

平成 30 年 5 月 22 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H05460

研究課題名(和文) 鋳型複製系における配列情報の対称性の破れと遺伝情報の発現

研究課題名(英文) Symmetry breaking of sequence information and emergence of genetic information in templated ligation system

研究代表者

鳥谷部 祥一 (Toyabe, Shoichi)

東北大学・工学研究科・准教授

研究者番号：40453675

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：生命の起源において、遺伝情報を保持しながら安定に複製する「分子種」の登場が重要である。しかし、そのメカニズムは分かっていない。研究代表者らは、原始的な反応である鋳型ライゲーションは、分子種のような反応ネットワークに自発的に発展することを提案している。本研究課題では、このメカニズムを掘り下げて、分子種が発生する条件や、分子種同士の相互作用を、実験および数値計算で詳しく調べた。また、鋳型ライゲーションにおける情報複製のエラー制御を実現した。

研究成果の概要(英文)：The emergence of molecular species, which can stably keep and replicate its genetic information, is central to the origin of life. However, the mechanism leading to such emergence remains unknown. Here, on the basis of our previously proposed mechanism for the spontaneous emergence of molecular-species-like structure in templated ligation reaction, we investigated the detailed conditions for this emergence and the interaction between multiple molecular species. In addition, control of information replication error in the templated ligation was achieved.

研究分野：生物物理学

キーワード：生命の起源

1. 研究開始当初の背景

生命起源の標準的なモデルでは、多様な触媒分子が溶け込んだ「化学スープ」から、特定の遺伝情報を保持しながら複製する「分子種」が登場し、複製、競争、進化などを通して、初期の生命構造へと発展したと考えられている。しかし、多様な分子のスープのなかで、遺伝情報を安定に保持できる分子種がいかに登場しうるのかは、わかっていない。

ひとつの標準的なシナリオは、自分自身を複製できるレプリケター-RNA 分子が奇跡的に登場して、初期の生命へと発展したと考える RNA ワールド仮説である。しかし、指数関数的に増殖するそのようなレプリケターは不安定で、複製を繰り返すとエラーを蓄積してしまつて情報を失っていくというエラーカタストロフィーに落ちやすいことが理論的に指摘されている。また、単に速く増える分子のみが選ばれて、さらなる発展に必要な複雑性が失われることも指摘されている。アイゲンらによって提出されたハイパーサイクルは、複製レートが濃度に依存する非線形増幅を示す [1]。これにより、頻度依存的選択という非線形の選択が生じて、情報を安定に保持できると期待され、分子種出現の重要なカギと考えられる。しかし、ハイパーサイクル構造は複雑で、その発生メカニズムは知られておらず、誰も実験で成功していない。

一方、鋳型ライゲーション反応は、情報高分子の最も原始的な反応であり、前生物環境でも生じたと考えられる (図 1)。研究代表者らは、この鋳型ライゲーション系では、超指数関数的に増幅する分子反応ネットワークが自発的に生じ、ハイパーサイクル様構造を形成することを提案した [2] (図 2)。頻度依存的な選択を示し、さらに、数値計算結果によれば、空間的な拡がりが無視できない条件では、異なる場所で異なる遺伝情報を保持する「分子種」が登場することを予想した。これは、膜のような仕切りがなくとも異なる情報が共存できることを表しており、興味深い現象である。



図 1. 鋳型ライゲーション。相補的な DNA (もしくは RNA) が並んで鋳型に結合すると、その間のギャップをつなげるライゲーション反応が生じる。

ただし、この頻度依存的な選択は、非平衡条件などの条件に依存することが分かっており、どのような条件で生じるのか分かっていない。また、頻度依存性は強くなく、これだけでは、情報の安定な保持には不十分である可能性がある。したがって、頻度依存性を強化するメカニズムが求められる。

