

2020年9月2日

報道関係者各位

国立大学法人筑波大学

ミトコンドリアのATP産生能力は、真核生物の進化中に複数回失われた

研究成果のポイント

1. これまで顕微鏡観察でしか研究されていなかった単細胞真核生物バルセロナ類について、培養株から取得したトランスクリプトームデータ^{※1)}をもとに、大規模分子系統解析とミトコンドリア代謝機能の推測を行いました。
2. その結果、バルセロナ類はフォルニカータ生物群の原始系統であること、また、この生物のミトコンドリアはATP^{※2)}産生能力を2次的に欠失したことが推測されました。
3. バルセロナ類とは系統的に離れた種でもATP産生能力がないミトコンドリアが報告されており、ミトコンドリアのATP産生能力の欠失は、真核生物の進化上、独立に少なくとも2回起こったと考えられます。

筑波大学 生命環境系 矢崎裕規研究員(現 理化学研究所 iTHEMS 特別研究員)と計算科学研究センター 稲垣祐司教授を中心とした研究グループは、単細胞真核生物バルセロナ類(*Barthelona* spp.)の系統的位置とミトコンドリア代謝機能を、トランスクリプトームデータを基盤とする各種解析により解明しました。

バルセロナ類は低酸素環境中に生息する、系統的位置がはっきりとしない、いわゆる「みなしご生物」の1系統であり、これまで遺伝子配列データは全く報告されていませんでした。本研究では、まずバルセロナ類の実験室内培養株5株を確立し、そのうち1種についてトランスクリプトームデータを取得しました。これをもとに大規模分子系統解析を行ったところ、バルセロナ類はフォルニカータ生物群の原始系統であることが分かりました。好気呼吸を行う真核生物と、低酸素環境に生息するフォルニカータ生物のミトコンドリアとでは、ATP産生機構が大きく異なることが報告されており、フォルニカータ生物群におけるミトコンドリア機能の進化を理解する上で、その原始系統であるバルセロナ類のミトコンドリア代謝機能を解明することは重要です。

次にバルセロナ類のミトコンドリア代謝機能を推測したところ、ミトコンドリアにおけるATP産生に関わるタンパク質群は見つかりませんでした。これは、バルセロナ類のミトコンドリアではATPが産生されず、生存に必要なATPは細胞質で産生していることを示唆します。これまでにATP産生能力が欠失したミトコンドリアは、フォルニカータ生物群に属するランブル鞭毛虫とその近縁種で発見されています。しかしバルセロナ類はそのいずれとも系統的に近縁ではなく、両者のATP産生能力が欠失したミトコンドリアは、フォルニカータ生物群の進化中で独立に確立したと考えられます。本研究の成果は、低酸素環境に適応したミトコンドリア機能の進化が我々の予想以上に複雑であることを示唆します。

本研究の成果は、2020年9月2日付*Proc. Roy. Soc. B*で公開されました。

* 本研究は、日本学術振興会科学研究費補助金(科研費)基盤研究(B)(19H03280:稲垣祐司、17H03723:谷藤吾朗、15H05231:橋本哲男)および海外共同研究加速基金(国際共同研究強化(B))(18KK0203:稲垣祐司、19KK0185:橋本哲男)、新学術領域研究(23117004:石田健一郎)、筑波大学生命の樹プロジェクト(H25~H30)によって実施されました。また、本研究の大規模分子系統解析は筑波大学計算科学研究センターの学際共同利用プログラム(Oakforest-PACSシステム)を、トランスクリプトームデータの解析の一部は情報・システム研究機構国立遺伝学研究所が有する遺伝研スーパーコンピュータシステムを利用して実施しました。

研究の背景

単細胞真核生物の中には系統的 위치がはっきりとしない生物種(いわゆる「みなしご生物」)が多数存在し、少なくともその一部は真核生物の多様性や進化を解明する上でカギとなる情報を持つと期待されています。例えば、特定の系統群の初期に分岐することが判明した「みなしご生物」は、近縁となった系統群の初期進化を理解する上で重要な生物である可能性があります。

