

機関番号：32659

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20370094

研究課題名（和文） タンパク質復元に基づく古細菌、真正細菌、全生物の共通祖先の研究

研究課題名（英文） Study on the common ancestors of Archaea, Bacteria and Commonote based on the resurrected enzymes.

研究代表者

山岸 明彦 (YAMAGISHI AKIHIKO)

東京薬科大学・生命科学部・教授

研究者番号：50158086

研究成果の概要（和文）：翻訳系酵素(GlyRS)、代謝系酵素(IPMDHとNDK)、複製系酵素(ジャイレース)の祖先型酵素を作製した。翻訳系と複製系の酵素に関して、細菌祖先型酵素の作製に成功し、高度好熱菌よりも高い耐熱性を持つことが明らかとなった。代謝系酵素では、以前より研究を進めていたNDKに関していくつかの変異酵素を作製することにより、細菌、古細菌、全生物共通祖先の祖先型酵素がどれも非常に高い(100℃以上)耐熱性を持つことを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Ancestral enzymes of translation system (GlyRS), metabolic system (IPMDH and NDK) and replication system (gyrase) were resurrected, their genes were constructed and expressed in *E. coli*. The purified enzymes of translation and replication systems showed higher thermal stability than counter parts of an extreme thermophile. Several mutants of previously constructed ancestral NDH were analyzed. The results showed that ancestral enzymes of Bacteria, Archaea and Commonote are extremely (>100℃) thermostable.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	6,700,000	2,010,000	8,710,000
2009年度	4,900,000	1,470,000	6,370,000
2010年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
年度			
年度			
総計	15,800,000	4,740,000	20,540,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物化学・進化生物学

キーワード：機能進化

1. 研究開始当初の背景

(1)全生物の共通祖先の存在に係わる議論

「全生物に共通祖先がいるという」発想は、全生物が同じ分子遺伝機構や共通の代謝系を持っているという事実を考えるならば、それほど不思議なことではない。しかし、「全生物の共通祖先の存在や性質」に関しては種々の立場から議論が続いている(山岸 2004, 2007)。配列情報を基に全生物の系統樹を最初に議論したのは古細菌の提唱者である

Woese(1987)である。かれは小サブユニット(SS)rRNA 遺伝子の配列に基づく系統樹を作成し、全生物が3つの生物群(古細菌、(真正)細菌、真核生物)に分かれる事を示した。しかし、一つの遺伝子が一つの系統樹となるという事が、直ちに全生物の共通祖先の存在を示すものではない。実際、Woeseは全生物の共通祖先の存在に関しては否定的である。かれは、生命進化初期において遺伝機構が未発達な段階を想定し、それをプロゲノート段階

と名付けた。そして、3つの生物群の分岐以前の生物はプロゲノト段階であると提唱している (Woese 1998)。即ち、全生物の共通祖先の存在は、確定していない。

(2) 全生物の共通祖先の数に係わる議論

Woese(1990)の作製した SS rRNA 遺伝子の系統樹は広く「標準的」系統樹として利用されている。また、最近ゲノム配列を用いた系統解析でも全生物が3つの生物群に分かれるという樹型が報告されている。しかし、解析する遺伝子によって樹型は様々であることは、多くの分子進化研究者が知っている。そこに遺伝子の水平伝播が関与している事も容易に想像される。とりわけ進化初期には多くの水平伝播が想像される。そこで、Martin(1999)後に Doolittle & Ford (1999) は「生物」の系統樹は「樹」にはならず、網の様な系統網になるということを提唱した。そして全生物の共通祖先も一つでは無く、複数の共通祖先が存在していたと想定している。即ち、全生物の共通祖先の数についても議論が続いている。

(3) 全生物の共通祖先、超好熱菌説

こうした議論と一定程度独立して、「全生物の共通祖先が超好熱菌」であるという仮説が N. Pace(1991)に提案され、その後この点に関しても多くの議論が行われてきた。それらの議論は、系統樹の根本付近に超好熱菌が多く存在するという点に基づくものであったが、その解釈に対する反論も多かった。我々はこの仮説の実験的検証を行った。まず、研究材料とする遺伝子の系統樹を作成し、全生物の共通祖先の配列を推定した。この配列を、現存する好熱菌の持つ該当遺伝子と比較すると、両者は良く一致しているが異なっている部分もある。そこで、現存する好熱菌遺伝子を出発材料として、祖先型アミノ酸残基を変異導入した祖先型タンパク質を多種類作成した。それらの耐熱性が高頻度で上昇していた。この実験結果は、全生物の共通祖先が超好熱菌であったことを支持している。

