

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 5 月 15 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K23763

研究課題名(和文) 原始複製体モデルを用いた複雑化仮説の実験的検証

研究課題名(英文) Experimental verification of a hypothesis of early evolution of complexity using a primitive life-like system

研究代表者

水内 良 (Mizuuchi, Ryo)

東京大学・大学院総合文化研究科・特任助教

研究者番号：60845535

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、原始地球に生まれた様々な遺伝情報をもつRNA複製体が、いかにして融合し、現在の生物に見られるような一本のゲノムになるかについて理論的な検証と、実験検証のためのRNA複製体の構築を行った。RNA複製体の進化を模擬したシミュレーション解析では、一般的に原始複製体や原始区画の問題点と考えられている機能を失ったRNAの出現が特に融合したRNAの進化を促進すると示唆された。実験では、進化学と遺伝子工学を用いて自身がコードする複数の遺伝子の翻訳を介して自己複製するRNA複製体を取得した。本研究成果により、原始複製体が複雑化するための条件を予測し、またその実験検証に必要な基盤を確立できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

原始地球において生命がどのように誕生し、進化してきたのかを理解することは、科学の大きな問の一つである。一般に原始生命はRNAなどの情報分子の自己複製体として誕生した後、進化によって徐々に遺伝情報を拡張して複雑化したと考えられているが、この複雑化を引き起こす要因は謎に包まれていた。本研究では、原始複製体や原始区画で考えられる特徴が複雑化の一側面、すなわち複数の複製体をもつ遺伝情報の統合を促進する可能性を見出した。この結果は単純な分子複製体が複雑な生命システムへと進化していく一つのシナリオを提示し、例えば生命の起源の必要条件を絞り込むことに繋がる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we (1) theoretically investigated how primitive RNA replicators could be integrated into a long genome through Darwinian evolution, and (2) developed necessary molecules for examining the validity of a theoretical prediction. In the theoretical part, we simulated the long-term replication of cooperative RNA replicators, during which mutations may integrate the cooperators. We found that a critical factor for the evolution of such an RNA assembly is the appearance of unfunctional RNAs that replicate by exploiting the cooperative RNAs, which has been considered a major problem in the early evolution of life. In the experimental part, by combining genetic engineering and directed evolution, we obtained a long replicable RNA derived from two RNA replicators encoding different proteins. The study not only revealed likely conditions where primitive molecular replicators could have been integrated but also established the necessary basis for experimental verification.

研究分野：生命の起源

キーワード：生命の起源 生命の初期進化 複雑化 RNA 実験進化 翻訳システム 再構成 人工細胞

1. 研究開始当初の背景

生命は原始地球において、単純な RNA などの情報分子の自己複製体として誕生した後、進化によって徐々に遺伝情報を拡張し、複雑化したと考えられている。この複雑化の過程は、1) 異なる遺伝情報をもつ複製体が出現し、それらが協力的に (1つのユニットとして) 複製すること、2) 協力的な複製体が融合し、長い情報分子となることを繰り返して起きたという仮説が提唱されている (Maynard Smith 1995)。この仮説の妥当性について、いくつかの理論研究があるものの (Eigen 1971, Maynard Smith 1993 等)、適切な実験モデルがないために、実験的検証はできていない。

申請者らは近年、2種類の人工 RNA (RNA1, RNA2) とタンパク質を用いて、自律的な進化能を持つ協力的 RNA 複製システムを構築した (Mizuuchi 2018)。これは数種類の RNA と数十種類のタンパク質が細胞膜を模した区画 (油中水滴) に入っているだけの単純システムであり、RNA プロテインワールドという前生物時代のモデルである。本システムを用いてこれまでに、2種類の RNA の協力的な複製が持続し、またその仮定で進化によって協力関係が強化されたことを報告した。これにより、段階 1) の達成可能性を示した。そこで次は、このモデルを適切な原始環境条件でさらに進化させれば、段階 2) 融合による遺伝情報の拡張が起きるのかを検証できるはずである。

2. 研究の目的

本研究では、原始複製体を模擬した異なる遺伝情報をもつ RNA1 と RNA2 がどのような原始環境条件で進化的に融合し、一本の長いゲノム (融合 RNA) になるかについて、実験と実験を模擬した理論モデルを用いて検証する。

3. 研究の方法

理論面では、RNA1 と RNA2 の長期進化実験を模擬した理論モデルを構築し、シミュレーションによってどのような原始環境条件で融合 RNA が出現した場合に選択されるかを調べた。また実験面では、最終的には RNA1 と RNA2 を特定の原始環境条件で長期的に複製させることで、それらが進化的に融合することを実証する。そのためにまず、実験条件を検討するための、複製可能な融合 RNA の構築を行った。そして RNA1、RNA2、融合 RNA の長期複製実験を行った。

4. 研究成果

理論面では、RNA1 と RNA2 の長期進化実験を模擬した理論モデルを構築し、実験的に操作可能なパラメータ空間を探索することで、一定確率で RNA1 と RNA2 が融合した際に、それらが進化的に選択されるかどうかを調べた。10000 以上のパラメータセットを調べたところ、これまでに知られていなかった融合 RNA の進化を促進し得る様々な条件 (希釈率、環境収容力、区画の融合分裂頻度、変異によって生じる寄生性 RNA の複製効率など) が明らかになった。それらの条件は全て原始地球環境で起こりうるものである。例えば環境収容力が低い方が融合 RNA の選択に有利であったが、一般的に原始地球では RNA の基質は豊富に存在していなかったと考えられている。

