【解説】

生物発光の進化

ルシフェリンの由来・ルシフェラーゼの起源

大場裕一*1, 井上 敏*2

バイオ解析ツールとしての有用性から、生物発光に注目が集まっている。しかし、こうした動向に拍車がかかる一方で、私たちは生物現象としての発光のユニークさを忘れかけてはいないだろうか。本稿では、発光生物がこの驚くべき形質をいかにして手に入れたのかという進化生物学的な側面に光を当てたい。とくに、筆者が関心をもってきた「ルシフェリンの由来」と「ルシフェラーゼの起源」に焦点を絞り、最近の進展を解説する。このような視点から発光生物を見直すことで、酵素が新しい機能を獲得するしくみの解明といった、いままでの生物発光研究からは出てこなかった新たな普遍的アイデアの地平が開けてくるかもしれない。

光る生き物の科学が脚光を浴びている。そのことは、発光に関連した記事が本誌でもたびたび取り上げられていることから看取できるだろう^(1~3)。注目される理由はもちろん、発光を指標としたレポーターアッセイ法やバイオイメーjingの手法が解析ツールとして重宝されているからである。実際、これまでの解説記事は、生物発光の反応メカニズムや解析ツールとしてのルシフェラーゼの応用法を論じたものが多かった。本稿では、すこし視点を変えて、生物現象としての発光のユニーク

Evolution of Bioluminescence: The Origin of Luciferin and Luciferase

Yuichi OBA, Satoshi INOUE, *1名古屋大学大学院生命農学研究科, *2チッソ株式会社横浜研究所

さ、とくにその「進化的な側面」に目を転じ、そこから照らし出される新しい普遍性を探ってみたい。

発光生物の進化

「いろいろな生物の名前をでたらめに書き散らした黒板に、砂団子を投げつけるところを想像してみなさい。その砂粒がくっついたところに発光生物が居るといふ具合だ」⁽⁴⁾

発光生物学の先覚者ニュートン・ハーヴェイは、発光する生物が進化系統樹の枝先に散見されるようすをこのように例えた。実際、発光生物はいくつもの門 (Phyla) に見つかる一方で、ごく近縁な属 (Genera) どうしの一方だけが光するというケースも珍しくない。こうした事実は、発光生物それぞれが独立に発光能を進化させたことをうかがわせる。では、その発光生物たちは、どのようなプロセスで発光能を獲得したのだろうか？ これが本編のテーマである。

生物の発光は、基本的にルシフェリンとルシフェラーゼの反応により生み出される。詳しいことは成書^{*3}にゆ

*3生物発光の化学に関するもっとも新しく包括的な解説書として、下村脩博士による“Bioluminescence: Chemical Principles and Methods” (World Scientific, 2006) がある。

用語解説

発光タンパク質: 下村博士の最近の定義によると、発光タンパク質 (photoprotein) とは、タンパク質量が発光量に比例するような反応を示す発光物質のことである。ルシフェリンとルシフェラーゼが、それぞれ単独で存在するよりも安定に複合体を形成している状態と見なすこともできる。

遺伝子相同性: アミノ酸相同性 30% という値が有意に高いのかどうかと疑問に思われる向きもあるだろう。しかし、1つのアミノ酸サイトに20種類の可能性があることを考えれば (アラインメントに不自然なギャップを大量に入れない限り)、十分な長さをもった起源的に独立なタンパク質どうしが30% という相同性をもつことはほとんどありえないことは明白である。また、相同性が30% 以上あった場合、タンパク質の立体構造も基本的に同じであると考えてよい。

遺伝子重複: ゲノムに部分的な重複が生じることにより、遺伝子が2つ以上に増える進化現象で、進化に見られる大きな変化の主要動因と考えられている。重複により既存の遺伝子に冗長なコピーが生じると、そのコピーは淘汰の圧力を逃れてまったく新しいタンパク質機能を

を獲得するチャンスが与えられる。大野乾によって理論的に体系化された。

イクオリン: オワンクラゲに由来する発光タンパク質。約190アミノ酸からなるアポイクオリンにセレンテラジンのペルオキシド体が結合した状態で安定に存在する。EFハンドが3箇所あり、これにカルシウムイオンが結合することで発光反応のトリガーが引かれる。その他、いくつかの軟クラゲ目からも同様の発光タンパク質が同定されている。

発光性甲虫: 発光能をもつ甲虫目 (Coleoptera) には、ホタル科とPhengodidae科 (広義のホタル類) とコメツキムシ科の3科が知られている。前2科では、知られる限りすべての種が発光する。コメツキムシ科は、ほとんどが非発光性であるが、中南米およびメラネシア地域に見られるヒカリコメツキ類が発光性。

