

## RNAワールドとオリゴペプチドワールドから、翻訳系の出現へ

木賀大介 榎本利彦

早稲田大学 早稲田大学 理工学術院 電気・情報生命工学科  
〒162-8480 新宿区 若松町 2-2 先端生命医科学センター TWIns 01C601  
kiga@waseda.jp

(Received: 7, March, 2017 Accepted: 7, March, 2017)

### From RNA world and oligo peptide world To translation system

\*Daisuke Kiga and Toshihiko Enomoto

#### Abstract

Through comparison among properties of nucleic acids, proteins, and oligo peptides, here I discuss RNA world and “first contact” between RNA and oligo peptide. From viewpoints of error rates in polymerization of those macromolecules, early systems were highly likely to have lower fidelity than present translation systems. Although such inaccurate synthesis may limit length of biopolymer, it also makes evolution easy by filling valleys in an activity landscape on a sequence space. Separation of information molecule and function molecule may contribute to fast evolution of genes by differentiation of fidelities in polymerization of those molecules.

#### 1、はじめに

生命を、「ある環境において、自分が壊れる前に自分とだいたい同じものをつくれるシステム」と表現できる。環境から入手可能な分子とエネルギーを用いて「同じもの」を速く造るための原子団の立体配置の結果としての触媒活性と、その配置を行うための情報との双方を、同一種の分子 RNA に求める RNA ワールド仮説は、化学進化から現在の生命の共通祖先に至るいくつもの「遺伝的のっとり」の道程のある時期の主役として魅力的な仮説であり続けている。本稿では、情報担体としてオリゴペプチドと対比した RNA の性質、酵素としての RNA の性質について確認した後、生命の起源と初期進化における RNA ワールド、および、RNA ワールドとペプチドワールドの融合としての翻訳系についての意義について議論する。とくに、最近の筆者の研究である、コドンに対するあいまいなアミノ酸指定を行う遺伝暗号の実現とその翻訳産物の性質をふまえて、生命の起源と初期進化における、キラリティを含めた化学的あいまいな重合システムの意義について確認し、遺伝情報の担体と機能の担体の分離をすることの意義について議論する。

#### 2、オリゴペプチドとタンパク質と核酸

本稿では、タンパク質の定義を、概ね 50 アミノ酸残基以上の長さを持つことを必要条件と

して配列が規定するフォールディング能によりよって疎水化コアを持つポリペプチドをタンパク質と定義し、化学進化によって地球上に濃縮される数残基程度のペプチドをオリゴペプチドと定義する。2014年3月に広島修道大で開催された生命の起原および進化学会第39回学術講演会においても、タンパク質にオリゴペプチドを含めないこの両者の区分は参加者に概ね共有されていた。

特定の配列を持つ生体高分子が酵素活性を發揮する際の強みは、以下の理由から、①疎水コアを形成できるタンパク質、②核酸、③疎水コアを形成できない短いペプチド、の順番になる。まず、①タンパク質と②核酸のような生体高分子は、配列情報に従って、巨大分子内で原子団の立体配置を規定することができる。その結果、触媒原子団の空間配置や、水分子の侵入を防ぐポケットの形成が、配列依存的に可能になる。後者には、水素結合による基質認識や、脱水縮合のための疎水環境場の提供、という意義もある。一方、③オリゴペプチドには、環化などが行われないうり、このような空間配置は難しく、またポケットの形成はほぼ不可能である。

生理活性物質としてタンパク質と核酸を比較すると、核酸はより短い鎖長で三次元構造を介した分子認識や酵素活性を發揮可能であることに対して、そのモノマーのバラエティおよび原子団のバラエティの小ささから、その分子の機能も限られている。核酸はリン酸リボース・バックボーンの内側にスタッキングした塩基対による疎水環境の形成によって、少ないヌクレオチド数での分子認識を可能にしている。2本の鎖の間の塩基対形成は常温でも15塩基対で十分であるし、ステム・ループ構造を介した1本の鎖のヌクレオチド間での塩基対形成はより容易である。結果として核酸は30-50量体で、特異的な結合や、配位した金属イオンや自らのリボースの水酸基や核酸塩基によるプロトン授受能を活かした触媒活性が可能になっている。モノマーの平均分子量が核酸はアミノ酸よりも約3倍大きいという観点は、次節で詳述する化学進化での蓄積量という観点では核酸がペプチドよりも不利になるが、単量体の重合に際しての正確度の議論では打ち消される。一方、核酸のモノマーの種類が現在のリボソームでのタンパク質合成で使われる20種類に比べて4種類と少ない点、また、さらに、官能基のバラエティの意味でも核酸はタンパク質よりも少ない

