

申請者 (ふりがな)	松本 実路 (まつもと じろう)
所属・資格 (※学生の場合は課程・学年を記載)	修士課程 2年
発表年月 または事業開催年月	2022年 12月
発表学会・大会 または事業名・開催場所	第45回日本分子生物学会年会
発表者 (※学会発表の場合のみ記載、共同発表者の氏名も記載すること)	松本実路、赤沼哲史
発表題目 (※学会発表の場合のみ記載)	膜タンパク質 NhaP の祖先配列の復元と解析
発表の概要と成果 (抄録を公開している URL がある場合、「概要・成果」を記載した上で、URL を末尾に記してください。また、抄録 PDF は別途ご提出ください。なお、抄録 PDF は Web 上には公開されません。)	
【Title】膜タンパク質 NhaP の祖先配列の復元と解析 Resurrection and analysis of an ancestral sequence of the membrane protein NhaP 生命誕生の環境について様々な議論が行われている。我々の研究室では、祖先復元法を用いて祖先型ヌクレオシド二リン酸キナーゼの熱安定性を調べることで、全生物最後の共通祖先 (LUCA) が高温環境で生息していたことを示した(2013)。しかし、LUCA が生息していた pH 環境については十分な議論がおこなわれていない。そこで、LUCA が持っていたと推定されているタンパク質の中で (Weiss et al. 2016)、外部環境と密接に関わる膜タンパク質の NhaP に着目した。NhaP は Cation/Proton Antiporter 1(CPA1)に属する膜タンパク質であり、細胞内 pH の恒常性に関わる。CPA には他に、CPA2 と CPA3 が存在し、CPA1 と CPA2 は異なるタンパク質ファミリーであるが配列に低い相同性があるため、系統関係が複雑なことが知られている。本研究では、祖先生物の生育していた pH 環境の推定を行うために、祖先生物が持っていたと考えられる NhaP の復元を目指した。まず、現存生物の NhaP のアミノ酸配列を基に相同配列を収集した。収集された配列には、CPA1 の配列だけでなく CPA2 の配列も含まれていた。収集した配列を、MAFFT を用いて整列させ、IQ-TREE で系統樹を作成した。古細菌の配列を多く含むグループと、真正細菌の配列を多く含むグループの間で、距離が最も長い枝を根とした。CPA1 および CPA2 を特徴付ける配列モチーフ(Masrati et al. 2018)を参考に各グループに含まれる配列を確認したところ、古細菌グループは CPA2 に属する配列で構成され、真正細菌グループは CPA1 と CPA2 に属する配列の両方で構成されていた。また、CPA1 は真正細菌 CPA2 から誕生していた。つまり、LUCA は CPA2 の祖先タンパク質を持ち、古細菌と真正細菌に分岐した後、真正細菌の持つ CPA2 から CPA1 が誕生したことが示唆された。この系統樹を基に、古細菌共通祖先と真正細菌共通祖先が持っていたと推定される祖先型 CPA2 の配列を IQ-TREE と CodeML で推定した。推定した祖先型 CPA2 のアミノ酸配列から AlphaFold2 を用いて立体構造を予想したところ、CPA1,2 に特徴的な NhaA フォールドが見られた。祖先型 CPA2 のアミノ酸配列から人工遺伝子を合成し、大腸菌や酵母内で発現を試みている。 引用文献 Akanuma, S., et al. PNAS (2013): 110, 11067-11072. Weiss, M. C., et al. Nat. Microbiol. (2016): 1, 1-8. Masrati, G., et al. Nat. commun. (2018): 9, 1-14.	

※無断転載禁止