遺伝子共有: 遺伝子共有 (gene recruitmentあるいはgene sharing) とは、タンパク質が本来の機能を失うことなく新しい機能を獲得すること。遺伝子共有が起こったのちに、本来の機能が失われることもあると考えられる。

ずるとして、ここでは基本事項だけを書きとめておく。まず、ルシフェリンとは、発光反応にともない酸化される基質の総称である。つまり、ルシフェリンという言葉には化学構造の類似性は含意されていない。一方、ルシフェラーゼとは、発光反応を触媒する酵素の総称である。こちらも同様に、アミノ酸配列の類似性とはまったく関係がない言葉であることに注意しておく必要がある。また、ルシフェリン-ルシフェラーゼ反応は、基本的に酸素添加反応による基質の酸化であるという共通要素も付け加えておこう。

ところで、発光生物の研究はおよそ1世紀にも及ぶが、その間のほとんどは「ルシフェリン-ルシフェラーゼ反応」の解明に費やされてきた。したがって、発光生物がいかにして進化したのかを検討するにあたっては、「ルシフェリンの由来」と「ルシフェラーゼの起源」の2つに絞って考えるのが实际的である^{*4}。

ルシフェリンの由来

化学構造が明らかになっている主なルシフェリンは5種類に分類される。すなわち、発光バクテリアルシフェ

リン、渦鞭毛藻ルシフェリン (およびその類縁体)、ウミホタルルシフェリン、セレンテラジン (およびその類縁体)、ホタルルシフェリンである (図1)。このなかで、発光バクテリアは例外的に通常の生体成分 (還元型フラビンFMNH₂と長鎖アルデヒド) を発光基質としている。したがって、ルシフェリンの由来については、残り4タイプが考察の対象となる。

発光生物のおのおのがもっているルシフェリンがどこから来たのかという問いには、おおまかに2つの答えが用意されている。ひとつは発光生物自身の体内で生合成される場合、もうひとつは食餌から入手している場合である。では、実際の発光生物でわかっている事例を以下に見ていこう (表1)。

1. 渦鞭毛藻ルシフェリン

渦鞭毛藻は単細胞藻類の一群であり、赤潮や下痢性貝毒の原因として、あるいはサンゴとの共生関係などでよく知られるが、発光する種類も少なくない⁽⁵⁾。発光基質はクロロフィルと同様のテトラピロール骨格をもった構造 (図1) であることから、その生合成にはクロロフィル生合成経路が関与していると推測されていた。これに対し呉らは、筆者らがウミホタルで行なったのと同様の安定同位体取り込み実験 (後述) を行ない、グリシンとグルタミン酸が生合成基質になることを確かめた⁽⁶⁾。これは、クロロフィルaが前駆体であることを間接的に示唆する結果である。

海の発光生物として知名度の高いヤコウチュウ (*Noctiluca scintillans*) は、渦鞭毛藻の一種であるにもかか

^{*4}生物発光の起源には、よく知られた2つの仮説がある。ひとつは、ルシフェリンの役割はもともと有害な酸素分子を無毒化するための抗酸化作用であったとする説。もうひとつは、生体微弱発光現象が自然選択により増強されて生物発光となったとする説である。しかし、本稿ではこれらについては一切触れない。憶測を議論するのは楽しいかもしれないが、科学徒はピーター・メダウアーの教えをいつも忘れてはならない。曰く、科学とは「解決可能な問題に挑む技術 (the art of the soluble)」であり、壮大な問題に頭を悩ますことではない。

図1 ■各ルシフェリンの構造とその生合成基質

わらず光合成能を放棄して従属栄養生活を営む変わりものである。では、このクロロフィルをもたないヤコウチュウは、どうやってルシフェリン^{*5}を手に入れているのだろう。これについては興味深い実験報告が一つある。餌を与えずにヤコウチュウを飼育したところだんだんと光らなくなったが、ケイ藻（植物プランクトン）を与えたところ再び発光したというのだ⁽⁷⁾。このことは、ヤコウチュウが食餌からクロロフィルを取り入れて、それをルシフェリンに変換している可能性を示唆している。

