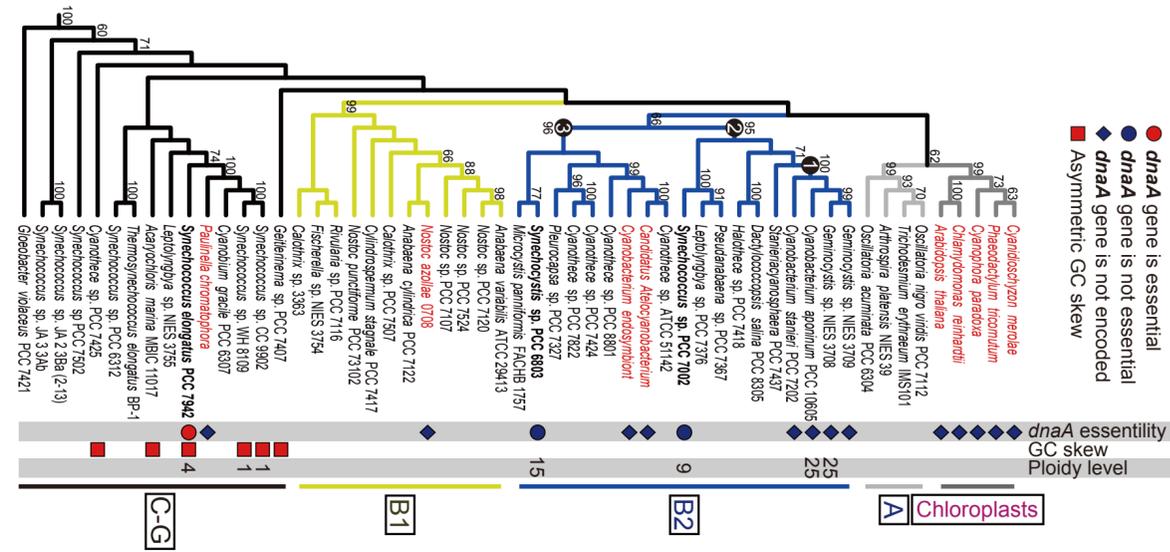
- 大腸菌、枯草菌など多くのモデル生物は1細胞あたり一つのゲノムを持つ1倍体
- 観察されているほぼすべての共生、寄生細菌は多倍数体（10コピーから100コピー以上）
- 葉緑体、ミトコンドリアも複数コピーのゲノム

