

物質から生命への進化を可能にしたカギは寄生体との共進化か

1. 発表者：

- 古林 太郎（フランス国立科学研究センター 博士研究員）
植田 健介（東京大学大学院総合文化研究科附属先進科学研究機構／同研究科 広域科学専攻 博士課程1年生）
番所 洋輔（大阪大学生命機能研究科 博士課程大学院生（研究当時））
元岡 大祐（大阪大学微生物病研究所 特任助教）
中村 昇太（大阪大学微生物病研究所 特任准教授）
水内 良（東京大学大学院総合文化研究科附属先進科学研究機構 特任助教／科学技術振興機構 さきがけ研究者）
市橋 伯一（東京大学大学院総合文化研究科附属先進科学研究機構／同研究科 広域科学専攻／生物普遍性研究機構 教授）

2. 発表のポイント：

- ◆原始生命体を模した分子システムを開発し長期進化実験を行ったところ、ウイルスのような寄生体が自然発生した。
- ◆開発した分子システムは、寄生体と共進化すると進化が止まらなくなり、さらに複数の種へと分化した。
- ◆寄生体は、ただの物質の集まりであった原始生命体に進化を促し、生命誕生を可能にした鍵であったと考えられる。

3. 発表概要：

フランス国立科学研究センターの古林太郎博士研究員、東京大学大学院総合文化研究科附属先進科学研究機構／同研究科 広域科学専攻／生物普遍性研究機構の市橋伯一教授らは、ただの物質の集まりである RNA の自己複製システム（注1）を試験管内で多様な系統へと自発進化させることに成功しました。

生命が生まれる前の時代には、RNA や短いタンパク質などの分子からなる、分子の自己複製システム（例えば RNA ワールドにおける自己複製 RNA など）が存在し、それらが進化することで現在のような多様で複雑な生物界が作り上げられたと想像されています。しかし、これまでの分子の自己複製システムでは進化（注2）がすぐに止まり、生命に近づいていく様子は観察されませんでした。本研究では、独自に開発した RNA の自己複製システムを原始生命体のモデルとして用いて、実験室で約300世代に及ぶ長期の進化実験を行いました。その結果、これまで見られたことのない進化現象を観察することに成功しました。まず、元の RNA（宿主 RNA と呼ぶ）に依存して増える寄生型の RNA（寄生体 RNA と呼ぶ）が RNA の組み換え（注3）により自然発生しました。そしてこの寄生体 RNA と元の宿主 RNA は、互いに対する耐性を次々に獲得していきました。この進化的軍拡競争（注4）と呼ばれる現象の結果、宿主 RNA と寄生体 RNA の双方が止まることなく進化を続け多様な種類へと分化することが発見されました。

これまでウイルスなどの寄生体と宿主生物との共進化は、生物進化における重要な駆動力のひとつだと考えられてきましたが、本研究成果は、その起源が生命誕生前までさかのぼる可能

性を示しています。寄生体との共進化が、物質から生命への進化を可能にしたカギだったのではないかと発表者らは考えています。

4. 発表内容：

生命が生まれる前の時代には、RNA や短いタンパク質などの分子が集まってできた自己複製する分子システムが存在しており、それらが少しずつ進化することによって、生命が誕生したと想像されています。しかし、これは完全に想像でしかなく、いままでどの研究グループも、分子のシステムが進化して生命に近づいていく様子を観察できていません。例えば、初めて進化する分子システムを作ったのはアメリカのシュピーゲルマンらのグループですが、RNA は進化にしたがって短くなり進化が止まってしまうことを報告しました (Mills et al PNAS 1967)。その後、いくつかのグループが自己複製分子システムの進化実験を行いましたがいずれの場合も最も速く増える分子 (多くの場合最も短く単純な分子) が集団を占めることで進化はすぐに止まってしまう。いったいどうやったら分子のシステム持続的に進化を続け、もっと複雑な生命体へと至るのでしょうか?このことは生命の誕生と進化における大きな謎として残されていました。

