

第4回研究助成

太古、生命はどんな光を見たか

プロジェクトリーダー

岩崎 渉 東京大学

プロジェクトメンバー

吉澤 晋 東京大学

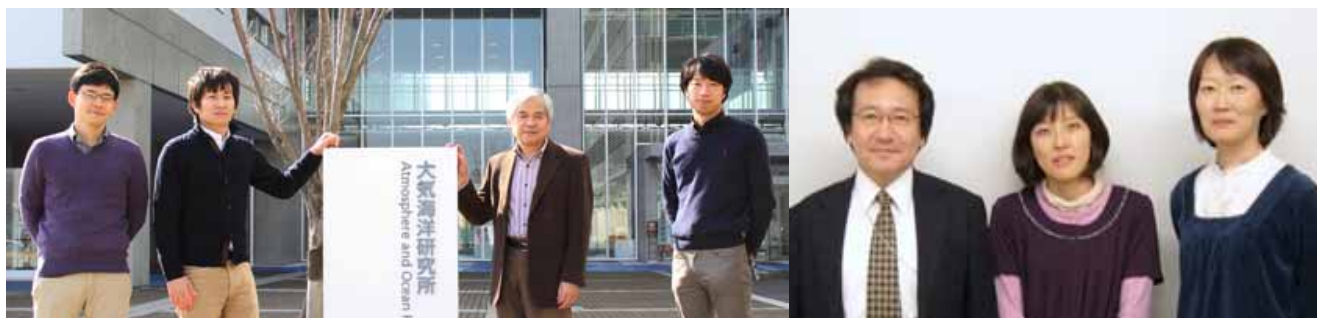
平瀬 祥太郎 東京大学

木暮 一啓 東京大学

染谷 友美 理化学研究所

白水 美香子 理化学研究所

横山 茂之 理化学研究所



(写真左)左から平瀬、吉澤、木暮、岩崎 (写真右)左から横山、白水、染谷

1. 研究の背景と達成目標

太古、生命が光エネルギーを利用できるようになったことは生命の長い歴史において最も重大な事件の一つであるとともに、再生可能エネルギー利用技術開発などにおいて自然に学ぶ上でも、大いに注目されるべきイベントである。本研究では最先端技術を分野横断的に駆使し、太古の光エネルギー利用タンパク質プロテオロドプシンを最新の情報技術と遺伝子合成技術によって現代に再現することで、太古、生命はどんな光を「見た」のか、というロマンあふれる問いに迫ることを狙いとした。

具体的には、以下の4つの達成目標を設定した。

- ① プロテオロドプシンの遺伝子配列情報を網羅的に取得し、遺伝子情報ライブラリーを作成する。
- ② 作成したライブラリー中から、タンパク質の構造を原子分解能で明らかにする X 線結晶構造解析に適したプロテオロドプシン遺伝子を抽出し、無細胞タンパク質合成技術によってタンパク質を大量合成し、原子分解能でその物理化学的構造を決定する。
- ③ ライブラリーの遺伝子情報を用いてプロテオロドプシンの進化の歴史を情報科学的に推定し、祖先配列再構築技術によって、最祖先型のプロテオロドプシンの遺伝子配列を推定、復元する。
- ④ 推定された配列情報に基づき、全遺伝子合成技術を用いることで生命がその歴史上で初めて作り出した光エネルギー利用タンパク質を合成、現代に再現する。

2. 主な研究成果と社会、学術へのインパクト

- ・ 世界最大規模のデータを含むプロテオロドプシン遺伝子情報ライブラリーを構築し、その成果として、海洋細菌 (*Nonlabens marinus* S1-08^T) の遺伝子情報から、光エネルギーを用いて塩化物イオンを細胞内に運び入れる新しい種類のロドプシンの発見に成功した。
- ・ 海洋細菌 *Photobacterium* 由来プロテオロドプシン 3 種を大腸菌無細胞タンパク質合成系で大量調製、いずれも脂質メソフェーズ法で結晶化し、そのうち 1 種については 2.0 Å 分解能で結晶構造の精密化に成功した。
- ・ 遺伝子情報ライブラリーを用いて、祖先配列再構築技術によって、最祖先型のプロテオロドプシンの遺伝子配列を推定、復元することに成功した。
- ・ 光の吸収の進化において重要であったと考えられるアミノ酸を特定するとともに、祖先遺伝子配列の推定を行った。さらに、推定された祖先遺伝子配列情報に基づいたタンパク質合成に成功し、光吸収スペクトルの測定に成功した。これにより、太古の光エネルギー利用タンパク質プロテオロドプシンを最新の情報技術と遺伝子合成技術によって現代に再現することに成功し、“太古の生命が見た光”を解明した。

