

## 原核生物と真核生物の中間の細胞構造をもつ生物の発見

### The Discovery of an Organism with a Cellular Structure Intermediate between Those of Prokaryotes and Eukaryotes

山口 正視  
Masashi Yamaguchi

千葉大学・真菌医学研究センター

**要 旨** 地球上には原核生物と真核生物の2つの種類の生物しか存在していない。両者の細胞構造の違いはあまりにも大きく、どのようにして真核生物が生じたかは、生物学上、最大のなぞの1つとされてきた。我々は伊豆諸島の深海から、電子顕微鏡を用いて、原核生物と真核生物の中間の細胞構造をもつ微生物を発見し、パラカリオン・ミョウジネンシスと命名した（一般名は「准核生物」）。この生物の存在は「共生説」を支持すると考えられる。

キーワード：原核生物，真核生物，准核生物，共生説，深海

#### 1. はじめに

地球上には、原核生物と真核生物の2つの種類の生物しか存在していない。原核生物は、バクテリア（細菌）とアーキアを含み、原核細胞でできている。真核生物は、動物、植物、および真菌などを含み、真核細胞からできている。原核細胞は、通常、大きさは数マイクロメートルで、細胞壁、原形質膜、リボソーム、および線維状の核様体（DNA）からなる単純な構造をもつ。これに対して真核細胞は、大きさは原核細胞の約1万倍で、二重膜で囲まれた核をもち、粗面小胞体、滑面小胞体、ゴルジ体、ペルオキシソーム、ライソソーム、エンドソーム、液胞などの複雑な膜系、中心小体、微小管、微小線維などの細胞骨格系からなる。さらに、真核細胞は、独自のDNAをもつミトコンドリアと葉緑体の一方または両方をもつ（図1）。

真核生物は原核生物が進化して誕生したと考えられているが、上述したように、真核細胞と原核細胞の構造の違いは、あまりにも大きく、真核生物がどのようにして原核生物から進化したかは、生物学上、最大のなぞの1つとされてきた。

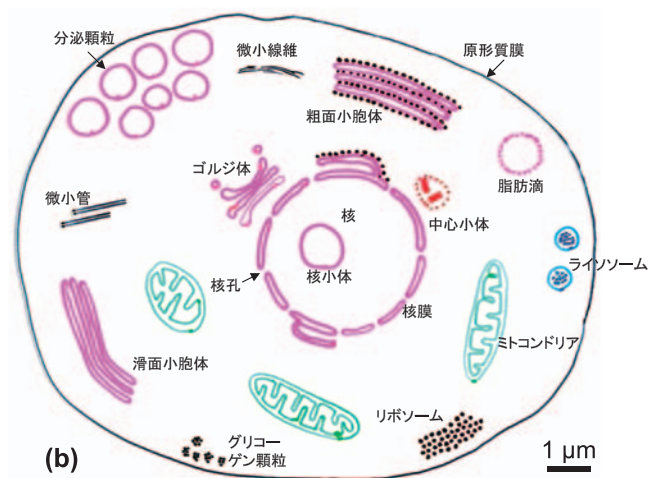
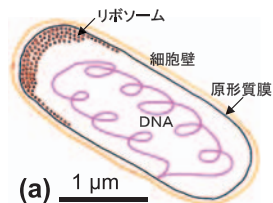


図1 原核細胞（大腸菌，a）と真核細胞（ラットすい臓，b）の模式図。

真核生物の起源に関して、現在、主に2つの仮説が提出されている。1つは、アメリカの女性科学者マーギュリスが1970年に提唱した「共生説」で、大きな原核生物が好気的な細菌を捕食し、これが何らかの理由で消化されずに長期間共生関係となって真核生物が誕生したというものである<sup>1)</sup>。もう1つは、「膜進化説」と呼ばれるもので、原核細胞内の膜系が長い年月の間に少しずつ複雑化していき、核やミトコンドリアにまで進化したというものである<sup>2,3)</sup>。この他にも、さまざまな仮説が提唱されており、現在も活発な議論がなされている。