2. 研究の目的

遺伝情報を保持する分子種の出現は生命起源の本質的なステップである。しかし、これを説明する有力な機構はまだない。本研究課題では、情報高分子の原始的な複製反応である鋳型ライゲーションを用い、「配列情報の対称性が破れて安定な秩序 (遺伝情報) がほぼ不可避に出現する」ことを実験および数値計算により実証する。特に、(1) どのような条件下で情報の保持が実現されるのか、(2) どうすれば頻度依存的な選択を強化できるのか調べる。具体的には、DNA の 1 本鎖特異的な切断反応や空間的な拡散による効果を調べる。さらに、空間的な拡がりのある 1 次元系の実験系を構築し、異なる配列種が共存し得ることを示す。

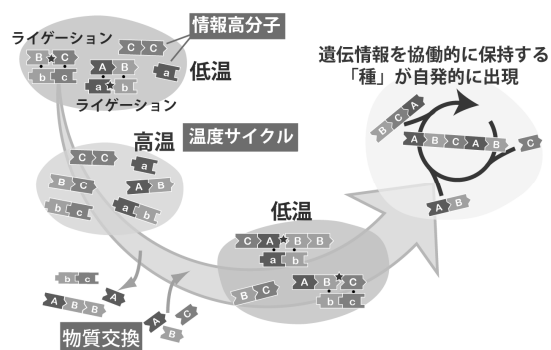


図 2. 温度サイクルを繰り返しながら、鋳型ライゲーション反応を行う。鎖は長くなっていくが、希釈 (物質交換) により、長さ分布はある分布に落ち着く。一方、配列の分布は一様になるのではなく、適度な非平衡条件下で、自発的に遺伝情報を保持する「分子種」が出現する。

3. 研究の方法

- (1) **非線形増幅**。鋳型ライゲーションで非線形増幅が生じることを実証するため、協働的な鋳型配列の組み合わせ、および、競争的な鋳型配列の組み合わせを用いて鋳型ライゲーションを行い、反応後に qPCR 法を用いて高精度で各配列の濃度を測定する。
- (2) **1 本鎖特異的な切断**。1 本鎖特異的な切断を実現するため、制限酵素とマーカー-DNA 配列を導入した新しい反応系を設計し、実験を行う。
- (3) **頻度依存的な選択の条件**。基質濃度と希釈強度を変化させて鋳型ライゲーションを行い、頻度依存的な情報選択が実現する条件を探す。
- (4) **空間的な遺伝情報の共存**。複数のチャンバーを接続し、さらに連続的な希釈ができるサーマルサイクラーを設計し、拡散による混合があっても、それぞれのチャンバーで情報を保持できることを確認する。

- (5) **鋳型ライゲーションのエラー制御**．鋳型ライゲーションでは，単に安定な配列が基質として選ばれるだけでなく，速く結合する基質が優先的に選ばれてライゲーションされる可能性がある．特に，通常は結合が平衡に落ち着くより前にライゲーションが生じるため，エラーレートは結合エネルギーで決まる平衡エラーレートよりも大きくなってしまふ．そこで，「インヒビター配列」と呼んでいる別の DNA 分子を加えることで，反応バリアの高さを制御して，情報複製のエラー率制御を目指す．