3. 研究成果

本研究でターゲットとしたプロテオロドプシンは、近年になって新たに発見された光エネルギー利用タンパク質である。生命が光を利用するメカニズムとしては光合成系がよく知られているが、近年、このプロテオロドプシンが海洋性細菌の間に想定されていた以上に広く分布していることが明らかになった（実に有光層の海洋性細菌の 8 割に存在しているともされる）。これまで、我々の研究グループは、この膨大なプロテオロドプシンが実際に光エネルギー利用機構として働いており、海洋生態系全体のエネルギー循環に対して極めて大きな役割を

果たしていることを明らかにしてきた。このことはすなわち、海で生命が生まれて以来、これまで生命は光合成系とプロテオロドプシンの大きく2つの光エネルギー利用機構を使ってきたということを示唆している。



図1 2つの光エネルギー利用機構

本研究では、このうちよりシンプルなシステムであり生命が最初に作り出したと考えられる太古のプロテオロドプシンを現代に再現することで、「太古に生命が見た光」を解明した。

まず、これまでに独自に解析に成功した、また世界中で進行するゲノム解析から明らかになりつつあるプロテオロドプシンの遺伝子配列情報を網羅的に取得し、遺伝子情報ライブラリーを作成し、進化研究に利用できるように整備した。その成果として、海洋細菌 (*Nonlabens marinus* S1-08^T) の遺伝子情報から光エネルギーを用いて塩化物イオンを細胞内に運び入れる新しい種類のロドプシンの発見に成功した。さらに、遺伝子情報ライブラリーの解析から、この海洋細菌が水素イオンやナトリウムイオンも光エネルギーによって運搬していること、また、海洋細菌の光エネルギー利用機構がこれまで考えられていたよりも多様なことが明らかになった。

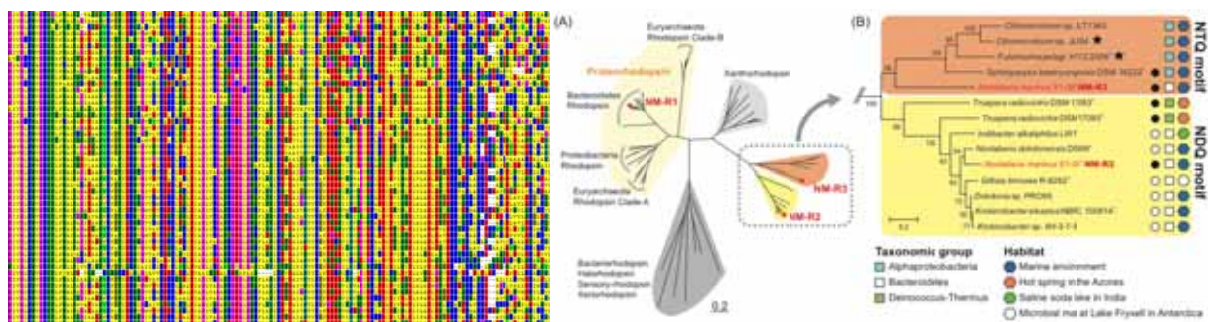


図2. 遺伝子情報ライブラリーと発見された新しいタイプのロドプシンの進化系統樹

また、遺伝子情報ライブラリーから、タンパク質の構造を原子分解能で明らかにする手法である X 線結晶構造解析に適したプロテオロドプシン遺伝子を抽出し、最新の無細胞タンパク質合成技術によってタンパク質を大量合成、原子分解能でその物理化学的構造を決定した。海洋細菌 *Photobacterium* 由来プロテオロドプシン 3 種を大腸菌無細胞タンパク質合成系で大量調製、いずれも脂質メソフェーズ法で結晶化し、そのうち 1 種については 2.0 Å 分解能で結晶構造の精密化に成功した。この構造から、84 番目のグルタミン残基と水分子との相互作用がレチナル周辺のアミノ酸構造を少しずつ変化させることで、青色光の吸収機構を獲得していること

