



蛋白質の構造決定と分子進化

松原 央*

Sanger が10年の歳月を費し大量の試料を用いてインスリンの構造決定をしたのが今から約20数年前であった。生体高分子の構造を知るとは生命の本質に迫る第一歩であり、また化学者にとっては一つの挑戦でもあったと思う。それから約10年は、さらに新しい、しかも大きい分子で生体触媒である酵素に目が向けられ、正確かつ定量的で、しかも微量の試料を迅速な方法で分析する技術開発が主たる進展の方向であった。ここで一応の目度がつくと、今までに生命科学の分野で重要であり、かつ興味の深い現象と関連している蛋白質が主題として採択されるようになり、生物学と深い関連をもつようになってきた。その結果がここ10数年来の目覚ましい成果となって現われている。蛋白質の構造決定が境界領域の学問分野すべてに重要な知見をもたらしていると言っても過言ではない。その一つの新しい方向が分子進化学である。

地球の誕生が46億年前、最初の生命の出現が30数億年前、そして現在の130万種にも達する生物種がそこから次々と分かれ進化してきた、と古生物学は教えている。Darwin の自然淘汰説と Mendel 遺伝学の融合は進化学を定量化し、進化機構の解明に迫りつつあるといえる。分子遺伝学によれば、各種生物のもつDNAの塩基配列に組み込まれた情報が、その対応する各種の蛋白質のアミノ酸配列として表現され、生物特有の機能として伝えられてゆく。進化の過程はこのDNAの変化として反映されると考えれば、現在の化学技術ではより容易に扱えるDNAの表現型である蛋白質の構造の解明こそ、進化の過程を解く一つの有力な手掛りとなる。勿論用いる蛋白質は、多くの生物種にまた

がって存在し、重要な機能を担い、容易にしかも必要量を手に入れることができ、かつ比較的小分子で構造決定が次々とできる、というような条件を満たしているに越したことはない。今までにその条件をある程度満たし、分子進化学への道を開いたものにヘモグロビンやチトクロムCがあげられる。これらでえられた成果は、各種生物種からえた蛋白質の一次構造の比較によって、その蛋白質が由来した各種生物の系統樹を作り出すこととなり、それが古生物学、形態学、解剖学、発生学、遺伝学などの集大成として描かれた在来の系統樹とよく一致するということであった。また同時に集団遺伝学の適応は蛋白質分子の中立突然変異による進化という新しい考えを導入するなど、多くの問題を投げかけることとなった。

ところが今までの多くの成果は動物由来のものでえられており、せいぜい6億年前位に出現した生物にまで逆上るにすぎない。それ以前に生物は細菌や藍藻を生み、そして多くの微生物として分化棲息していたと考えられる。生命の源を探り進化の歴史を知る上では、これらに広く分布する蛋白質を探し求める必要が生じる。この古い時代の化石は極めて少なく、最近、にわかに注目された化石もその内容が甚だ信頼性に乏しい。

今われわれが扱っているフェレドキシンは、非光合成嫌気性細菌、光合成細菌、好気性細菌、藍藻を含む各種藻類、高等植物と広範囲の生物に分布する酸性蛋白質で、2, 4, または8原子づつの非ヘム鉄と無機硫黄を含み、酸化還元電位は約-400mVと低く、分子量が6,000~14,000と適当に小さい。ピルピン酸の酸化、水素分子の酸化、窒素固定、光合成など各種の電子伝達に参与する。

* 松原 央 (Hiroshi MATSUBARA), 大阪大学, 理学部, 生物学科, 教授, 理学博士, 生物化学

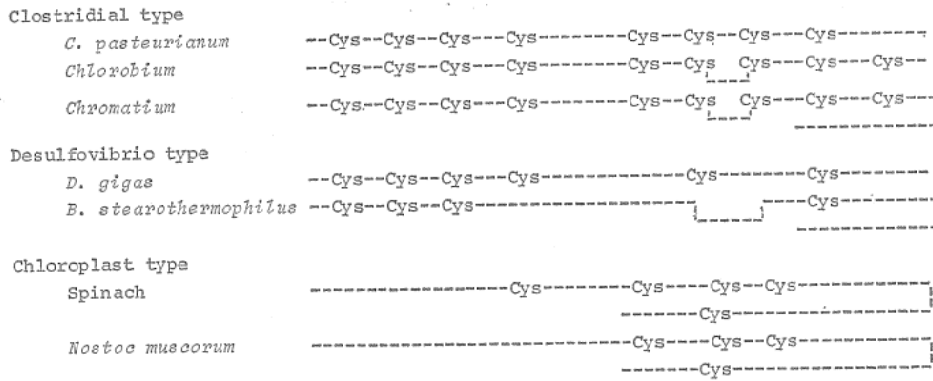


図1 各種フェレドキソンのシステイン (Cys) の分布に注目して比較した骨格構造。最上段の群は8原子ずつの、中段の群は4原子ずつの、そして最下段の群は2原子ずつの鉄と硫黄をもって活性中心を構成する。

先ず嫌気性細菌 (たとえば *Clostridium pasteurianum*) のフェレドキソンには通例の20種のアミノ酸の中で数種のアミノ酸が欠如していたこと、そしてその一次構造をシステイン (8分子) の分布に注目して調べたところ、丁度分子の真中で切断して重ね合わせることができ、システインの規則正しい分布と (図1), 前半部後半部のアミノ酸配列が非常に似ていること、加うるに地球の原始時代に大量に利用されたであろう鉄や硫黄を数多く (分子量6,000に対し8原子ずつ) 含むことなどから、この蛋白質は非常に原始的な形態を現在まで保持しており、しかも遺伝子の重複の形跡を明瞭に分子内に残しているなど興味ある問題を提示することとなった。遺伝子の重複は進化の推進にまた重要な役割を演ずると考えられている。

