古細菌の進化的位置と真核生物の起源

九州大学理学部生物 岩 部 直 之

All extant organisms are thought to be classified into three primary kingdoms, eubacteria, eukaryotes, and archaeobacteria. Based on the analyses of a pair of duplicated genes, elongation factors EF-Tu/1 α and EF-G/2, and catalytic and noncatalytic subunits of ATPase (ATP synthase), archaeobacteria are more closely related to eukaryotes than eubacteria. While this relatedness is certified, phylogenetic relationship among several major groups of archaeobacteria (extreme thermophiles, extreme halophiles, and methanogens) and eukaryotes is still unsettled because the phylogenetic tree topologies among them vary with the genes analysed. The ambiguous situation suggests that archaeobacterial major groups and eukaryotes were diverged during very short period in the long course of evolution.

archaeobacteria/eukaryotes/molecular phylogenetic tree/duplicated gene/ATPase/elongation factor.

1. はじめに

全ての現存生物を二つに分類するとしたら、ふつう原核生物 (prokaryotes) と真核生物 (eukaryotes) にわけらう。では、原核生物 (あるいは細菌) をさらに分類せよといわれた場合、どのようにわけらうか? グラム陽性菌とグラム陰性菌にわけらうか? それとも球菌・かん菌・らせん菌にわけらうか?

1977年, Woese らはリボソーム RNA を用いて細菌を分子進化学的に分類した¹⁾。その結果, 高温・高塩濃度・強酸といった極端な環境に生息する細菌やメタンを生成する細菌が分子系統樹上ひとつのグループとなり, 他の細菌と区別できることが明らかになった。彼らはこれら一群の変った細菌に原始的という意味をこめて“古細菌 (archaeobacteria)”という名前をつけた。つまり, 厳しい原始的環境に生息していたであろう全生物の共通の祖先 (progenote) の性質を古細菌は継承していると彼らは考えたのだ。そして, 古細菌以外の細菌を“真正細菌 (eubacteria)”とした (ちなみに, よく実験などに用いられる大腸菌 (*Escherichia coli*) や枯草菌 (*Bacillus subtilis*) は真正細菌に

分類される。また, 好熱菌の全てが古細菌ではない。*Thermus aquaticus* などは真正細菌に含まれる)。さらに Woese らは, 古細菌と真正細菌という分類単位は真核生物と並ぶ程の重要なものだと主張した。その後のより精密な解析によって, 原核生物 (細菌) が二つのグループに分れることは確認され, 生物を三つの超生物界すなわち古細菌・真正細菌・真核生物に分類するという考え方は多くの生物学者に受け入れられてきた。

しかし, この Woese らの古細菌の発見後, 古細菌・真正細菌・真核生物の系統関係についての論争, あるいは古細菌そのものが真正細菌や真核生物のように単一な系統を形成するのかどうかという論争が起こった。そして, 前者の論争は最近になってようやく解決に至った。ここでは, これらの二つの問題を整理し, その解決法について解説を試みる。

話を進める前に一つ断っておきたいことがある。それは, 真核生物のミトコンドリアと葉緑体は真正細菌由来の共生体といわれており, 系統関係の上では真正細菌に含まれるということだ。この総説のなかでは, 特に断わらないかぎり, このようなオルガネラを除外したものを“真核生物”として古細菌あるいは真正細菌と対比していく。

2. 古細菌の進化に関する二つの問題点

RNA であればタンパク質であれば単一の分子を用いて推定した系統樹の上に, 最も古い時代の分岐点あるい

Evolutionary Position of Archaeobacteria and Origin of Eukaryotes.

Naoyuki IWABE

Department of Biology, Faculty of Science, Kyushu University.

図1. a) Woeseにより16S(18S)リボソームRNAの比較から推定された系統樹²⁾(一部改変). b) Lakeにより同じ16SリボソームRNAの比較から推定された系統樹⁴⁾(一部改変). イオウ依存高度好熱菌, メタン生成細菌, 高度好塩菌をそれぞれイオウ細菌, メタン細菌, 好塩菌と略記した. Lakeは彼の系統樹上で真核生物に近縁なイオウ細菌を eocytes と呼んでいる.

