

## 藻類における変則な遺伝暗号

大濱 武

はじめに

遺伝暗号の変異については、名古屋大学の澤研究室において理論的、実証的な解析が世界をリードして行われた。その成果は、「遺伝暗号の起源と進化」(共立出版)として邦訳が出版されている。ここでは、この本の出版後に明らかにされた藻類ミトコンドリアの遺伝暗号変異と、遺伝暗号変異に馴染みの薄い研究者の為に、暗号変異の見つけ方を中心に述べたい。大規模なシークエンス決定機関の増加に伴い、様々な藻類において今後ゲノムプロジェクトが展開する可能性がある。このことを念頭に置いて、普遍遺伝暗号表を機械的に適用できない場合として、セレノシステインコドンの存在についても触れる。

普遍遺伝暗号表が確立するまで

現存する地球上の生物は、総て同じ 20 種の L 型アミノ酸を使用するが、地球上に生命が誕生した時点において、現在と同じ 20 種のアミノ酸が使用されていたとは考え難く、もっと少数のアミノ酸が使用されていた可能性が高い。その後、タンパク質の機能が洗練されるに伴って、使用されるアミノ酸の種類が増加して、現在の 20 種に固定されたのだろうと考えられる。この時期がいつごろなのかは定かではない。しかし、現存する地球上の生物の共通祖先となる生命体において、64 種のコドンのそれぞれが、どのように 20 種のアミノ酸を指定するかという普遍遺伝暗号表が確定していったと考えられる。これまでに、普遍遺伝暗号表が確定する以前に枝分かれしたと考えられる原核生物は発見されていない。従って、普遍遺伝暗号表から逸脱した暗号表を持つ生物が発見された場合、その生物種が原核生物の中で、きわめて早く分岐したことが示されない限り、その遺伝暗号は普遍遺伝暗号表から 2 次的にずれた結果であると

考えられる。

遺伝暗号変異の見つけ方

ある生物種において、遺伝暗号変異が起きているかどうかを知りたいという事が目的であれば、できるだけ保守的な遺伝子(機能的な制約が強くアミノ酸の置換が起こり難いもの)に着目するのがよい。生物種が異なっても、そのアミノ酸配列がほとんど変化しないような遺伝子の DNA 配列を決定して比較すれば、指定するアミノ酸が変異しているコドンがあった場合、最も容易に見発見できるはずである。

最も簡単に気がつく遺伝暗号変異は、終止コドンが他のアミノ酸を指定するコドン(センスコドン)として使用されている場合である。DNA の塩基配列が高い精度で決められているにもかかわらず、遺伝子のオープンリーディングフレーム(ORF)の中央部に終止コドン(例えば UGA)が出現し、しかも同じ読み枠が引き続き遺伝子の後半をコードしていると思われる場合である。読み枠中に同じ終止コドンが何回も出現し、しかも終止コドンの出現するポジションが、他の生物種では決まっている特定のアミノ酸(例えば Trp)である場合、UGA コドンは本来の終止コドンからセンスコドン(Trp)を指定するコドンへと変異していると推定できる。

これに比べて、センスコドンが他のセンスコドンに変化している場合は気づき難い。保守性の高いタンパク質遺伝子のデータをできるだけ幅広い種から集めて、じっくりと眺めるより手はない。強い疎水性、あるいは電荷を帯びたアミノ酸が変化すると、タンパク質の立体構造に与える影響が大きい為、どの遺伝子の中であれ変化し難い。そのため、このようなアミノ酸の遺伝暗号変異は、センスコドンからセンスコドンへの変異であっても見つけ易い。逆に、性質の似たアミノ酸の間での変異が最も見つけ難い。中

でも、イソロイシン (Ile) とメチオニン (Met) は、非常によく似た性質のアミノ酸であるため、保守的なタンパクであっても、生物種間で頻繁に入れ替わっている場合が珍しくない。それ故に、ORF 中に出現する AUA コドンが普遍遺伝暗号表どおりイソロイシンを指定するのか、それとも変異してメチオニンに対応するのか、判断に困る場合がある。