真核生物の起源を明らかにする方法の1つは、原核生物と真核生物の中間の生物体を見つけ出し、その生物の細胞構造、遺伝子DNAの塩基配列、構成する分子種などについて、詳しく解析することである。これまで、そのような生物は発見されていなかった。われわれは、そのような生物が棲息する可能性のある場所として、「深海」に着目した。深海に生息するシーラカンスは、古生代のデボン紀から現在まで、その姿をほとんど変えずに生存し続けている。1メートル以上もある生物が4億年もの間、姿を変えずに生き続けることができたという深海は、淘汰の圧力の非常に小さい安定した「極限環境の一つ」と考えられ、20億年や30億年前の原始的な微生物が生き残っている可能性が極めて高いと考えられる。

#### 2. 准核生物の発見

2010年に、海洋研究開発機構の研究船「なつしま」に乗船し、八丈島の南の明神海丘で、水深1,200メートルの海底

〒260-8673 千葉市中央区亥の亥鼻1-8-1  
E-mail: yama@faculty.chiba-u.jp  
2013年4月9日受付

から試料を採取した<sup>4)</sup>。試料は船上でグルタルアルデヒド固定した後、研究室に持ち帰り、再細切して、急速凍結置換固定するという新しい方法<sup>5)</sup>で観察を行った。全部で420個の試料ブロックをつくり、すべてのブロックについて連続超薄切片を作製し<sup>6)</sup>、1つずつ毎日観察を続けた。観察を始めて1年経ったころ、蛍光板上に、数マイクロメートルの大きさのカビのような生物を発見した(図2)<sup>4)</sup>。

この生物は、しかし、真核生物にあるはずの二重膜に囲まれた「真核」はなく、また全切片を探してもミトコンドリアもなかった。かわりにあったのは、細菌とよく似た「共生体」で、拡大するとリボソームと線維状構造からなる。しかし細胞壁は欠失していた(図3a, b)。宿主の細胞質は、「核様体」

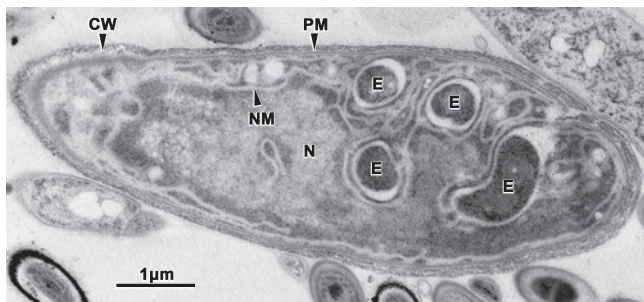


図2 パラカリオン・ミョウジネンシスの超薄切片像。大きな不定形の核様体(N)、一重の核様体膜(NM)、共生体(E)をもつこと、ミトコンドリアをもたないことに注意。CW, 細胞壁。PM, 原形質膜。

