

進化のミッシングリンクを埋める単純な DNA 複製機構を進化実験により発見

1. 発表者：

岡内 宏樹（東京大学大学院総合文化研究科 広域科学専攻 博士課程 2 年生）
酒谷 佳寛（大阪大学 情報科学研究科 博士課程大学院生（研究当時））
大塚 健介（大阪大学 情報科学研究科 修士課程 2 年生）
市橋 伯一（東京大学大学院総合文化研究科 先進科学研究機構／同研究科 広域科学専攻
教授／普遍性生物学機構）

2. 発表のポイント：

- ◆原始生命が持っていた可能性のある単純な DNA 複製のしくみを、試験管内進化実験により発見した。
- ◆これまでに自然界で見つかっている DNA 複製では多数のタンパク質が必要であったのに対し、本研究成果では、わずか 1 つのタンパク質により一定温度で持続的な DNA 複製が可能となる。
- ◆この単純な DNA 複製のしくみは、RNA ゲノムから DNA ゲノムへの進化のミッシングリンクを埋める鍵となる。

3. 発表概要：

東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻の岡内宏樹大学院生、市橋伯一教授、大阪大学大学院情報科学研究科の酒谷佳寛大学院生（研究当時）らは、原始的な DNA 複製の可能性がある新しい DNA 複製のしくみを発見しました。

生物において、すべての情報を記録しているゲノム DNA の複製は最も重要なしくみの一つです。それゆえに DNA の複製は、どんな生物でも多数のタンパク質が必要とされる複雑な反応となっています。しかし、このような複雑な DNA 複製機構が初めから存在していたわけがありません。原始の生命体は、そのゲノム情報を RNA（注 1）に記録しており、どこかの段階で DNA に記録するように進化したと考えられています。このときに最初に生まれた DNA 複製はずっと単純なしくみだったと予想されます。しかし、そのような単純な DNA 複製のしくみはもはや現存生物には残っておらず、DNA の進化過程は謎に包まれていました。本研究では、この失われた DNA 複製の候補となる単純な（わずか 1 つのタンパク質しか必要としない）DNA 複製のしくみを、試験管内での進化実験により発見しました。この研究成果は、進化のミッシングリンク（注 2）を埋め、DNA 複製の誕生過程を理解する鍵となります。

4. 発表内容：

DNA にはすべての生物の情報が記録されており、その複製は生物にとって最も重要な機能の一つです。現在の生物は、多数のタンパク質を使って一定温度で持続的な DNA 複製を達成しています。例えば最も単純な生物である細菌の DNA 複製には、DNA 複製酵素（注 3）、DNA を解離するタンパク質、プライマー（注 4）を作るタンパク質、プライマーを分解するタンパク質、複製途中の DNA を安定化するタンパク質など、10 種類以上のタンパク質が必要です。

私たちの祖先となる原始生命は、元々 DNA ではなく、RNA（注 1）をゲノム情報の入れ物として使っていたと考えられています。それがどこかの段階で、より安定で情報の保管に適し

た DNA を用いるようになったと言われていました。このとき、いきなり現在の生物のような複雑な DNA 複製のしくみが生まれたとは考えられません。最初の DNA 複製のしくみは単純なものだったはずですが、そのような原始的な DNA 複製は現在の生物には残っておらず、進化のミッシングリンクの一つとなっています。

本研究で発表者らは、試験管内での進化実験により、失われた DNA 複製を再現することを試みました。行った実験は単純です。材料として 1 種類の DNA 複製タンパク質 (phi29 DNA 複製酵素 (注 3)) とランダムプライマー (注 4) と DNA の材料となるデオキシリボヌクレオチドからなる反応液を用意しました。重要な点は、この反応液にはタンパク質が 1 種類しか含まれていないことです。これまでの常識では、この条件で持続的に複製できるような DNA は存在していません。この反応液の中に進化の種となる環状 DNA を入れ、30°C で一日温めました。その後、反応液を少し取って新しい反応液に植え継いで、また同じ 30°C で一日温めました。この植え継ぎ実験を約 1 か月にわたり続けたところ、この反応液で持続的に複製する DNA が進化していることを発見しました (図 1)。この DNA の配列を調べてみると、約 200 塩基長の配列の繰り返しからなる巨大な DNA であることが分かりました。