1.そもそもなぜ倍数化するのか？
2.ゲノム倍数化の生物学的意義は？

大林の研究

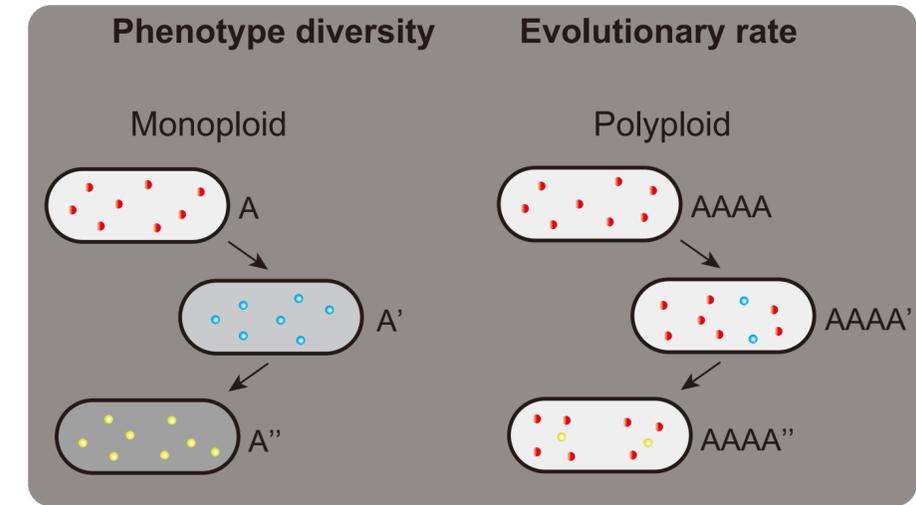
ゲノム複製機構の進化

シアノバクテリアから葉緑体へ

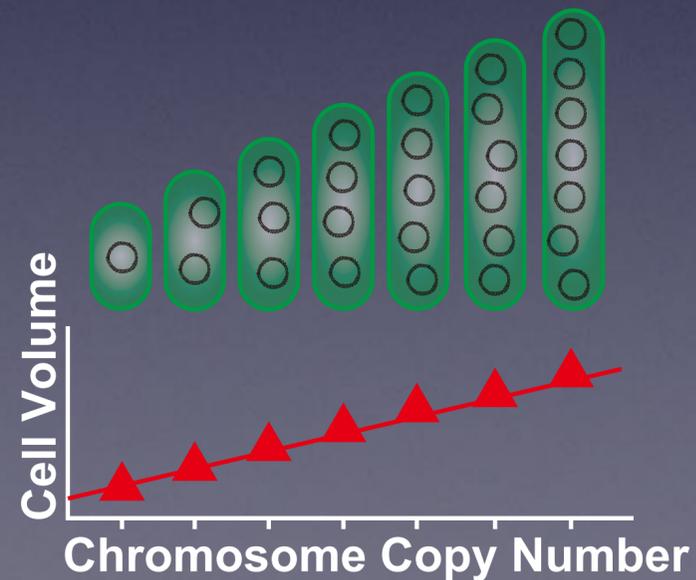


ゲノム多倍数体の遺伝様式と進化可能性

理論と実験室進化実験

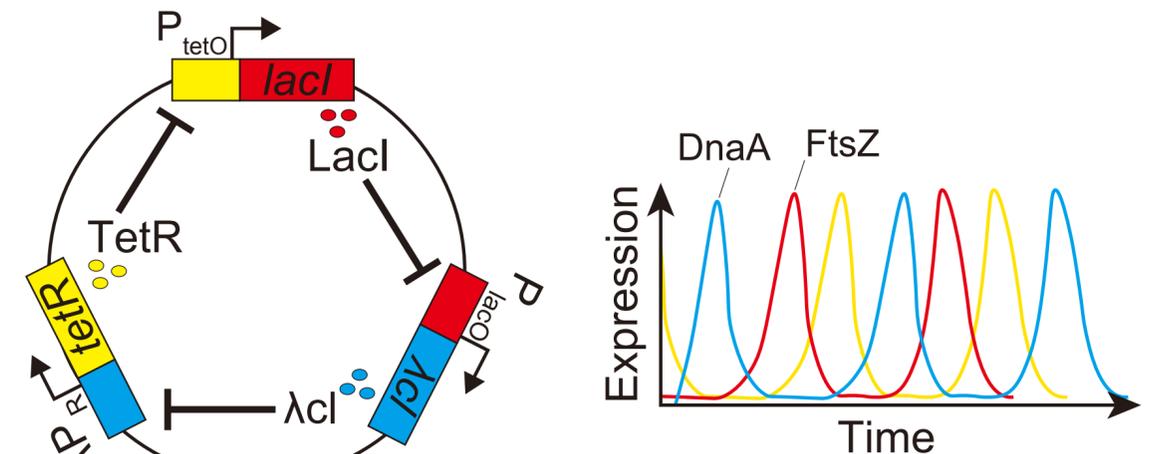


協調的な細胞増殖制御機構とその普遍性

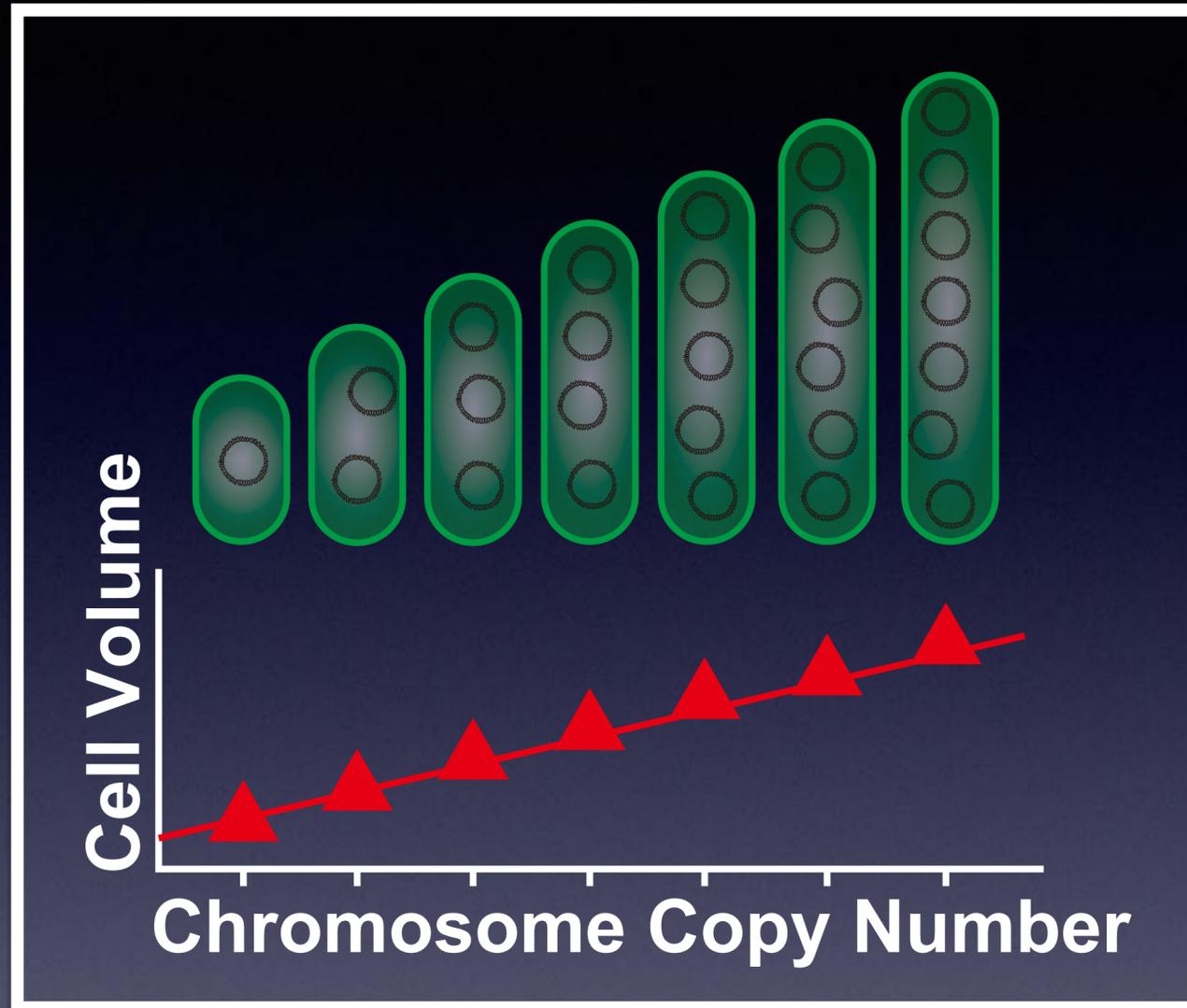


人工遺伝子回路による増殖機構の再構成

構成的理解と応用を目指して



複数コピーゲノムをどうやって維持しているのか？



- 倍数性のバクテリアは細胞の大きさとゲノムの数には正の相関がある
- 小さい細胞はゲノム数が少なく、大きい細胞は多くのゲノムを持つ
- これは制御されているように見える

<Cyanobacteria>

Jain IH, et al., PNAS. (2012)

Chen AH, et al., PLoS One. (2012)

Zheng X and O'Shea EK, Cell Rep. (2017)

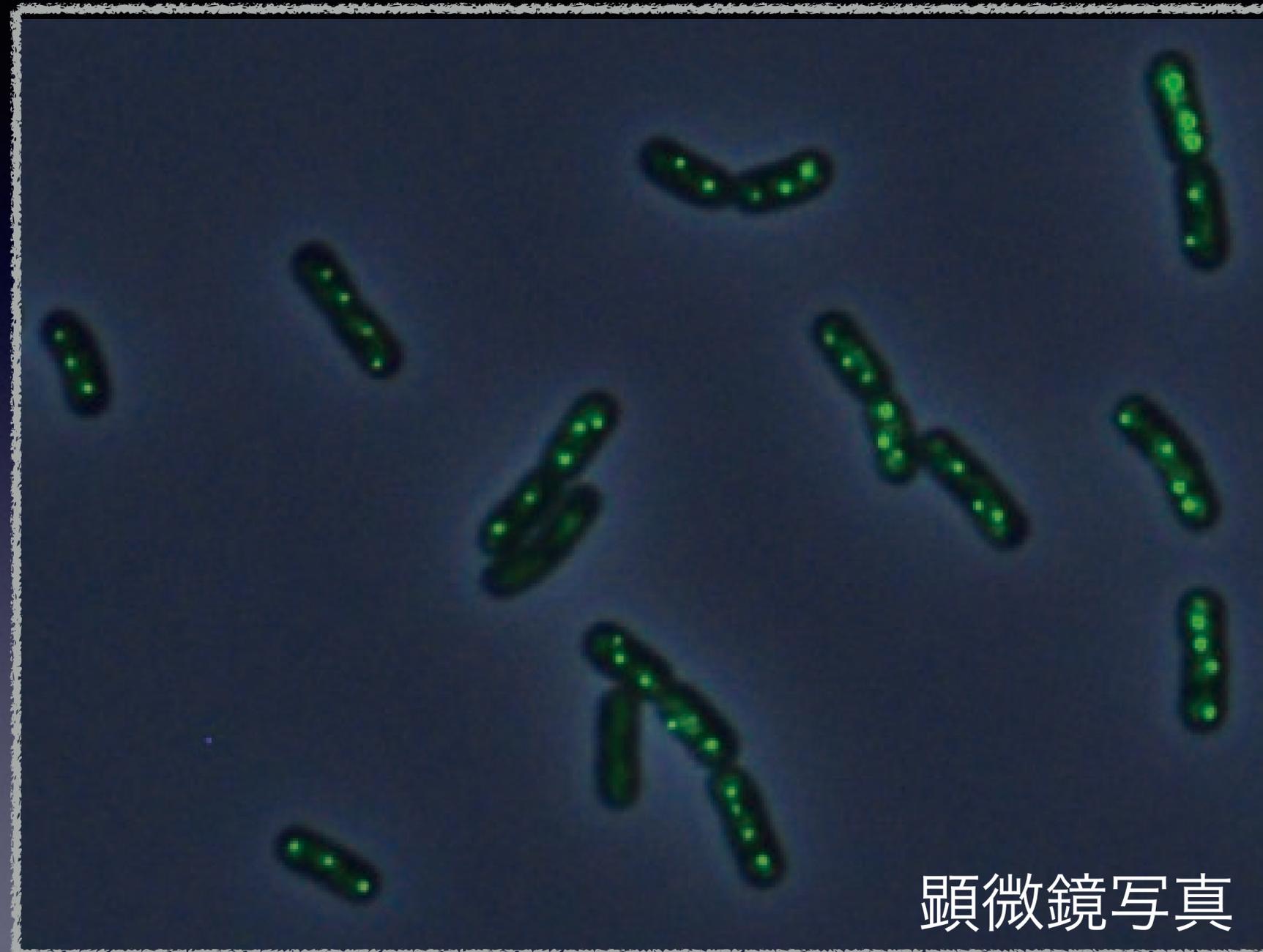
<Epulopiscium spp>

Mendell JE, et al., PNAS. (2008)

