

## 原始的ミトコンドリア DNA 複製酵素の発見

真核生物の多様な系統から、祖先的なミトコンドリアゲノムの複製に関わる DNA ポリメラーゼと考えられる rdxPolA を発見しました。また、系統樹上での rdxPolA の分布を検討し、真核生物初期進化から現在に至るまでの、ミトコンドリアゲノム用 DNA ポリメラーゼの進化シナリオを提案しました。

ミトコンドリアは、祖先真核生物の細胞内に共生した細菌 ( $\alpha$ プロテオバクテリア) から進化した細胞内小器官です。独自のゲノム (ミトコンドリアゲノム) を持っており、これは  $\alpha$ プロテオバクテリア共生体のゲノムが縮退した結果です。真核生物の多くのグループでは、POP と呼ばれる DNA 複製酵素 (DNA ポリメラーゼ) がミトコンドリアゲノムの複製をしています。

本研究では、真核生物の多様な系統から POP を含めて既知タイプとは異なる 10 種類の新奇 DNA ポリメラーゼを発見しました。これらについて、それぞれの進化的起源と細胞内で機能する場所を詳細に解析した結果、その中の一つ「rdxPolA」がミトコンドリアゲノムの複製を行っており、 $\alpha$ プロテオバクテリア共生体が持っていた DNA ポリメラーゼの直系の子孫であると判明しました。rdxPolA は祖先的なミトコンドリアゲノムを複製すると考えられ、原始真核生物から、現在地球上に棲息する真核生物に至るまでの、ミトコンドリアゲノム用 DNA ポリメラーゼの進化シナリオが提案されました。

本研究成果は、ミトコンドリアの DNA 複製機構がどのように進化してきたか、原始真核生物細胞内でミトコンドリアがどのように確立したのかを解明する上で重要な知見を提供します。

### 研究代表者

筑波大学計算科学研究センター

稲垣 祐司 教授

原田 亮 (日本学術振興会特別研究員DC2)

国立研究開発法人海洋研究開発機構

矢吹 彬憲 主任研究員

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構

矢崎 裕規 研究員

京都大学大学院農学研究科

神川 龍馬 准教授

## 研究の背景

ミトコンドリア<sup>注1)</sup>は、真核生物の祖先の細胞内に共生した $\alpha$ プロテオバクテリア<sup>注2)</sup>から進化した細胞内小器官です。この共生イベントが起こったのは、現在、地球上に棲息する真核生物の共通祖先 (last eukaryotic common ancestor ; LECA) の出現以前であると考えられています。ミトコンドリアの内部には、その祖先の $\alpha$ プロテオバクテリア (ミトコンドリア共生体) に由来する DNA であるミトコンドリアゲノムが残存しています。ミトコンドリアにゲノムが残っているということは、ミトコンドリア内では、核ゲノムとは独立に、複製、ゲノムにコードされる遺伝子の転写、タンパク質の合成が行われていることを示します。しかし、 $\alpha$ プロテオバクテリアからミトコンドリアという細胞小器官へ進化する間に起こった、ゲノム複製機構の進化については不明な点が多く残されています。

ミトコンドリアゲノムの複製を行う DNA 複製酵素 (DNA ポリメラーゼ) としては、進化的に独立した複数のタイプが発見されています。これまでの研究では、大半の真核生物種は POP と呼ばれる DNA ポリメラーゼがミトコンドリアゲノムの複製を行っていると考えられていました。しかし、真核生物の中には、POP を含む既知のミトコンドリアゲノム複製用 DNA ポリメラーゼを見つけることができないグループが多数存在しています。

また、POP はファージ<sup>注3)</sup>の持つ DNA ポリメラーゼが起源であると考えられ、ミトコンドリアとなった $\alpha$ プロテオバクテリア共生体の DNA ポリメラーゼから直接派生した DNA ポリメラーゼは見つかっていません。従って、真核生物進化の初期段階で、 $\alpha$ プロテオバクテリア共生体が持っていた DNA ポリメラーゼは失われたと考えられてきました。

