

2 生きていなくても進化する ——自己複製RNAを使った進化の理解

市橋 伯一 *Norikazu Ichihashi*

東京大学 大学院総合文化研究科・先進科学研究機構・生物普遍性機構 教授

進化とは一定の条件を満たせばどんなものにも起こる現象である。本稿では進化する能力を持つRNAについて、RNAの表現型（構造）の揺らぎとそのRNAの進化可能性が強く相関していることを示す理論および実験研究を紹介する。生物よりも単純なRNAを使うことにより、複雑な生物の進化ではわからない進化現象の原理が理解できるようになると期待される。

1 進化という現象

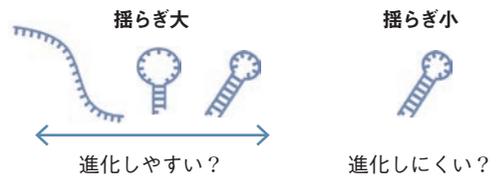
生物は進化する。突然変異により表現系に多様性が生まれ、その中で最も子孫を多く残したものが集団中での割合を増やしていく。この現象が**適応進化***とよばれる。この適応進化が何度も繰り返し起こると、生物は新しい機能を身につけたり、新しい種へと分化したりすると想像されている。このような現象を起こすことのできる存在は、自然界には生物以外に見当たらない。このことから進化は生物に特有の性質だと普通は見なされているが、これは正しくない。適応進化という現象は、一定の条件を満たせばどんなものにも起こる物理現象である。ただ自然界で、生物以外のものがその条件を満たすことはほとんどありえないだけである。適応進化が起こる条件とは人によって表現は少々異なるものの概ね以下の3条件である（図1）。

1. 複製
2. 遺伝する変異
3. 選択

• RNAも複製し変異すると進化する



• RNAの構造揺らぎから進化しやすさを予想ができるか？



生物でなくても、複製や変異が入るなど一定の条件を満たすならば進化することができる。本稿では単純な進化するモデルとしてRNAの進化を取り上げ、その表現型となる構造揺らぎと進化しやすさの関係性についての理論研究と実験的証拠を紹介する。

用語解説 *Glossary*

【適応進化】

置かれた環境に適応的な（＝適応度を上げるような）変異が集団内で頻度を増やすこと。対立する言葉として中立進化があるが、こちらは適応度を上げないような変異が集団内で頻度を増やすこと。

複製とは生物でも、無生物でもなんでもよいが、対象が自分と同じものを作る能力があることである。遺伝する変異とは、複製の結果、元とまったく同じものができるのではなく、変異が入ることによって少しだけ違うものが生まれ、その違いがそのあとの複製物にも受け継がれることである。選択とは、変異によって生じた少しの違いによって複製の速度や成功率などが変わり、その結果、より複製しやすいものが集団内で頻度を増やすことである。以上の3条件を満たすものが複製を続けると、たとえ生物でなくてもそのうちに適応進化をおこすことになる。自然界でこの条件を満たす無生物

は見つからないが、実験室で人為的に作られた化学反応系では上記の条件を満たすものが複数開発されている。

史上初めて進化を起こすことのできた化学反応系はシュピーゲルマンらの開発したRNA複製系である¹⁾。この実験系は大腸菌のRNAウイルス(バクテリオファージQβ)のゲノムRNAと、そのウイルスの持つRNAからRNAを複製する酵素、そしてRNAの材料からなる。これらを含む溶液を温めると**RNA複製酵素***によりゲノムRNAが複製される(図2)。しばらくするとすべての材料を使い切って複製は止まってしまうが、そこからRNAの一部をとって複製酵素とRNAの材料を含む溶液で希釈し、再び温めるとさらにRNAの複製が続く。このような操作を何度も繰り返すことによりRNAは持続的に複製し、そのうち複製ミスによってRNA配列が変異し、もし複製速度が速くなるような変異が入れば、それがいったRNAは集団内での頻度を増やしていく。このようにして適応進化が起きた。この実験系で適応的な変異はRNAの長さを短くするような変異(欠損変異とよばれる)であったため、ゲノムRNAは複製を続けるうちに約4,000塩基から500塩基まで短くなり、10倍以上速く増えられるように進化した。この反応液には生きているものは何も含まれておらず、ただの酵素反応が起きているだけである。それでもRNAは次第に自らを複製する能力を向上させていくという適応進化現象を起こしたのである。