<Archaea>

Breuert S, et al., PLoS One. (2006)

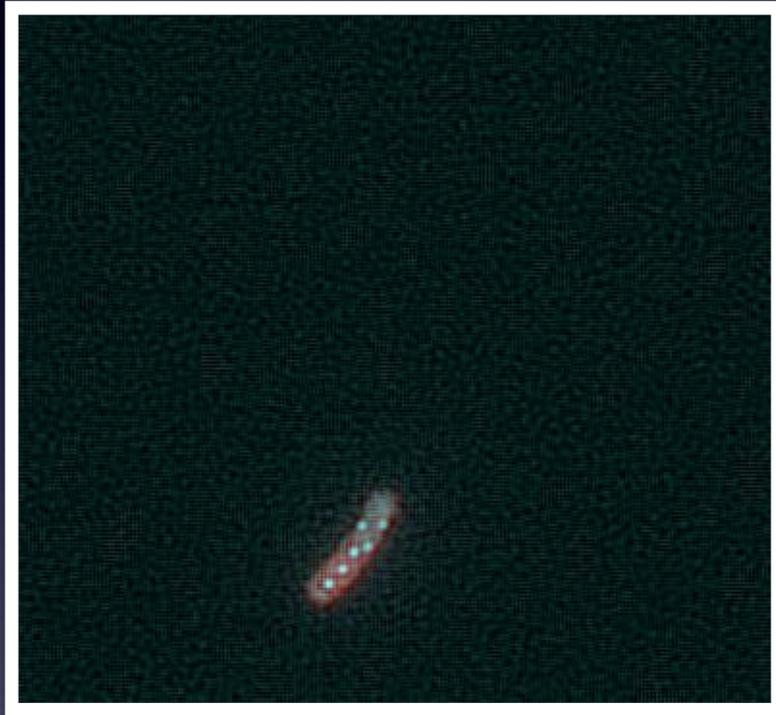
複数コピーゲノムを可視化する



顕微鏡写真

どうやって増やしているのか？

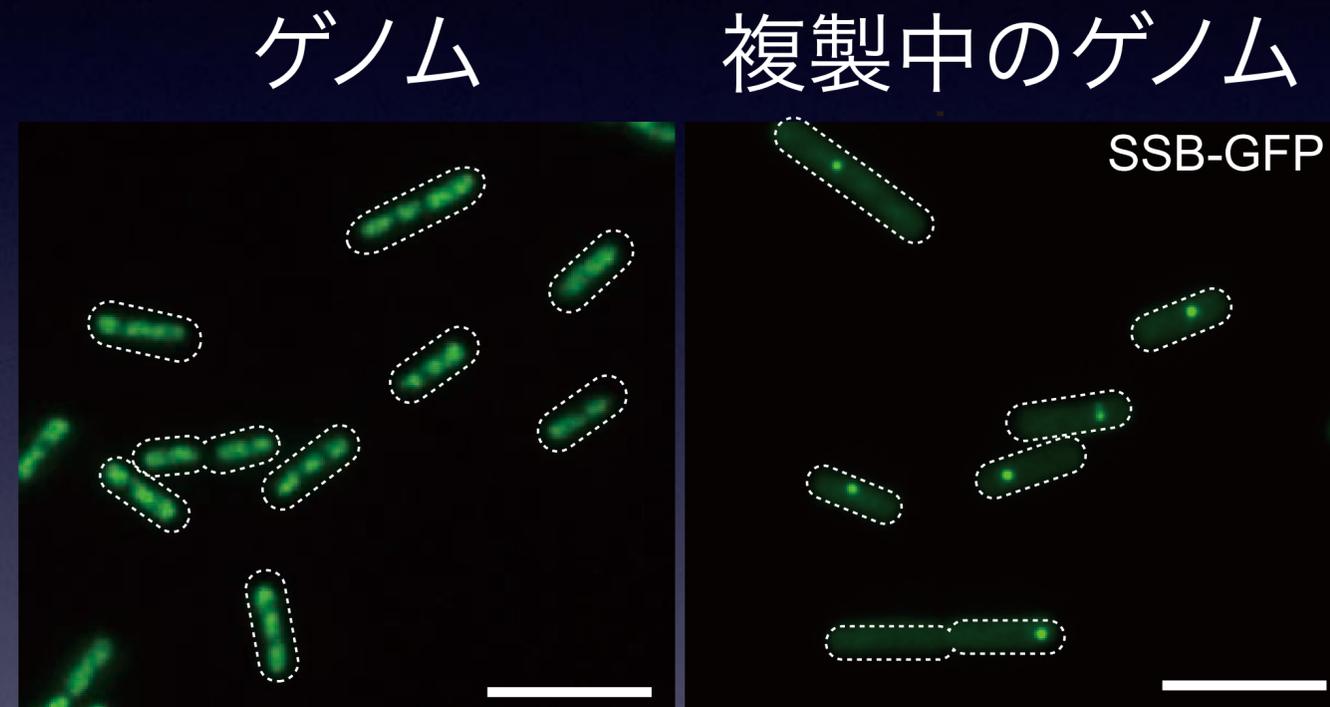
ゲノムはひとつずつ複製される



NSI::lacO seq (120 repeats)
NSII::LacI-mNG

ゲノムはひとつずつ複製される

複製しているゲノムを観察

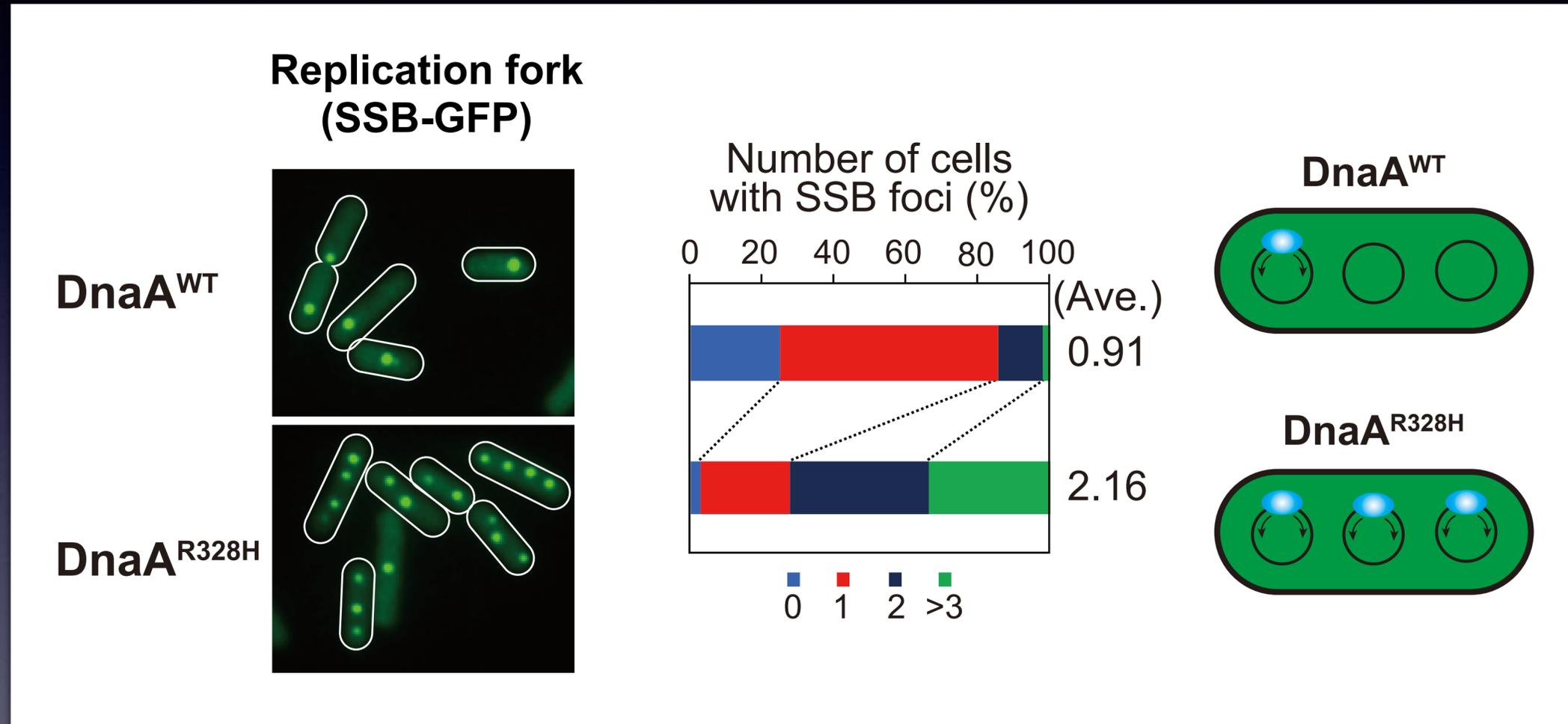


Watanabe, *et al.*, *Mol. Microbiol* (2012)
Jain IH *et al.*, *PNAS*. (2012)
Chen AH *et al.*, *PLos One*. (2012)
Ohbayashi *et al.*, *ISME J* (2016)

