

微生物シトクロム *c* の進化

— *Desulfovibrio* を中心に、*Pseudomonas*, *Azotobacter* などとの比較から硫酸還元菌の出現時期を考える

動植物の進化を論じるには情報高分子の一次構造を比較するのが普通である⁽¹⁾。いろいろなタンパクの一次構造を比較して系統樹をつくり、すでに定着している系統樹との比較で一段と信頼性の高い進化の道すじを知ることができる。しかし、微生物どうしの進化を考えるときは指標が限られてしまう。*c* 型シトクロム、フェレドキシンなどの酸化還元キャリアータンパク、リボソームタンパクのほか 5 S RNA などが指標となるが、それ以外のものでは精製が困難であるか、特定の微生物にしかないなどの理由で比較ができない。

硫酸還元菌 *Desulfovibrio* の場合、シトクロム *c₃*, シトクロム *c-553*, 高分子型シトクロムと 3 種のシトクロムがあるが、シトクロム *c₃* はヘム 4 個をもつヒドロゲナーゼ用のキャリアーで、他の菌に類似構造のものがないため進化の指標になれない。高分子型シトクロムも同様である。シトクロム *c-553* だけは、短いペプチド鎖(アミノ酸約 80 個)に 1 個のヘムをもち、どうやら他の菌の *c* 型シトクロム、ひいてはミトコンドリア型シトクロム *c* と関連づけられるので比較の対象となる。これについては、従来、Bruschi と Le Gall⁽²⁾ が 1972 年に発表した *D. vulgaris* (Hildenborough 株) のもののアミノ酸配列が唯一のものであった。これを他の菌の *c* 型シトクロムと比較すると、ヘムと結合する 2 個のシステインとそれに続くヒスチジン (C-x-y-C-H), およびヘム-リガンドと考えられるメチオニン (-M-) を無理に対応させるため、他のどの *c* 型シトクロムとも似ていないことになる。ヒトからも、緑膿菌からも、光合成細菌からも同じように遠く隔たっていて、一番近縁の *c* 型シトクロムとの相同性でさえ 20% 程度という低さである。

Dayhoff は、*Desulfovibrio* がはるか大昔に他の微生物から分かれてしまったと考えている⁽³⁾。Dickerson は、その分岐点を 30 億年以前と特定している⁽³⁾。生命の起源が 35 億年前だとすれば、ずいぶん初期に *Desulfovibrio* は他の微生物仲間から分岐したことになる。

最近、筆者ら⁽⁴⁾は *D. vulgaris* (Miyazaki F 株) のシト

クロム *c-553* のアミノ酸配列を決定したところ、すでに知られている *D. vulgaris* (Hildenborough 株) と大きく相違していることを見いだした。両株のシトクロム *c₃* が 87% もの相同性をもつ近縁どうしであることを考えると、シトクロム *c-553* の相違は予想外であった。ところが、両タンパクのトリプシン断片どうしは 77% という高い相同性をもっている。Hildenborough 株シトクロム *c-553* の一次構造決定論文⁽²⁾を仔細に検討したところ、トリプシンペプチドをつなぐ段階でのオーバーラップのとり方に慎重さを欠いたのではないかと思われる点が出てきた。そこで筆者らは、新たに決定した Miyazaki F 株シトクロム *c-553* の一次構造をもとに系統樹を再検討したところ、最も近縁の *c* 型シトクロムは *Pseudomonas fluorescence* シトクロム *c-551* で、相同性は 34% に達した⁽⁴⁾。従来は、C-x-y-C-H と -M- をむりに対応させるため途中に大きなギャップを置かねばならなかったが、筆者らの一次構造で比較するとギャップは半減する。すでに立体構造の知られているシトクロム *c-551* で α -ヘリクスを形成している個所に対応するところは、シトクロム *c-553* でも α -ヘリクス形成アミノ酸が集中している。ギャップは α -ヘリクスでないところに見られ、しかも、ペプチド鎖が大きくターンする頂点には双方ともリジンが位置している。その他、アミノ酸の置き換えは、多くの類似タンパクどうしに見られる普通の置き換えで、三次構造に大きく影響しうる置き換えは少ない。ただ、シトクロム *c-551* でヘムの裏から表にまわり込むあたりがシトクロム *c-553* ではショートカットされているため、ヘムがより多く露出している可能性がある。シトクロム *c-553* の標準酸化還元電位が他の *c* 型シトクロム ($E_0' = +250$ mV) に較べ著しく負 ($E_0' = 0$ mV) である理由はヘムが露出しているためであろうか。現在、阪大蛋白研で進行中の三次構造の解析が待ちどおしい限りである。

さて、こうして *Desulfovibrio* が *Pseudomonas* とかなり近縁であるという結論が出てみると、*Desulfovibrio*

今日の話題

が 30 億年以上も前に他の微生物から分岐した⁽³⁾と考えるのは無理なようである。 *Pseudomonas* と *Azotobacter* は両者のシトクロム *c-551* がきわめて近い関係にあるので⁽⁴⁾、この両者と *Desulfovibrio* とは系統樹のうえでかなり近くに置かねばなるまい。なお、フラボドキシンの比較でも *Desulfovibrio* は *Azotobacter* と近縁であり、リボソームタンパクの比較では *E. coli* と近縁であるといわれるが、フェレドキシンやルブレドキシンの比較では別な結論も出ている。

硫酸還元菌の行なう硫酸呼吸は、酸素呼吸を行なう前段階の非常に原始的な呼吸形態と言われてきたが、この“非常に”がどの程度を意味するのか、実は定説がないようである。最近の地球化学的研究⁽⁵⁾によると、22 億年より古い大陸の地層の黄鉄鉱 (FeS_2) 中の硫黄安定同位体比にはほとんどバラツキがないが、もっと若い地層の黄鉄鉱では同位体比のバラツキが顕著である。硫酸塩の還元により硫化物が生成したのであれば同位体のバラツキが期待されるから、上記事実は 22 億年以前には大陸に硫酸イオンは存在せず、したがって硫酸還元菌も活躍していなかったことを意味している。太古には硫酸イオ

ンは存在せず、らん藻による光合成で酸素が発生し始めたのち⁽⁵⁾、または、細菌による光合成で硫化物が光反応の電子供与体として使われ始めたのち⁽⁶⁾に生成した可能性が濃厚で、そうだとすれば、硫酸還元菌が活躍し始めた時期と、硝酸呼吸生物や酸素呼吸生物の出現時期の間には、従来考えられていたほどの隔たりはなかったことになる。 *Desulfovibrio* シトクロム *c-553* と *Pseudomonas* シトクロム *c-551* の類似は、地球の歴史のこんな一こまを物語っているようである。

- 1) M. O. Dayhoff : "Atlas of Protein Sequence and Structure", Vol 5, Nat. Biomedical. Res. Foundation, Washington D. C., 1976.
- 2) M. Bruschi & J. Le Gall : *Biochim. Biophys. Acta*, 271, 48 (1972).
- 3) R. E. Dickerson : in "Biomolecular Structure, Conformation, Function and Evolution", Vol 1, Pergamon Press, Oxford, 1980, p. 227.
- 4) K. Nakano, Y. Kikumoto & T. Yagi : *J. Biol. Chem.*, 258, 12409 (1983).
- 5) K. Hattori, H. R. Krouse & F. A. Campbell : *Science*, 221, 549 (1983).
- 6) N. Pennig & F. Widdel : *Phil. Trans. R. Soc. London*, B 298, 433 (1982).

(八木 達彦, 静岡大学教育学部)