しかし同じ8原子の鉄、硫黄をもつ光合成細菌 (*Chlorobium* や *Chromatium*) フェレドキソンは基本構造は残し乍らも、やや前述のフェレドキソンに比べてアミノ酸の数も多く、部分的に余分な構造を新しく取込んだ恰好をして

いる。上述のような分子内重複の程度は低く、光合成機能を備えるに至った過程で分子内に変異が大きく起ったと考えることができる。

さらに4原子の鉄、硫黄をもつ硫酸や硝酸の代謝に関与する *D. gigas* や *B. stearothermophilus* フェレドキソンの構造は、システインが6または4分子で上記のいずれのものとも異なるが、ただ分子の前半部は互いによく似ており、後半部に進化の跡が明瞭に示されている。なぜ後半部に変動が起るのか、未だわからないが、分子の安定性と関連があるのかもしれない。しかしいずれの型のフェレドキソンも基本構造は図2 (左) に示した配位構造を示すと考えられている。そしてこれらのフェレドキソンは遠い昔に分岐したと結論されている。

一方植物のフェレドキソン (葉緑体型と呼ばれる) は細菌型に比べ分子量が倍近く、しかも2原子ずつの鉄と硫黄をもつにすぎない。各種物理的分析から図2 (右) のような活性中心をもつとされている。葉緑体によるNADPの光還元系で細菌のフェレドキソンと交換しうるこ

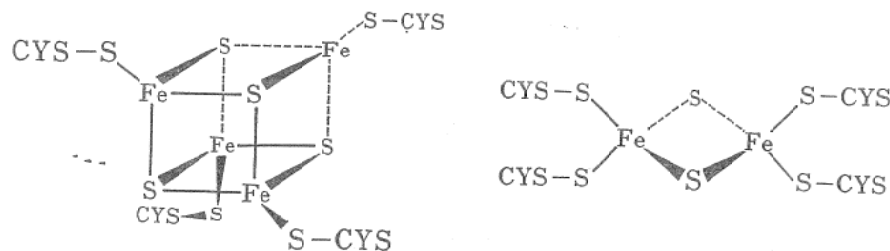


図2 左は細菌フェレドキソンにみられる鉄、硫黄、システイン活性中心模式図、右は葉緑体フェレドキソンにみられる活性中心模式図。

とは、活性中心は勿論、その構造に共通性があるに相違ないという観点から、一次構造を調べたところ、図1の最下段に示すように、中央のシステイン群を中心とした部分は、細菌のシステイン群の配置と類似性を示した。さらにくわしい比較検討から、これらの分子は細菌の分子とは見かけ上非常に異なっているが、共通の先祖型フェレドキシンから進化したもので、遺伝子の重複、突然変異、転移などを経て、今日の分子に至ったとする仮説が提出された。

このような基盤に立って現在われわれは、多くの葉緑体型フェレドキシンの構造を決めつつあり、今までに藍藻3種、シダ類2種のフェレドキシンの構造を決めた。最近ではこの種の蛋白質なら15~20mg(約1.5~2 μ モル)あれば、1~1.5ヶ月で完了する程度に技術も進歩した。

藍藻は地球誕生後10数億年にして出現したとされ、細菌のように原核生物であり、光合成を緑色植物と同じような機構で営み、水を分解して酸素を放出し、その蓄積をもたらす、新しい生命を生み出す原動力となった。従ってこれらのフェレドキシンの構造を決めて、比較することは意義が大きい。さらに植物の中には系統分類学上興味深いものも多い。

現在までに判明している葉緑体型フェレドキシン9種の比較によってえた結論は次のようになる。(1) 原核生物とはいえ藍藻のフェレドキシンは細菌のものとは全く異なり、緑色植物と類縁である。(2) 特定の位置に注目すれば、藻類と高等植物との間に明確なアミノ酸の使い分けがみられる。(3) 生物の系統が遠ざかるにつれてフェレドキシン分子間でのアミノ酸変位数は増大する。(4) 藍藻同志ですでにフェレドキ

シン分子間に変異が大きく、その進化途上で放散した時期が高等植物に比べてはるかに古い。すなわち多様性に富んでいる。(5) アミノ酸の変異と生物が経過してきた時間との間には比例関係がなく、生物の系統によって分子進化の速度が異なり、動物などのチトクロムCで明らかにされた事実と矛盾する。原因はわからないが、化石年代の不確かさ、およびアミノ酸一座位当りの重複置換に対する補正の仕方の不確かさなども考慮に入れねばならない。さらに最近急速に事例が多くなって来ているフェレドキシン分子の複数遺伝子支配も問題となりつつある。

今新しい方向として、選択した生物から数種の蛋白質を採り上げ、これらを同時に比較しながら分子進化を考えてゆこうとする動きがみられる。まだ系統的な例はないが、注目すべきことである。分子進化の研究は何も蛋白質の一次構造にのみ集中しているわけではない。核酸の構造の比較も旺んになされつつある。また立体構造との関連においても重要な知見がえられている。その他生物の特異な酵素反応から、また免疫的手法からも分子進化は論じられている。その理論の分野も多くの成果を挙げつつある現状である。

なお参考までに岩波講座現代生物科学7「生命の起源と分子進化」や蛋白質、核酸、酵素の別冊1976年2月号「植物酵素・蛋白質研究法Ⅲ・2、二・三の植物蛋白質の分子進化」などを参照して頂ければ舌たらずの点を補っていただけられると思う。