## 研究内容と成果

本研究では、真核生物の多様な系統から、互いに進化的起源の異なる 10 種類の新奇 DNA ポリメラーゼを発見しました (表 1)。これらについて系統解析や細胞内局在解析を行い、このうち、「rdxPolA」と名付けた DNA ポリメラーゼが、 $\alpha$ プロテオバクテリアの DNA ポリメラーゼに近縁であることが分かりました (図 1A)。さらに、rdxPolA の一部と緑色蛍光タンパク質<sup>注4)</sup>を融合させ、これを酵母細胞内で発現させたところ、rdxPolA がミトコンドリアで機能することが強く示唆されました (図 1B,C)。これらの結果から、rdxPolA は、これまで見つかっているミトコンドリアゲノムを複製する DNA ポリメラーゼの中で、唯一、 $\alpha$ プロテオバクテリアに進化的起源を持つことが明らかになりました。この結果から、①ミトコンドリアの起源となる $\alpha$ プロテオバクテリア共生体が持っていた DNA ポリメラーゼが rdxPolA に進化したこと、②rdxPolA は、これまで知られているミトコンドリアゲノム複製を行う DNA ポリメラーゼの中で最も原始的であること、が示唆されました。

次に、大規模遺伝子配列データに基づく系統樹を作成し、主要な真核生物グループ間の進化的関係を調べました。rdxPolA を持つグループと、POP を持つグループの進化的関係を検討したところ、POP を持つグループの一つは、他の POP を持つグループよりも、rdxPolA を持つグループに進化的により近縁であると推測されました (図 2 左)。このような、系統樹上での POP を持つグループと rdxPolA を持つグループの「まだら」状の分布から、現存する真核生物の共通祖先は rdxPolA と POP の両方を持っており、主要グループが分岐した後に、それぞれのグループで rdxPolA あるいは POP が二次的に失われたと解釈できます (図 3)。

このように、ミトコンドリアゲノムを複製する最も原始的な DNA ポリメラーゼと考えられる rdxPolA を発見したことにより、真核生物進化の初期に起きた $\alpha$ プロテオバクテリアの細胞内共生 (ミトコンドリアの獲得) イベントから現在に至るまでの、ミトコンドリアゲノム複製用 DNA ポリメラーゼの進化シナリオが提案されました。

## 今後の展開

本研究は、LECA のミトコンドリアゲノムの維持に機能していた候補 DNA ポリメラーゼの同定に成功しました。今後、真核生物の多様性がより明らかになれば、ミトコンドリアにおける DNA 複製機構関連タンパク質の進化の全容解明につながると考えられます。また、今回は DNA 複製機構の要となる DNA ポリメラーゼのみに着目しましたが、DNA 複製機構関連タンパク質を始めとした他のミトコンドリアタンパク質についても多様性を明らかにし、ミトコンドリアの初期進化過程の解明を進める予定です。

## 参考図

表 1. これまでに真核生物で発見された、細菌 DNA ポリメラーゼ I<sup>注5)</sup> に進化的に近縁な DNA ポリメラーゼの一覧とその機能する細胞内の場所。下線は本研究で新たに発見した DNA ポリメラーゼ。

DNA ポリメラーゼの機能する場所	ミトコンドリア	葉緑体	その他
DNA ポリメラーゼのタイプ	POP, Pol $\gamma$ , PolIA, PolI $\beta$ CD+, <u>rdxPolA</u> , <u>acPolA</u> , <u>chloroPolA</u>	POP, PREX, <u>rgPolA</u> , <u>eugPolA</u> , <u>cryptoPolA</u>	Pol $\theta$ / $\nu$ , <u>pyramiPolA</u> , <u>chInmPolA</u> , <u>abanPolA</u> , <u>alvPolA</u>

