

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：12102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2022

課題番号：20K22359

研究課題名(和文) 抗酸化酵素に用いられる活性中心金属の進化と大気海洋酸化還元変動史との関連性の解明

研究課題名(英文) Evolution of active center metals used in antioxidant enzymes and its relationship to the redox history of the atmosphere and oceans

研究代表者

原田 真理子 (Harada, Mariko)

筑波大学・生命環境系・助教

研究者番号：80833631

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、抗酸化酵素スーパーオキシドジスムターゼ(SOD)の活性金属中心の起源と進化を明らかにすることを目的とし、分子系統解析および生物実験を行った。シアノバクテリアが保持する4種のSOD：鉄(Fe)、マンガン(Mn)、銅・亜鉛(Cu・Zn)、ニッケル(Ni)を活性中心とするSODについて行った分子系統解析の結果、シアノバクテリアが保持するSODの活性金属中心は、海洋の溶存金属元素濃度の変動史と整合的に選択されてきた可能性が示唆された。このうちFeSODおよびMnSODについては、祖先型遺伝子配列の推定と遺伝子合成が完了し、今後、祖先型タンパク質の再生を行うことが可能である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

抗酸化酵素は現代の生物に広く分布し、活性酸素の毒性から生体分子を防御するために重要な役割を果たしている。しかしながら、その進化の過程は明らかでなく、種々の抗酸化酵素が選択されてきた背景も不明であった。本研究は、さまざまなSODが生息する化学的な環境に応じて選択される可能性を、シアノバクテリアと大気海洋の環境変動史との比較を例に明らかにした。同様の事象が他の生物や抗酸化酵素について検証されれば、抗酸化酵素の分布や役割の整理につながり、地球生命科学のみならず生物学等の他分野にも波及する重要性をもつと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Molecular phylogenetic analysis and biological experiments were conducted to elucidate the origin and evolution of the active metal center of the antioxidant enzyme, superoxide dismutase (SOD). Molecular phylogenetic analysis of four cyanobacterial SODs: iron (Fe)-, manganese (Mn)-, copper/zinc (Cu/Zn)-, and nickel (Ni)-SOD, suggested that the active metal centers of cyanobacterial SODs were selected consistently with the history of variation in dissolved metal concentrations in the ocean. Among these, for FeSOD and MnSOD, the ancestral gene sequence has been deduced and gene synthesis has been completed, thus it will be possible to regenerate the ancestral protein in the future.

研究分野：地球生命科学

キーワード：抗酸化酵素 シアノバクテリア 酸化還元環境

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

酸素は現在では大気の主成分を占めており、人類を含む多くの生物は酸素無くしては生きられない。地質記録によれば、初期地球の大気は還元的であり、酸素は約 20-25 億年前と 6-7 億年前に急激に大気に蓄積した(図 1)。還元的環境に適応していた生命は、酸素環境に対し好気呼吸を獲得するなどの適応進化を遂げ、現在の姿に至ったとされる。一方で、酸素が還元されて生体内に生じる活性酸素種は、生体分子を損傷し生命に深刻な危機をもたらす。酸素存在下で生物が生きるためには、酸化損傷に対する防御機構の進化が不可欠である。

現在の生物において最も重要な防御機構は、活性酸素を除去する反応を触媒する抗酸化酵素であり、その代表がスーパーオキシドジスムターゼ(SOD)である。SODは金属元素を活性中心に用いており、これまでに活性中心金属が異なる4種のSODが知られている。現在の生物を対象とした観測や実験からは、環境中の金属元素の濃度が活性中心金属の選択に影響することが示唆されてきた。他方、海洋中の金属元素の濃度は、大気酸素濃度の変動などの影響を受け、地球史を通じて数桁変化してきたと推定されている。しかしながら、SODの活性中心金属元素の選択と地球環境進化との関係はこれまで明らかでなかった。