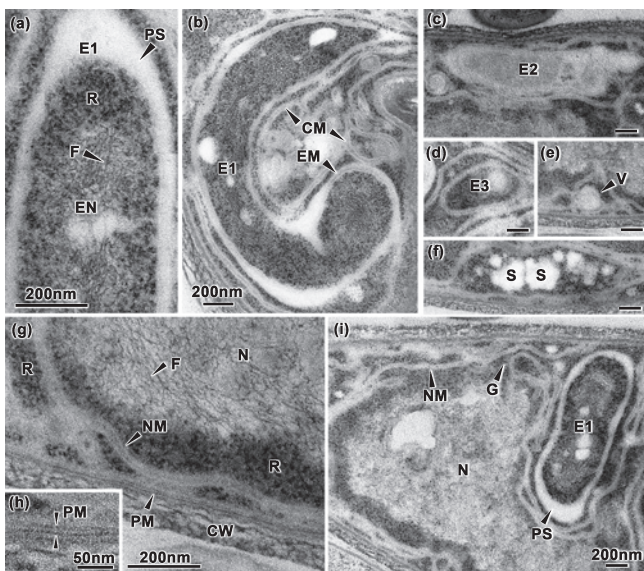


図3 パラカリオン・ミョウジネンシスの細胞成分の拡大像。(a)と(b)最大の共生体(E1)で、リボソーム(R)、線維状(F)の核様体(EN)、膜(EM)をもつことに注意。PS, 宿主のファゴソームスペース。CM, 宿主の膜系。(c)2番目に大きい共生体(E2)。(d)最も小さい共生体(E3)。(e)液胞(V)。(f)貯蔵物質と思われる構造体(S)。(g)宿主の核領域。核様体(N)は、リボソーム(R)と線維状構造(F)からなり、核様体膜(NM)で囲まれている。(h)原形質膜(PM)。(i)核様体膜(NM)には切れ目(G)がある。

が大きな体積を占め(図2)、リボソームと線維状構造からなり、一重の膜で囲まれていることがわかった(図3g, i)。この「核様体膜」は、完全に閉じた膜ではなく、核様体はとところどころで細胞質につながっている(図3i)。全67枚の連続切片から、この生物をコンピュータ上で三次元再構築を試みると(図4)、図2で4匹いるように見えた共生体は、実は、長いラセン状をしている1匹の共生体の断面だったこと、共生体は、全部で3匹存在すること(図4d)、ストラクトーム解析から(ストラクトームとは、「電子顕微鏡レベルにおける細胞の定量的、三次元的全構造情報」のことである<sup>7,8)</sup>、核様体は細胞の体積の40パーセント以上を占めること(図4b)、細胞内膜系が発達していて、原形質膜の1.7倍の面積をもつこと(図4c)、液胞(図4e)や貯蔵物質と思われる構造(図4f)をもつことなどが明らかになった。この生物の特徴を表1に示す。

このように、この生物は、原核生物にも真核生物にもあてはまらない特徴を持っており、両者の中間に位置する生物である可能性があることから、発見地の名前にちなんで、われわれは、この生物をパラカリオン・ミョウジネンシス(*Parakaryon myojinensis*)と命名した。また、一般名を「准核生物(parakaryote)」と呼ぶことにした<sup>4)</sup>。

これまで、細菌がより大きな細菌内に入り込んで溶菌する例が、いくつか報告されている<sup>9,10)</sup>。これらの例では、攻撃する側の細菌は、細胞構造がしっかりしていて、攻撃される側の細菌の細胞構造は壊れているのが特徴である。パラカリオン・ミョウジネンシスでは、宿主も、中に入り込んでいる共生体も細胞構造がしっかりしていて、どちらかがどちらかを溶菌しているようには見えない。また、パラカリオン・ミョウジネンシスは、細胞壁を持っているので、細菌様共生体をつい最近取り込んだとは考えにくい。また、共生体は、細胞壁を失っているので、この点からも、共生体がつい最近入り込んだとは考えにくい。宿主がまだ細胞壁を持っていないか

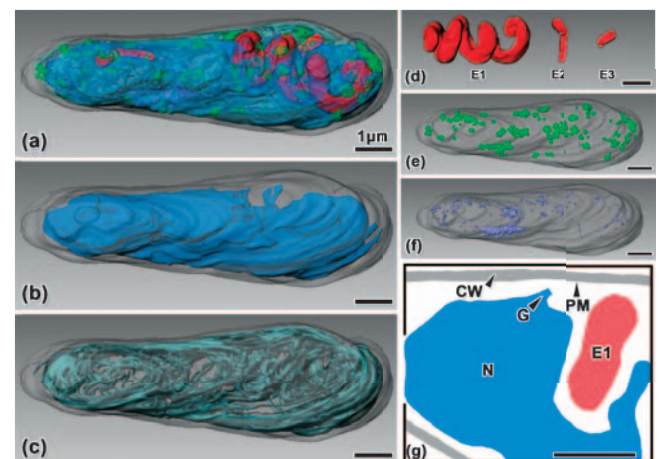


図4 パラカリオン・ミョウジネンシスの三次元再構築像。(a)全体像。(b)核様体。(c)宿主の膜系。(d)共生体。(e)液胞の分布。(f)貯蔵物質と思われる成分の分布。(g)図3(i)のトレース像。