Q. 複製されるゲノムの数は制御されているのか？

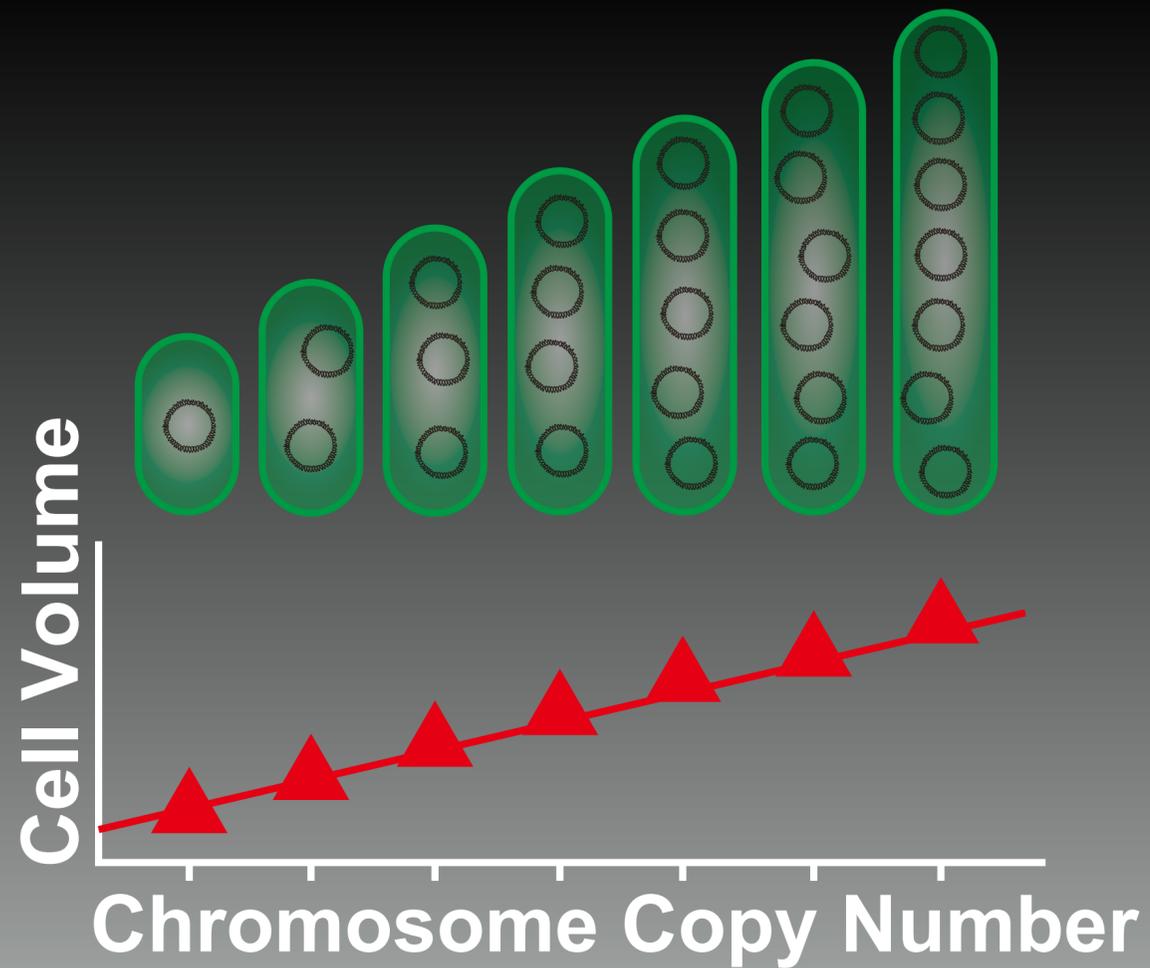
複製するゲノム数は厳密に制御されている

DnaA : 複製開始因子



複数コピーゲノムをどうやって維持しているのか？

細胞サイズとゲノム数の正の相関



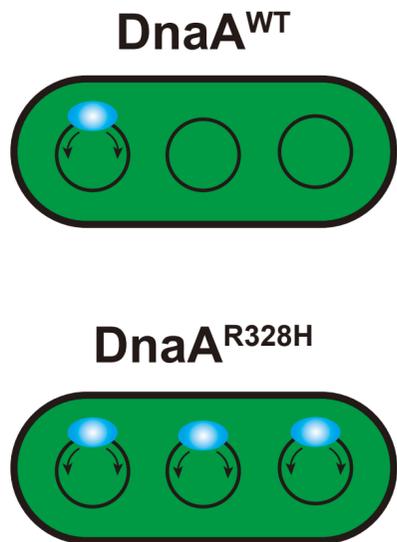
考えられる可能性

- ① ゲノムが増えるから、細胞が大きくなるのか？
- ② 細胞が大きくなるからゲノムが増えるのか？