は系統樹の“根 (root)”を示すことは基本的にできない。もし、系統樹上に根を決めたい場合には二つの方法がある。

一つは、進化速度が一定であることを仮定した系統樹推定法を用いること。この場合は、最も遠い関係にあるペアの midpoint に根がきまる。ただし、過去から現在に至る進化速度がどの生物でも一定だったという保証はないので、このような系統樹推定法には本質的な問題がある。蛇足ながら注意しておく、RNA であればタンパク質であれば配列の相同性の程度から進化的類縁関係を論じている例をしばしば見かけるが、これも進化速度の一定性を仮定したことになる。

もう一つは、進化速度の一定性を仮定しない系統樹の上に、何らかの別の情報に基づいて根を仮定することだ。この別の情報というものが無い場合には根がない“無根系統樹 (unrooted tree)”で系統関係を示すことになる。

以上のことを最初に述べたのは、根が一般的には決定できないという事実が古細菌に関する論争の原因だったからである。

さて、図 1 a) は Woese らが 16S リボソーム RNA に基づいて推定した系統樹だ²⁾。この系統樹は、進化速度の一定性を仮定しない方法で推定した無根系統樹ということになる。第一の問題点は、正にどこに根を取ればいいのかということだ。Woese らは当初、三つの超生物界は同時に分岐したという説をだしていた¹⁾。それに対して、堀と大沢は 5S リボソーム RNA の解析から古細菌は真核生物と近縁であると主張した³⁾。しかしながら、両者の議論には進化速度の一定性が暗黙のうちに仮定されていた。16S リボソーム RNA の系統樹からでは三つの超生物界の分岐の順番、つまり根の位置が決められないので、Woese は無根系統樹として図 1 a) を示したのである。

第二の問題点は、古細菌の主要な三つのグループ、すなわちイオウ依存高度好熱菌・メタン生成細菌・高度好塩菌（ここでは、それぞれイオウ細菌・メタン細菌・好塩菌と略記する）と他の超生物界である真正細菌および真核生物の進化的関係だ。Woese の系統樹（図 1 a)）によれば、古細菌の三つのグループは一つのクラスターを形成しており、真正細菌あるいは真核生物のクラスターとは独立している。それに対して、同じ 16S リボソーム RNA を用いて推定した Lake の系統樹（図 1 b)）では、古細菌のうち好塩菌とメタン細菌は真正細菌と近縁でありイオウ細菌は真核生物と近縁になっている⁴⁾。ここで注意してほしいのは、

Lake の系統樹は有根であることだ。しかし、実際には Lake の系統樹も Woese の系統樹のように無根系統樹として示されるべきだった（後で述べるように、結果的には Lake の仮定した根の位置は正しくなかったようだ）。Lake の系統樹が有根であれ無根であれ、古細菌の三つのグループが一つのクラスターを形成するかしないかという点では Woese と Lake の系統樹は決定的に異なっている。

とにかく、三つの超生物界が分岐後互いに等しい速度で進化したという証拠がない以上、進化速度一定を仮定した議論はできない。つまり、進化速度の一定性を仮定せずにいかにして有根系統樹を推定するかが鍵となる。これができれば以上二つの問題点のかなりの部分は解決される。つぎに著者ら⁵⁾および Gogarten ら⁶⁾が開発した解決法を示す。

3. 「複合系統樹」の推定

実は、三つの超生物界が分岐する前に重複した遺伝子を用いて系統樹を推定することにより、これら三者の分岐の順番が簡単に決まる。図 2 にその原理を模式的に示した。要するに、図 2 a) の無根系統樹上に、遺伝子重複が起きた時期（図 2 a) の矢印）を系統樹の最も古い分岐点（つまり根）として仮定すると、有根系統樹として図 2 b) ができるのだ。これによって、自