発光性オキアミ（*Euphausia*, *Meganyctiphanes* 属）のルシフェリンは、渦鞭毛藻ルシフェリンときわめてよく似た構造をしている（図1）。オキアミの主な餌が植物性プランクトンであり、しかもオキアミと同所的に発光性渦鞭毛藻類が見つかることを考え合わせると、オキアミは捕食した発光性渦鞭毛藻から摂取したルシフェリンを化学修飾して使っているという予測が成り立つ。ただし、オキアミから精製したルシフェラーゼと渦鞭毛藻ルシフェリンの交差反応がほとんど見られないことから、

ルシフェラーゼはオキアミ自身のものと考えられる（大場、未発表）。

2. ウミホタルルシフェリン・セレンテラジン

ウミホタル（*Vargula hilgendorffii*, 旧称 *Cypridina hilgendorffii*）は、介形類（Ostracoda）と呼ばれるグループに属する甲殻類の一種である。近縁な別種（*Cypridina* 属）でも発光が確認されているが、発光基質はいずれもウミホタルルシフェリン（図1）である。一方、ウミホタルと同じ介形類でも、*Conchoecia* 属はセレンテラジンを発光基質としていることがわかっている⁽⁸⁾。このように、系統的に近い2グループが異なるルシフェリンで発光している例は珍しい。

ウミホタルルシフェリンは、その化学構造から3つのアミノ酸（アルギニン、イソロイシン、トリプトファン）を材料に生合成されていることが発見当初から予想されていた（図1）。そのことを確かめるために、筆者らは、安定同位体ラベルした各L体アミノ酸をウミホタルに与えたのち、抽出したルシフェリンを質量分析法により解析した。その結果、3つのアミノ酸すべての場合において、安定同位体元素の取り込みが観察された。これにより、ウミホタルルシフェリンの生合成基質が明らかと

^{*5}ヤコウチュウのルシフェラーゼに渦鞭毛藻ルシフェリンを加えると発光することから、ヤコウチュウのルシフェリンは他の発光性渦鞭毛藻類のそれと同一物質であろうと考えられている。

表1 ■ 予想されるルシフェリンの由来とルシフェラーゼの起源

ルシフェリン型	分類群 (目 Order)	科名/属名/種名	ルシフェリンの由来	ルシフェラーゼ (発光タンパク質) の起源
渦鞭毛藻ルシフェリン型	渦鞭毛藻類 (ピロキスチス目)	<i>Pyrocystis lunula</i>	クロロフィルaから生合成?	既知遺伝子と相溶性なし
	(ヤコウチュウ目)	<i>Noctiluca scintillans</i> (ヤコウチュウ)		
	甲殻類 (オキアミ目)	<i>Euphausia pacifica</i> (ツノナシオキアミ) <i>Meganocytiphanes norvegica</i>	前駆体は餌 (発光性渦鞭毛藻類) に由来?	(活性タンパク質の遺伝子は未同定)
ウミホタルルシフェリン型	甲殻類 (ウミホタル目)	<i>Vargula hilgendorffii</i> (ウミホタル) <i>Cypridina noctiluca</i> (トガリウミホタル)	アミノ酸 (Trp, Arg, Ile) から生合成	分泌型タンパク質 Cross-veinless-2 と相溶性
	魚類 (ガマアンコウ目)	<i>Porichthys notatus</i> (イサリビガマアンコウ)	餌 (ウミホタル類) に由来	(ルシフェラーゼは未決定)
セレンテラジン型	クラゲ類 (軟クラゲ目)	<i>Aequorea</i> (オワンクラゲ), <i>Clytia</i> , <i>Obelia</i> , <i>Mitrocoma</i>	餌に由来 (<i>Aequorea</i>)	カルシウム結合タンパク質群と相溶性
	ウミエラ類 (ウミエラ目)	<i>Renilla reniformis</i> (ウミシイタケ)	不明	ハロアルカンデハロゲナーゼと相溶性
	甲殻類 (エビ目)	<i>Systellaspis debilis</i> (マルトゲヒオドシエビ)	体内で生合成?	(ルシフェラーゼは未決定)
	(アミ目)	<i>Gnathophausia ingens</i> (オオベニアミ)	餌に由来?	(ルシフェラーゼは未決定)
ホタルルシフェリン型	頭足類 (ツツイカ目)	<i>Symplectoteuthis oualaniensis</i> (トビイカ)	不明	Vanin やビオチニダーゼと相溶性
	昆虫類 (甲虫目)	Lampyridae (ホタル科), Phengodidae 科 Elateridae (コメツキムシ科)	ベンゾキノンとシステインから生合成?	脂肪酸 CoA 合成酵素に起源