4．研究成果

主に以下の5つの成果を得た．

- (1) **非線形増幅**．非線形の増幅を観察することができた．この結果を以前の実験結果と合わせて，投稿中である [2] ．
- (2) **1 本鎖特異的切断**．制限酵素とマーカ配列を用いることで，1 本鎖のみ特異的に切断することに成功した．さらに，反応条件をスクリーニングし，この 1 本鎖特異的切断とライゲーション反応を同時に行うことに成功した．しかし，制限酵素の活性が時間とともに落ちてしまい，数 10 サイクルしか実験が出来ないことが判明した．そのため，1 本鎖特異的切断実験の継続は中止した．一方で，数値計算をした結果，DNA の拡散の長さ依存性が，頻度依存的選択を強化することが予想された（発表 1, 5）．この効果は，以下の4)で実現した実験系を用いて検証中である．
- (3) **頻度依存的選択の条件**．モノマー濃度と希釈率を変化させることで非平衡度を制御した結果，適度な非平衡度のみで頻度依存的選択が生じることが分かった．非平衡度が弱い場合は，亜指数関数的な増幅が生じて，全ての配列が増加すること，また，非平衡度が強すぎる場合は増幅が生じないことがわかった（発表 2, 6）．現在，論文を準備中である [3] ．
- (4) **空間的な遺伝情報の共存**．ポリアクリルアミド中での鋳型複製反応と微小流路系を組み合わせることで，温度サイクルを行いながら連続希釈ができ，かつ，チャンパー間の相互作用を測定できる実験系を設計し，実験を開始した（発表 1）．これにより，今後，異なる遺伝情報の空間的な共存を実証する．
- (5) **鋳型ライゲーションのエラー制御**．インヒビター配列を加えることで，平衡エラーレートまでエラーレートを下げることが成功した．また，インヒビター配列を変えることで，逆にエラーレートを高めることにも成功した．これは，複製しづらい配列を増やすための技術として期待される．現在，論文を準備中である [4] ．

本研究は，エラーカタストロフィーに陥らずに多様な情報を安定に保持するメカニズムを初めて示すものである．特に，鋳型ライゲーションという最も単純な情報複製反応が広い条件でこのメカニズムを実現することを示した．理論においても実験においてもこのような研究例はなく，国内外においてインパクトがあると期待される．

[1] P. Schuster and M. Eigen, *The Hypercycle: a principle of natural self-organization*, Springer (1979)

[2] S. Toyabe and D. Braun, *Templated ligation can create a hypercycle replication network*, arXiv:1802.06544 (2018)

[3] Y. Magi and S. Toyabe, *In prep.*

[4] S. Ono and S. Toyabe, *In prep.*

5．主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計 1 件)

S. Toyabe and D. Braun, *Templated ligation can create a hypercycle replication network*, arXiv:1802.06544 (2018),
<https://arxiv.org/abs/1802.06544>

〔学会発表〕(計 10 件)

畑和樹，間木靖裕，鳥谷部祥一，鋳型ライゲーションにおける一本鎖 DNA 特異的切断による頻度依存的情報選択，日本物理学会第 73 回年次大会 (2018)，東京理科大学

間木靖裕，鳥谷部祥一，DNA の鋳型複製における頻度依存的情報選択の条件検証，日本物理学会 第 73 回年次大会 (2018)，東京理科大学

S. Toyabe, Symmetry breaking of sequence information in templated ligation, *The Origin of Life - Synergy among the RNA, Protein, and Lipid Worlds -* (2017), 東京大学 (招待講演)
S. Toyabe, Emergence of genetic information in information-polymer soup, 第 55 回 日本生物物理学会年会 (2017), 熊本大学 (招待講演)

K. Hata, Y. Magi, S. Toyabe, Experimental demonstration of information retention against diffusional mixing in templated ligation, 第 55 回 日本生物物理学会年会 (2017), 熊本大学

Y. Magi, S. Toyabe, *Polymerization and*

information selection in
template-directed ligation of
information polymers, 第55回 日本生
物物理学会年会(2017), 熊本大学
S. Toyabe and D. Braun, Emergence of
genetic information in
information-polymer soup, NIM
Conference on Molecular Origins (2016),
LMU Munich (ドイツ)(招待講演)
S. Toyabe, Symmetry Breaking of
Sequence Information and Emergence
of Hypercycles in information-polymer
soup, StatPhys-Taiwan (2016), Taipei
(台湾)(招待講演)
S. Toyabe and D. Braun, Sequence
Hypercycles by Competitive Ligation,
StatPhys 26 (2016), Lyon (フランス)
鳥谷部祥一, D. Braun, 遺伝情報はいか
に生まれうるのか, 山田研究会 (2015),
修善寺(招待講演)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鳥谷部 祥一 (TOYABE, Shoichi)
東北大学・大学院工学研究科・准教授
研究者番号: 40453675