図 2. 複合系統樹の推定法

a) 二つの遺伝子の同時比較から得られる無根系統樹。b) 期待される複合系統樹。系統樹の根 a は重複による二つの遺伝子の分岐を示す。三つの超生物界の分岐の順番 (b および c) は○で示している。AB, 古細菌; EB, 真正細菌; EK, 真核生物。

動的に三つの超生物界の分岐の順番が決定される。また、重複した二つの遺伝子それぞれにおいて同じ系統関係が示されると期待される。前章で述べた‘何らかの別の情報’とはこの場合“遺伝子重複”ということになる。このようにしてできた系統樹を「複合系統樹」と呼ぶことにする⁵⁾。

4. 古細菌と真核細胞は生物である

この方法で推定された複合系統樹を図3および図4に示した。これらは進化速度の一定性を仮定しない系統樹推定法である近隣結合法⁷⁾(NJ法)を用いて推定された(以下の系統樹も同様)。系統樹の左側から右

図3. ATPアーゼの二つのサブユニットの比較に基づく複合系統樹⁸⁾
mt, ミトコンドリア; chl, 葉緑体。

図4. 延長因子 (elongation factor) EF-Tu/1αとEF-G/2
の比較に基づく複合系統樹 (GTP結合領域; 未発表)
mt, ミトコンドリア; chl, 葉緑体。

側に向かって時代が新しくなると考えてほしい。進化速度の大小は枝の横方向の長さとして表されている。枝の縦方向の長さは系統関係を示すためのもので、進化速度は表さない。

図3は、ほぼ分子の全領域に渡って互いに相同なアミノ酸配列を持つATPアーゼ(ATP合成酵素)の触媒(catalytic)および非触媒(noncatalytic)サブユニットの系統樹である。古細菌の三つの主要なグループに属する*Sulfolobus*, *Methanosarcina*, *Halobacterium* はいずれも真核生物と近縁であり真正細菌とは遠縁になっている⁸⁾。図4は、GTP結合領域のアミノ酸配列が相同なポリペプチド鎖延長因子(elongation factor) EF-Tu/1 α とEF-G/2の複合系統樹である(未発表)。延長因子でも、古細菌である*Sulfolobus*, *Methanococcus*, *Halobacterium*, *Thermococcus*, *Thermoplasma* は全て真核生物と近縁であり真正細菌とは遠縁になっている。上記二組目の重複遺伝子については、最近開発されたより精度の高い系統樹推定法であるアミノ酸による最尤法⁹⁾(ML法)で試みても同様の結果となる¹⁰⁾(EFについては未発表)。

さらに、推定された系統樹の信頼性を統計的方法(Bootstrap Resampling)¹¹⁾でテストすると、古細菌が真核生物と近縁であり真正細菌とは遠縁であるという系統関係については、ATPアーゼの二つのサブユニットではそれぞれ100%の信頼度があり¹⁰⁾、EF-Tu/1 α およびEF-G/2では、やや低下するものの90-95%の信頼度があった(未発表)。

2章で述べた第一の問題点は以上の様に解決された。つまり、古細菌は真核生物と近縁であり、真正細菌とは遠縁なのである。またこの結果は直ちにLakeの主

張が誤りであることをも意味する。なぜなら、Lakeの系統樹(図1b)によれば、好塩菌とメタン細菌は真正細菌と近縁であり、イオウ細菌は真核生物と近縁でなければならないからだ。Lakeの系統樹の最大の問題点は根の取り方であろう。さらにこの結果は、堀と大沢³⁾, Cavalier-Smith¹²⁾, Van ValenとMaiorana¹³⁾の主張を支持している。また、ATPアーゼの触媒・非触媒サブユニットやEF-Tu/1 α およびEF-G/2だけでなく、RNAポリメラーゼの β' および β サブユニット¹⁴⁾あるいは種々のリボソームタンパク質¹⁵⁾や5SリボソームRNA³⁾で、いずれも古細菌と真核生物の間で相同性が高いことが報告されており、結果としてこれらの配列の相同性が系統関係を反映していることを示唆している。古細菌にはヌクレオソーム様の構造が見られることや、真核生物と同様にトランスファーRNA遺伝子にイントロンが存在することも古細菌と真核生物の近縁性を示している。