(4) 祖先型遺伝子の全合成

こうした研究をさらに一歩進め、部分的な祖先型化タンパク質ではなく、祖先生物の配列を完全に持つ全祖先型タンパク質の作成を行っている。これは、部分的に遺伝子を祖先型にするのではなく、祖先型の遺伝子を丸ごと全合成するという方法である。何回かの試行錯誤の後、ヌクレオチド二リン酸キナーゼ (以下 NDK) を対象酵素として、古細菌祖先型 NDK と真正細菌祖先型 NDK の二つの完全祖先型タンパク質を設計し、その遺伝子の全合成、大腸菌内での発現、精製とタンパク質解析に成功した。

引用文献

1) 山岸明彦: 遺伝別冊「進化でどこまでわか

るか」191-195 (2007)。

- 2) 山岸明彦: 細胞の起源. シリーズ進化学第3巻 化学進化・細胞進化. 石川統編, 岩波 P. 9-54 (2004).
- 3) Woese, C.R. : Microbiol Rev. 51, 221-271 (1987).
- 4) Woese, C. R. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95, 6854-6859 (1998).
- 5) Woese, C.R., et al.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 87, 4576-4579 (1990).
- 6) Martin, W.: Bioessays 21, 99-104 (1999).
- 7) Doolittle, W. Ford: Science 284, 2124-2128 (1999).
- 8) Pace, N.R. : Cell. 65, 531-533 (1991).
- 9) Malcolm, B. A., et al. : Nature 345, 86-89 (1990).
- 10) Stewart, C.-B. : Nature 374, 12-13 (1995).
- 11) Gaucher, E.A., et al. : Nature. 425, 285-288 (2003).
- 12) Miyazaki, J. et al. J. Biochem. (Tokyo) 129, 777-782 (2001).
- 13) Iwabata, H. et al. : FEMS Microbiol Lett. 243, 393-398 (2005).
- 14) Watanabe, K. et al. : J. Mol. Biol. 355: 664-674 (2006).
- 15) Watanabe, K. et al.: FEBS Lett. 580: 3867-3871 (2006).
- 16) Shimizu, H., et al. : J. Mol. Biol. 369: 1060-1069 (2007).
- 17) 油谷克英、中村春木: 蛋白質工学、朝倉書店(1991)

2. 研究の目的

本研究では以下の2点を明らかにする。

1) 翻訳系、複製系の酵素に関して古細菌の祖先と真正細菌の祖先酵素を推定し全合成する。遺伝子を大量発現し、酵素を精製する。精製酵素の耐熱性と活性の温度依存性を測定することから、古細菌の祖先と真正細菌の祖先がどの程度の温度に生育し得たかに関する情報を得る。2) さらに、代謝系酵素を材料として全生物の共通祖先の遺伝子を推定し全合成する。精製酵素の耐熱性と活性の温度依存性を測定することから、全生物の共通祖先がどの程度の温度に生育し得たかに関する情報を得る。

3. 研究の方法

(1) 対象とするタンパク質の選択

以下の様な基準に基づいて研究対象とするタンパク質を選定した。

① まず、真正細菌共通祖先と古細菌共通祖先に関して、

A. 単量体あるいはホモオリゴマーで構造形成し、一遺伝子の産物単独で活性測定や耐熱測定が可能であること。B. できる限り、配

列が短い事。C. 3つの生物群のできる限り多くの生物種が持っていること。D. できる限り配列が保存されていること。E. とりわけ、できる限り挿入欠失配列を持たないこと。F. 活性測定ができる限り（とりわけ高温で）容易であること。

