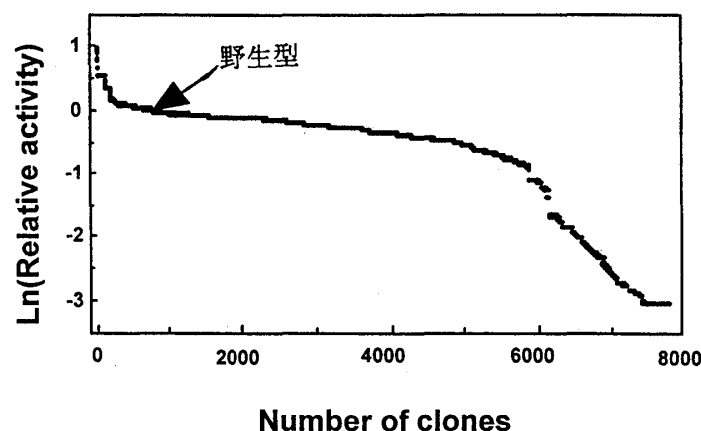


実験室で創り出すタンパク質進化

四方哲也 阪大工

タンパク質の立体構造は、高度に組織化されているように見える。我々の知識では、完全にデザインすることはできないので、なおさら完成された機械のように感じられる。長い進化過程の結果、高度に最適化された構造があらわれた、と納得してしまう。それでは、タンパク質は進化過程でどの程度最適化されるのだろうか。

まず、タンパク質の機能がどの程度の完成度であるかを知るために、ランダムに変異を加えて壊した。グルタミン合成酵素にランダム変異を加えて、無作為に選んだ多数の変異型酵素を調べ、その触媒活性の大きさ順に並べた（図1）。多くの変異型酵素が活性を落としている一方で、約10%の変異型酵素が野生型酵素よりも高い機能を示した。他の酵素や他の機能（例えば、熱安定性）について同じ実験を行ってみたが、数%~数十%の変異型酵素が野生型酵素よりも高い機能を示した。ランダムに壊しても100回に数回の割合でタンパク質機能が上がるということは、調べた機能がそれほど高い完成度にはないことを示唆する。むしろ、タンパク質にはアミノ酸置換に対する寛容性が備わっているようである。この寛容性が天然タンパク質を人工的に改良する余地を与えてくれている。



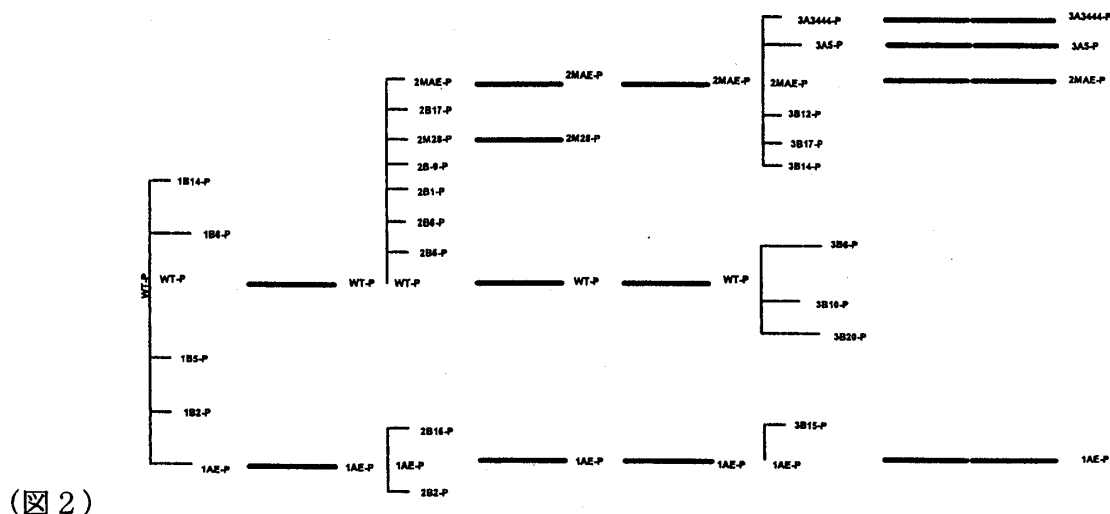
(図1)

さて、それぞれの機能の低い完成度、または、アミノ酸置換に対する寛容性は何に由来するのだろうか。その由来として、「タンパク質は進化過程で完全に最適化されるわけではない」と仮定した。つまり、十分最適化されていないので、ランダムに壊しても機能の上がった変異型タンパク質が現れると考えた。他の仮説も考慮しながら、この仮説の検証のために、もっとも最適化が起こりそうな条件で進化実験を行った。

グルタミン合成酵素の遺伝子にランダムに変異を加えながら、大腸菌集団を一定環境で長期にわたって連続培養を繰り返した。グルタミン合成酵素が大腸菌の生存に不可欠であるように環境は設計した。えさは一定速度で培養槽に流れ込み、増えた大腸菌を含んだ溶液が一定速度で外に流れ出す。培養槽はよく攪拌されているので、棲み分けなどは起こりえない。このような環境では、それぞれの変異を持った微生物はランダムに間引かれるので、最も速く増殖するものだけが生き残り、ゲームに勝ち残ると考えられる。

下流で大腸菌集団をサンプリングして、解析することによって、グルタミン合成酵素分子の系統樹を得た（図2）。不思議なことに、どの時間帯でも異なる触媒活性を持った変異型酵素が共存している。系統樹には現れてこないが、培養の初期ではかなりの数の変異型酵素があるが、そのほとんどが滅んでしまっている。淘汰がかかっているには違いない。しかしながら、この環境は最も適した単独種が勝ち残るように設定したにもかかわらず、そうはなっていない。むしろ、複数変異型酵素の共存状態にある。

実際の進化では起こりえないのだが、一つ面白い実験をしてみた。この進化実験の途中の世代で滅んでしまった菌と最後まで生き残った集団とを混合して同じ環境で競争させた。すると、再び、共存が起こったのである。進化過程では、酵素分子はある環境に適応するように最適化されるわけではないようだ。



いくつかの実験結果から、培養中に大腸菌が合成したグルタミンを漏らしているのではないかと考えている。そうすると、ほかの菌が漏れ出してきたグルタミンを利用して共存するのである。このような相互作用を弱くするために、菌体密度を千分の一以下にして培養を試みた。すると、共存状態は壊れて、単独種だけの勝ち残りになった。変異型酵素の共存は菌体間相互作用による現象なのである。

以上の結果から、酵素分子の進化を考察すると以下のようなになる。まず、進化初期段階では、生物集団の密度が低いため、相互作用も弱く、それぞれの個体の能力によって進化が起こる。よって、酵素分子も最適化が進むであろう。しかしながら、このような過程で利用できる餌が増えて、集団密度が上がってくると、相互作用が働きだす。すると、変異型酵素の共存状態なる。結果として、酵素分子の進化は、最適化でなくなり、様々な活性を持つ分子が共存する多様化へと移行する。

酵素分子は進化過程で常に最適化を受けているわけではない。そのために、変異に対して寛容性を示すのである。