5. 古細菌の各系統と真核生物との関係

さて、2章で述べた第二の問題点についてである。この問題は、第一の問題点のようにスッキリと解決しない。まず、図3, 4をよく見てほしい。古細菌の三つのグループと真核生物との関係はATPアーゼの場合とEF-Tu/1 α とは異なっている。ATPアーゼでは、二つのサブユニット遺伝子の両方において、真核生物はイオウ細菌(*Sulfolobus*)よりもメタン細菌(*Methanosarcina*)・好塩菌(*Halobacterium*)と近縁である。それに対して、EF-Tu/1 α では、真核生物はメタン細菌(*Methanococcus*)・好塩菌(*Halobacterium*)・*Thermococcus*よりも、イオウ細菌(*Sulfolobus*)・*Thermoplasma*

図5. 延長因子 EF-Tu/1 α の系統樹(全領域; 未発表)

図4の結果に基づきaに系統樹の根を仮定している。

mt, ミトコンドリア; chl, 葉緑体。

図6. a) RNA ポリメラーゼ β' サブユニットの系統樹¹⁶⁾,
b) 同 β サブユニットの系統樹¹⁶⁾. 共に系統樹の根
は仮定している. chl, 葉緑体.

と近縁である.

EF-Tu/1 α 分子同志では GTP 結合領域だけでなく全領域に渡って互いに相同なので, 系統樹を全領域で推定してみると, 図5のようになる (図5の系統樹の根は図4の結果から仮定した. 未発表). 図4の場合と異り, 古細菌が一つのクラスターを作ることが一見してわかる.

図6のa, bはRNAポリメラーゼの β' および β サブユニットの系統樹¹⁶⁾だが, β' サブユニットでは三つのグループに属する古細菌は一つのクラスターを作る^{16), 17)}のに対して, β サブユニットではイオウ細菌 (*Sulfolobus*) が真核生物とより近縁になっている(ともに, 根の位置は仮定している).

以上幾つかの遺伝子に基づくそれぞれの結果は, 系統樹推定法を変えると微妙に変化する場合がある. 以上の系統樹で共通していえることは, メタン細菌と好塩菌は常にクラスターを組むという点であろう.

いずれにしても, 遺伝子の違いや系統樹を導く領域の違い, あるいは系統樹推定法の違いによって, イオウ細菌 (*Sulfolobus*) やメタン細菌/好塩菌あるいは *Thermococcus* や *Thermoplasma* などの古細菌の互いに

遠縁な系統と真核生物との系統関係が微妙に異なるということは, これらの分岐が互いに接近して起きたことを示唆している. 仮に古細菌のある系統が他の系統よりも真核生物と近縁だとすると, このような古細菌

図7. 生物の進化の模式図
破線で示した部分は, 現時点では解決していない.
mt, ミトコンドリア; chl, 葉緑体.

は真核生物の祖先 (urkaryotes) の性質を知るうえで重要になると思われる。

とにかく、真核生物の祖先 (urkaryotes) は古細菌の祖先である細菌から分岐したことは明らかであり、全生物の共通の祖先 (progenote) は原核生物であったと考えてよいようだ。図7に、以上の結果から考えられる進化の模式図を示してみた。

6. 今後の課題

重複遺伝子の系統樹 (複合系統樹) から、古細菌は真核生物と進化的に近縁であり真正細菌とは遠縁であるというかなり明確な結論を得た。しかし、今後解明しなければならない問題が幾つか残されている。