これらの基準に基づき、代謝系、翻訳系、複製系に関して以下の酵素を選択した。

代謝系：極めて多種類な酵素の中でも、ヌクレオチド二リン酸キナーゼ（NDK）は非常に高い配列保存性をもっている。また3つの生物群に保持されている。とりわけ重要な事は、NDKはほとんど挿入欠失を持たないことである。即ち、祖先配列推定する際、祖先遺伝子はその部分で配列を持っていたのか欠失かの推定が極めて容易に行うことができる。これは、タンパク質発現において極めて重要な点である。タンパク質構造上アミノ酸残基の置換よりも配列の挿入欠失により構造が（従って耐熱性や活性も）より深刻な影響を受けることがよく知られている。そこで、ヌクレオチド二リン酸キナーゼ（NDK）を対象酵素として選定した。

翻訳系：翻訳系酵素の中で、リボソーム構成タンパク質は多数あるが、それらは巨大な複合体を形成して機能するので対象とはしない。伸長因子はかなりよい対象であるが、3つの生物群に異なった挿入欠失があることが知られているので第一候補とはしなかった。多数のアミノアシル tRNA 合成酵素（以下ARS）の内でも、ホモダイマーで活性を示すGlyRSのグループ（ $\alpha 2$ タイプ）を候補とする。すでに、上記項目に関する検討から $\alpha 2$ タイプのGlyRSの系統樹作製、祖先型配列推定を行い、祖先型変異酵素作製に基づく全生物の共通祖先の解析を行い、報告している（Shimizu et al. 2007）。即ち、この酵素のタンパク質発現、精製、耐熱性測定、酵素活性測定技術を既に持っている。そこで、 $\alpha 2$ タイプグリシル tRNA 合成酵素（以下GlyRS）を候補とした。

複製系：DNAポリメラーゼは幾つかの異なったファミリーがあり三つの生物群が異なったファミリー酵素を用いている。また遺伝子が大きいので候補とはしない。II型トポイソメラーゼの中でもジャイレースを選択する。これは、 α と β の二つのサブユニットからなっているが、 β サブユニットは単独で構造形成しATPase活性をしめす。本申請者は既に、古細菌Thermoplasmaのジャイレースの研究実績（Yamashiro & Yamagishi 2005）があり、大量発現、精製、活性測定技術を既に持っている。そこで、ジャイレース β サブユニットを選択した。

転写系：本来ならば転写系酵素も研究対象とすべきである。しかし、RNAポリメラーゼは巨大な複合体であり本研究対象として不

向きである。また、転写因子はDNAと結合して活性を示すので、活性や安定性には結合配列情報が必要である。しかし、祖先転写因子がどのような結合配列を持つかの推定は難しい。さらに、転写系は翻訳系と同様の系統樹を示すことが知られているので、おそらく翻訳系の結果が転写系にもあてはまると予想される。そこで本研究では転写系酵素を研究対象とはしなかった。

② つぎに、全生物の共通祖先に関して

上記の条件AからFに加えて、G. 相同配列を持つ双子の酵素（ファミリー酵素）を持つことを条件とした。全生物の共通祖先の配列推定の為には、系統樹に根を付ける為には双子の酵素の一方を他方の外群とする必要がある（Iwabe et al. 1989）。そこで、本研究室でこれまで、解析を行ってきた、代謝系酵素イソプロピルリンゴ酸脱水素酵素（以下IPMDH）を対象とする。この酵素はイソクエン酸脱水素酵素（以下ICDH）と相同で、古細菌と真正細菌の分岐前に二つの酵素に分岐したことが知られている（例えばMiyazaki et al. 2001）。これまでIPMDHとICDHの系統樹作製と祖先型変異酵素作成の研究を行ってきた（Miyazaki et al. 2001, Iwabata et al. 2006, Watanabe et al. 2006, 2007）。従って、遺伝子発現、酵素精製、活性測定技術を既に持っている。特に、双子の酵素を対象とすると相同性はいよいよ低くなり、配列の全領域でのアライメントは難しくなる。そこで、立体構造を考慮して構造上相同位置のアミノ酸を一致させてアライメントを行う。この酵素群は、幾つかの生物に関して両酵素の立体構造が報告されておりその点でも適当である。