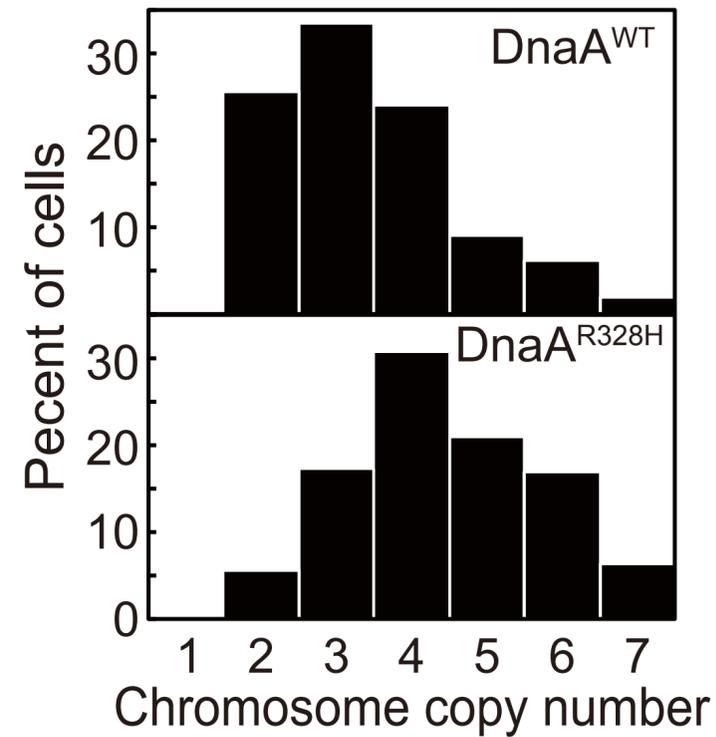
ゲノムの数が増えれば、細胞は大きくなるのか？

人為的にゲノムの数を増やす

複製するゲノム数

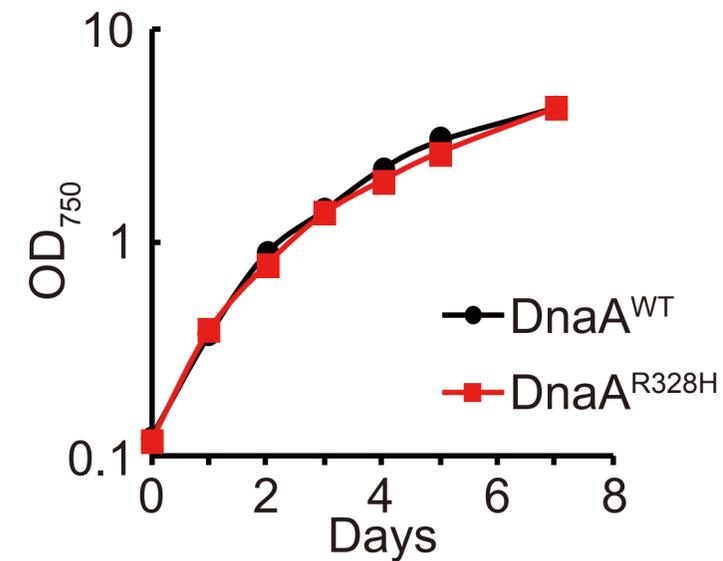


1細胞あたりのゲノム数

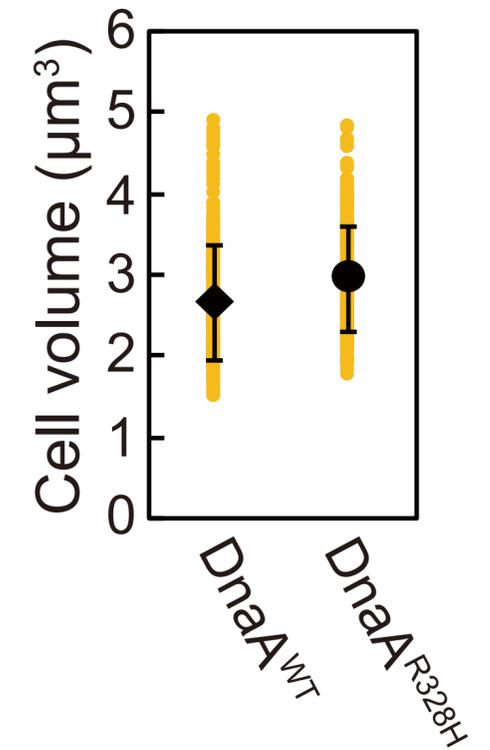


成長速度や細胞サイズは変わらない

生育速度

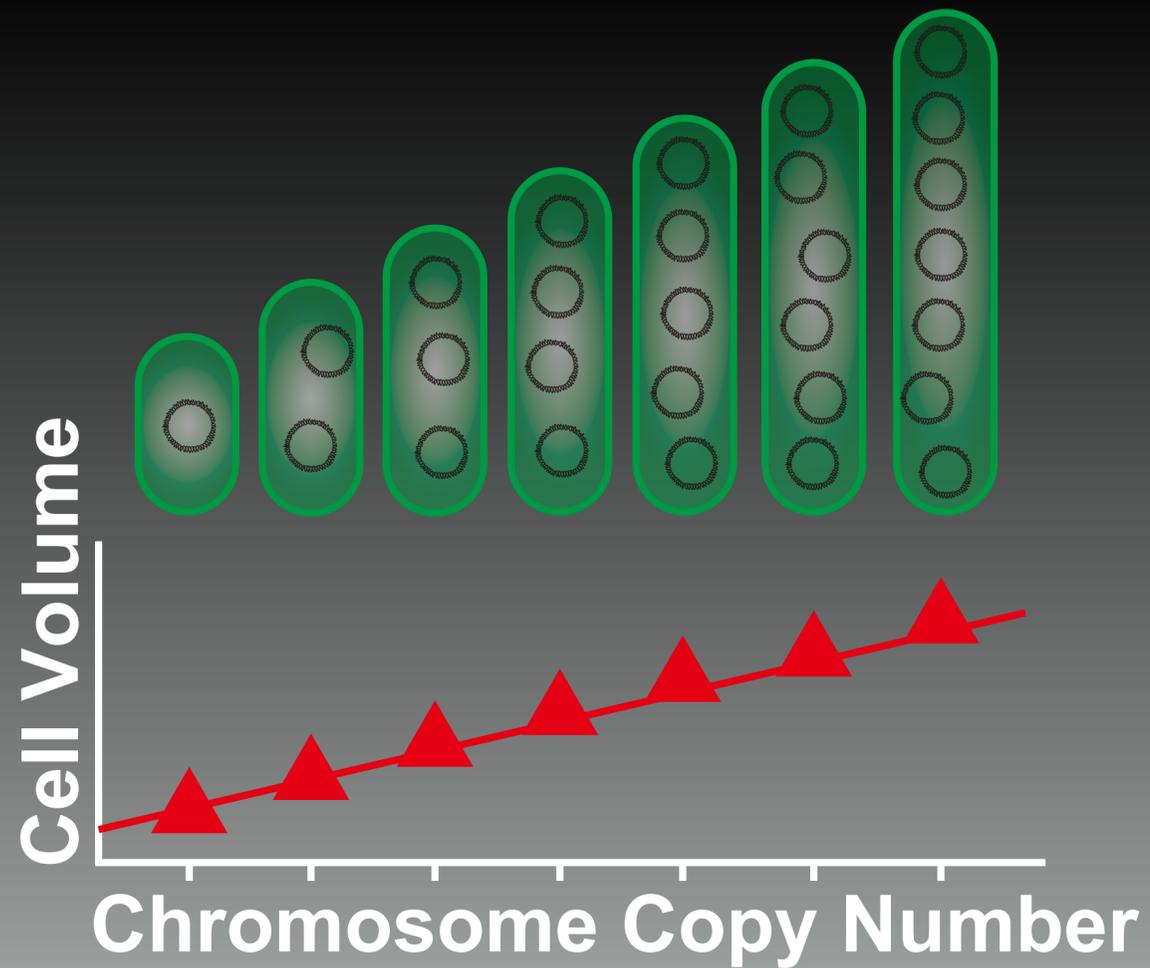


細胞サイズ