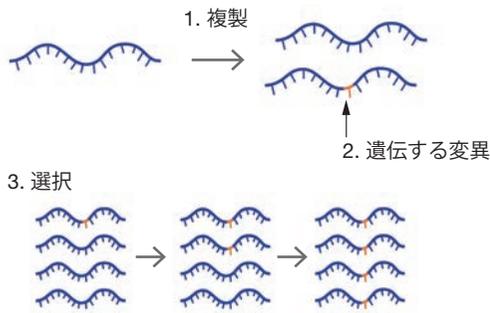


図1 進化現象が起こるために必要な3条件

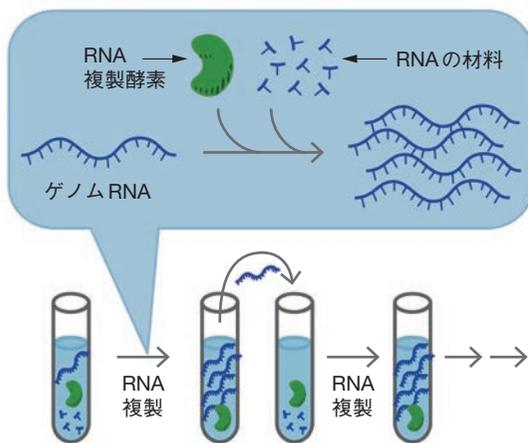


図2 シュピーゲルマンのRNA複製系

用語解説 Glossary

【RNA複製酵素】

1本鎖RNAを鋳型として相補的な1本鎖RNAを合成することのできるRNAウイルス由来の酵素(Qβレプリケース)。合成した相補的な1本鎖RNAを鋳型として、さらに相補的な(つまり元のRNA)を合成することができるため、1本鎖RNAを複製することができる。

2 進化モデルとしてのRNA

このようにRNAというただの化学物質であっても、一定の条件の下で進化させることができる。RNAは、その単純さから、進化という現象を理解するための理想的なモデルとなりうる。自然界での生物の進化を詳しく理解しようと思うと、その複雑さが大きな障害となる。たとえば自然界の環境は一定ではないし、生物自体が環境を変えることもある。またほとんどの場合、生物進化は過去に起きたことであり、当時の環境もわからず当時の生物も手に入らない。さらに生物自体もわからないことだらけであり、ある変異が導入されたときに、それがその生物の表現型にどんな影響を与えるのかは普通わからない。したがって、自然界の生物の進化は、二重三重のわからなさに包まれている。一方でRNAの進化は単純である。実験室内で進化させられることができるため環境は一定である。また進化途中のRNA集団をすべて保存し、あとで解析することもできる。さらにRNAにとっての表現型であるRNAの構造は、RNA配列から高い精度で予測することができる。したがって、遺伝型が決まれば表現型も一意に決めることができる。すなわちRNAであれば進化の理解に必要な情報をすべて手に入れることができ、進化過程のあいまいさのない理解が可能である。

このような利点から、RNAを材料として、今まで多くの理論研究がおこなわれ、進化という現象の理解に貢献してきた。たとえばFontanaとSchusterは、RNAは構造を変えないような変異が多くあるため元々持っていた機能を維持したまま別の機能を持つように進化可能だという説を報告しており²⁾、実際にそれによく合致したRNAの進化過程が見つかった³⁾。このような経路はニュートラルネットワークをよばれており、RNA（おそらくタンパク質も）持つ高い進化可能性の理由だと推定されている。本特集に関わる進化の方向性に関連することとしては、**RNAの構**

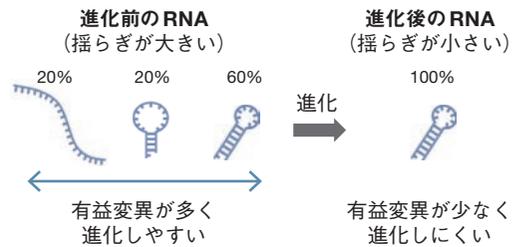


図3 RNAの構造ゆらぎと進化の関係

造揺らぎ*の重要性もAncelとFontanaにより指摘されている⁴⁾。RNAは普通一つの最安定構造だけとるのではなく、複数の同程度に安定な構造（準安定構造）を遷移していると考えられている。これをRNAの構造揺らぎとよぶ。彼らが計算機上でRNAの構造と変異体の関係を調べたところ、進化が進むにつれてこの構造揺らぎが小さくなっていく傾向があることを見いだした。すなわち進化が進んでいないRNAほど複数の構造を遷移しているが、進化が進むにつれて特定の再安定構造だけを取るようになり、束縛されていく。彼らの理論によると、揺らぎはいわば進化の資源である。RNAは揺らぎを消費することで**適応度***を上げるのである。したがって揺らぎが大きいRNAほど進化しやすく、揺らぎが小さいほど進化しにくいことが予想される（図3）。これは、Kaneko Furusawaらが細胞の遺伝子発現に見いだした揺らぎ応答理論のRNA版だとみなすことができる⁵⁾。もし、この