なったのみならず、ウミホタルが自身の体内においてルシフェリンを生合成していることが判明した⁽⁹⁾。

ウミホタルで明らかとなったこの事実は、セレンテラジンも同じように3個のアミノ酸 (2つのチロシンとフェニルアラニン) から生合成されている可能性をほのめかしている (図1)。セレンテラジンとその類縁体が広範な海洋発光生物のルシフェリンとして使われていることを考えると (少なくとも7門に及ぶ)、これを生合成している生物を特定することは、多くの発光生物の起源を考える上で重要な鍵となるだろう。いまのところ、その候補のひとつとして発光エビの一種 *Systellaspis* が挙げられている。報告によると、このエビの卵は、発生が進むにつれて生合成によりセレンテラジン量が増えてくるらしい⁽¹⁰⁾。一方、発光アミの一種 *Gnathophausia* は、セレンテラジンを餌から入手していることが実験的に示されている⁽¹¹⁾。また、セレンテラジンの名前の由来 (腔腸動物を意味する Coelenterate) となったオワンクラゲは、セレンテラジン生産者の栄養を与えられることはな

いかかもしれない。なぜなら、オワンクラゲに対し餌としてブラインシュリンプ (非発光性の甲殻類) だけを与え続けると光らなくなるが、セレンテラジンを有する別種のクラゲを食べさせると再び光ようになるからである⁽¹²⁾。

発光する魚類のすべてがその発光源を共生バクテリアに頼っているわけではないことは、あまり知られていない。たとえば、ガマアンコウ科の発光魚 *Porichthys* は、ウミホタルルシフェリンを発光基質としているが、(観察の通り) その発光基質はウミホタルに頼っていることが明らかになっている。その証拠に、ウミホタルがいない地域のこの魚は発光しないが、これにウミホタルルシフェリンを投与すると発光ようになる⁽¹³⁾。

セレンテラジンを発光基質としている魚類もいくつか見つかっている。魚類の餌となる小型の甲殻類にはセレンテラジンをもったものがたくさん知られているので、これらの発光魚が食物連鎖によってセレンテラジンを入手している可能性は大いに考えられる。

3. ホタルルシフェリン

ホタル類およびヒカリコメツキ類のルシフェリンは、一括してホタルルシフェリンもしくは、不斉炭素の立体化学から D-ルシフェリンと呼ばれている。ホタルルシフェリンのリサイクル経路（発光反応後のオキシルシフェリンからルシフェリンに戻す経路）についてはいくつか報告があるものの、生合成についてはほとんど何もわかっていない。1976年に McCapra らは、ヒカリコメツキを用いた放射ラベル化体の取り込み実験から、ルシフェリンの生合成（もしくはリサイクル経路）にシステムが関わっていることを示した⁽¹⁴⁾。また、同じ年に岡田らは、同様の実験によりベンゾキノが生合成基質のひとつである可能性を提示しているが^(15,16)、これが正しければ生合成経路の解明への大きな手がかりとなるだろう（図 1）。最近、丹羽らは、何らかの経路によって L-ルシフェリンがつくられたあとにホタルの体内で D-ルシフェリンに変換される可能性を報告している⁽¹⁷⁾。

もうひとつの謎は、ホタル類とは遠縁であるはずのヒカリコメツキが同じホタルルシフェリンを使って発光していることである。分子系統解析の結果では、ヒカリコメツキの祖先は非発光性であったことが示唆された⁽¹⁸⁾。つまり、ホタル類とヒカリコメツキは、進化の過程でそれぞれ独立に同じルシフェリンを獲得したと推測される。ちなみに、ヒカリコメツキの幼虫は昆虫などを捕食しているが、ホタルの仲間を食べてルシフェリンを獲得しているという筋書きは考えにくい。その裏付けとして、非発光性の甲虫 *Tenebrio molitor*（別名ミールワーム）のみを餌として与えて卵から育てたヒカリコメツキの成虫が正常な発光能をもつことが確認されている（小倉、私信）。

以上、ルシフェリンの由来についてまとめてみると、ルシフェリンを自分自身で生合成している生物がいくつか特定された（ウミホタル、渦鞭毛藻、ホタル、ヒカリコメツキなど）のと同時に、ルシフェリンの供給を食物連鎖に頼っている生物が多い事実も明らかになった（発光クラゲ、一部の発光魚、発光オキアミ、発光アミ、発光エビなど）。

実は、ルシフェリンの多くは、適当な溶媒条件下におくだけで化学発光が起こる（ただし、ルシフェラーゼとの反応に比べると発光効率は著しく劣る）。すなわち、ルシフェリンは、もともと発光に適した化学的性質を備えた物質であるといえる。このことは、もしかすると発光生物がさまざまな分類群に散らばって存在する一因を説明するかもしれない。つまり、限られた生物が生合成し