真核生物がもつ細胞小器官の1つであるミトコンドリアの主たる機能はATPの産生です。酸素が十分にある環境下で生息する真核生物では、ミトコンドリアにおいて好気呼吸を行うことで効率的にATPを産生できます。一方、好気呼吸をするには十分とは言えない低酸素環境に生息する生物も多数存在しており、このような真核生物のミトコンドリアは、構造的にも機能的にも縮退していることが知られています。このような縮退型ミトコンドリア(ミトコンドリア関連オルガネラ/mitochondrion-related organelles; MRO)の内部にはミトコンドリア内膜のひだであるクリステ構造がみられません。通常ミトコンドリアでは、電子伝達系^{注3)}とクエン酸回路^{注4)}でATPが産生されますが、基本的にMROにはこれらの反応系は欠失しています。その代わりに、これまで研究されてきた大多数のMROでは、基質レベルのリン酸化によるATP産生が行われています。

MROの機能と進化に関する先行研究では、フォルニカータ生物群が大きな役割を果たしてきました。フォルニカータ生物群は、低酸素環境下に生息するMROをもつ単細胞真核生物だけで構成されます。最も研究が進んでいるフォルニカータ生物はヒト腸内に寄生する病原性原虫であるランブル鞭毛虫(*Giardia intestinalis*)ですが、低酸素の自然環境中に生息する自由生活性フォルニカータ生物も多数発見されています。また系統的に広範なフォルニカータ生物に対する比較トランスクリプトーム解析により、この生物群中でMRO機能が複雑に進化してきたことが示唆されています。

研究内容と成果

バルセロナ類(*Barthelona* spp.)は世界各地の低酸素環境で観察されている単細胞真核生物ですが、本研究以前には、顕微鏡観察による細胞形態の報告が発表されているだけでした。バルセロナ類は既知の真核生物と明らかな形態上の類似点がないため、他の真核生物との系統的関係がはっきりとしない「みなしご生物」の1つでした。本研究ではバルセロナ類の実験室内培養株5株を確立し、そのうち2011年にパラオ共和国で分離したPAP020株(図1;写真左)についてトランスクリプトーム解析を行いました。このデータから抽出した148遺伝子の配列データを系統解析したところ、PAP020株がフォルニカータ生物群の原始系統であることが、高い統計的サポートのもとで推測されました(図1;系統樹)。この結果は、PAP020株を含むバルセロナ類が、フォルニカータ生物群の初期進化を解明する上で重要であることを示唆します。

電子顕微鏡によるPAP020株の細胞内微細構造観察では、典型的なミトコンドリアは見当たらず、MROと考えられる2重膜構造が見つかりました(図1;写真右)。148遺伝子データに基づくバルセロナ類の系統的 위치を鑑みると、そのMROの機能はフォルニカータ生物群のMRO機能の進化、特に祖先的フォルニカータ生物のMRO機能を推測する上で重要な情報をもつと期待できます。そこでPAP020株のトランスクリプトームデータ中に、ミトコンドリア/MRO内ではたらくタンパク質を探索したところ、ミトコンドリアにおけるATP産生に必要な電子伝達系およびクエン酸回路を構成するタンパク質、多くのMROがもつ基質レベルのリン酸化に関わるタンパク質のいずれも検出することができませんでした(図2左)。従って、バルセロナ類はATP産生能力を欠失したMROをもち、ATP産生は細胞質だけで行われていると考えられます。ATP産生能力を欠失しているMROは、フォルニカータ生物のうちランブル鞭毛虫とその近縁種である*Dysnectes brevis*でも報告されています。ただ、バルセロナ類はランブル鞭毛虫とも*Dysnectes*属とも系統的に近縁ではないことから、フォルニカータ生物群の進化中で、ATP産生能力を欠失したMROは少なくとも2回出現したと考えざるをえません(図2右)。本研究でバルセロナ類のMRO機能が明らかとなったことにより、フォルニカータ生物群のMRO機能の進化はこれまで考えられてきたよりも、さらに複雑であることが判明しました。