用語解説 Glossary

【RNAの構造揺らぎ】

RNAは1本鎖なので分子内で対合を作ることによりさまざまな構造をとる。どんな構造をとるかは各構造の熱力学的な安定性から予想ができる。RNAが長くなるにつれて、同程度に安定な構造が複数ありうるようになり、RNAはそれらの構造間を遷移していると考えられる。それらの構造の分布のことを構造揺らぎとよぶ。

【適応度】

生物の場合は次世代に残せる子孫の数の尺度。今回とりあげるRNAの場合は、単位時間当たりの複製量に相当する。

予測が正しければ、あるRNAの構造揺らぎを調べるだけで、その進化可能性を予測することができるはずだが、これまでにこの理論の実験的な検証はおこなわれていない。そこで近年私たちは、シュピーゲルマンのRNA複製を一段階拡張した実験系を用いて、この理論の検証をおこなってみた。

3 揺らぎと進化可能性の実験的検証

私たちの構築したRNA複製は、シュピーゲルマンらのものに**翻訳系***を組み込んだものである。複製するRNAはウイルスのRNAゲノムそのままではなく、複製酵素の遺伝子のみを持つ人工的なRNAを用いた。そのRNAからRNA複製酵素が翻訳され、それによりRNAが複製されるという翻訳共役型のRNA複製系を構築した(図4)。これにより、シュピーゲルマンの進化で起きたよう

なRNAが短くなるような進化ではなく、生物進化でよく見られる点変異が段階的に蓄積していく進化を再現することができた⁶⁾。私たちのおこなった進化実験では、約20種類の変異がRNAに導入され、それらの組み合わせからなる91種の遺伝型が現れた⁷⁾。それぞれの遺伝型を持つRNAの適応度(複製速度)は、変異が増えるにつれて上昇していくことから適応進化が起きていることがわかっている。ちなみに、この実験系における適応度は主にRNAの構造によって決まるため、ここでのRNAの表現型はRNAの構造だとみなすことができる。

この進化実験で現れたRNAについて構造揺らぎを計算してみると、進化が進み適応度が高くなるにつれてRNAの構造揺らぎの大きさは小さくなる傾向が見られた[図5(a)]。これはAncestral, Fontanaの予想と一致しており、進化が進むと構造揺らぎが消費されることを支持している。なお、ここでは構造揺らぎの指標として、各RNAについて熱力学的な最安定構造と準安定構造を予測し、それらの間の構造的距離を採用している。さらに揺らぎの大きさと進化可能性に相関があるかを調べるために、進化途中で生じたいくつかのRNAについて点変異ライブラリーを作成し、各変異体の適応度を網羅的に測定し、適応度変化の分布を測定した。もしあるRNAの進化可能性が高いのであれば、その点変異体ライブラリーの中に適応度の上がった変異体が多く見つかるはずである。その結果、揺らぎの大きなRNAほど、点変異体が多様な効果を持つ頻度が高いことを見いだした[図5(b)]。この結果は、揺らぎが大きいほど進化可能性が高いことを示している。以上の

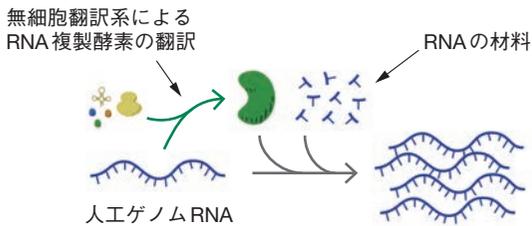


図4 私たちの翻訳共役型RNA複製系

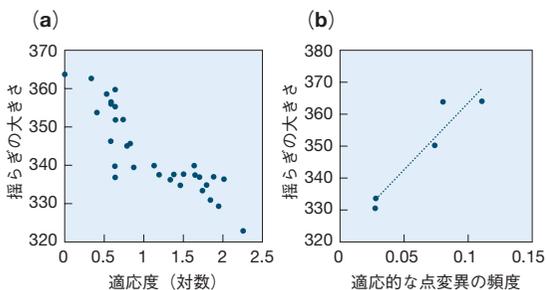


図5 進化実験中に現れたRNAの揺らぎと進化しやすさの関係

用語解説 Glossary

【翻訳系】

RNAからタンパク質を翻訳する反応系。今回用いたのは大腸菌由来の再構成型翻訳系であり、リボソーム、トランスファーRNA、アミノアシルtRNA合成酵素、翻訳開始、伸長、終結因子、アミノ酸、ヌクレオチド等を含む。