今回、発表者らのグループは、独自に開発した RNA の自己複製システムを用いてこの謎に取り組みました。この RNA 複製システムはシュピーゲルマンらの分子システムを基にしていますが、大きな違いとして無細胞翻訳反応液 (注5) が含まれています。この反応液の導入は、RNA にコードされた遺伝子の酵素などタンパク質への翻訳を可能にしました。この酵素により、自身の中にコードされた遺伝子 (RNA 複製酵素 (注6)) を RNA が翻訳し、複製することも可能になりました。また、このシステムを油中水滴に封入し無細胞翻訳反応液で希釈しながら継代してやると、RNA は自分を複製し続け (図1上)、その際に複製ミスにより突然変異も生じることが分かりました。突然変異によって元の RNA より複製しやすくなった RNA が出現すると、集団の中で自分のコピーを増やし、最後には全体を占めることになるのです (図1下)。これはまさに進化 (適応進化) と呼ばれる現象です。この RNA の自己複製システムでは、RNA 複製反応を続けるだけで RNA が自発的に進化するのです。

この RNA 複製をしばらく続けたところ、これまで知られていた分子システムの進化実験とは大きく異なる現象が起きました。他の RNA に依存して増える寄生型の短い RNA (寄生体 RNA) が出現したのです。この寄生体 RNA は、元々の RNA (宿主 RNA) がもっていた RNA 複製酵素遺伝子を欠損しています。したがって、この寄生体 RNA だけでは RNA 複製酵素を翻訳できず増えません。しかし、同じ油中水滴中に元の宿主 RNA がいれば、その RNA が翻訳した複製酵素に寄生して増殖が可能です (図2)。この意味において、短い RNA は寄生体、元の遺伝子を持った RNA を宿主とみなすことができます。このような「寄生」という新しい戦略が生まれた理由は、発表者らが無細胞翻訳反応液を導入したことにより、RNA の複製メカニズムが1段階複雑になったためです。RNA が自分自身のほかに RNA 複製酵素という (自分に由来するものでありながら) 別の分子を必要とすることになったため、この複製酵素を横取りして増えるという新しい戦略が生まれたのだと考えられます。

本研究では、このような寄生型の RNA 存在下で約 300 世代に及ぶ長期間の進化実験を行いました。すると、宿主 RNA と寄生体 RNA の個体数はダイナミックに振動し、元々の寄生体とは大きさの異なる新型の寄生体が出現することを見出しました (図3)。この進化実験の最初と途中で出てきた宿主および寄生体 RNA について、そのお互いの力関係を知るために、競争実験 (注7) を行ってみました。その結果、耐性を獲得した宿主 RNA に対して、その耐性をかいくぐるような新型の寄生体が生まれていることを見出しました (図4)。次にこの新型

寄生体に対して耐性を獲得した新型宿主 RNA が出現していました。この新型宿主も安泰ではなく、これに対しても感染して増えるような新型寄生体が次に現れました。このような次から次へと相手に対応したものが現れる現象は、進化生物学では進化的軍拡競争（注4）と呼ばれます。この進化的軍拡競争によって、宿主 RNA、および寄生体 RNA の進化は止まることなく、約 300 世代以上にわたり続きました。ちなみにこの進化実験は今もなお続けていますが、まだ止まる気配はありません。

さらにこの進化的軍拡競争によって、宿主 RNA は多種類の系列へと分化していました（図5）。興味深いことに、次のタイプの宿主や寄生体が生まれたあとも、元のタイプは絶滅することなくある程度の頻度で存在し続けていました。すなわち、宿主と寄生体 RNA に多様性が生まれたのです。この進化実験は単一の RNA からスタートしています。初めは 1 種類の RNA だったのが、長い間複製を続けることによって寄生体が生まれ、その寄生体との共進化により多様な種へと進化し、複雑な分子の生態系が生まれることになりました。

本研究成果から、ひとたび寄生体が出現すると寄生体との進化的軍拡競争によって進化は持続的になり、さらに宿主も寄生体も多様化することが発見されました。これは、生物だけの特徴だと考えられてきた多様性の進化や持続的な進化といった現象が、非生物の分子からなるシステムで再現された初めての例です。寄生体の出現によって、RNA という分子であっても「まるで生物のように」進化することが可能になりました。この寄生体との共進化が、物質から生命誕生を可能にしたカギではないかと発表者らは考えています。

5. 発表雑誌：

雑誌名： *eLIFE*（オンライン版：7月21日）

論文タイトル：“Emergence and diversification of a host-parasite RNA ecosystem through Darwinian evolution”