ている「発光に適した物質＝ルシフェリン」を食物連鎖により運良く手に入れた捕食者たちが系統とは無関係に発光を進化させた、と考えることはできないだろうか。しかし、どうにかルシフェリンを手に入れた捕食者たちも、ルシフェラーゼを用意しなくては発光生物への進化の道は開けない。

ルシフェラーゼの起源

ルシフェラーゼ（もしくは発光タンパク質）の遺伝子がクローニングされている生物群は、発光バクテリア、渦鞭毛藻類、発光クラゲ、ウミシイタケ、トビイカ、ウミホタル類、深海エビ、カイアシ類、甲虫類、の合計 9 グループである。一見、多いように見えるかもしれないが、発光する生物の豊かさを知ったならば、これはほんの一部でしかないことがわかるだろう^{*}。

ルシフェラーゼ遺伝子が決定されるにつれてわかってきたことは、これらのルシフェラーゼにアミノ酸の相同性がまったく見られないことであった。とりわけ、ウミシイタケ、深海エビ、カイアシ類、発光クラゲ、トビイカは、どれも同じセレンテラジン系化合物を使って光っているにもかかわらず、部分的な配列の類似さえ見つからないのである。この事実、冒頭にも述べた、発光する生物群はすべて独立に発光能を進化させた、という仮説の強力な証拠のひとつである。言い換えると、各生物群のルシフェラーゼは発光活性をもたない何らかのタンパク質をコードしていた遺伝子から進化したことを意味する。では、いったいどのようなタンパク質からどうやってルシフェラーゼが進化したのだろう。

繰り返しになるが、ルシフェリン-ルシフェラーゼ反応は基本的に酸素による基質の酸化反応（oxygenation）である。このことから、以前までは「ルシフェラーゼはどれも何らかのオキシゲナーゼから進化したにちがいない」と漠然と考えられてきた。しかし、さまざまな生物種でゲノム解読が進行しつつある現在、相同性検索に基づいた理論的な祖先分子の推定がようやく可能になってきた（表 1）。

1. 発光バクテリア

発光バクテリア（*Photobacterium*, *Vibrio*, *Photorhabdus*, *Shewanella* 属）のルシフェラーゼは、*luxA* と *luxB* というタンデムに並んだ遺伝子にコードされているタン

^{*}ある試算によれば、世界の発光生物は、バクテリアから硬骨魚類まで、13 門、660 属、およそ 10 万種以上に及んでいる。

パク質（ともに約 40 kDa）のヘテロダイマーである。サブユニットどうしに有意な相同性があることから（約 30%）、両者は遺伝子重複によって生じたパラログ遺伝子であると考えられる。しかし、ゲノム解読が完了している非発光性のバクテリアについてデータベース検索を行なうと、低い一致を示す部分配列がわずかに見つかるのみで、そこからルシフェラーゼの起源に関する有益な情報は得られてこない。

コレラ菌で知られる *Vibrio cholerae* には、非常に弱く光る株が見つっている。不思議なことに、この発光性菌株についてゲノムデータベースを検索すると *luxA* と *luxB* に相同な遺伝子が見つかるが、同じ *V. cholerae* の非発光性株を検索すると何もヒットしてこない。魚類ジブリオ症の原因菌 *V. salmonicida* は、発光活性をもつルシフェラーゼ遺伝子 *luxA*, *luxB* をもっているが、基質の脂肪酸アルデヒドをもたないために発光しない。バクテリアルシフェラーゼはもっとも研究が進んでいるルシフェラーゼのひとつであるが、その起源についてはまだ謎が多い。

2. 渦鞭毛藻類

渦鞭毛藻のいくつかの種（*Alexandrium*, *Lingulodinium*, *Noctiluca*, *Pyrocystis*, *Protoceratium* 属）からは、ルシフェラーゼ遺伝子がクローニングされている。これらは、互いに高い相同性を示すものの、他の既知遺伝子とは有意な相同性が見られない。これは、渦鞭毛藻類に近縁な生物のゲノム解析が進んでいないためと考えられる。