本研究の成果で特に重要な点として、寄生性 RNA が融合 RNA の進化に与える影響が考えられる。寄生性 RNA とは、例えば突然変異によってコードする遺伝子の機能を失った RNA で、遺伝子が欠損しているものの、周りの RNA に依存して複製する RNA である。特に、壊れた遺伝子領域は不要であるため、寄生性 RNA は組み換え等によってさらに短くなっていく傾向にあると知られている。そして短い RNA は一般的に複製が速いため、宿主となる (長い) 機能性 RNA の複製を大きく阻害すると知られている。一般的に原始生命では RNA 複製のエラー率が高く、また原始細胞あたりの RNA のコピー数も多いと考えられており、このような条件では寄生性 RNA が出現しやすい。このような原始生命における寄生性 RNA の問題は 1960 年代から認識されており、今日でも生命の初期進化における重要な問題点の一つとして考えられている (Mizuuchi 2021)。今回行ったシミュレーションでは、寄生性 RNA の複製速度が RNA1、RNA2 よりも十分に速い場合に融合 RNA が顕著に選択された。そのため、これまでは原始複製体における問題点と考えられてい

た速く複製する寄生性 RNA の出現が、むしろ融合 RNA の進化に重要であることが示唆された。すなわち、原始複製体が複雑化するためには、寄生性 RNA との共進化が重要である可能性がある。

実験面では、上記のシミュレーションで得た仮説を検証するために、まず長期複製が可能な融合 RNA の構築を試みた。特にこれまでに所持していた融合 RNA は十分に複製できず長期複製実験には適さないとわかったため、人為進化実験によって新たに複製可能な融合 RNA を取得した。また本実験の長期複製実験では RNA がコードするタンパク質の翻訳がその RNA 複製に必須となる必要があるが、そのタンパク質が本研究で用いている無細胞翻訳系へコンタミネーションしていることが明らかになった。そこでタンパク質毎の独自精製手法を確立し、大規模に精製を行うことでこの問題を解決した。一方でこの操作により、新しい無細胞翻訳系では、昨年構築した融合 RNA が十分に複製できないとわかった。そこで新たな人為進化手法を確立し、複製能力が向上した融合 RNA を取得した。以上から、少なくとも理論的には有り得た原始複製体の進化シナリオを提唱することができ、またその実験検証に必要な技術基盤も確立することができた。今後、実際にこの仮説が正しいかどうかを実験的に明らかにし、原始複製体の複雑化シナリオの理解を推し進めたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Mizuuchi Ryo, Ichihashi Norikazu	4. 巻 11
2. 論文標題 Primitive Compartmentalization for the Sustainable Replication of Genetic Molecules	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Life	6. 最初と最後の頁 1-17
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/life11030191	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Mizuuchi Ryo, Ichihashi Norikazu	4. 巻 56
2. 論文標題 Translation-coupled RNA replication and parasitic replicators in membrane-free compartments	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 13453 ~ 13456
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/d0cc06606k	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Furubayashi Taro, Ueda Kensuke, Bansho Yohsuke, Motooka Daisuke, Nakamura Shota, Mizuuchi Ryo, Ichihashi Norikazu	4. 巻 9
2. 論文標題 Emergence and diversification of a host-parasite RNA ecosystem through Darwinian evolution	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 1-15
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7554/eLife.56038	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Sakatani Yoshihiro, Mizuuchi Ryo, Ichihashi Norikazu	4. 巻 32
2. 論文標題 In vitro evolution of phi29 DNA polymerases through compartmentalized gene expression and rolling-circle replication	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Protein Engineering, Design and Selection	6. 最初と最後の頁 481 ~ 487
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/protein/gzaa011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Mizuuchi Ryo, Usui Kimihito, Ichihashi Norikazu	4. 巻 26
2. 論文標題 Structural transition of replicable RNAs during in vitro evolution with Q replicase	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 RNA	6. 最初と最後の頁 83~90
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1261/rna.073106.119	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件(うち招待講演 4件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 水内良
2. 発表標題 原始生命を模した分子複製システムの構築と進化
3. 学会等名 第1回分子サイバネティクス定例研究会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 水内良、市橋伯一
2. 発表標題 無細胞翻訳系を用いた液滴内でのRNAの自己複製
3. 学会等名 第15回無細胞生命科学研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 水内良
2. 発表標題 原始生命を模した分子複製システムの進化と改良
3. 学会等名 生命の起原および進化学会 2021年シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 水内良、市橋伯一
2. 発表標題 液滴での翻訳を介したRNAの自己複製
3. 学会等名 「細胞を創る」研究会 13.0
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 水内良、市橋伯一
2. 発表標題 Translation-coupled RNA replication in membrane-free droplets
3. 学会等名 第58回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 水内良、古林太郎、市橋伯一
2. 発表標題 RNA自己複製体のダーウィン進化による複雑化
3. 学会等名 日本進化学会 第22回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ryo Mizuuchi
2. 発表標題 Compartmentalization for the evolution of cooperation in RNA replicators
3. 学会等名 Primitive Compartmentalization Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ryo Mizuuchi
2. 発表標題 Autocatalytic sets, Mineral surfaces, and the evolution of RNA
3. 学会等名 Ribonucleoprotein reconstruction/evolution mini-workshop (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ryo Mizuuchi
2. 発表標題 Emergence of cooperative RNA replicators in an artificial cell-like system
3. 学会等名 8th ELSI Symposium
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------