著者：Taro Furubayashi, Kensuke Ueda, Yohsuke Bansho, Daisuke Motooka, Shota Nakamura, Ryo Mizuuchi, Norikazu Ichihashi*

DOI 番号： 10.7554/eLife.56038

アブストラクト URL： <https://doi.org/10.7554/eLife.56038>

6. 問い合わせ先：

東京大学大学院総合文化研究科附属先進科学研究機構／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 の自己複製システム

RNA とはリボ核酸（ribonucleic acid）の略称で、DNA と同様に遺伝子の情報を記録します。本研究で用いた RNA は、RNA 複製酵素の遺伝子をコードしています。RNA からこの遺伝子が翻訳され、RNA 複製酵素が生成され、元の RNA が複製されることとなります。この RNA の翻訳と複製反応は、無細胞翻訳反応液さえ供給されれば何世代でも続きます。複製時には一定の確率で突然変異も起きるため、複製過程で元の RNA より早く増加する変異型 RNA が生まれることがあれば、RNA は子孫を多く残し集団を占めるようになります。すなわち RNA 集団は進化するのです。

注2： 進化

進化は分野毎にいろいろな意味で使われます。ここでは進化生物学的な定義に基づいて「RNA 集団の遺伝的組成が変化すること」という意味で用いています。例えば、ある RNA に突然変異が入り元の RNA よりも早い増加が可能になった場合、RNA 集団の中でその変異体の割合が増加します。このような現象を私たちは進化と呼んでいます。一般的にイメージする生物の進化は、魚に足が生え両生類となるといった形態的な変化ですが、これも突き詰めていけば形態に関わる遺伝子のなんらかの変異が集団内に広まることに起因します。この研究が見ているものと本質的には変わらず、ただ見え方が違うだけなのです。

注3： RNA の組み換え

RNA は長い鎖状の構造を有します。低頻度ではありますが、ときどき分子間や分子内でこの鎖のつながり変えが起こります。このことを RNA の組み換えと呼びます。もし宿主 RNA が自分の中で RNA 組み換えを起こすと、元々持っていた RNA 複製酵素遺伝子部分を欠落させてしまうことがあります。この欠落により寄生体 RNA が生まれるのです。今回行った進化実験では 10^8 個もの大量の宿主 RNA 分子を扱ったため、低頻度ではありますが、遺伝子部分を欠落した寄生体 RNA がすぐに出現することになります。

注4： 進化的軍拡競争

2 種類の生物が対立関係にある場合、互いが相手に対して強くなるような進化を交互に繰り返すことを指します。例えば、ウイルスに対して宿主が耐性を進化させ、それに対してウイルスが耐性をかいくぐるような進化が続くような場合です。共進化現象のひとつだとみなされています。

注5： 無細胞翻訳反応液

細胞から抽出した反応液で、翻訳に必要なタンパク質、RNA、リボソーム、低分子化合物（アミノ酸や核酸）をすべて含んでいる反応液です。反応に必要なエネルギー源も含まれます。RNA をこの反応液中で温めると、RNA にコードされた遺伝子がタンパク質として翻訳されます。本研究では、大腸菌から個別に精製された再構成翻訳システム（PURE system）の改良版を用いています。

注6： RNA 複製酵素

RNA を鋳型にして RNA を複製する酵素のことを指します。本研究では大腸菌ファージ Q β 由来の RNA 複製酵素を用いています。今回用いた RNA にコードされているのは正しくは複製酵素全体ではなく、その触媒サブユニットのみです。この触媒サブユニット（サブユニット β ）は無細胞翻訳系中の翻訳伸長因子（EF-Tu と EF-Ts）と複合体を形成し、活性のある RNA 複製酵素となります。

注7： 競争実験

各段階で出てきた宿主 RNA と寄生体 RNA の力関係を知るために、各宿主と寄生体を 1 対 1 で混ぜて、どちらがどのくらい複製できるかを調べる実験のことを指します。もし宿主側が耐性を獲得していると寄生体は増えられず、逆に寄生体側が宿主に対する感染性を持っていれば寄生体側も増えられることとなります。