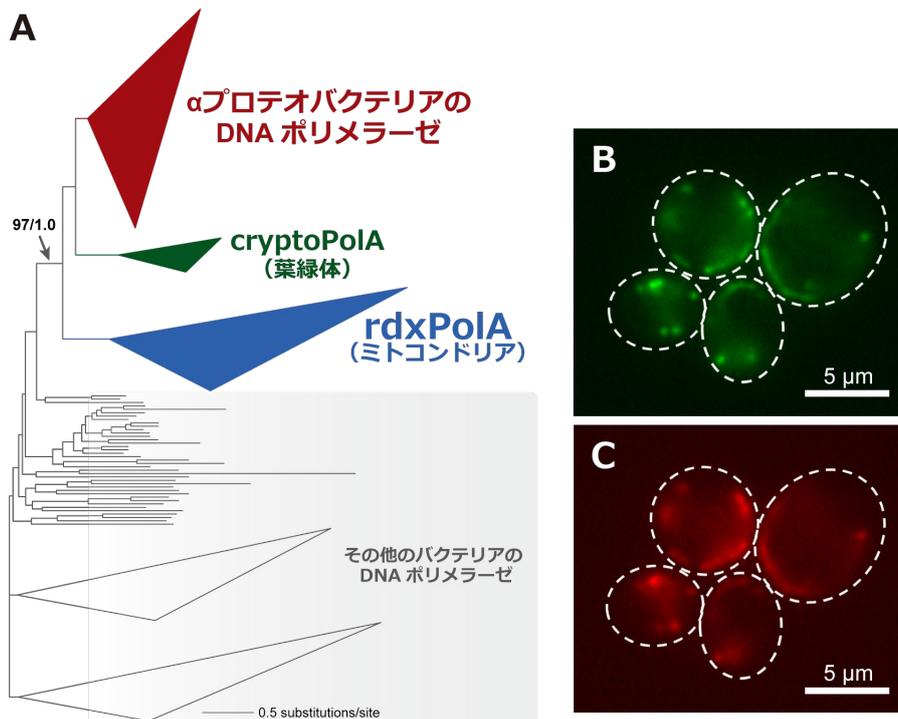


図 1. 本研究で発見した rdxPolA の系統樹と蛍光写真。A: rdxPolA とそれに関連する DNA ポリメラーゼの系統樹。rdxPolA は、葉緑体で働く別の新奇 DNA ポリメラーゼ (cryptoPolA) と  $\alpha$  プロテオバクテリアの DNA ポリメラーゼと進化的に近縁である。図中に矢印で示した枝は、rdxPolA と  $\alpha$  プロテオバクテリアの DNA ポリメラーゼの近縁性を表し、この進化的関係は、高い統計的支持を受けた。B: rdxPolA タンパク質のアミノ酸配列の一部と融合させた緑色蛍光タンパク質 (GFP) を発現する出芽酵母の蛍光写真。酵母細胞の形を白の破線で示す。C: B と同じ出芽酵母細胞のミトコンドリアを染色した際の蛍光写真。赤で示すミトコンドリアの局在と、B において緑で示す rdxPolA の局在が酵母細胞内の同じ位置に観察されることから、rdxPolA はミトコンドリア内に存在していると考えられる。

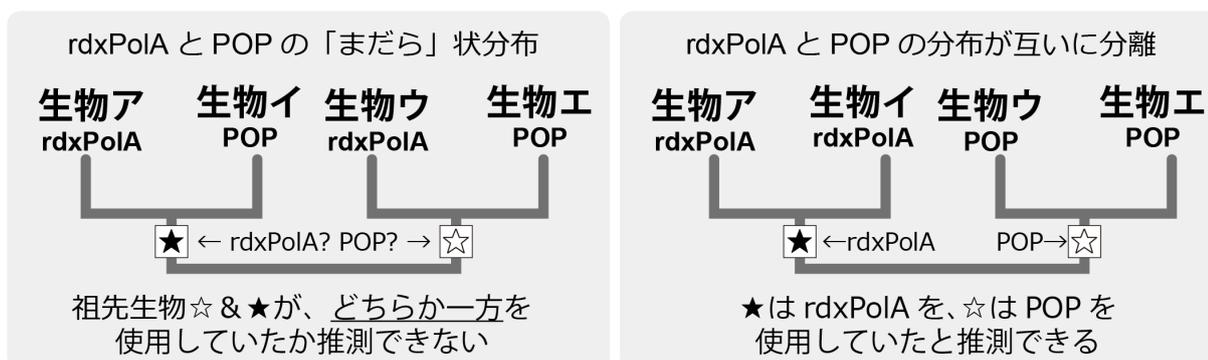


図 2. 真核生物におけるミトコンドリア用 DNA ポリメラーゼである rdxPolA と POP の分布例。左の系統樹では、生物アとウは rdxPolA を、生物イとエは POP を使用していると仮定する。右の系統樹では、生物アとイは rdxPolA を、生物ウとエは POP を使用していると仮定する。2つの系統樹で、アとイの共通祖先、ウとエの共通祖先は、それぞれ★と☆で表した。本研究の結果、左のように rdxPolA と POP は「まだら」状の分布を示すことが明らかになった。