今後の展開

本研究からの結論は、PAP020 株のトランスクリプトームデータ中にミトコンドリア/MRO ではたらく ATP 産生に関わるタンパク質が検出できないという結果に基づいています。しかし特定のタンパク質がバルセロナ類に本当に存在するかしないかについて、トランスクリプトームデータだけで最終的に結論を下すことはできません。今後、バルセロナ類から高品質のゲノムデータを取得し、基質レベルのリン酸化に関わるタンパク質の有無を厳密に再検討する必要があります。またフォルニカータ生物の真の多様性を把握するため、自然環境中で新奇フォルニカータ生物を探索することも必要です。例えば、バルセロナ類よりも原始的なフォルニカータ生物が存在し、その MRO 機能を解明できれば、フォルニカータ生物群における MRO 機能の進化をより高精度で解明することが可能となるでしょう。

参考図

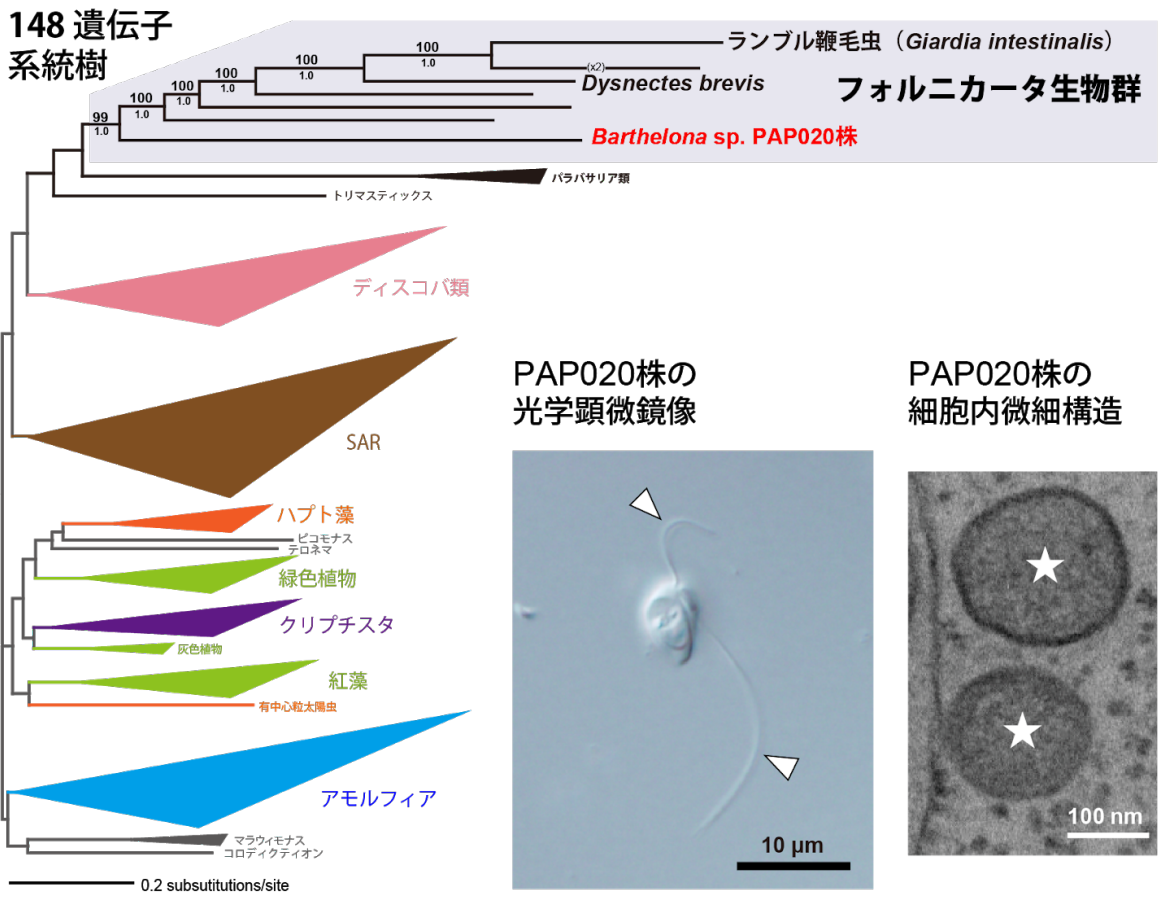


図 1. 148 遺伝子データにもとづき推測されたバルセロナ類の系統的位置。PAP020 株をふくむフォルニカータ生物の系統関係については、該当する枝の上と下に、最尤法ブートストラップ値とベイズ法事後確率(いずれも系統樹の各枝が形成する系統群の確からしさを示す値)のをそれぞれ表示した。PAP020 株とランブル鞭毛虫はフォルニカータ生物だが、互いに近縁とはならない。写真左:PAP020 株の光学顕微鏡像。2 本の鞭毛を矢じりで示した。写真右:PAP020 株の細胞内微細構造。ミトコンドリア関連オルガネラ(MRO)を星印で示した。