(2) 系統樹作製と祖先配列推定

次いで選択した酵素に関して系統樹を作製した。CLUSTAL X (Thompson, 1997)を用いたアライメントを行い、次いで立体構造を考慮したアライメントの修正を行った。GBLOCKS (Castresana, 2000)で配列を切り出した後、Tree Puzzle (Schmidt, et al. 2002)とCODEML (PAMLパッケージ中, Yang, 1997)を用いて最尤系統樹を作成した。得られた系統樹を用いてCODEMLで祖先配列を推定した。さらに、同じ系統樹を用いてGASPによりギャップの位置を推定した。こうして、最尤法で推定した配列の内からGASPで決定した配列部分を切り出し、祖先配列とした。

(3) 祖先型遺伝子合成とタンパク質発現精製と活性測定

推定した遺伝子のアミノ酸配列を大腸菌の高使用頻度を用いて逆翻訳した。ただし、繰返し配列はPCRエラーの要因となるので、その部位のコドンは第二の高頻度コドンと

交換した。また、制限酵素部位を検索し、必要ない制限酵素部位はコドン変更で解消した。全体を 20 塩基ほど互いに重複する 100-120 塩基のオリゴヌクレオチドに分割し合成した。これらを混合して PCR により遺伝子合成を行った (Hoover and Lubkowski 2002)。最もエラーの少ないクローンを選択した後、通常の PCR による部位特異的変異導入法で正しい祖先型配列に修復した。

修正し配列を確認した祖先型遺伝子を、発現ベクターに導入し、BL21 で発現した。大腸菌を集菌のち、破碎し、遠心後の上清からタンパク質を精製した。

(4) 耐熱性測定

一定温度での熱処理後の残存活性を測定することから耐熱性を測定した。また、温度を一定速度で上昇させ、タンパク質変性に伴う二次構造の消失を CD で評価した。

引用文献

- 1) Shimizu, H., et al.: J. Mol. Biol. 369, 1060-1069 (2007).
- 2) K. Yamashiro and A. Yamagishi.: J. Bacteriol. 187, 8531-8536 (2005).
- 3) Iwabe, N.: Proc. Natl. Acad. Scie. USA. 86, 9355-9359 (1989).
- 4) Miyazaki, J.: et al. J. Biochem. (Tokyo) 129, 777-782 (2001).
- 5) Iwabata, H. et al.: FEMS Microbiol Lett. 243, 393-398 (2005).
- 6) Watanabe, K. et al.: J. Mol. Biol. 355, 664-674 (2006).
- 7) Watanabe, K. et al.: FEBS Lett. 580, 3867-3871 (2006).
- 8) Edwards, R.J. & Shields, D.C.: BMC Bioinformatics, 5, 123 (2004).
- 9) Thompson, J. D., et al.: Nucleic. Acids Res. 25, 4876-82 (1997).
- 10) Castresana, J.: Mol. Biol. Evol. 17, 540-52 (2000).
- 11) Schmidt, H. A., et al.: Bioinformatics 18, 502-504 (2002).
- 12) Yang, Z.: Comput. Appl. Biosci. 13, 555-556 (1997).
- 13) Hoover, D. M. and J. Lubkowski: Nucleic. Acids Res. 30(10), e43 (2002).

4. 研究成果

全生物の共通祖先が存在しているかどうか、またその数や性質に関しては議論がある。本研究では、共通祖先遺伝子を再生し、その解析を行った。

まず、研究対象とする酵素遺伝子の配列をもとにデータベースを検索して相同な配列を探し出した。配列のアライメントを行った後、立体構造を考慮したアライメントの修

正を行った。最尤系統樹を作成し、得られた系統樹を用いて祖先配列を推定した。次いで、推定した遺伝子のアミノ酸配列を大腸菌の高使用頻度を用いて逆翻訳した。全体を 20 塩基ほど互いに重複する 100-120 塩基のオリゴヌクレオチドに分割し発注した。これらを混合して PCR により遺伝子合成を行った。配列を確認した祖先型遺伝子を、発現ベクターに導入し、適当な宿主で発現し、発現タンパク質を精製した。以下に各酵素の結果を記載する。

(1) DNA ジャイレース B サブユニット

細菌祖先型アミノ酸配列をコードする遺伝子を合成した。合成した遺伝子を大腸菌内で発現させ、精製した。ゲルろ過クロマトグラフィーにより会合状態の解析を行ったところ、単量体で存在していることが示された。精製した祖先型 DNA ジャイレース B サブユニットの耐熱性を測定したところ、2 段階変性を示した。1 段階目の変性中点は約 66°C、2 段階目は約 82°C であった。1 段階目は C 末端ドメインの変性、2 段階目は N 末端 ATPase ドメインの変性に対応していると思われる。