複数コピーゲノムをどうやって維持しているのか？

細胞サイズとゲノム数の正の相関



考えられる可能性

- ① ゲノムが増えるから、細胞が大きくなるのか？
- ② 細胞が大きくなるからゲノムが増えるのか？

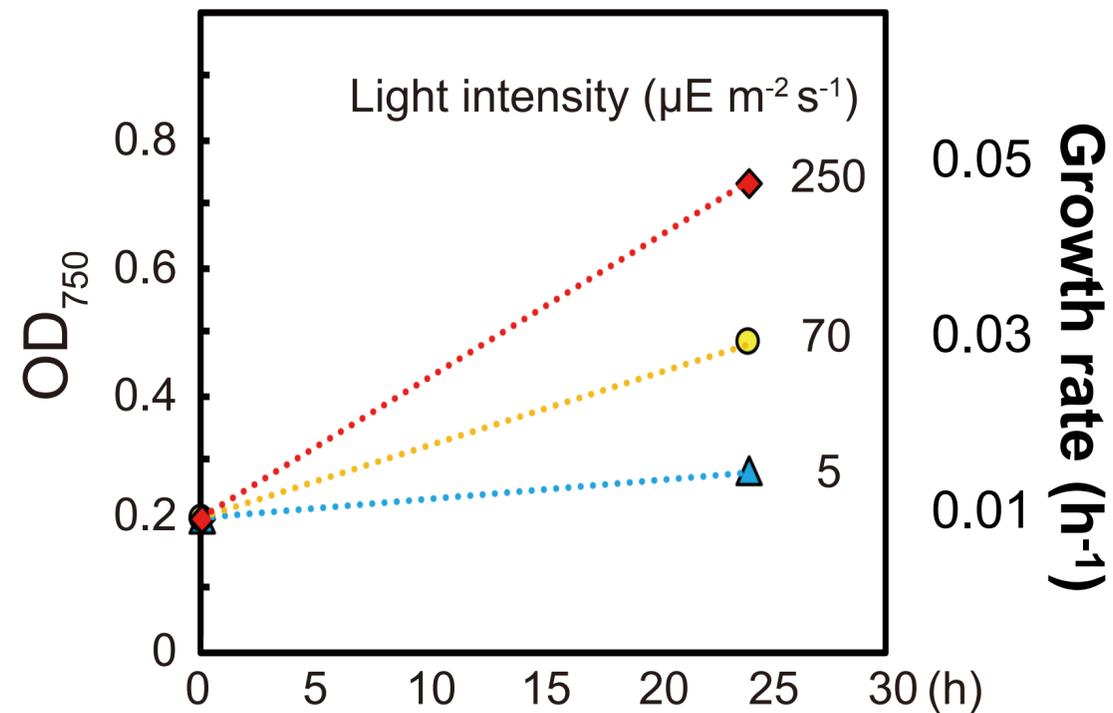
細胞が大きくなるから、ゲノムが増えるのか？

細胞が早く大きくなる

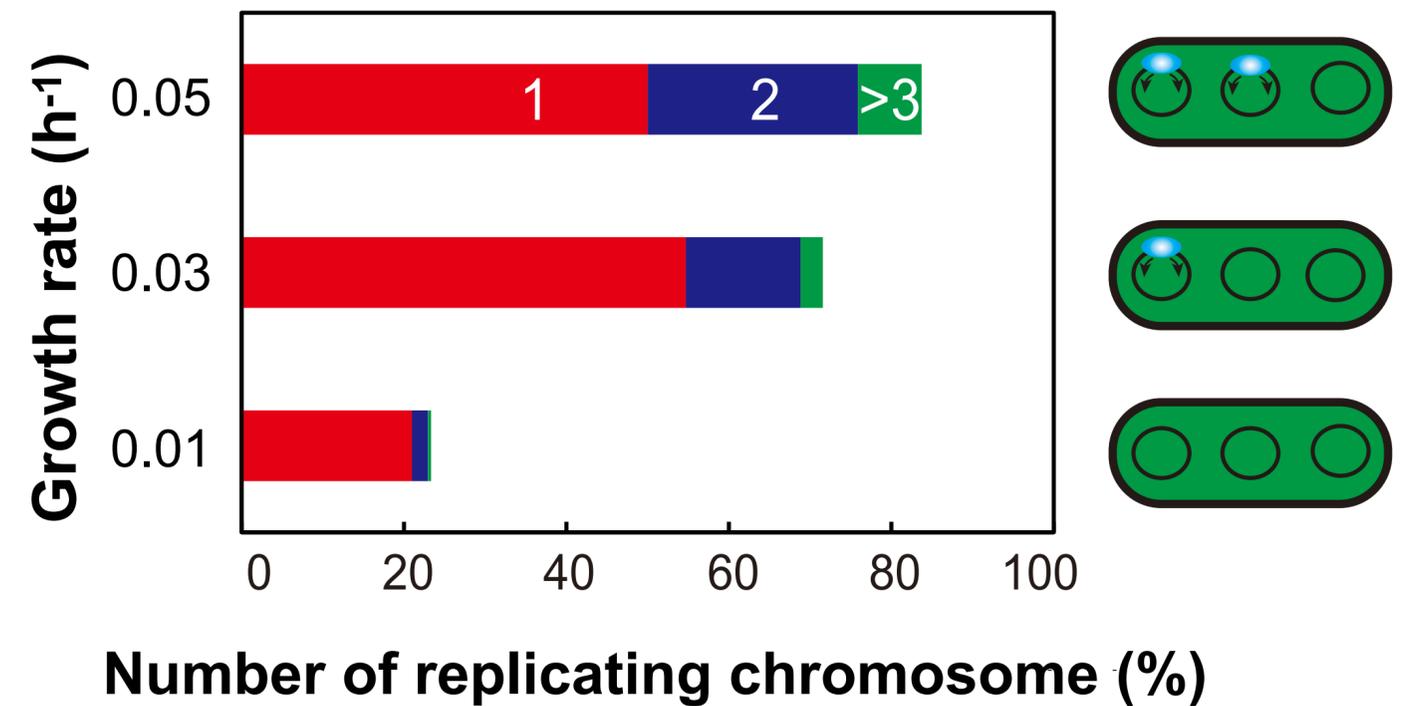


複製しているゲノム数は増える

成長速度