	細胞質	ミトコンドリア/MRO		
		電子伝達系	クエン酸回路	基質レベルのリン酸化
ヒト	○	○	○	(○)
バラバサリア類と 大多数のフォルニ カータ生物	○	×	×	○
バルセロナ類	○	×	×	×
ランブル鞭毛虫	○	×	×	×

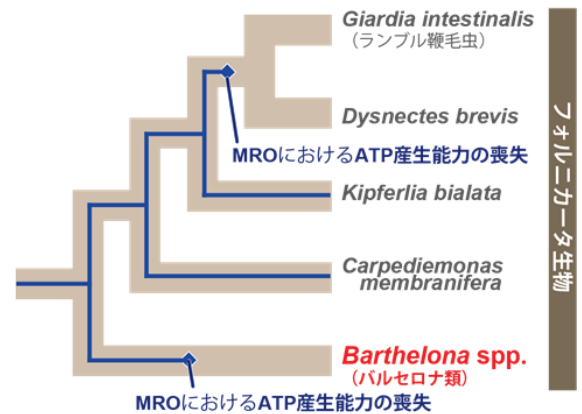


図 2. (左)ミトコンドリア/MRO 内ではたらく ATP 産生に関わる反応系の比較表。(右)フォルニカータ生物群における MRO 内での ATP 生産能力の進化。フォルニカータ生物の系統関係はグレーで示した。青線で示した MRO における基質レベルのリン酸化による ATP 産生は、バルセロナ類と、ランブル鞭毛虫と *Dysnectes brevis* の共通祖先において 2 回欠失したと考えられる。

用語解説

注1) トランスクリプトームデータ/トランスクリプトーム解析

遺伝子の転写産物であるメッセンジャーRNA の塩基配列を網羅的に決定する解析。ゲノムにふくまれる遺伝子の種類や、各々の遺伝子の転写量を推測することができる。

注2) ATP

アデノシン 3 リン酸。細胞内でエネルギーは ATP として蓄積されている。ATP に蓄積されたエネルギーは、ATP がアデノシン 2 リン酸(ADP)とリン酸基に加水分解されることで放出され、細胞内の各種化学反応に用いられる。

注3) 電子伝達系

クエン酸回路で産生された還元型補酵素 NADH や $FADH_2$ から複合体 I と複合体 II が抜き取った電子は、複合体 III および IV へ移動する。この複合体間での電子の移動に伴い、ミトコンドリア内膜を挟んで水素イオン濃度差が形成される。複合体 V は、この水素イオン濃度差を解消する過程とともに ATP を産生する。

注4) クエン酸回路

ミトコンドリア内の基質もしくは内膜で行われ、ピルビン酸を起点とした 7 段階の反応によって ATP を産生する。この回路内の反応で生じた NADH と $FADH_2$ は電子伝達系で用いられている。

掲載論文

【題名】 Barthelonids represent a deep-branching metamonad clade with mitochondrion-related organelles predicted to generate no ATP.

(バルセロナ類はメタモナス類の原始系統であり、ATP 産生能をもたないミトコンドリア関連オルガネラをもつ)

【著者名】 Euki Yazaki, Keitaro Kume, Takashi Shiratori, Yana Eglit, Goro Tanifuji, Ryo Harada, Alastair G. B. Simpson, Ken-ichiro Ishida, Tetsuo Hashimoto, Yuji Inagaki.

【掲載誌】 Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences (DOI: 10.1098/rspb.2020.1538)

問合わせ先

稲垣 祐司(いながき ゆうじ)

筑波大学 計算科学研究センター 教授

URL: <https://sites.google.com/site/memicrobes/home>