そこで、祖先型 DNA ジャイレース B サブユニットの N 末側ドメインに相当する ATPase ドメインの解析を行った。ゲルろ過クロマトグラフィーにより会合状態の解析を行ったところ、単量体で存在していることが示されたが、ATP の誘導体である ADP-PNP 存在下で保温した後ゲルろ過クロマトグラフィーを行ったところ、2 量体化が確認された。この性質は報告されている大腸菌由来 DNA ジャイレース B サブユニットの ATPase ドメインと類似していた。また、祖先型 ATPase ドメインは好熱菌由来 ATPase ドメインと同程度の高い耐熱性を有していることが示された。活性測定の結果からは、好熱菌由来 ATPase ドメインより大きい ATP 加水分解活性を持つことが示された。観察された高い耐熱性と触媒活性が祖先型アミノ酸配列に起因するものか、あるいはコンセンサ配列に近づけた効果であるかを確かめるために、コンセンサ配列からなる ATPase ドメインも構築し、解析を行った。その結果、コンセンサ ATPase ドメインは祖先型 ATPase ドメインよりも耐熱性、活性ともに劣っており、祖先型 ATPase ドメインの高い耐熱性と触媒活性は祖先型設計によるものであることが示された。

(2) グリシル tRNA 合成酵素 (GlyRS)

細菌祖先型 GlyRS の配列を推定し、祖先型酵素の遺伝子を作製した。大腸菌中で発現した酵素を精製し、その解析を行った。祖先型 GlyRS は 88°C まで耐熱であり、高度好熱菌 *Thermus thermophilus* の GlyRS よりも高い活

性をしめした。現在のところまだ、活性が観察されておらず、さらなる配列推定の改善が必要であるが、祖先型翻訳系酵素が高度好熱菌より高い耐熱性をしめしたことは、翻訳系に関しても祖先生物が高温で生育していたことを支持する結果である。

(2) イソプロピルリンゴ酸脱水素酵素 (IPMDH)

全生物共通の祖先型 IPMDH のアミノ酸配列を推定し、その配列をコードする遺伝子を人工合成した。その遺伝子を大腸菌内で発現させ、カラムクロマトグラフィーで精製した。精製した祖先型 IPMDH のゲルろ過クロマトグラフィーを行ったところ、4 量体と思われる溶出位置にピークが見られた。熱変性測定により耐熱性を測定したところ、変性中点温度は約 55°C であった。ただし、この祖先型 IPMDH の活性測定を行ったところ、検出出来るレベルの活性は見られなかった。このことから、祖先型アミノ酸配列の推定に誤りがある可能性も否定できなかった。実際、祖先型配列の推定に用いた現存 IPMDH のマルチプルアライメントを見直したところ、アライメントの正確性に疑問が残る箇所が見られた。そこで、マルチプルアライメントの修正を行い、祖先型アミノ酸配列を推定しなおした。この修正した配列をコードする遺伝子を合成した。

(3) ヌクレオシド二リン酸キナーゼ (NDK)

古細菌祖先型 NDK と真正細菌祖先型 NDK はどちらも 100°C 以上の高い耐熱性を示すが、古細菌祖先型 NDK の変性温度は真正細菌祖先型 NDK に比べて 13°C 高い。しかし、2 つの祖先型 NDK のアミノ酸配列を比べると 12 残基しか変わらない。そこで、真正細菌祖先型 NDK の古細菌祖先型 NDK と異なっているアミノ酸部位に、古細菌祖先型アミノ酸を導入した 12 個の 1 アミノ酸置換体を作製し、その耐熱性を測定した。その結果、10 変異体が真正細菌祖先型 NDK と同程度の耐熱性を示した。残りの 2 つの変異体は真正細菌祖先型 NDK よりも高い耐熱性を示した。さらに、それら 2 つの変異体が持つアミノ酸置換を同時に真正細菌祖先型 NDK に導入したところ、古細菌祖先型 NDK とほぼ同じ程度の耐熱性を示した。すなわち、古細菌祖先型 NDK と真正細菌祖先型 NDK の耐熱性の違いは、2 つのアミノ酸の違いのみによって説明できることが分かった。古細菌祖先型 NDK と真正細菌祖先型 NDK のアミノ酸配列が 30 億年以上前に実在した配列を正しく再現できていると仮定すれば、本研究の結果から、古細菌祖先型生物と真正細菌祖先型生物はどちらも耐熱性の高いタンパク質を保持しており、さらに古細菌祖先と真正細菌祖先の中間に位置すると予想される全生物共通祖先も耐熱性の高いタンパク質