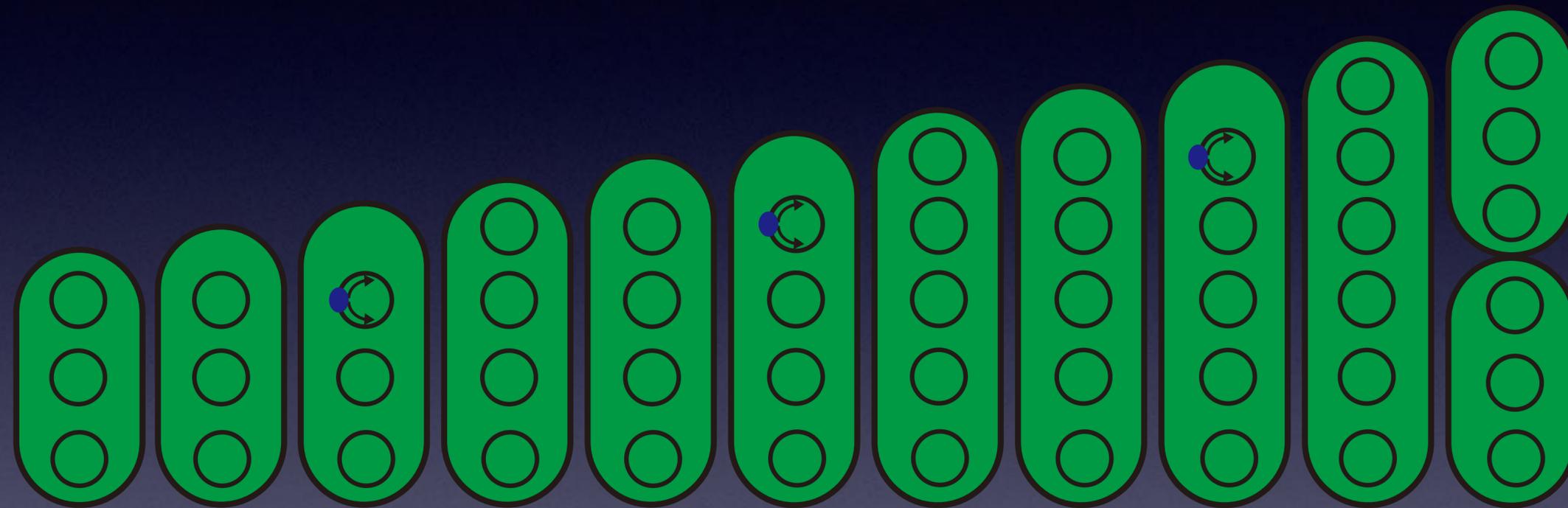


複製しているゲノム数

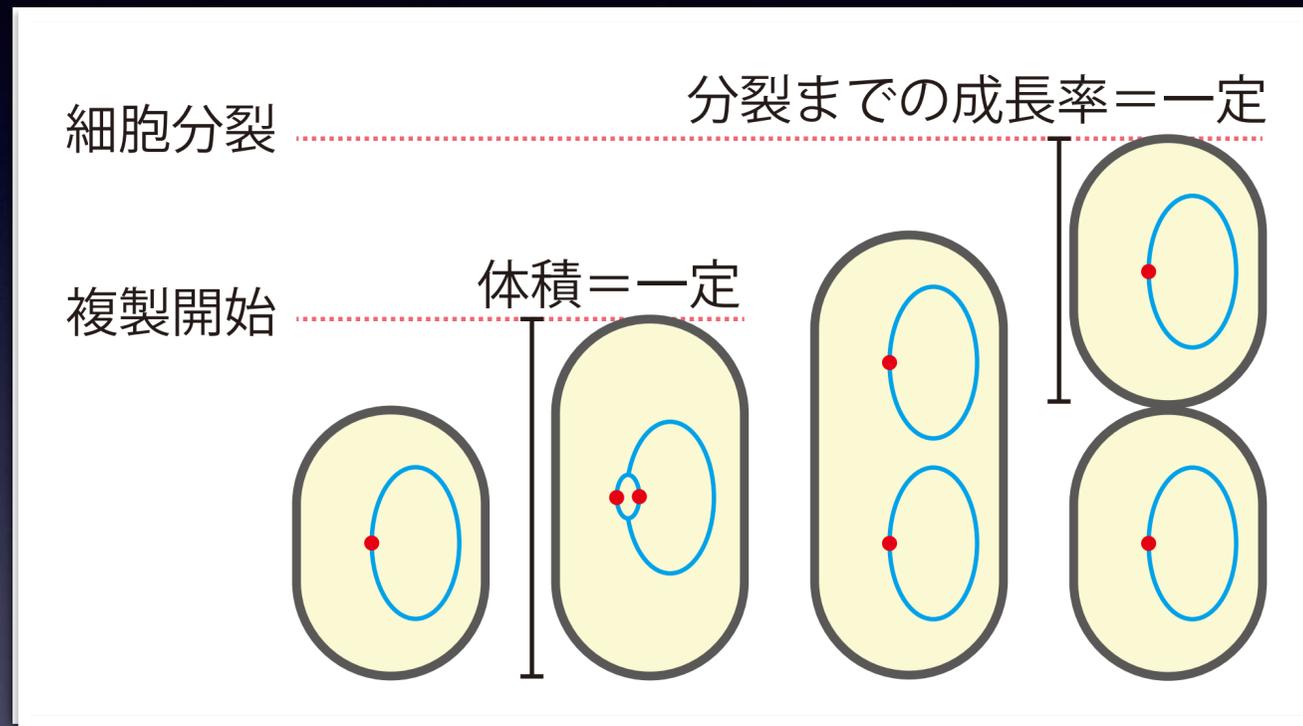


どのようにゲノムコピー数/細胞体積を維持しているのか？

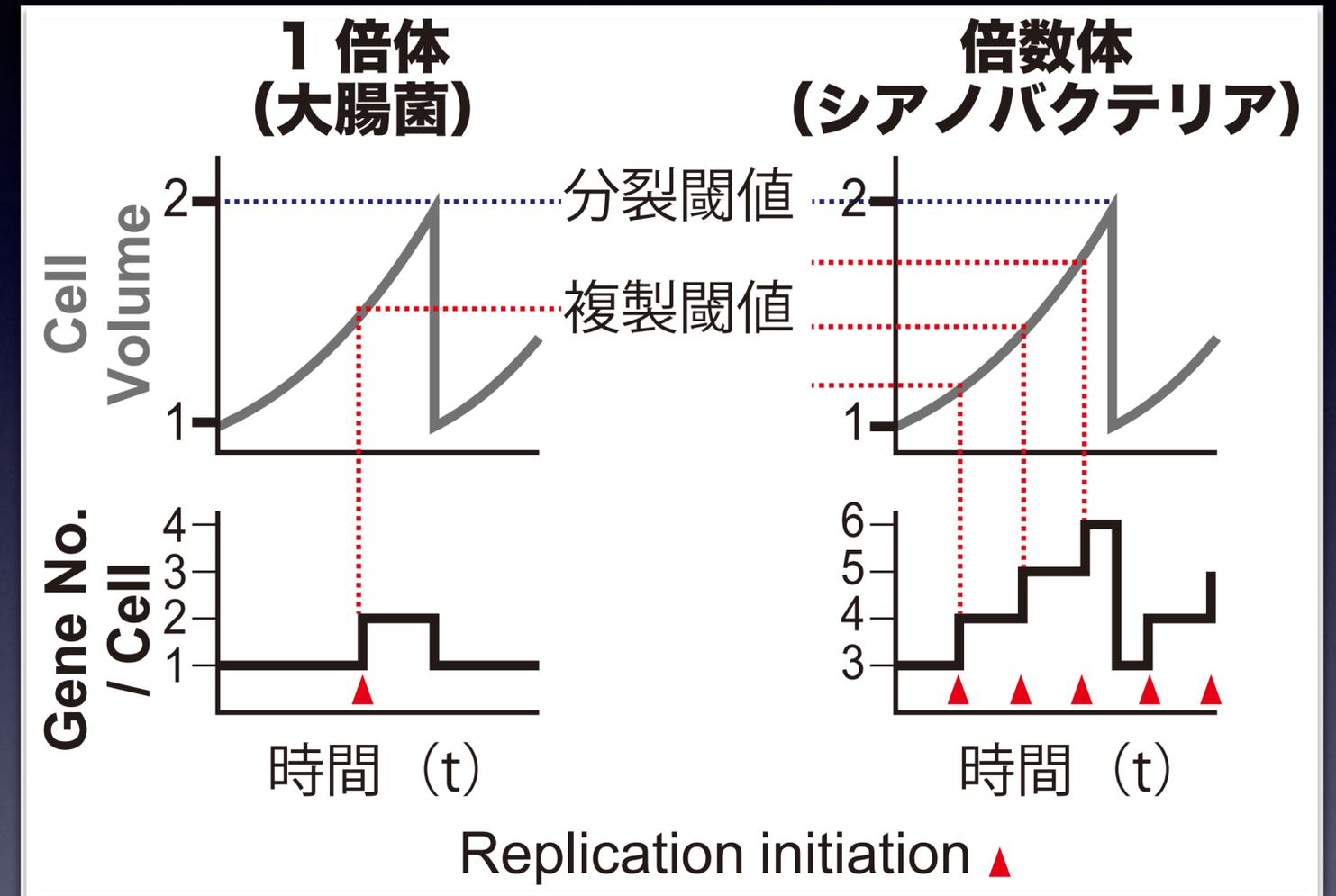
成長した分だけゲノムを補充するようなイメージ



増殖ルールの普遍性と、なぜ多倍数化するのかを考える

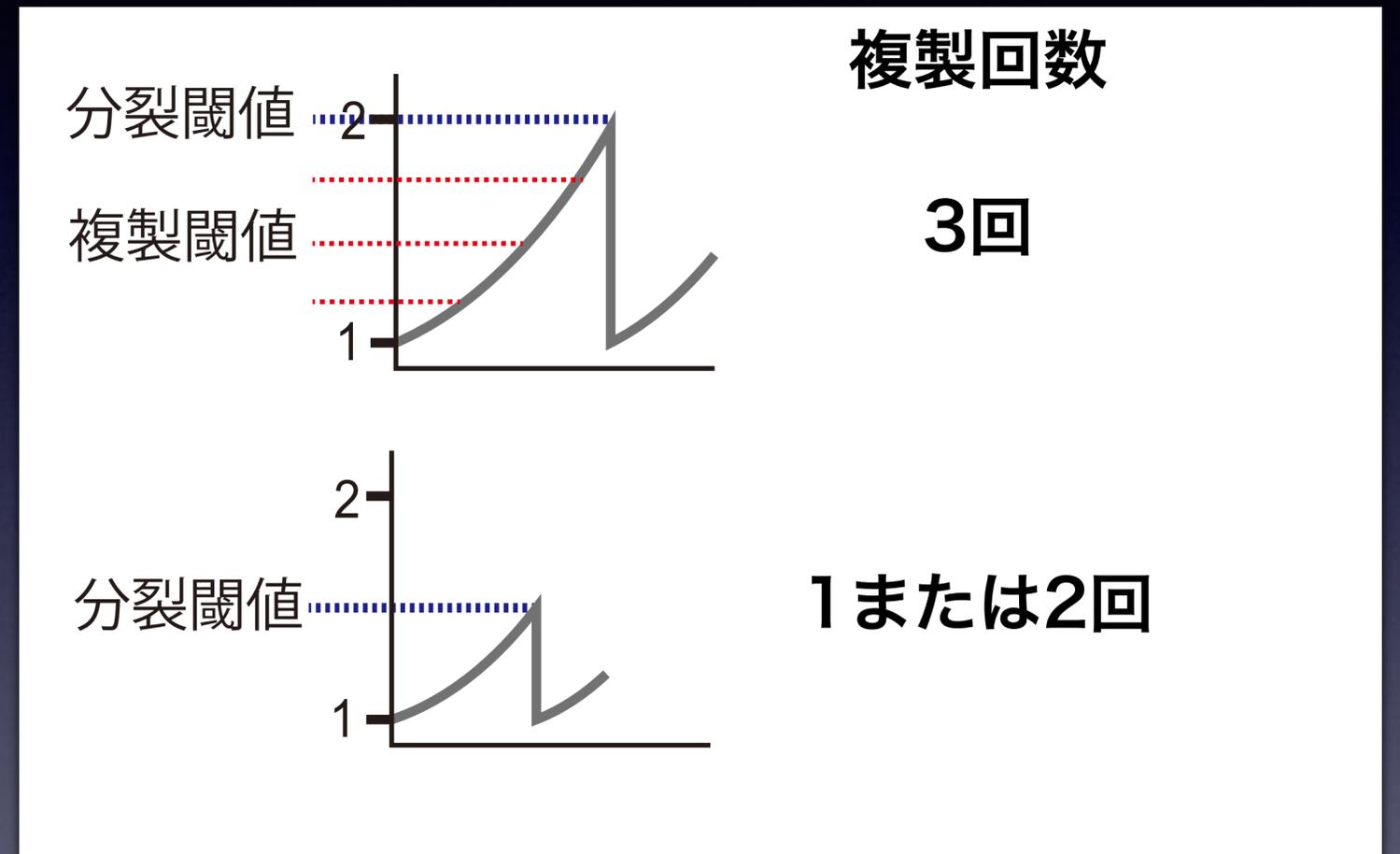