8. 添付資料：

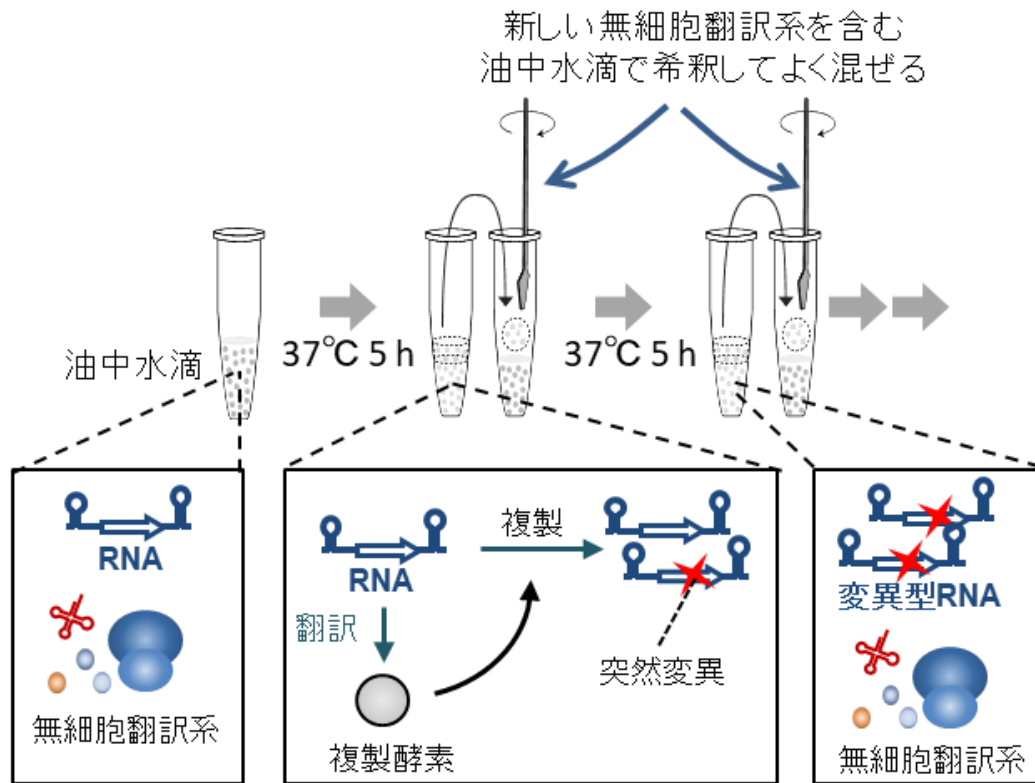


図1 RNAの進化実験の模式図

本システムを微小油中水滴に封入し、新しい翻訳系を含む油中水滴で一定希釈しながら継代するとRNA複製を続けることができる。複製中には複製ミスにより変異が入る。もし変異の入った変異型RNAが元のRNAよりも複製能力が高ければ、より多くの子孫を残すため集団を占めることになる。これは生物が適応進化するメカニズムと同じ現象である。