3. 腔腸動物（発光クラゲ、ウミシイタケ）

オワンクラゲ（*Aequorea* 属）の発光は、イクオリン（aequorin）と呼ばれる発光タンパク質によるもので、これにカルシウムイオンが結合すると発光が生ずる。ホモロジー検索を行なうと、カルモジュリンや sarcoplasmic calcium-binding protein (SARC) に代表される EF ハンド (Ca^{2+} を 1 つ結合する構造モチーフ) を有するカルシウム結合タンパク質群がヒットしてくることから、イクオリンは何らかのカルシウム結合タンパク質から進化したことが予想される。しかし、カルモジュリンや SARC ファミリーの中で、イクオリンのように自身が触媒活性をもっているものは見つからない。

ウミシイタケのルシフェリン（セレンテラジン）結合タンパク質が、イクオリンと低いながらも有意なホモロジーを有する（約 21%）ことは、腔腸動物の発光の進化を考える上で興味深い。ウミシイタケ（*Renilla* 属）のル

シフェラーゼ（35 kDa）は、細菌のハロアルカンデハロゲナーゼに対して非常に高いホモロジーを示すが（約 40%）、このタンパク質に脱ハロゲン化活性は確認されていない（井上、未発表）。全ゲノム配列が解読されたアメリカムラサキウニ（*Strongylocentrotus purpuratus*）のデータベースを検索すると、ウミシイタケルシフェラーゼと 50% というさらに高いアミノ酸ホモロジーを示す遺伝子が見つかるが、そのタンパク質の役割はわかっていない。

4. 軟体類（トビイカ）

トビイカ（*Symplectoteuthis* 属）の発光タンパク質（シンプレクチン）については、磯部らのグループ（名古屋大学）により精力的に研究が展開されている。現在は、精製したタンパク質のアミノ酸配列に基づいて cDNA が単離され、活性中心の同定に至っている⁽²⁾。クローニングされた遺伝子は、哺乳類の Vanin（パンテテインのアミド結合を切断する加水分解酵素）やビオチニダーゼ（ビオシチンのアミド結合を切断する加水分解酵素）と有意なアミノ酸相同性をもった（約 31%）。触媒活性がよくわかっている既知酵素と類似性が見られたことから、シンプレクチンの研究は触媒活性の進化という点でも今後の展開が注目される。

5. 甲殻類（ウミホタル、深海エビ、カイアシ類）

ウミホタル類（*Vargula*, *Cypridina* 属）のルシフェラーゼ（約 62 kDa）は、既知遺伝子との相同性があまり見られない。消化酵素を分泌する上唇腺という組織からウミホタルルシフェリンが放出されていることから、阿部はルシフェラーゼが消化酵素から進化したと考えた⁽¹⁹⁾。しかし、いまのところ既知の消化酵素群とウミホタルルシフェラーゼの間にはアミノ酸相同性は見当たらず、むしろショウジョウバエの翅脈に発現する遺伝子（*crossveinless-2*）に弱い相同性（約 20%）が見られる。この *Crossveinless-2* も、ウミホタルルシフェラーゼ同様に分泌型の糖タンパク質である。

深海エビ（オキヒメヒオドシエビ、*Oplophorus* 属）のルシフェラーゼは、19 kDa と 35 kDa の 2 種類のタンパク質で構成され、セレンテラジンを基質として発光する。触媒活性を担っている 19 kDa サブユニットのアミノ酸配列には、既知遺伝子との有意なホモロジーは見られない。

海洋におけるバイオマスの中で重要なウェイトを占めるカイアシ類（Copepoda）は、小型の甲殻類プランクトンの一群である。カイアシ類には多くの発光種が知られ

ており、Metridinidae 科の 2 種 (*Gaussia*, *Metridia* 属) からセレンテラジンを発光基質とするルシフェラーゼ (約 20 kDa) がクローニングされているが、既知遺伝子との相同性はまったく見られない。

ミジンコ (*Daphnia pulex*) のゲノム解析が甲殻類でただひとつ進行中である。上記の例も含め甲殻類には発光種が多いので、ルシフェラーゼの起源を知る上でもその解読完了が待たれる。

6. 甲虫目 (ホタル, ヒカリコメツキ)

ホタル類およびヒカリコメツキ類 (コメツキムシ科) のルシフェラーゼ (約 60 kDa) には、アシル CoA 合成酵素群と有意な相同性が見られるが、なかでも植物由来のクマル酸 CoA リガーゼとホモロジーが高いことが知られていた (約 33%)。しかし、アシル CoA 合成酵素群は非常に多様なので、甲虫のルシフェラーゼがどのようなタイプの酵素から進化したのかは不明であった。