が推察された。また、プロトン輸送に関与する重要残基の同定と、その経路についての新たな知見を得ることができた。

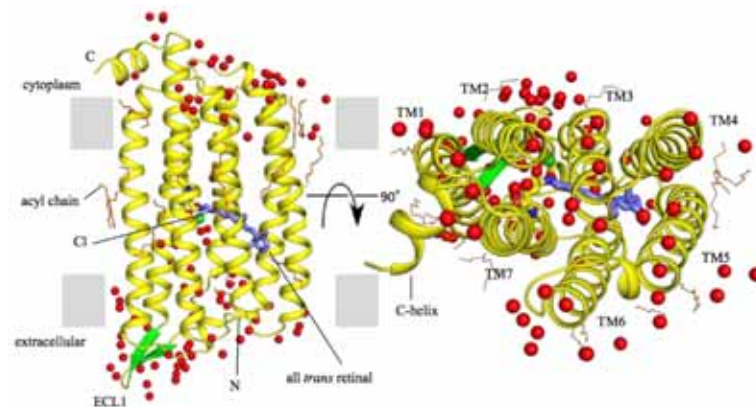


図3. X線結晶構造解析技術によって解明された立体構造

最後に、作成した遺伝子情報ライブラリーを用いてプロテオロドプシンの進化の歴史を情報科学的に推定し、近年開発された祖先配列再構築技術によって太古のプロテオロドプシンの遺伝子配列を推定、復元した。推定された配列情報に基づき、やはり近年開発された全遺伝子合成技術を用いることで太古の光エネルギー利用タンパク質を合成、現代に再現した。以上によって再現された太古のプロテオロドプシンについて、原子分解能でのプロテオロドプシンの構造に基づき、光吸収スペクトルの解析を行った。これにより、“太古の生命が見た光”を解明した。

4. 今後の展開

地球を特徴づける多様で豊かな生命はすべて、数十億年もの時間をかけて、母なる海に生まれた共通の祖先から進化してきた。このはるかな生命の進化の歴史を辿ること、とりわけ、祖先の生命がどのような形質(特徴)を持っていたかを詳細に明らかにすることは、「私たち生命はどこから来てどこへ行くのか」という、生命に関心を持つ全ての人にとっての究極の問いに迫るための前提となる。さらには、今日の生命が持つ驚くべき様々な形質がどのような過程を経て“洗練”されてきたのかを明らかにすることは、それらの性質を参考にして我々のものづくりに活かしていくための鍵となる情報をもたらす。

生命の進化に関する研究は、化石情報の解析から始まった。ダーウィン以来、実際に化石情報からは生命の進化に関する多くの知見が得られたが、化石の発見は地質の状態など理想的な条件が整った場合のみに留ってきたほか、特に生命進化の出発点となる微生物の進化研究に関しては、化石情報から多くの情報を得ることが原理的に困難であった。なかでも、代謝機能など私たちの生命活動の根幹を支えている分子レベルでの機能活性に関して、過去の生命が持っていた形質を化石情報から詳細に推定することは不可能であった。その後遺伝子解析技術の発達により、遺伝子情報を進化研究に用いることが可能になったものの、過去の生命がどのような遺伝子を持っているかを推定し、現代にその分子レベルでの機能活性を再現することは依然とし

て困難な課題であった。

このような生命進化研究の潮流の中で、本研究によって、太古の生体分子の機能を直接研究するという方法論が今後確立されていくことが期待される。プロテオロドプシン遺伝子をきっかけとして、本技術を様々な遺伝子についても適用可能な技術として成熟させていくことで、分子レベルでも太古の生命の姿を推定できるようになれば、生命進化の歴史に直接迫ることが可能になっていくだろう。さらに、工学的な観点からは、現代の生命が持つ効率的なエネルギー産生装置がどのように作り出されてきたのかという問いに対し、やはり分子レベルでの直接的な手がかりが得られることになる。現在の生命は、いわば、数十億年という気の遠くなるような年月をかけて洗練に洗練を重ねられた“技術の粋”であるが(それを研究する我々は、SFでしばしば描かれるような、宇宙人のオーバーテクノロジーを全く理解できないでいる地球人のようなものかもしれない)、今後、その設計プロセスの理解に近づいていくことができると期待できる。