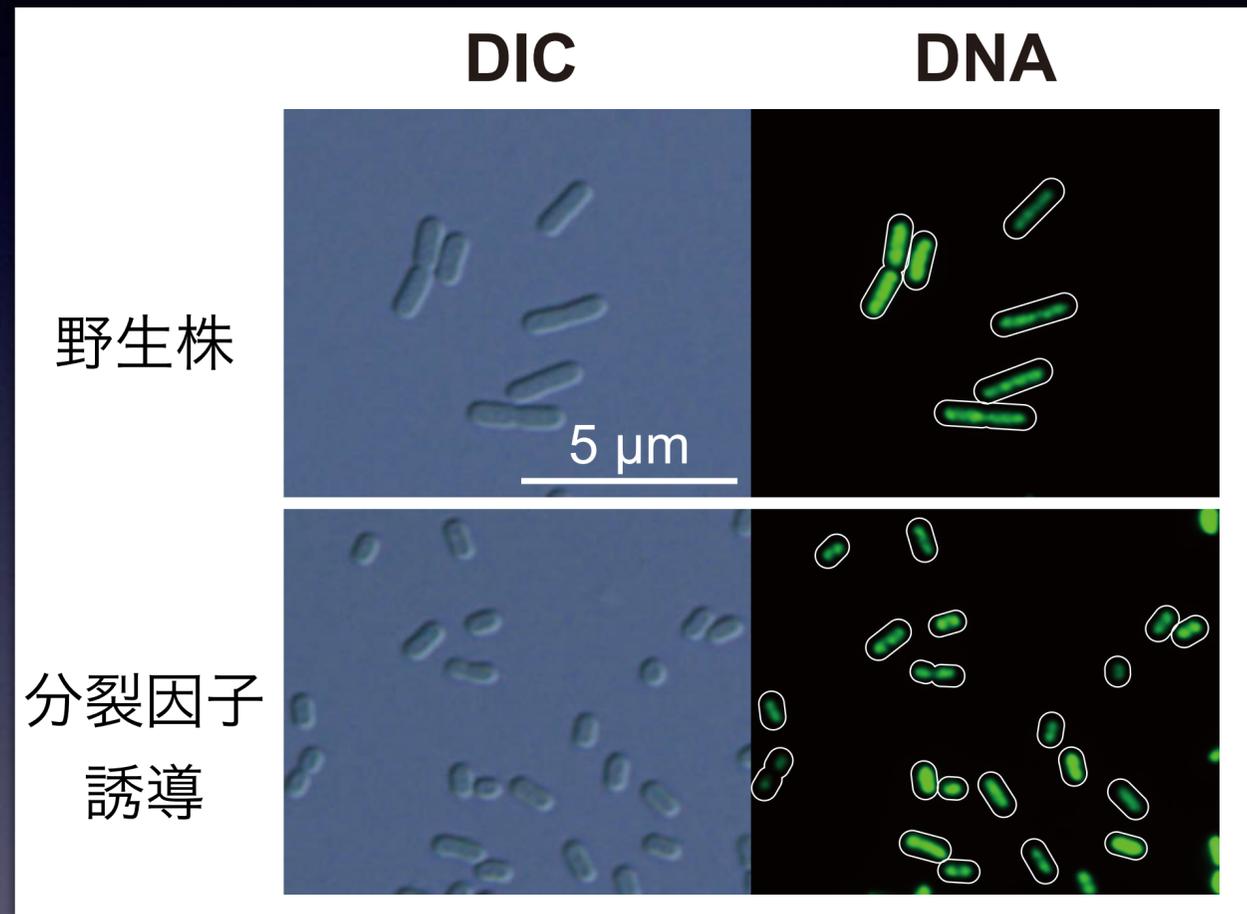


Campos et al., Cell (2014)
Walled et al., Cell (2016)
Si et al., Curr. Biol. (2017)



人為的に細胞を制御する

細胞分裂の閾値を下げる（分裂タイミングを速くする）



増殖ルールを理解した、その先には・・・

生命をデザインする

例えば、人為的に細胞の増殖を制御できれば

→バクテリアを必要な時だけ増やし、
必要な時にだけ有用物質を作らせることができる