2003 年、筆者らはホタルルシフェラーゼ自体に中・長鎖脂肪酸を CoA エステル化する活性があることを証明した⁽²⁰⁾。この発見は、ホタルルシフェラーゼが脂肪酸 CoA 合成酵素から進化したことを強く示唆するのみならず、ルシフェラーゼの進化の過程においてタンパク質の多様化の主要な機構と考えられている「遺伝子共有」が生じた可能性を物語っている (図 2)。

続いて、筆者らはショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) のゲノム上で甲虫ルシフェラーゼに最もよく似た遺伝子である CG6178 (ホモロジー約 40%) が、脂肪酸 CoA 合成酵素をコードしていることを明らかにした⁽²¹⁾。さらに、ミールワームから甲虫ルシフェラーゼホモログ遺伝子をクローニングし、この遺伝子産物が脂肪酸 CoA 合成酵素であることを示した⁽²²⁾。これらの結果はすべて、甲虫ルシフェラーゼが脂肪酸 CoA 合成酵

素から進化したというシナリオを強く支持する。

最近、筆者らはゲンジボタル (*Luciola cruciata*) からルシフェラーゼによく似た遺伝子 (パラログ遺伝子) をクローニングし、これが脂肪酸 CoA 合成酵素であることを見いだした (しかし発光活性はもたない)⁽²³⁾。このことは、甲虫ルシフェラーゼの進化に先立って祖先遺伝子 (脂肪酸 CoA 合成酵素) に「遺伝子重複」が起こったことを示唆する (図 2)。遺伝子重複は、タンパク質の多様化の機構として遺伝子共有とならぶ重要な概念と考えられているが⁽²⁴⁾、そのことが甲虫目ルシフェラーゼの進化にも当てはまっていたわけである。

以上、ルシフェラーゼの起源についてまとめてみると、それぞれの発光生物群は、発光反応とは縁もゆかりもないタンパク質からルシフェラーゼを進化させたいというものがわかってきた。少なくとも、先に述べたようなルシフェラーゼの「オキシゲナーゼ起源説」を一般化できないことは間違いなさそうである。

発光生物の進化再考

ここまでで紹介してきた最近の研究成果により、発光生物は、既存の酵素の転用やルシフェリンの借用などによって、巧みに (しかもそれぞれ独自に) 光る能力を獲得してきたたかな成功者たちであることが明らかとなってきた。

しかし、ルシフェリンの由来とルシフェラーゼの起源を説明しただけでは、発光生物の進化を説明し尽くしたことにはならないことは言うまでもない。発光形質が正の淘汰を受けるには、夜行性への (あるいは深海への) 生息圏のシフトが必要である。また、発光がコミュニケーションに利用されている場合には、視覚の共進化が伴わ

図2 ■ 甲虫ルシフェラーゼの進化のシナリオ

脂肪酸 CoA 合成酵素 (エステル化酵素) から甲虫ルシフェラーゼ (発光酵素, 酸素添加酵素) が進化する過程で、タンパク質の多様化の主要な機構と考えられる遺伝子重複と遺伝子共有が関与したと考えられる。遺伝子共有により、甲虫ルシフェラーゼは本来の脂肪酸 CoA 合成酵素活性を残している。

なければならない。しかし、いまのところこれらの点に答えられるだけの科学的証拠はそろっていない。今後、こうした方面にも研究が波及することを期待したい。

また、話を煩雑にしないため、発光能の獲得に続く二次的な進化（発光パターンの制御、発光色の多様化、発光器の特殊化など）や、発光反応に関与する他の因子（ルシフェリン結合タンパク質、蛍光タンパク質）の進化などにもあえて言及しなかったが、これらについてもいくつか知見が集まりつつある。

おわりに

ニワトリの眼の水晶体タンパク質である δ -クリスタリンは、その高い相同性からアルギニノコハク酸リアーゼから進化したと考えられている。この思いがけない取り合わせに触れて、木村資生は著書⁽²⁵⁾の中でこう述べている。

「分子は意外に融通性をもつものだと感心させられる。いずれにしても、新しい機能をもつ分子の出現がどのような仕組みで起こるのかの解明は今後の分子進化学や集団遺伝学にとっての重要な研究課題である」

しかし、この言葉から20年が過ぎた現在においても、当時クリスタリンで見つかったような「融通性」を発揮したタンパク質分子はあまり多くは見つかっていない。おそらくこうした現象は生物進化の歴史の中で何度でも起こってきたことには違いない。しかし、モデル生物を使って普遍現象を追求してきたこれまでの生物学は、その事例をあまり多く拾い集めることができなかったと思われる。