ゲノム DNA の塩基配列を調べて遺伝暗号変異を起こしているかもしれないと思われる場合、次にすべきことは、その遺伝子由来の mRNA の塩基配列 (実際には mRNA を逆転写して作られた cDNA) を決定して、その配列が DNA と同じであることを確認する事である。たとえ終止コドンが読み枠中に出現しても、mRNA 上で異なる塩基に置換 (RNA エディティングという) された後に、普遍遺伝暗号表どおりに翻訳されているのなら、それは遺伝暗号の変異ではない。また、ゲノム DNA の解析で注意しなければならないのは、思いがけず偽遺伝子を扱っているために、あたかも遺伝暗号が変異を起こしているかのように思える場合があることだ。コドンの使用頻度に強い偏りのある遺伝子が偽遺伝子になった場合、コドンの 3 番目は特定の塩基に変わりやすくなる。このため、偽遺伝子内のコドンは、あたかも遺伝暗号変異であるような変化をする場合がある (AT に富むコドンを好んで使用する生物種の場合、遺伝子が偽遺伝子になるとコドンの 3 番目は G または C に変化しやすくなる)。偽遺伝子のほとんどは転写されないため、このような誤認も対応する mRNA の有無を調べることで防げる可能性が高い。遺伝暗号変異と RNA エディティングの識別、扱っている DNA 情報が、偽遺伝子由来でないことを確認する為にも cDNA の解析は必須である。

遺伝暗号変異を確定するには、mRNA と翻訳産物であるタンパク質のアミノ酸配列の両方を決定して比較するか、細胞を破碎して無細胞翻訳系を調整し、特定コドンのみを含む人工 mRNA を翻訳させ、コドンに対応して取り込まれたアミノ酸を特定する必要がある。核ゲノムにおける遺伝暗号変異ならば、無細胞翻訳系を調整できる場合もあるが、ミトコンドリアや葉

緑体の無細胞翻訳系の調整はきわめて困難であり、事実上、タンパクを精製してアミノ酸配列を決定

比較するしかない。しかし、オルガネラ内のタンパク質を精製してアミノ酸配列を決定するのは、今もってお手軽とは言えない。その結果、オルガネラにおける大半の遺伝暗号変異の解析は、cDNA 塩基配列を幅広い生物種間で比較して遺伝暗号変異を推定するに留まっており、厳密に言えば、遺伝暗号の変異が証明されているのではない場合も多い。

#### 遺伝暗号変異が起きやすい条件

遺伝暗号が生体に有害な作用を及ぼすことなく変異するには、一旦、そのコドンがゲノム内から消え去る (あるいは、残っていてもごく少数に限られる) ことが必須である。特定のコドンがゲノム上から消失しやすい条件として、次の 2 つが考えられる。(1) ゲノムが小さく遺伝子の数が少ないこと、(2) コドン使用に AT 方向への強い偏りがあることである (詳しい説明は省略するが、コドン使用に強い GC 方向への偏りがあった場合、特定のコドンが使用されなくなることはあっても、コドン指定の変更は生じないと考えられる)。藻類について言えば、葉緑体ゲノムの大きさがおよそ 100kb ぐらいであるのに対して、ミトコンドリアは 50kb というのが平均的な大きさである。理由は明らかではないが、オルガネラも含め、寄生した生物ゲノムのコドン使用には、AT 方向への強い偏りが生じる。従って (1) と (2) の条件を最もよく満たすのがミトコンドリアゲノムと言うことになる。その中でも、終止コドンは、各遺伝子に一回しか使用されないから、最もゲノム上から消失しやすい。3 つある終止コドン (UAG, UGA, UAA) の中で、ゲノム GC% の低下に伴って使用頻度が下がるのは UGA コドンのみであり、UAG コドンの使用頻度はゲノム GC% が変化しても一定である。UAA 終止コドンの頻度は高くなる。従って、ゲノムが AT に富むミトコンドリアでは UGA コドンが最も変異しやすいコドンと言うことになる。