研究を進めた結果、繰り返している配列は重要ではなく、どんな配列でもただ繰り返していると複製できることが分かりました。さらにこのしくみは無細胞転写・翻訳システム (注 5) と組み合わせることで、DNA 自身に複製酵素をコードし、そこから発現した酵素により自分の DNA を持続的に複製させること (セントラルドグマ (注 6) の再現) にも成功しました。また、予想外の発見として、転写反応が存在していればランダムプライマーも不要になることも見出しました。おそらく転写によって合成された RNA がプライマーとして働いていると予想されます。

本研究成果は、DNA 複製を達成するためには、現在の生物で用いられるような多数のタンパク質からなる複雑なしくみは必要ではなく、1 つのタンパク質の出現により可能になることを示しています。例えば、RNA をゲノムとして使っていた原始生命は、どこかの段階で元々持っていた RNA 酵素を DNA も合成できるように変化させるだけで、DNA 複製のしくみを進化させることができたと予想されます。さらにその後、DNA を相同組み換えする酵素が誕生すれば、現在の細菌が持つような環状 DNA へと進化することができます (図 2)。本研究で発見した繰り返し配列をもつ DNA の複製のしくみは、RNA ゲノムから DNA ゲノムへ至る進化のミッシングリンクを埋める原始的な DNA 複製とみなすことができます。

本研究でみつけた DNA 複製機構を使えば、DNA ゲノムの誕生という原始生命における 1 大イベントが今まで考えられてきたよりもずっと簡単に実現できたと考えています。今後、この DNA 複製を用いた更なる検証実験により、本当に RNA 複製酵素から DNA 複製酵素への進化が可能だったのか、あるいは繰り返しを持つ DNA から環状 DNA への進化が本当に可能なのかなど、未だに残る謎を検証していきたいと考えています。こうした研究により、私たちの祖先がどうやって今の姿へと進化しえたのかを明らかにできるはずですが、さらに今回発見した DNA 複製機構は、その単純さから現在世界中で開発が進められている人工細胞の開発 (注 7) にも応用できると考えています。

5. 発表雑誌：

雑誌名：*ACS Synthetic Biology*（オンライン版：6月17日）

論文タイトル：“Minimization of elements for isothermal DNA replication by an evolutionary approach”

著者：Hiroki Okauchi, Yoshihiro Sakatani, Kensuke Otsuka, and Norikazu Ichihashi*

DOI：10.1021/acssynbio.0c00137

Abstract URL：<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acssynbio.0c00137>

6. 問い合わせ先：

東京大学大学院総合文化研究科 先進科学研究機構／同研究科 広域科学専攻

教授 市橋 伯一（いちはし のりかず）

7. 用語解説：

注1： RNA

リボ核酸を指す。DNA（デオキシリボ核酸）に比べて酸素原子が一つ多い。原始生物はもともと RNA に遺伝情報を記録しており、どこかの段階で DNA を使い始めたと考えられている。

注2： 進化のミッシングリンク

通常は、過去に存在したはずなのにまだ見つからない（あるいは失われた）進化途中の生物や化石のことを指すが、ここでは過去に存在したはずなのにまだ見つからない（あるいは失われた）進化途中の DNA 複製のしくみを指す。

注3： DNA 複製酵素

DNA を複製する能力を持つ酵素のことを指す。本研究では枯草菌のバクテリオファージ phi29 のもつ DNA 複製酵素を用いた。この酵素に限らず、理論上は鎖置換活性を持つ DNA 複製酵素であれば繰り返し配列を持つ DNA の複製反応を起こすことができる。

