

話題提供者：古川 龍太郎

演 題：進化系統樹と祖先タンパク質の解析から迫る生命の歴史

開催日時：2021年12月8日, 17:00～18:00

開催方法：Zoomによるオンライン開催

自分という人間がいったいなぜここにいるのか、という疑問を中学生くらいになるとふと考えることがある。自分の直近のルーツを辿るとなんとということはなく、両親から生まれてきたということが両親からの話や写真などの記録からわかる。では、その両親はどこからきたのかというと、祖父母から生まれてきた。祖父母はさらにその両親から、というように先祖から家系が繋がって今の自分があることを、祖父母や両親からの伝聞、写真や家系図などの記録から知ることができる。では、人間はどこからきたのか、さらに動物はどこからきたのか、究極的には生命はどこからきたのだろうか。これらは世界中の各地に残る遺跡、様々な地層から掘り出された化石、地質情報、そして生物の細胞内にあるDNAの情報から、ある程度知ることができる。本発表では、様々な生物が持つDNA、RNAの塩基配列やタンパク質のアミノ酸配列から生命が歩んできた歴史をどのように知るかについて紹介する。

#### 生物の情報を文字として認識する

DNAは、デオキシリボース、リン酸、塩基から成るヌクレオチドが幾十幾万と連なってできている。塩基にはアデニン(A)、グアニン(G)、シトシン(C)、チミン(T)の4種類があり、塩基の並び順を配列情報として捉えることができる。DNAはRNAへ転写され、RNAからタンパク質へと翻訳される。このことは全ての生物に共通している。塩基配列はタンパク質のアミノ酸配列に対応しており、3つの塩基の組み合わせが20種類のアミノ酸に対応している。タンパク質は20種類のアミノ酸が鎖状に連結してできた生体高分子である。アミノ酸の並び順や鎖の長さが変わることによって膨大な種類のタンパク質が生み出され、様々な機能を持って体を構成する。タンパク質の20種類のアミノ酸の並び順を20文字のアルファベットに置き換えることで配列として捉えることができる。DNAの配列が書き変われば、タンパク質のアミノ酸配列も書き変わり、結果としてタンパク質の性質、さらには生物そのものの性質や姿形に影響を与える。

#### 進化系統樹の構築

進化系統樹とは、様々な生物が持つアミノ酸配列や塩基配列を比較することで、生物間または遺伝子の進化的道筋(系統)を推定し、樹のように表したものである。現代社会

にて使われている進化という言葉には、成長、発達、改善などの意味を含んで使われているが、生物進化では進歩的な意味を含まない。生物進化とは、突然変異の蓄積に伴う形質の変化が遺伝していく、つまり親から子へ受け継がれていき、その過程で起こる環境変化に適応した生物が生き残っていくこと、この過程で生物が移り変わったと捉えることができる現象を言う。また、分子時計とは、DNAやタンパク質の配列は時間に比例して突然変異を蓄積するという概念である。1960年代に化石情報から数種類の生物の分岐年代を推定できていた時、それらの生物が持つヘモグロビンのアミノ酸配列の差を比べたところ、生物間のアミノ酸配列の差と分岐年代が直線関係にあることがわかった。このことから様々な生物が持つタンパク質のアミノ酸配列やDNAの塩基配列の差を比べ、系統樹を構築することによって、生物間の進化関係を推定することが可能となった。進化系統樹を構築する解析のことを分子系統解析と呼ぶが、分子系統解析の具体的な流れとしては、データベースから様々な生物が持つ共通の遺伝子を集めて、似た部分を並べて整理させる操作であるアラインメントを経て、各種コンピュータプログラムを用いて進化系統樹を推定する。

#### 進化系統樹の活用

進化系統樹は生物同士の進化関係を知ることができるため、生物進化と生物の分類においてメインツールとして活用されている。例えば、新しく発見した未知の生物のDNAなどの情報を手に入れた時、既知の配列情報と共に進化関係を推定することで、新種かどうか、どのような生物に近縁であるのかを知ることができる。これは環境中に既知の生物がどの程度いるのか知りたい時にも活用でき、環境生態学分野で多用されている。また、分子生物学的な観点から、ある機能を持つタンパク質の遺伝子が生命の歴史のどの時代で出現したのか、また地球の歴史上いつ出現したのか推定する時にも、系統樹は活用できる。化石が掘り出された地層の年代情報と合わせて、いつの年代に生物が分岐したかを推定する分岐年代推定は、古生物学の分野と連携して活用されている。さらに、タイムリーな話題として、ウイルスが持つRNAの配列を使って系統樹を構築することで、ウイルスの感染源を特定する試みが行われている。また、遺伝子の歴史を遡って推定した祖先遺伝子から祖先タンパク質を復元し、祖先生物の性質を推定する試みや祖

## 「人間科学研究交流会」報告

先配列推定を酵素安定化に応用する試みが行われている。他分野での系統樹の活用として、文字の系統樹、文章、文化の系統樹、尖頭器の形の系統樹などがあり、文化人類学の分野で用いられつつある。ビールの系統樹、ポケモンの系統樹など、趣味や冗談で系統樹的な考え方が活用される場面もある。

