

古代タンパク質の復元に基づく全生物の最後の共通祖先の生育環境の復元 Estimation of the environmental condition at the early evolutionary periods by resurrection of ancient proteins

横堀 伸一^{1*}; 別所 瑞萌¹; 笹本 峻弘¹; 中島 慶樹¹; 赤沼 哲史¹; 山岸 明彦¹
YOKOBORI, Shin-ichi^{1*}; BESSHO, Mizumo¹; SASAMOTO, Takahiro¹; NAKAJIMA, Yoshiki¹;
AKANUMA, Satoshi¹; YAMAGISHI, Akihiko¹

¹ 東京薬科大学・生命科学部・応用生命科学科

¹Dept. Applied Life Sci., Sch. Life Sci., Tokyo Univ. Pharm. Life Sci.

地球上の生命の起源と進化を理解する上で、初期の生命の生育環境を明らかにすることは重要である。しかし、現生生物の祖先となる生物の生育環境を推測することは、地球上の生命の初期進化に関する地質記録は極めて限られており、容易ではない。

Woese 等 (1990, PNAS, 87: 4576-4579) が作製した 16S/18S rRNA に基づく系統樹によれば、現生生物は 3 つのドメイン、古細菌 Archaea、真正細菌 Bacteria、真核生物 Eukarya、に分かれ、共通祖先をもつ。異論はあるが、それぞれ単系統群である古細菌と真核生物は姉妹群であり、全生物の最後の共通祖先 (LUCA。我々は Commonote と呼んでいる) の位置は、真正細菌と古細菌+真核生物の間であると考えられる。全生物の共通祖先が存在したとすると、次の疑問はその共通祖先がどのような生物であったかである。「全生物の共通祖先は超好熱菌であった」とであるという仮説が Pace (1991, Cell, 65: 531-533) によって提案されたが、その解釈に対する反論も多かった。しかしながら、これらの議論のほとんどは、分子系統解析により全生物の共通祖先の核酸の G+C 含量やアミノ酸組成を推定し、そこから生育温度を推論したものであり、実験的に検証されたものではない (例えば Galtier et al. (1999, Science, 283:220-221)、Boussau et al. (2008, Nature, 456:942-945)、Groussin et al. (2013, Biol. Lett., 9: 20130608))。しかし、近年、分子系統解析による祖先蛋白質のアミノ酸配列の推定と、その配列をコードする祖先型遺伝子の実験的な復元が、過去の生物の性質を理解するために行われるようになって来た (例えば Gaucher et al. (2003, Nature, 425: 285-288))。

ヌクレオシド二リン酸キナーゼ (NDK) は、至適生育温度が異なる様々な微生物の NDK の変性温度が至適生育温度と強い相関を持つ。そのため、祖先配列の推定から復元した NDK の変性温度から、その NDK を持った過去の生物の生育温度環境を推定することができる。そこで我々は、古細菌共通祖先生物 (LACA) と真正細菌共通祖先生物 (LBCA) の持っていたと考えられる NDK のアミノ酸配列を推定し、遺伝子工学的手法により復元した祖先 NDK 遺伝子を大腸菌内で発現し、祖先 NDK の精製と熱変性測定をおこなった。復元した LACA NDK、LBCA NDK は、どちらも変性中点温度が 100 °C を超える高い耐熱性を有していた。よって、LACA と LBCA はそれぞれ超好熱菌であったと推定された。また、LACA NDK と LBCA NDK の配列はよく似ており、Commonote の NDK も同様なアミノ酸配列を持っていたことが期待されたことから、LACA NDK と LBCA NDK の配列から Commonote NDK の配列を作製した。その変性温度は 90 °C 以上であり、この NDK を持った全生物の共通祖先 (Commonote) は 75 °C 以上に生息する好熱菌であったと考えられた (Akanuma et al. 2013, PNAS, 110: 11067-11072)。

また、LUCA/Commonote が好冷菌ないしは常温菌であったと推定した Boussau 等 (2008) や常温菌ないしは中等度好熱菌であったと推定した Groussin 等 (2013) の推定の根拠の一つは、進化の過程でのアミノ酸組成の変化を許容する分子系統樹推定法を用いて推定した Commonote の蛋白質のアミノ酸組成であった。我々は、同様の分子系統樹推定法を用いて新たに LACA NDK、LBCA NDK、そして Commonote NDK のアミノ酸配列を推定し、遺伝子工学的手法により復元した祖先 NDK 遺伝子を大腸菌内で発現、精製を行った。これらの LACA NDK、LBCA NDK、ならびに Commonote NDK の変性中点温度はいずれも 100 °C 以上であり、LACA、LBCA、Commonote はいずれも、好熱菌ないしは超好熱菌であったと推定された。

以上の結果は、古細菌共通祖先生物 (LACA)、真正細菌共通祖先生物 (LBCA) がともに (超) 好熱菌であり、全生物の最後の共通祖先 (LUCA/Commonote) が (超) 好熱菌であったことの実験的な証拠と言える。また、祖先 NDK の酵素活性の pH 依存性を現生生物の NDK と比較することで、祖先生物の細胞内環境の推定も試みているので、その結果についても紹介する。

キーワード: コモノート (全生物の最後の共通祖先), 祖先蛋白質復元, ヌクレオシド二リン酸キナーゼ, 好熱菌
Keywords: Commonote, resurrection of proteins, nucleoside diphosphate kinase, thermophiles