第一の問題は、真核生物とは独立に古細菌の各系統が一つのクラスターを形成する (単系統) のか、それともある系統の古細菌が真核生物とより近縁 (多系統) なのかである。現段階の数少ないデータを総合的に見ると、古細菌が単系統になる可能性が若干高いという印象がある。また、古細菌にのみ見られる共通の化学的な性質 (特に脂質膜の構造が真核生物や真正細菌と異なる。詳しくは文献 (18)。古細菌に興味のある方はこの本を読むとよいだろう) が幾つかあることから、古細菌は単系統になる可能性が高いのではないかという意見もある。しかし、古細菌のなかには細胞壁を持たないもの (*Thermoplasma acidophilum*) が存在し、これが真核生物とより近縁な可能性も考えられる。いずれにしても、この問題を解明するには多くの遺伝子の解析結果が必要となるだろう。

第二の問題は、真核生物と古細菌の分岐時期の推定である。もし、進化速度の一定性が確認できれば、ヒトと酵母の分岐との比較から真核生物と古細菌の分岐時期が推定可能となる。あるいは、何らかの補正を行なうことで、三つの超生物界の遺伝子の相互比較から真核生物と古細菌の分岐時間が推定できるかも知れない。ただし、この場合も多くのデータで確認する必要がある。

第三の問題は、新しく発見されたり新たに解析が進むであろう生物と三つの超生物界との関係である。最近、ミトコンドリアを持たない真核生物であるアーケゾア (archaezoa) の解析が始まり、16SリボソームRNAの比較から、アーケゾアは非常に古い時期に分岐した真核生物の系統であることが明らかにされている^{19), 20)}。アーケゾアと古細菌を比較検討することで真核生物の祖先 (urkaryotes) の性質が明らかになる可能性がある。また、もしかすると、複合系統樹上で古

細菌・真核生物に近縁だがどちらとも系統的には独立な細菌や、古細菌・真核生物・真正細菌のどれとも遠縁な生物がどこかで生き延びているかもしれない。このような生物を見つけることができれば、全生物の共通の祖先 (progenote) の性質が理解され、生命の起源に迫る重要な手掛かりが得られるかも知れない。

7. おわりに

最近 Woese らは、真核生物と古細菌が近縁であることを認め、古細菌・真正細菌・真核生物をそれぞれ新たに Archaea・Bacteria・Eucarya と呼ぶことを提唱した²¹⁾。以上の文中では、この新しい分類単位を用いずに今まで通りの呼び方を用いた。今後、Woese らの名付けた分類単位が定着する可能性もある。

文 献

- 1) Woese, C. R., Fox, G. E. (1977) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **74**, 5088-5090.
- 2) Woese, C. R. (1987) *Microbiol. Rev.*, **51**, 221-271.
- 3) Hori, H., Osawa, S. (1979) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**, 381-385.
- 4) Lake, J. A. (1988) *Nature*, **331**, 184-186.
- 5) Iwabe, N., Kuma, K., Hasegawa, M., Osawa, S., Miyata, T. (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 9355-9359.
- 6) Gogarten, J. P., Kibak, H., Dittrich, P., Taiz, L., Bowman E. J., Bowman, B. J., Manolson, M. F., Poole, R. J., Date, T., Oshima, T., Konishi, J., Denda, K., Yoshida, M. (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 6661-6665.
- 7) Saitou, N., Nei, M. (1987) *Mol. Biol. Evol.*, **4**, 406-425.
- 8) Mukohata, Y., Ihara, K., Kishino, H., Hasegawa, M., Iwabe, N., Miyata, T. (1990) *Proc. Japan Acad.*, **66B**, 63-67.
- 9) Kishino, H., Miyata, T., Hasegawa, M. (1990) *J. Mol. Evol.*, **31**, 151-160.
- 10) Miyata, T., Iwabe, N., Kuma, K., Kawanishi, Y., Hasegawa, M., Kishino, H., Mukohata, Y., Ihara, K., Osawa, S. (1991) *Proceedings of the International Symposium on "Evolution of Life"* (Osawa, S., Honjo, T., eds.) (in press)
- 11) Felsenstein, J. (1985) *Evolution*, **39**, 783-791.
- 12) Cavalier-Smith, T. (1987) *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **503**, 17-54.
- 13) Van Valen, L. M., Maiorana, V. C. (1980) *Nature*, **287**, 248-250.
- 14) Berghöfer, B., Kröckel, L., Körtner, C., Truss, M., Schallenberg, J., Klein, A. (1988) *Nucleic Acids Res.*, **16**, 8113-8128.
- 15) Auer, J., Spicker, G., Böck, A. (1989) *J. Mol. Biol.*, **209**, 21-36.