## 全生命の系統関係と真核生物の起源

我々人間を含めた地球上のすべての生物は、DNAを持ち、タンパク質の合成装置などの分子レベルでの共通性から、一つの共通祖先から進化してきたと考えられている。生物の進化を推定するために、最もよく用いられてきたのは、タンパク質合成装置に含まれる16S/18S rRNAというRNAの配列を用いて構築された分子系統樹である。Woeseらは1990年に16S/18S rRNAの系統樹から全ての生物を真正細菌、古細菌、真核生物の3つに分ける3ドメイン説を提唱した (Woese et al. 1990)。近年では、その対論として二分岐説が台頭しつつある。真核細胞は、古細菌と、ミトコンドリアの起源であるアルファプロテオバクテリアの祖先が細胞内共生することで誕生したとされているが、どのような古細菌が真核生物の誕生に関わったのか議論となっている。古細菌は現在4つのグループに分けられているが、全ての生物によく保存されている複数の遺伝子を連結させた配列データを用いて構築された種の系統樹から、アスガルド古細菌が真核生物に最も近縁であると提案された (Zaremba-Niedzwiedzka et al. 2017)。一方で、個別の遺伝子系統樹から真核生物が持つ個別の遺伝子の起源を探る試みも行われてきた。その結果、真核生物ゲノム中には、古細菌由来の遺伝子が多く、真正細菌であるアルファプロテオバクテリア由来の遺伝子も多かったが、それ以外の複数の真正細菌由来の遺伝子も多かった (Thiergart et al. 2012) ため、特定の古細菌とアルファプロテオバクテリアの祖先による細胞内共生だけでは真核生物の誕生を説明できず、現在も個別の遺伝子の分子系統解析が続けられている。真核生物の成立過程に残る謎として、核、細胞内の構造はいつどのように形成されたか、細胞膜はどのように変化してきたのかと言う難題がある。現在の真核細胞中の個々のタンパク質の系統学的起源、共生や細胞小器官形成の生化学的メカニズムの解明、真核細胞の祖先状態の復元、実際の細胞を使った共生実験などから、難題が解けることを期待する。

## 祖先タンパク質の解析

進化系統樹を遡ることによって、すでに絶滅した祖先生物が持っていたタンパク質のアミノ酸配列を推定することができる。具体的には、現存する生物のタンパク質の相同アミノ酸配列を整列させ、進化系統樹を構築し、配列アラインメントと系統樹から共通祖先のタンパク質のアミノ酸配列を推定する。推定したアミノ酸配列をもとに、古代生

物が持っていたタンパク質を実際に復元し、解析することで古代生物の環境の推定やタンパク質の進化の歴史を実際に再現することが可能になってきた。Gaucherらは真正細菌共通祖先EF-Tuの再構成から、真正細菌共通祖先は好熱性であったと主張した (Gaucher et al. 2008)。また赤沼らは全生物共通祖先ヌクレオシド二リン酸キナーゼを再構成し、全生物共通祖先は超好熱菌であったと主張している (Akanuma et al. 2013, 2015)。このように、祖先配列再構成は祖先生物の特性を推定できるツールとして使うことができる。

また、祖先配列推定を用いてデザインされた酵素の機能と性質を調べた研究が近年盛んに行われており、現存生物の酵素よりも熱安定性や酵素活性が向上、または基質特異性が拡張していた。我々は、3-イソプロピルリンゴ酸脱水素酵素 (IPMDH) の系統樹を構築し、真正細菌の共通祖先が持っていたと推定されるIPMDHの配列を推定し、実際にタンパク質として復元、性質を調べた。祖先IPMDHの耐熱性を測定したところ、好熱菌のIPMDHよりも高い耐熱性を有していた。また、比活性を見ると、50°Cでは祖先IPMDHは好熱菌のIPMDHと同程度の比活性であったが、25°Cでは好熱菌のIPMDHよりも二倍から三倍高い比活性を示していた (Furukawa et al. 2020)。したがって、祖先配列再構成は耐熱性と十分な常温活性を併せ持つ酵素の設計に利用できると期待される。進化系統樹と祖先タンパク質研究の今後の展望として、全生物の共通祖先よりさらに過去へ遡ること、祖先生物のゲノムや生物そのものの復元を目指していくことで生命の起源へ近づけることができると考える。また、祖先配列推定を利用した有用酵素の創出と安定化、機能向上や、配列設計方法の効率化を行うことで、人間社会を豊かにする酵素の開発に貢献していきたい。

## 参考文献

- Woese, C. R., Kandler, O., & Wheelis, M. L. (1990). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87(12), 4576-4579.
- Zaremba-Niedzwiedzka, K., Caceres, E. F., Saw, et al. (2017). *Nature*, 541(7637), 353-358.
- Thiergart, T., Landan, G., Schenk, M., Dagan, T., & Martin, W. F. (2012). *GBE*, 4(4), 466-485.
- Gaucher, E. A., Govindarajan, S., & Ganesh, O. K. (2008). *Nature*, 451(7179), 704-707.
- Akanuma, S., Nakajima, Y., Yokobori, S. I., et al. (2013). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 110(27), 11067-11072.
- Akanuma, S., Yokobori, S. I., Nakajima, Y., Bessho, M., & Yamagishi, A. (2015). *Evolution*, 69(11), 2954-2962.
- Furukawa, R., Toma, W., Yamazaki, K., & Akanuma, S. (2020). *Sci. Rep.* 10(1), 1-13.