を保持していた可能性が高いことになる。ただし、復元した祖先型配列の正確性に関しては今後検討の余地がある。

(4) まとめ

以上の様に翻訳系、代謝系、複製系の祖先型酵素を作製した。そのうち、翻訳系酵素に関しては、細菌の祖先型酵素の作製に成功し、高度好熱菌よりも高い耐熱性を持つことが明らかとなった。複製系に関しても、細菌祖先型酵素を作製し、高い耐熱性をもつことが明らかとなった。代謝系酵素では、当初選定した IPMDH に関しては祖先型酵素の作製まで到達していない。しかし、以前より研究を進めていた NDK に関して、いくつかの変異酵素を作製することにより、細菌、古細菌、全生物共通祖先の祖先型酵素がどれも非常に高い (100°C 以上) 耐熱性を持つことを明らかにした。以上、当初の目的を達成した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

- ① Yamashiro, K., Yokobori, S., Koikeda, S., and Yamagishi, A., Improvement of *Bacillus circulans* β -amylase activity attained using the ancestral mutation method, *Protein Engineer. Des. Select.* 23, 519-528 (2010) 査読有り。
- ② 赤沼哲史, 山岸明彦, 「好熱菌のタンパク質はなぜ熱に強いのか」、*生化学* 81, 1064-1071 (2009) 査読有り
- ③ 山岸明彦, 生命の進化と古細菌. 蛋白質核酸酵素 54(2): 108-113 (2009) 査読有り
- ④ Akanuma, S. and Yamagishi, A. Experimental evidence for the existence of a stable half-barrel subdomain in the (beta/alpha)₈-barrel fold. *J. Mol. Biol.* 382 (2):458-466 (2008) 査読有り
- ⑤ Sasaki, M., Uno, M., Akanuma, S. and Yamagishi, A. Random mutagenesis improves the low-temperature activity of the tetrameric 3-isopropylmalate dehydrogenase from the hyperthermophile *Sulfolobus tokodaii*. *Protein Eng. Des. Sel.* 21: 721-727 (2008) 査読有り

[学会発表] (計 22 件)

- ① 赤沼哲史, 横堀伸一, 小林愛美, 山岸明彦, 祖先型設計による耐熱性タンパク質の構築, 第 10 回日本蛋白質学会年会, 2010/6, 札幌
- ② 山岸明彦, 演題: 生命の起源と初期進化: 遺伝情報から何が分かるか, 第 12 回日本進化学会大会, 2010/8, 横浜