#### 変異した遺伝暗号の安定性

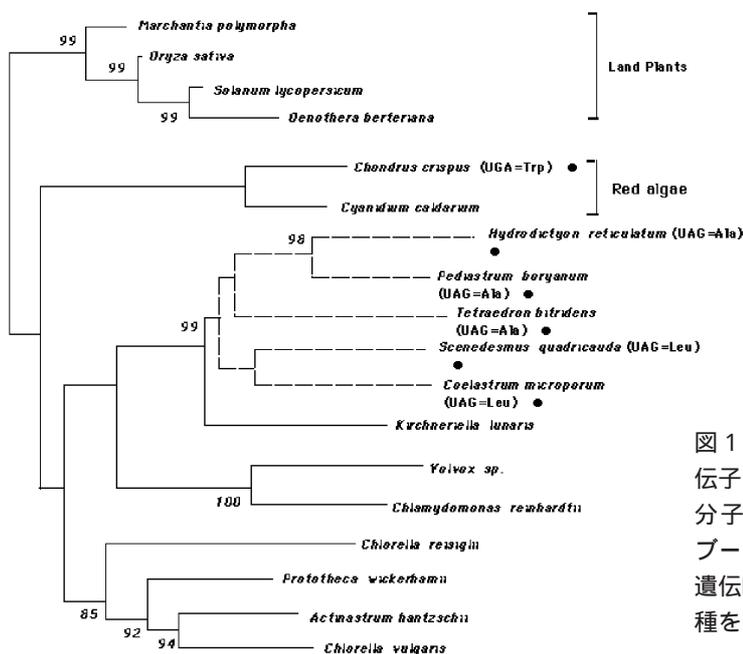


図1 ミトコンドリア *cox1* 遺伝子による緑藻及び近縁藻の分子系統樹。図中の数字はブートストラップ値。印は遺伝暗号変異が起こっている種を示す。

ミトコンドリア *cox1* を使って分子系統樹を作製し、次に、UGA が本来の終止コドンとして使われているか、Trp として使われているのかを当てはめていく。マイコプラズマ細菌における変異も含めれば、これまでに UGA コドンは少なくとも 6 回、Trp へと変化していることがわかる。分子系統樹上の UGA/Trp の分布から判断して、いったん変異が成立した後に、UGA コドンが再び元の終止コドンへと変化したと思われる例はなかった。UGA/Trp の変異が成立すると、本来の Trp コドンである UGG よりも、AT に富む UGA コドンが Trp を指定するコドンとして圧倒的に多く使用されるようになる。遺伝暗号変異を起こしたミトコンドリアゲノムにおいて、この使用回数の多い UGA/Trp コドンを、再びゲノム中から消し去ってしまうようなゲノム GC 含量の変化は生じないらしい。従って、分子系統樹を作製した場合、遺伝暗号変異を生じているような生物種で構成されているクラスター内に位置づけられた生物種は、同じ遺伝子暗号変異を保有していると考えられる。

核ゲノムに含まれる遺伝子の数は、オルガネラと比べて 2-3 桁は多く、ゲノムの GC 含量も

50% 前後であるものがほとんどである。このような環境下では、特定のコードンの消失は起きにくいと考えられる。それにもかかわらず、真核ゲノムにおいても、核遺伝暗号変異がいくつか報告されている。藻類では、カサノリにおいて UAA, UAG コドンが Gln に変化していることが知られている。カサノリのような非寄生性の生物の核ゲノムにおいて、特定のコードンがゲノム内から消失する原因は明らかでない。

#### 藻類ミトコンドリアにおける遺伝暗号変異 緑藻綱における遺伝暗号変異

遊走子を形成して無性的に増殖する藻類 (*Hydrodictyon*, *Pediastrum*, *Tetraedron*) では、普遍遺伝暗号表では終止コドンである UAG が Ala をコードすることが示されている。娘数群体を形成して無性的に増殖する藻 (*Scenedesmus*, *Coelastrum*) では、同じく UAG コドンが Leu をコードすると推定されている。一方、自生胞子で増殖する種では遺伝暗号変異はないらしい (図 1)。