また本研究では、太古の遺伝子配列の推定に用いる情報源として、世界最大規模のプロテオロドプシン遺伝子ライブラリーを構築した。ビッグデータと最新の情報技術を組み合わせることでデータの“量”が“質”に転化し、コンピュータプログラムの性能が劇的な向上を見せることは、近年様々な分野で大きな注目を集めつつあるが、今回の研究でも、この“バイオビッグデータ”を最大限に活用したことが研究の鍵となった。進化研究に限らず、バイオビッグデータをいかに活用していくかは我が国の生命科学研究全体にとって重要な課題になると考えられるため、今後様々なデータに対して今回用いたようなアプローチを活用していく予定である。

5. 発表実績

(1) Susumu Yoshizawa, Yohei Kumagai, Hana Kim, Yoshitoshi Ogura, Tetsuya Hayashi, Wataru Iwasaki, Edward F. DeLong, and Kazuhiro Kogure.

Functional characterization of flavobacteria rhodopsins reveals a unique class of light-driven chloride pump in bacteria.

Proc Natl Acad Sci U S A, **111**, 6732-6737. (2014)

(2) Yohei Kumagai, Susumu Yoshizawa, Kenshiro Oshima, Masahira Hattori, Wataru Iwasaki, and Kazuhiro Kogure.

Complete genome sequence of *Winogradskyella* sp. strain PG-2, a proteorhodopsin-containing marine flavobacterium.

Genome Announcements, **2**, e00490-14. (2014)

(3) Masaki Miya, Yukuto Sato, Tsukasa Fukunaga, Tetsuya Sado, Jan Yde Poulsen, Keiichi Sato, Toshifumi Minamoto, Satoshi Yamamoto, Hiroki Yamanaka, Hitoshi Araki, Michio Kondoh, and Wataru Iwasaki.

MiFish, a set of universal PCR primers for metabarcoding environmental DNA from fishes: detection of more than 230 subtropical marine species.

Royal Society Open Science, **2**, 150088. (2015)

- (4) Shotaro Hirase, Hirohiko Takeshima, Mutsumi Nishida, and Wataru Iwasaki.
Parallel mitogenome sequencing alleviates random rooting effect in phylogeography.
Genome Biology and Evolution, **8**, 1267-1278. (2016)
- (5) Satoshi Hiraoka, Ching-chia Yang, and Wataru Iwasaki.
Metagenomics and bioinformatics in microbial ecology: Current status and beyond.
Microbes and Environments, **31**, 204-212. (2016)
- (6) Toshiaki Hosaka, Susumu Yoshizawa, Yu Nakajima, Noboru Ohsawa, Masakatsu Hato, Edward F. DeLong, Kazuhiro Kogure, Shigeyuki Yokoyama, Tomomi Kimura-Someya, Wataru Iwasaki, and Mikako Shirouzu.
Structural mechanism for light-driven transport by a new type of chloride ion pump, *Nonlabens marinus* rhodopsin-3.
Journal of Biological Chemistry, **291**, 17488-17495. (2016)
- (7) Shotaro Hirase, Yusuke Yokoyama, Cin-Ty Leed, and Wataru Iwasaki.
The Pliocene-Pleistocene transition had dual effects on north American migratory bird speciation.
Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, **462**, 85-91. (2016)
- (8) Sira Sriswasdi, Masako Takashima, Ri-ichiroh Manabe, Moriya Ohkuma, Takashi Sugita, and Wataru Iwasaki.
Global deceleration of gene evolution following recent genome hybridizations in fungi.
Genome Research, **26**, 1081-1090. (2016)
- (9) Hideki Terajima, Hikari Yoshitane, Haruka Ozaki, Yutaka Suzuki, Shigeki Shimba, Shinya Kuroda, Wataru Iwasaki, and Yoshitaka Fukada.
ADARB1 catalyzes circadian A-to-I editing and regulates RNA rhythm.
Nature Genetics, **49**, 146-151. (2017)
- (10) Koji Yano, Seishiro Aoki, Meng Liu, Yosuke Umehara, Norio Sukanuma, Wataru Iwasaki, Shusei Sato, Takashi Soyano, Hiroshi Kouchi and Masayoshi Kawaguchi.
Function and evolution of a *Lotus japonicus* AP2/ERF family transcription factor that is required for development of infection threads.
DNA Research, **24**, 193-203. (2017)