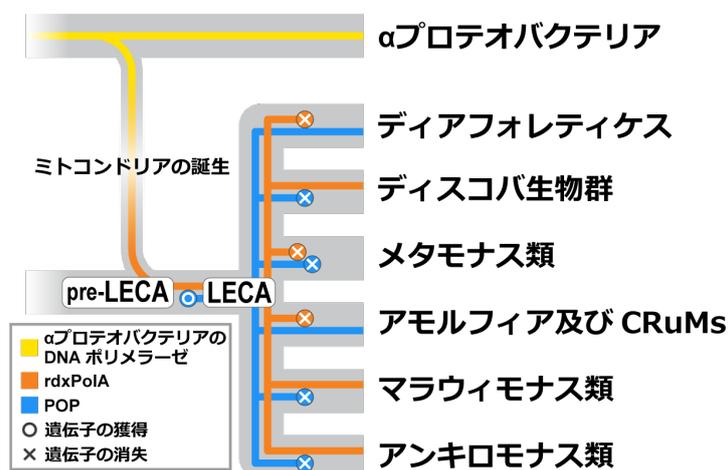


図 3. 本研究で提案したミトコンドリアではたらく DNA ポリメラーゼの進化シナリオ。2つの主要なミトコンドリアではたらく DNA ポリメラーゼである rdxPolA と POP の分布が、真核生物の初期進化の過程でどのように形成されてきたかを模式的に示している。オレンジ、青、黄色の線はそれぞれ、αプロテオバクテリアの rdxPolA、POP、αプロテオバクテリアの DNA ポリメラーゼの進化の軌跡を表す。丸印と×印はそれぞれ、DNA ポリメラーゼの確立と消失を示す。rdxPolA はミトコンドリアの誕生となったαプロテオバクテリアと真核生物との共生イベントに由来し、POP は真核生物の最後の共通祖先（LECA）との間に獲得された。現存する真核生物の共通祖先である LECA は rdxPolA と POP の両方を持っていたが (pre-LECA)、その後の進化において、真核生物の主要グループごとに系統が分岐した後に、それぞれの系統で二次的な消失が起こった。

### 用語解説

注1) ミトコンドリア

真核生物が持つ細胞小器官。酸素を用いて細胞のエネルギーである ATP を産生する。

注2) αプロテオバクテリア

細菌（バクテリア）の一群。ミトコンドリアの祖先となった細菌は、このグループに属しているか、極めて進化的に近縁であると考えられている。

注3) ファージ

細菌に感染するウィルス。一部のファージは DNA ポリメラーゼを持つ。

注4) 緑色蛍光タンパク質 (Green fluorescent protein ; GFP)

GFP は蛍光するため、実験標的となるタンパク質に付加することで、実験標的タンパク質が細胞内のどこに存在するかを可視化できる。

注5) DNA ポリメラーゼ I

細菌類におけるゲノム複製ではラギング鎖と呼ばれる DNA 鎖の複製に関与する酵素。種類ごとにギリシャ数字で番号が振られており、今回は DNA ポリメラーゼ I を研究対象とした。

研究資金

本研究は、科研費による研究プロジェクト (18KK0203、19H03280、23H02535、BPI05044、22J11104、19H03274) の一環として実施されました。

掲載論文

【題名】 Encyclopaedia of family A DNA polymerases localized in organelles: Evolutionary contribution of bacteria including the proto-mitochondrion.

(オルガネラ局在ファミリーA DNA ポリメラーゼ百科: 原始ミトコンドリア共生体をふくむ細菌からの進化的貢献について)

【著者名】 R. Harada, Y. Hirakawa, A. Yabuki, E. Kim, E. Yazaki, R. Kamikawa, K. Nakano, M. Eliáš and Y. Inagaki

【掲載誌】 *Molecular Biology and Evolution*

【掲載日】 2024年1月25日

【DOI】 10.1093/molbev/msae014