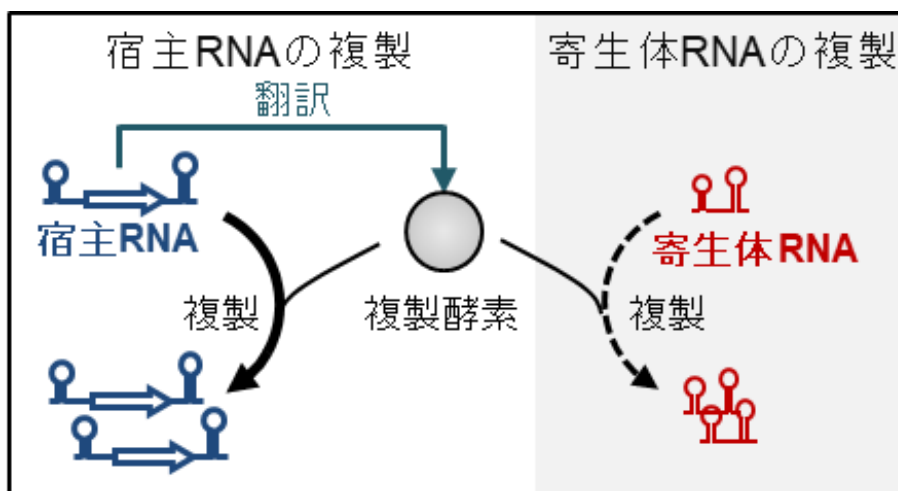


図2 宿主RNAと寄生体RNAの模式図

宿主RNAは複製酵素を作って単独で複製できるが、寄生体RNAは複製酵素遺伝子を持たないため、宿主が作った複製酵素に依存してしか増加できない。

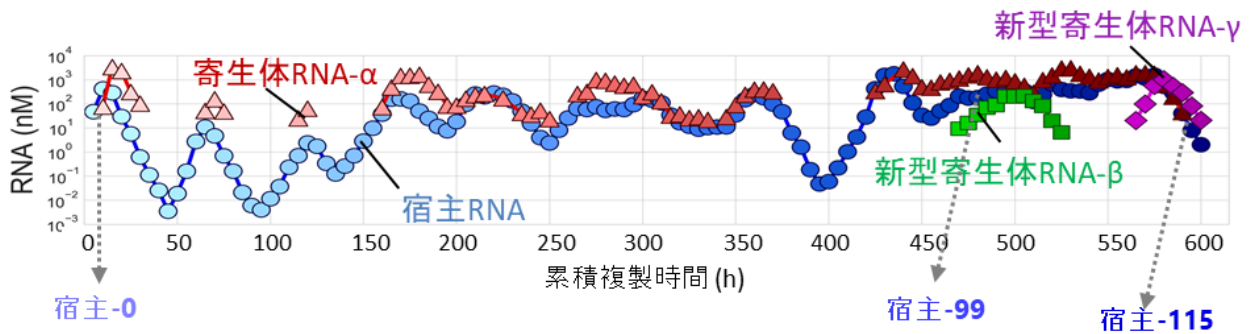


図3 進化実験中の宿主および寄生体 RNA の個体数ダイナミクス

進化実験中の宿主および寄生体 RNA の濃度は振動した。これは宿主濃度が高くなると寄生体がそれに依存してよく増えて濃度が上昇し、その結果、宿主は増えられなくなり濃度が低下し、宿主濃度が下がると寄生体も増えられなくなって濃度が低下したためである。ただし、途中からこの振動は不明瞭になり、宿主と寄生体は高濃度で維持されるようになっていった。この理由は現在解析中である。後半には新型寄生体-βおよび-γが出現した。これらは元の寄生体-α（約 200 塩基長）に比べ、それぞれ約 1000 塩基長、500 塩基長と大型の寄生体 RNA である。宿主 RNA についても、サイズは変わらないもののその配列は複製時間によって大きく変化しており、矢印で示す場所から宿主-0、-99、-115 と名付けた RNA 変異体を採取し、競争実験を行った。