一方、ルシフェラーゼは、普遍性からはほど遠い分子であるにもかかわらず、高い応用性にあと押しされて例外的に研究が進められてきた異端児である。そして、本稿で見えてきたように、それらはどれも発光反応とは縁もゆかりもないタンパク質から進化してきたことがわかってきた。つまり、われわれは、木村が指摘したタンパク質の融通性（あるいは便宜主義といってもいいかもしれない）の例をあらゆるルシフェラーゼの進化プロセスに見いだすことができるのである。

謝辞：ヒカリコメツキに関して、東京都多摩動物公園の小倉勘二郎氏に情報を提供いただいた。

文献

- 1) 呉 純, 大場裕一, 中村英士, 井上 敏: 化学と生物, 39, 650 (2001).
- 2) 金久保暁, 久世雅樹, 磯部 稔: 化学と生物, 41, 605

(2003).

- 3) 加藤博章, 中津 亨: 化学と生物, 45, 239 (2007).
- 4) E. N. Harvey: "Bioluminescence", Academic Press, 1952.
- 5) 大場裕一, 井上 敏: "21世紀初頭の藻学の現況", 堀 輝三, 大野正夫, 堀口健雄編, 日本藻類学会, 2002, p. 52.
- 6) C. Wu, H. Akimoto & Y. Ohmiya: *Tetrahedron Lett.*, 44, 1263 (2003).
- 7) E. J. Buskey, S. Strom & C. Coulter: *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 159, 37 (1992).
- 8) Y. Oba, H. Tsuduki, S. Kato, M. Ojika & S. Inouye: *ChemBioChem.*, 5, 1495 (2004).
- 9) S. Kato, Y. Oba, M. Ojika & S. Inouye: *Tetrahedron*, 60, 11427 (2004).
- 10) C. M. Thomson, P. J. Herring & A. K. Campbell: *J. Mar. Biol. Ass. UK.*, 75, 165 (1995).
- 11) T. M. Frank, E. A. Widder, M. I. Latz & J. F. Case: *J. Exp. Biol.*, 109, 385 (1984).
- 12) S. H. D. Haddock, T. J. Rivers & B. H. Robison: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98, 11148 (2001).
- 13) F. I. Tsuji, A. T. Barnes & J. F. Case: *Nature*, 237, 515 (1972).
- 14) F. McCapra & Z. Razavi: *J. C. S. Chem. Commun.*, 5, 153 (1976).
- 15) K. Okada, H. Iio & T. Goto: *J. C. S. Chem. Commun.*, 2, 32 (1976).
- 16) 鈴木喜隆: 化学と生物, 18, 169 (1980).
- 17) K. Niwa, M. Nakamura & Y. Ohmiya: *FEBS Lett.*, 580, 5283 (2006).
- 18) R. Sagegami-Oba, Y. Oba & H. Ôhira: *Mol. Phylogenet. Evol.*, 42, 410 (2007).
- 19) 阿部勝巳: "海蛍の光", 筑摩書房, 1994.
- 20) Y. Oba, M. Ojika & S. Inouye: *FEBS Lett.*, 540, 251 (2003).
- 21) Y. Oba, M. Ojika & S. Inouye: *Gene*, 329, 137 (2004).
- 22) Y. Oba, M. Sato & S. Inouye: *Insect Mol. Biol.*, 15, 293 (2006).
- 23) Y. Oba, M. Sato, Y. Ohta & S. Inouye: *Gene*, 368, 53 (2006).
- 24) S. オオノ: "遺伝子重複による進化", 岩波書店, 1977.
- 25) 木村資生: "生物進化を考える", 岩波書店, 1988.

くらしの中の化学と生物 2

お酒のはなし 酒はいきもの

日本農芸化学会／塚越規弘・井上 喬・栗山一秀 編
四六判／234頁／定価1631円（本体1553円）

身近なお酒である日本酒やビールなどを通じ
日本人とお酒造りの歴史を紹介する。

【主要目次】 まえがき／世界の酒、日本の酒／＜日本酒＞
日本人と酒／日本酒醸造法—そのプロセスと発展の歴史／酒
造りの革命 酒造りと微生物／酒造りの近代化／＜ビール＞日
本人とビールの出会い／ビール造りのプロセス／世界に誇
る日本のビール 一、品質／二、製造法／三、商品開発—新しい味
を求め／これからのビール造り／コラム（ウイスキーの香り/
焼酎の香り／下戸と遺伝子／詩歌に詠まれたお酒／酉まんだら／酒器
のはなし／酒の上手な飲み方）など

学会出版センター