結果は、Ancel, Fontana, Kaneko Furusawa モデルからの予測とよく一致しており、RNA進化において構造揺らぎから進化しやすさを予測可能であることを示している。

4 将来展望

進化とは生物にとって最も重要な現象のひとつである。進化という現象がなければそもそも生命はこの地球上で誕生していないし、人間も出現しなかったはずである。その重要性にもかかわらず、進化がもたらす影響について私たちはほとんど何もわかっていないに等しい。どうやって生命が誕生したのかもわからないし、どうやって真核細胞、多細胞化が起きたのか、これから人間がどう進化していくのかもわからない。いまだ予測可能な進化理論は存在せず、したがって私たちは過去の進化の歴史に合理的な、しかし後付けの説明をすることしかできない。この現状を超えるには、予測性のある進化理論を構築する必要がある。その手がかりとなりうるのが、揺らぎ応答理論だと考える。揺らぎの理論の革新性は、揺らぎという現在の分子の性質を調べることで進化しやすさという未来の性質についての情報が得られることにある。もちろん揺らぎは環境に対する応答で、進化しやすさは変異に対する応答であるから、完全に一致する保証はない。しかし、本稿で示した理論と実験の一致は、理由は未だ不明であるもののそこに十分に実用可能なレベルの一致があることを示している。揺らぎに着目した進化研究は進化の予測、できれば制御までを可能にする潜在能力を秘めている。近年、病原性細菌の薬剤耐性や変異体ウイルスの出現などは人類にとって差し迫った脅威となっている。進化という現象を理解し、その予想や制御をおこなうことは人類にとってますます重要な技術となる。揺らぎはそのための大きな手がかりを与えてくれるかも知れない。

さらにRNAなどの分子の進化実験は、今後の

進化研究に重要な役割を果たすと考える。生物進化の理解が難しい一因は、生物自体の複雑さと進化による効果の難しさの両方が混在していることにある。本稿で示したように進化は生物だけのものではない。生物進化を理解するには、生物のような複雑さの存在しないRNAやタンパク質の分子の進化の理解がまずあるべきだと考える。そこで得られた進化の原理を用いて、複雑でミッシングリンクの多い生物進化を理解するという順番に進んでいけば、私たちの生物進化の理解はさらに進展するはずである。もっと多くの人々が自己複製分子の進化を研究するようになることを願う。

[文献]

- 1) Mills, D. R., Peterson, R. L. & Spiegelman, S. An extracellular Darwinian experiment with a self-duplicating nucleic acid molecule. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **58**, 217–24 (1967).
- 2) Fontana, W. & Schuster, P. Continuity in evolution: On the nature of transitions. *Science (80-.)*. **280**, 1451–1455 (1998).
- 3) Schultes, E. A. & Bartel, D. P. One sequence, two ribozymes: Implications for the emergence of new ribozyme folds. *Science (80-.)*. **289**, 448–452 (2000).
- 4) Ancel, L. W. & Fontana, W. Plasticity, evolvability, and modularity in RNA. *J. Exp. Zool.* **288**, 242–283 (2000).
- 5) Furusawa, C. & Kaneko, K. Global relationships in fluctuation and response in adaptive evolution. *J. R. Soc. Interface* **12**, (2015).
- 6) Ichihashi, N. *et al.* Darwinian evolution in a translation-coupled RNA replication system within a cell-like compartment. *Nat. Commun.* **4**, 2494 (2013).
- 7) Ichihashi, N., Aita, T., Motooka, D., Nakamura, S. & Yomo, T. Periodic pattern of genetic and fitness diversity during evolution of an artificial cell-like system. *Mol. Biol. Evol.* **32**, (2015).



市橋 伯一 Norikazu Ichihashi

東京大学 大学院総合文化研究科・先進科学研究機構・生物普遍性機構 教授

2006年、東京大学薬学系研究科博士課程修了後、科学技術振興機構博士研究員、大阪大学情報科学研究科特任助教、准教授を経て、2019年より東京大学大学院総合文化研究科教授。専門分野は、合成生物学と進化生物学の融合分野。科学技術。学術政策研究所 ナイスステップな研究者2020を受賞。主な著書に、協力と裏切りの生命進化史 (光文社新書, 2019)。