表1 パラカリオン・ミョウジネンシスの特徴

1	細胞のサイズ	通常の原核生物よりはるかに大きく、長さが10マイクロメートルで、体積は大腸菌(原核生物)の100倍、酵母(下等な真核生物)の3倍。
2	核様体	大きく不定形で、細胞の体積の40パーセントを占める。原核生物型のDNA線維からなり、核小体はない。
3	核様体膜	一重膜からなり、完全には閉じていない。
4	内部共生体	構造は細菌に似ている。細胞壁はない。
5	他のオルガネラ	リボソーム、細胞壁、原形質膜、複雑な膜系、多くの液胞、および貯蔵物質と思われる成分からなる。ミトコンドリア、葉緑体、色素体、ゴルジ体、ペルオキシソーム、中心小体、紡錘極体、微小管はない。

たころに、細胞壁をもった細菌を取り込み、長い共生関係を続けているうちに、宿主は細胞壁を形成し、共生体は細胞壁を失ったと考えることはできないだろうか。この仮定が正しいとすると、この生物は、正に、マーギュリスが考えた真核生物の起源を示していると言えるかも知れない。

### 3. 今後の課題

現在、パラカリオン・ミョウジネンシスは1個体しか見つかっていない。この生物が、本当に、原核生物と真核生物の中間に位置する生物であるかどうかは、さらに多くの個体を発見し、リボソームDNAの塩基配列の決定、構成する分子種の解析など、多くのデータを集めることが必須である。パラカリオン・ミョウジネンシスは、ゴカイの仲間であるウロコムシの脚に付着していた。したがって、明神海丘の海底に棲むウロコムシを採集して、その脚を丹念に調べれば、必ず2個体目は発見できるはずである。実際、今年の3月に、明神海丘のウロコムシを採集して、次の個体の探索を開始している。試料の一部は、生きたまま-80°Cに、またはエタノール固定して保存しているので、まずは、リボソームDNAの塩基配列を決定したい。問題は、決定した塩基配列が、本当にパラカリオン・ミョウジネンシスのものであることを証明する必要があることであるが、これは、塩基配列をプローブにして、電子顕微鏡レベルでのインサイチューハイブリダイゼーションを適用することで解決したいと考えている。もちろん、パラカリオン・ミョウジネンシスを人工的に培養できるようになれば、一気に研究が進むであろう。この生物の培養にもチャレンジしたい。

### 4. 深海の微生物研究

われわれは、生命は、連続した存在であると考えている<sup>11)</sup>。38億年前に、最初の生命体が地球上に誕生してから、生物は、実にさまざまな試みをしてきたに違いない。現在、地

球上に生き残っている生物は、いろいろな試みをした結果、環境に最も適応できたものなのであろう。深海は、温度が低く(1~2°C)、また栄養が極端に乏しいために、個体の増殖速度は、非常に遅く、微生物のあるものの世代時間は、数千年であろうという論文もある<sup>12)</sup>。

このように考えると、今回発見した准核生物の他にも、原核生物と准核生物の間の生物、准核生物と真核生物の間の生物、地上の生物には見られない形態や構造をもった生物など、地上では、生存競争に負けて、絶滅してしまったけれども、深海では、進化途上の生物が、「生きている化石」として今も生き延びている可能性がある。現在、深海微生物の研究は、深海試料をさまざまな培地に培養して、生えてきた微生物について、微細形態やDNAや生化学的性質を研究している例が多い。しかし、微生物の99パーセントは培養が困難である<sup>13)</sup>ということを見ると、このような方法では、ほとんどの微生物を見逃しているということになるであろう。われわれは、そうではなく、深海に生存している「すべての」微生物を、電子顕微鏡を用いて片っ端から探索していくという方法をとった。この方法は、非常に時間のかかる忍耐のいるやり方ではあるが、存在する微生物の形態や様子を確実に捕らえることができると考える。