- 16) Iwabe, N., Kuma, K., Kishino, H., Hasegawa, M., Miyata, T. (1991) *J. Mol. Evol.*, **32**, 70-78.
- 17) Pühler, G., Leffers, H., Gropp, F., Palm, P., Klenk, H.-P., Lottspeich, F., Garrett, R. A., Zillig, W. (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **86**, 4569-4573.
- 18) 古賀洋介 (1988) 古細菌, p.77-97, 東京大学出版会, 東京.
- 19) Vossbrinck, C. R., Maddox, J. V., Friedman, S., Debrunner-Vossbrinck, B. A., Woese, C. R. (1987) *Nature*, **326**, 411-414.
- 20) Sogin, M. L., Gunderson, J. H., Elwood, H. J., Alonso, R. A., Peattie, D. A. (1989) *Science*, **243**, 75-77.
- 21) Woese, C. R., Kandler, O., Wheelis, M. L. (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 4576-4579.

いわべ なおゆき

1963年, 福島県生まれ。現在, 九州大学理学部生物学科博士課程 (数理生物学講座) に在学中。指導教官である宮田隆先生の転勤に伴い, 1990年12月より京都大学理学部で研究を行なっている。発生・神経の仕組みに興味を持ちつつ, シグナル伝達系の遺伝子群などの進化を追いかけている。現在の楽しみは, 京都の街を探索すること。大学に通う途中で知り合いになった動物 (特に犬と猫) と遊ぶのも好きである。決して, 登校拒否ではない。

連絡先 〒606 京都市左京区北白川追分町

京都大学理学部生物物理学教室 (理論生物学講座)

☎ 075-753-4221

FAX 075-791-0271

Model for the Structure of Bacteriorhodopsin Based on High-resolution Electron Cryo-microscopy

R. Henderson, J. M. Baldwin, T. A. Ceska, F. Zemlin, E. Beckmann, and K. H. Downing *J. Mol. Biol.*, **213**, 899-929 (1990)

熊: ご隠居様, こんにちは。いいお日和で。

隠: やあ, 熊さんかい。お入り。

熊: なんですかい, その絵は。ソーセージにしては出来が悪いスね。

隠: 違う違う。これはバクテリオロドプシンというタンパク質の立体構造モデルだよ。

熊: あれ, ソーセージだってタンパク質でしょう。

隠: まあ聞きなさい。これは Henderson という人達が電子顕微鏡を使って, はじめてタンパク質の原子座標モデルを作ったというニュースだ (D.L.D.Caspar, *Nature*, **345**, 666)。これまでタンパク質の立体構造を決めるには, X線やNMRというものを使うしかなかったんだが, それらで大きな膜タンパク質の構造を決めるのは大変な作業なんだよ。電子顕微鏡でそれがうまく行くとしたら, 本当にすごいことだ。我々は今, 歴史的な瞬間に立ち会っているんだよ。

熊: 良く分かりやせんが, それがそんなにすごいことなんスカねえ。

隠: 彼らの方法のミソは, 紫膜というタンパク質の天然の二次元結晶を使って, それをいろいろな角度に傾けて写真を撮るということなんだが, 最初の仕事が出てからここまで来るのに15年もかかったそうだよ。

熊: へえ, それじゃ, これからどんどん大きな膜タンパク質の構造が分かっていくってわけですかい。

隠: もちろん, 技術的な問題はいろいろ残っているようだね。彼らもまだ「モデル」と断っているし。でも峠は越えたみたいだから, あとはどんどん進むんじゃないかな。

熊: そうしたらノーベル賞も間違いねえってことですかね。ま, とりあえず祝い酒といきましょうや。

(中井謙太, 京大化研)