2. 研究の目的

本研究は、現在の生物において一般的な防御機構である、抗酸化酵素スーパーオキシドジスムターゼ(SOD)の起源と進化を明らかにすることを目的とする。SODの進化と地球環境進化、とりわけ環境中の酸化還元度および金属元素濃度との比較から、活性金属中心の選択と環境変動との相互関係を議論する。

3. 研究の方法

SODの金属選択性が共通祖先からどう進化し、酵素活性を変化させたかを、シアノバクテリアに着目した分子系統解析により明らかにする。また、祖先型SODアミノ酸配列の復元と祖先型酵素の再生実験を行う。生物地球化学循環モデルや地質学的記録から推定された、過去の海洋中の金属元素濃度進化を、SODの活性金属中心の選択性進化と比較する。以上の結果から、地球環境がSOD進化を決定したのか、地球環境とは独立にSODが進化したのかを解明する。

4. 研究成果

シアノバクテリアに真正細菌・古細菌を外群として加えたゲノムデータベースを構築し、鉄(Fe)とマンガン(Mn)、銅・亜鉛(CuZn)、ニッケル(Ni)を活性中心とする4種のSODの遺伝子の分布を調査した。さらに、データベースからそれぞれのアミノ酸配列を収集し、分子系統解析を行った。その結果、シアノバクテリアにおいてFe・MnSODは多くの系統群に分布しており、その起源は比較的早く、大酸化イベントやシアノバクテリアの共通祖先の分岐よりも前であることが示唆された。FeSODとMnSODの祖先は共通の祖先から誕生し、金属選択性の低い状態からそれぞれのSODが分岐したと考えられる。また、ニッケル(Ni)を活性中心とするNiSODについても、大酸化イベント前後には誕生していた可能性があることが示唆された。NiSODは原代後期に生じた2回目の大気酸素濃度上昇イベント(NOE)前後に誕生した海洋性の系統群(海洋性*Synechococcus*および*Prochlorococcus*属)に特に多く分布しており、その多くはFeSODを失っていることも明らかになった。銅・亜鉛を活性中心とするCuZnSODについては、解析に適した配列データセットが得られず、シアノバクテリアにおける獲得時期を特定できなかった。

地質記録および生物地球化学循環モデルの計算結果からは、海洋中の溶存Fe・Mn濃度は大気酸素濃度の上昇に伴って、濃度が高い状態から現在の著しく低い状態に変化してきたと推定される。Fe・MnSODが多くのシアノバクテリアに分布している事実は、進化の初期段階において環境中に溶存Fe・Mnが高濃度に存在していたことを反映していると考えられる。一方、NOE前後に新たに分岐した海洋性のシアノバクテリアは、鉄に枯渇した外洋で多様化する過程において、FeSODの代わりにNiSODを用いるようになったと推測される。本研究の結果からは、抗酸化酵素の多様化が大気酸素濃度の上昇の前後に起きた可能性があること、また、用いられる活性中心金属が、環境中の金属イオン濃度に影響を受けて複雑に進化(獲得・喪失)してきた可能性が示唆された(図1)。

本研究では、活性金属中心の進化についてさらなる解析を推し進めるため、祖先型酵素の復元実験も試みた。シアノバクテリアの共通祖先(CyanoAnc)およびNostocalean共通祖先(NosAnc)について、祖先型FeSOD配列を分子系統解析により推定した(図2)。これらについて、人工遺伝子の合成および調整が完了したものの、大腸菌内での大量発現には至らなかった。今後、継続して発現条件の検討を行うことを計画している。また、本研究の成果をもとに、より年代の古い祖先型FeSODおよびMnSODについても研究対象とし、分子系統解析と祖先型復元実験を進める予定である。