- ③ 赤沼哲史、山口美奈子、小林愛美、横堀伸一、山岸明彦、中立異変の蓄積を減らした祖先型タンパク質間の比較による配列—安定性相関の解析、第48回日本生物物理学会年会、2010/9、仙台
- ④ 山岸明彦、タンパク質工学の二十年 進化工学から祖先型耐熱化へ、生物工学会発足20周年記念行事、2010/12、東京（招待講演）
- ⑤ 赤沼哲史、富士田彩子、金城健太、上野絵美、松葉拓、根本直樹、山岸明彦、100℃を超える温度でも安定な天然および人工タンパク質の熱変性解析、第9回日本蛋白質科学会年会、2009/5、熊本
- ⑥ 山岸明彦、ゲノム情報から探る太古の生命、日本地球惑星科学連合学会2009年大会、2009/5、幕張
- ⑦ 赤沼哲史、木村光夫、横堀伸一、山岸明彦、生物の共通の祖先のタンパク質の再現と生育温度、日本Achaea研究会第22回講演会、2009/7、札幌
- ⑧ 赤沼哲史、木村光夫、横堀伸一、山岸明彦、生物の共通の祖先の蛋白質の再現からその生育温度を推定する、第11回日本進化学会大会（札幌大会）2009/9、札幌
- ⑨ 横堀伸一、山岸明彦、遺伝子情報から推定された蛋白質の解析から全生物の共通祖先の性質を推測する：全生物の共通祖先は（超）好熱性だったかのか、日本遺伝学会第81回大会2009/9、松本、（招待講演）
- ⑩ 山岸明彦、生命の初期進化と全生物の共通祖先、第82回日本生化学会大会、2009/10、神戸（企画シンポジウム講演）
- ⑪ 福田靖久、田村隆、阿部明香、岸本高英、曾我部敦、渡辺敬子、山岸明彦、稲垣賢二、祖先型変異導入によるグリセロールキナーゼの熱安定化、第82回日本生化学会大会、2009/10、神戸
- ⑫ 小林愛美、赤沼哲史、根本直樹、木村光男、横堀伸一、山岸明彦、古細菌祖先型と真正細菌祖先型ヌクレオシド二リン酸キナーゼの耐熱性の違い、第47回日本生物物理学会年会、2009/10、徳島
- ⑬ 赤沼哲史、横堀伸一、小林愛美、山岸明彦、Thermal stability and catalytic properties of resurrected ancestral types of nucleoside diphosphate kinase. 第32回日本分子生物学会年会、2009/12、横浜
- ⑭ 赤沼哲史、横堀伸一、小林愛美、山岸明彦、古細菌/真正細菌共通祖先の持っていた蛋白質の復元とその特徴、第35回生命の起源および進化学会学術講演会、2010/3、函館
- ⑮ Yamagishi, A. New way of designing thermostable enzymes by using phylogenetic trees. BIT' s 1st Annual World Congress of Industrial Biotechnology, 2008 (iBio-2008)、2008/5, Hangzhou, China

- ⑯ 山岸明彦、酵素の祖先型改変。第8回日本蛋白質科学会年会、2008/6、東京
- ⑰ 横井珠希、岩見祥子、金城健太、渡邊英哲、横堀伸一、赤沼哲史、山岸明彦。復元した祖先型 DNA ジャイレースの熱安定性。第8回日本蛋白質科学会年会、2008/6、東京
- ⑱ 山岸明彦。酵素の祖先型改変耐熱化。第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会合同大会、2008/12、神戸
- ⑲ 羽根晃平、清水秀明、横堀伸一、山岸明彦。祖先型グリシル tRNA 合成酵素の研究。第34回生命の起原および進化学会学術講演会、2009/3、大阪
- ⑳ 山岸明彦。生命の初期進化：どこまでわかったか。生命科学研究シンポジウム2009、2009/3、東京（特別講演）
- 他2件

〔図書〕（計4件）

- ① 山岸明彦、第2章 遺伝子情報をさかのぼり祖先の姿をさぐる、生命の起原をさぐる：宇宙からよみとく生物進化。奥野誠、馬場昭次、山下雅道編 p.100-119 東大出版会（2010）
- ② 山岸明彦、第1章 生命進化における極限環境、新しい生物学第10巻極限環境生物学、p.1-44 岩波（2010）
- ③ 山岸明彦、生命の進化と古細菌、蛋白質核酸酵素 54(2)：108-113（2009）
- ④ 山岸明彦、第1章 生命の起源と初期進化、海洋生命系のダイナミクス・シリーズ第1巻「海洋の生命史」、p.10-27、東海大学出版社（2009）

〔その他〕

ホームページ等

山岸明彦、特集原子、分子から見た生命、化学進化から全生物の祖先へ—好熱菌誕生への道のり—（談：山岸明彦）、オンラインマガジン ぬれきてる、2010年3月号 <http://www.toshiba.co.jp/elekitel/special/2010/19/sp_01_a.htm>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山岸 明彦 (YAMAGISHI AKIHIKO)
東京薬科大学・生命科学部・教授
研究者番号：50158086

(2) 研究分担者

横堀伸一 (YOKOBORI SHIN-ICHI)
東京薬科大学・生命科学部・講師
研究者番号：40291702

赤沼 哲史 (AKANUMA SATOSHI)
東京薬科大学・生命科学部・助教
研究者番号：10321720