#### 紅藻綱における遺伝暗号変異

原始紅藻亜綱に属する *Cyanidium* が普遍遺伝

暗号表を使うのに対して、真正紅藻亜綱のChondrusでは終止コドンであるUGAコドンがTrpに変異している(図1)。

#### ハプト藻綱おける遺伝暗号変異

パプロバ目に属する種(*Diacronema, Pavlova*)は普遍遺伝暗号表から逸脱していないが、それ以外の目では、終止コドンであるUGAコドンがTrpに変異している。従って、ハプト藻の進化過程において、遺伝暗号変異が生じる以前にパプロバ目の祖先となる種が分岐し、その後、遺伝暗号変異が生じたことになる。

#### 珪藻綱おける遺伝暗号変異

中心目に分類されている一部の種(*Skeletonema, Thalassiosira*)でUGAコドンがTrpに変異している。*cox1*の分子系統樹でも遺伝暗号変異を起こしている中心目の種と起こしていない種(*Melosira, Rhizosolenia*)は、それぞれ異なるクラスターを形成している。他の目に分類されている珪藻は普遍遺伝暗号表を使っているようだ。

#### 黄緑藻綱おける遺伝暗号変異

黄緑藻綱に比較的近縁であると考えられる、褐藻綱、真点眼藻綱において普遍遺伝暗号表が使われているのに対し、黄緑藻綱に属する種(*Vaucheria, Heterococcus, Mischococcus, Botrydiopsis, Tribonema, Botrydium*)では普遍遺伝暗号表でIleをコードするAUAコドンがMetを指定するコドンとして機能している。

#### 原生動物及び渦鞭毛藻おける遺伝暗号変異

繊毛虫及びキネトプラストを持つトリパノゾーマなどにおいて、UGAコドンがTrpとして用いられるのに対して、ユーグレナ藻綱、渦鞭毛藻綱、マラリア病原虫が属するアピコンプレッサ類では普遍遺伝暗号が用いられるようだ。

全体を眺めて見ると、科や目のレベルで遺伝暗号変異を起こした種が*cox1*の分子系統樹の中でクラスターを形成している。遺伝暗号変異が稀にしか生じず、しかも一旦生じると安定して

いることを考えれば、同じ遺伝暗号変異を共有している種が相互に近縁種であることは、極めて合理的な事である。オルガネラゲノム上の遺伝子構成と同様に、遺伝暗号変異は、生物種群の遺伝的なマーカーとして利用できそうである。  
セレノシステインコドン

原核生物および真核生物の核ゲノムの遺伝子において(オルガネラでは知られていない)、UGAコドンがセレノシステイン(Sec)と呼ばれる特殊なアミノ酸を指定する事がある。しかし、これは遺伝暗号変異ではない。UGAコドンは普遍遺伝暗号表どおり終止コドンとして使用されており、ごく特定の位置にあるUGAコドンのみがSecを指定するコドンとしても使われる。一つのコドンは特定の一つのアミノ酸を指定するのが原則であるが、これから逸脱してUAGコドンは終止コドンとして使われつつ、ある限定された遺伝子内においてSecを指定するコドンとしても使われる。藻類では、まだ核ゲノム上の遺伝子の解析数が少なく、Secに対応するUGAコドンの直接的な使用例は報告されていない。しかし、クラミドモナスにおいてSecの取り込みが実験的に示されている。他の藻についても、セレノシステインに含まれる重金属であるセレンの取り込みが見られたとの報告があり、セレノシステインを指定するUGAコドンがゲノム内に存在している可能性は非常に高い。

#### 文献

- 大澤省三 1995 遺伝暗号の起源と進化 渡辺公綱, 上田卓也, 大濱 武 共訳 共立出版  
大濱 武 1995 21番目のアミノ酸の遺伝暗号 68 - 78 公開シンポジウム組織委員会編 RNAの世界 遺伝暗号の謎に挑む クバプロ出版  
Inagaki Y., Ehara M., Watanabe K.I., Hayashi-Ishimaru Y. and Ohama T. 1998. Directionally evolving genetic code: The UGA codon from stop to tryptophan in mitochondria. J. Mol. Evol. 47: 378-384

(高知工科大学 基盤工学専攻)