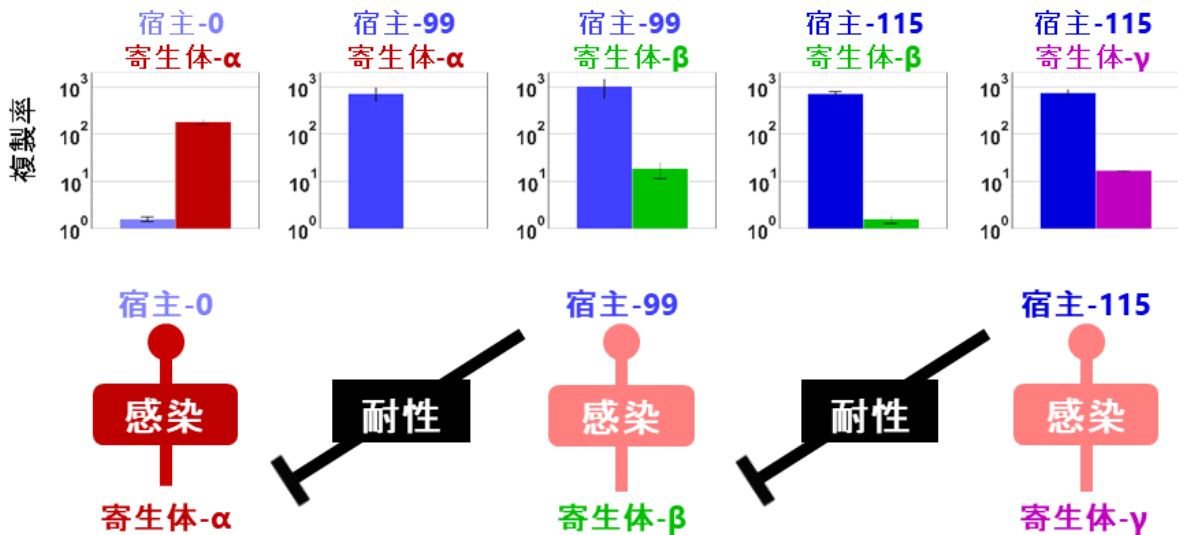


図4 進化中の各段階の宿主および寄生体 RNA の競争実験の結果

進化実験のスタート時の宿主 RNA（宿主-0）に対して、最初に現れた寄生体 RNA（寄生体-α）は極めて強い感染性を示した（宿主が増えず、寄生体ばかりが増えた）が、次に現れた宿主-99は寄生体-αに対する耐性を獲得していた（寄生体-αを増やさなかった）。これに対し次に出現した寄生体-βは宿主-99に感染できるようになっており、最後の宿主-115は寄生体-βに対して耐性を獲得、さらに最後の寄生体-γは宿主-115に対して感染できるように進化していた。このような次から次へとお互いに適応していく進化は、進化的軍拡競争と呼ばれる。この軍拡競争のために、この RNA の進化は止まらなくなったのだと考えている。

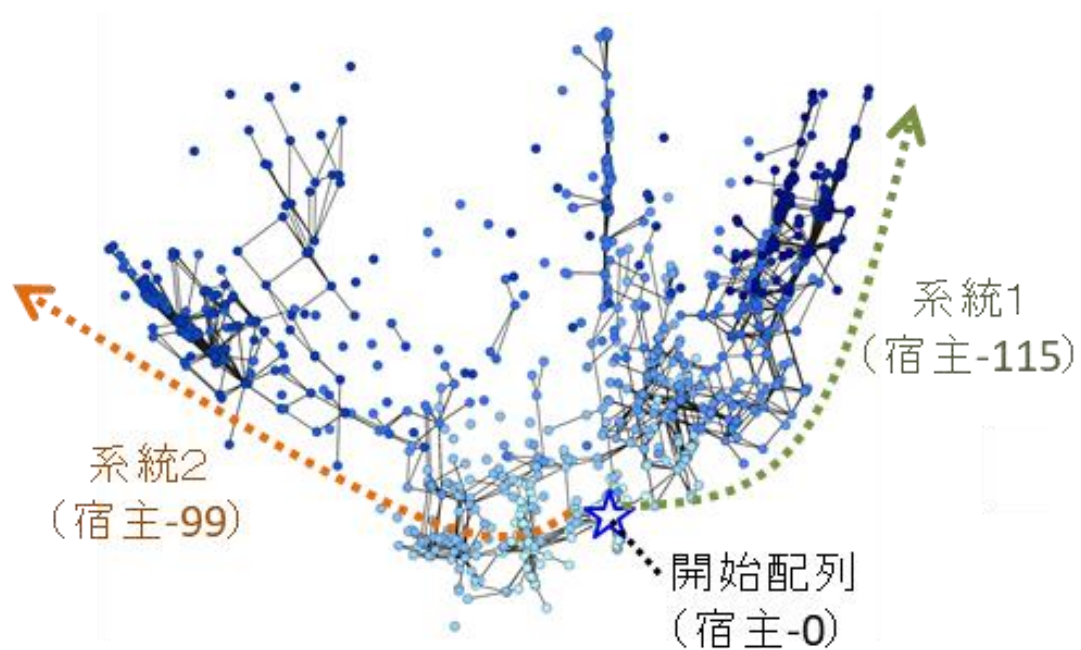


図5 宿主 RNA の複数の系統への分化

継代中の宿主 RNA の配列を約 50 h ごとに 100 配列ずつ解析し、配列の違いを距離として 2 次元にプロットしたところ、少なくとも宿主-99 を生んだ系列と宿主-115 を生んだ系列の 2 系統に多様化していた。1 塩基変異の点は実線でむすんである。