注4： プライマー / ランダムプライマー

普通の DNA 複製酵素は何もないところから DNA を合成することができず、もともとある DNA 鎖か RNA 鎖を延ばすことしかできないため、複製の開始点としてプライマーと呼ばれる短い1本鎖の DNA か RNA が必要となる。ランダムな配列のプライマーをランダムプライマーと呼ぶ。ランダムなので、DNA のいろいろな場所で複製を開始することができる。本文中に述べたように、転写反応が同時に起こる環境ではこれらのプライマーも不要となる。

注5： 無細胞転写・翻訳システム

細胞から抽出した反応液で、DNA からそこにコードされている遺伝子を転写・翻訳することができる。本研究では T7 ファージの転写酵素と大腸菌の再構成翻訳システムを用いた。

注6： セントラルドグマ

生物の中で行われる遺伝情報の流れのことを指す。具体的には通常、DNA の複製による遺伝情報の複製、DNA から RNA への遺伝情報の転写、RNA からタンパク質への遺伝情報の翻訳の3つの反応のことを指す。

注7： 人工細胞の開発

既知の分子のみを用いて細胞、あるいはその機能を試験管内で構築する試みのことを指す。現在世界中で開発が進められている。

8. 添付資料：

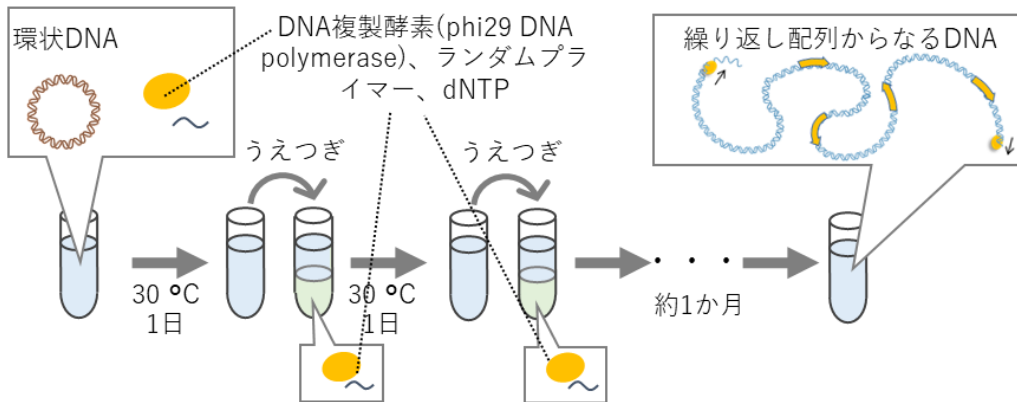


図1 単純な DNA 複製のしくみを生み出した試験管内進化実験の模式図

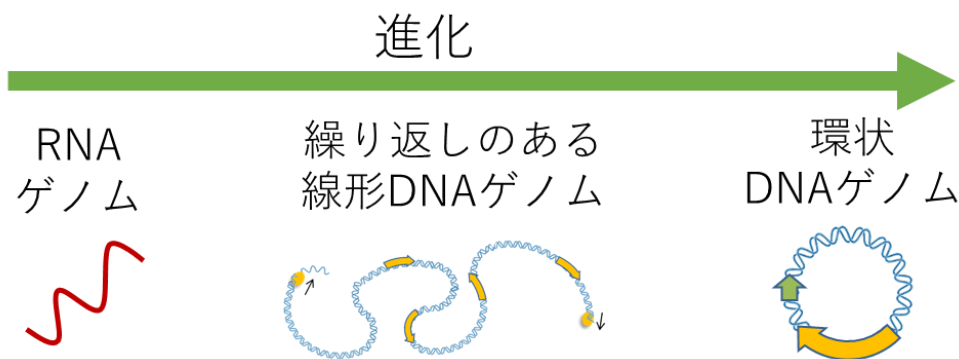


図2 本研究から提唱される RNA ゲノムから繰り返しのある線形 DNA ゲノム、そして現在の環状 DNA ゲノムへの進化過程。