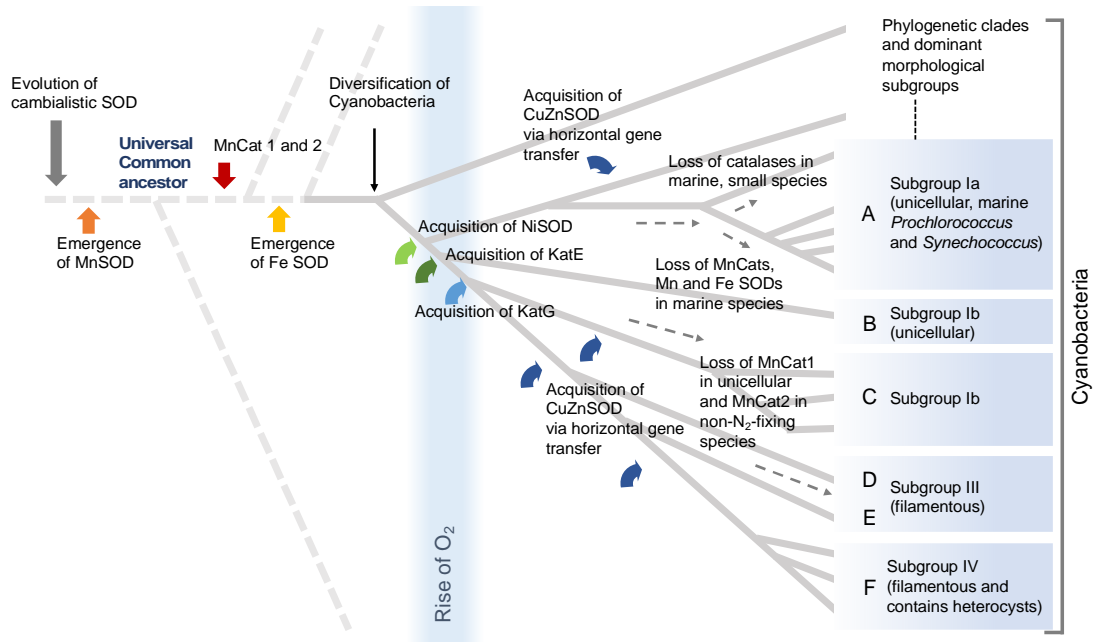


図 1 シアノバクテリアにおける抗酸化酵素の進化の概念図

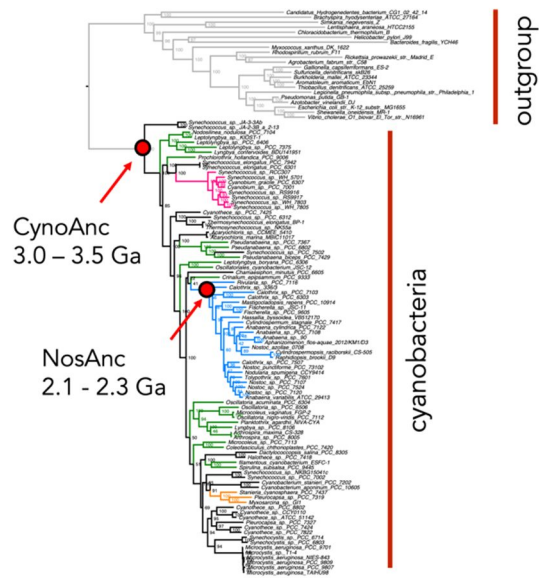


図 2 復元されたシアノバクテリア祖先型 SOD の分岐

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Mariko Harada, Ayumi Akiyama, Ryutaro Furukawa, Shin-ichi Yokobori, Eiichi Tajika & Akihiko Yamagishi	4. 巻 89
2. 論文標題 Evolution of Superoxide Dismutases and Catalases in Cyanobacteria: Occurrence of the Antioxidant Enzyme Genes before the Rise of Atmospheric Oxygen	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Molecular Evolution volume	6. 最初と最後の頁 527, 543
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00239-021-10021-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Mariko Harada
2. 発表標題 Evolution of cyanobacteria and ancient biogeochemistry inferred from ancestral protein resurrection
3. 学会等名 原核光合成シンポジウム（第64回植物生理学会年会関連集会）（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------