現在、地球外に生命は存在するかという研究にも、多くの関心が集まっている。火星のキュリオシティからは、鮮明な画像が送られてくるし、岩石の分析も可能らしい。生命が存在する衛星として、木星のエウロパや、土星のエンケラドスも注目されている<sup>14)</sup>。このように最近活発になってきた宇宙の生命探査に比べて、深海の微生物研究は、まだまだやる事が多く、その意味で遅れていると言わざるを得ない。深海は、地球の表面の70パーセントを占める広大な未知の領域である。しかし、ここにどんな微生物が棲息しているかについては、ほとんど研究がなされていないのである。生存競争に負け、地上には存在しないさまざまな「古代の微生物」が、何億年もの間、深海で生きていたとしたら、「生命とは何か」という根源的な疑問に答えうる生物が、そこに待っているかも知れない。深海は、生命と進化のなぞを解く「巨大な生きた博物館」とも言える<sup>11)</sup>。

### 5. おわりに

真菌医学研究センターにいる私が、深海微生物の研究を始めたのは、2008年にNPO法人「総合画像研究支援」が主催したセミナーで、小塚芳道博士の講演をお聞きしたのがきっかけであった。小塚博士には、海洋研究開発機構の調査船に応募する方法や書類の書き方をご教示いただいただけでなく、一緒に研究船に乗船していただき、試料作りや電子顕微鏡写真撮影にも参加していただいた。小塚博士の存在なしには、本研究は不可能であり、ここに心から感謝したい。

最後に、本研究は、森 裕子氏、岡田 仁氏、植松勝之氏、多米晃裕氏、古河弘光氏、丸山 正博士、横山耕治博士、およびCedric Worman博士との共同研究であることを述べ、各

氏に感謝の意を表したい。また、研究船なつしま NT10-08 の乗組員と海洋研究開発機構の皆さまに感謝申し上げます。

#### 文 献

- 1) Margulis, L.: Origin of Eukaryotic Cells, Yale University Press, New Haven (1970)
- 2) Raff, R.A. and Mahler, H.R.: *Science*, **177**, 575–582 (1972)
- 3) 中村 運 : 蛋白質核酸酵素, **32**, 1019–1030 (1987)
- 4) Yamaguchi, M., Mori, Y., Kozuka, Y., Okada, H., Uematsu, K., Tame, A., Furukawa, H., Maruyama, T., Worman, C.O. and Yokoyama, K.: *J. Electron Microsc.*, **61**, 423–431 (2012)
- 5) Yamaguchi, M., Namiki, Y., Okada, H., Uematsu, K., Tame, A., Maruyama, T. and Kozuka, Y.: *J. Electron Microsc.*, **60**, 283–287 (2011)
- 6) Yamaguchi, M., Okada, H. and Namiki, Y.: *J. Electron Microsc.*, **58**, 261–266 (2009)
- 7) Yamaguchi, M., Namiki, Y., Okada, H., Mori, Y., Furukawa, H., Wang, J., Ohkusu, M. and Kawamoto, S.: *J. Electron Microsc.*, **60**, 337–351 (2011)
- 8) Yamaguchi, M.: *Current Trends Microbiol.*, **2**, 1–12 (2006)
- 9) Guerrero, R., Pedrós-Alió, C., Esteve, I., Mas, J., Chase, D. and Margulis, L.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 2138–2142 (1986)
- 10) Larkin, J.M., Henk, M.C. and Burton, S.D.: *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**, 357–361 (1990)
- 11) Yamaguchi, M. and Worman, C.: OUPblog, <http://blog.oup.com/2012/12/deep-sea-microorganism-origin-eukaryotes/> (2012)
- 12) Jørgensen, B.B. and Boetius, A.: *Nat. Rev. Microbiol.*, **5**, 770–781 (2007)
- 13) Pace, N.R.: *Science*, **276**, 734–740 (1997)
- 14) NHK サイエンス ZERO 取材班, 高井 研, JAMSTEC (編) : 深海で生命の起源を探る, NHK 出版, 東京, 109 (2011)