点が、核酸の触媒分子としての機能がタンパク質よりも限られているようにいのである。さらに、分子量数万といったより大きな分子量による機能発揮を考える際には、タンパク質についてはある程度の残基がまとまった二次構造単位を近接させることこそが立体構造形成の本質であることに対して、核酸のバックボーンの負電荷による、2本の二重鎖の間の反発が、核酸によるより複雑な機能の発揮に際した問題となる。その結果として、RNAワールドにおける触媒機能の多くは、現在の生命においてはタンパク質に乗っ取られている。

### 3、ペプチドとタンパク質から見た生命の起源と初期進化における3段階

現在および、全生命の最後の共通祖先群 (LUCA, commonotes) 出現前について、「ある環境において、自分が壊れる前に自分とだいたい同じものをつくれるシステム」における要素として、特定の配列を持つオリゴペプチドやタンパク質の存在を、化学進化から現在の生命の共通祖先に至るいくつもの「遺伝的のつり」の道程、すなわち、その生産・蓄積の速度に応じて3段階に分けて考察することができる。その第1段階は、ランダムに種々の分子種が合成された後に特定の分子種の分解が相対的に遅いことによってこれらが蓄積されることであり、このメカニズムは疑似複製と呼ばれることもある。第2段階では、自己触媒機能による再帰的な生産が可能分子システムが出現する。最後の段階として、鑄型依存的複製により長いポリマーの配列情報を正確に複製できる核酸に依存して、タンパク質アミノ酸重合時に選ばれるアミノ酸の選択の正確さの向上が可能となり、これにともなって、ダーウィン進化によって濃縮できるタンパク質の大きさおよび種類の数が拡大する。

第1段階である特定の分子種の蓄積は、天体が提供する環境から利用可能な、エネルギーと分子と触媒とを用いて合成され、さらに、その合成速度が、自分が壊れるまたは別の反応の原料として消費される速度よりも大きい分子種の存在量の増加として説明できる。時間の経過に伴ってその分子種が増えているようにも見えることから、疑似複製と呼ばれることもある。しかしながら、このような分子種の増加速度は、線形にしかない。このため、このメカニズムは、続く再帰的な生産の基盤となる一方、ひとたびこの再帰的な生産によって特定の分子種の指数関数増加が始まると、この第1段階のメカニズムの惑星上の生体分子の質量の増加における寄与は、ほぼなくなる。

自己触媒機能による再帰的な生産の一例が、栄養がふんだんに有る際の細胞の指数関数での増殖であるが、このような生産が細胞以前の化学進化でも可能であった、という考えを補強する研究が近年進んでおり、これを、オ

リゴペプチドを主体とした化学進化の第2段階と捉えることができる。10年以内に、5残基以下の配列を持つオリゴペプチドまたはその合成中間体が、複数ステップの反応の一部を触媒して再帰的にこのペプチドが生産されることが示されても、何ら不思議ではない。この予想される進展と関連する研究として、蒸発乾固によるアミノ酸重合がより効率的になった反応条件を遺伝的アルゴリズムにより探索した研究が挙げられる(1)。また、脂質膜小胞の研究を進めている Szostak 研や Luisi 研が、オリゴペプチドによる触媒活性の追及を行っていることも興味深い(2-4)。さらに、ペプチド間の反応として、1本の $\alpha$ ヘリックスを「鑄型」として、その前半部分と後半部分に親和性がそれぞれある2本の $\alpha$ ヘリックスを「ライゲーション」することによる再帰的な増殖系が以前より行われている。しかし、この機能を持つヘリックスを形成するために必要な長さの配列を持つペプチドが特異的に化学進化で生成されるという可能性が低いことが、生命の起源の観点からの課題であった。この分野の近年の進展として、より短い残基で達成可能な $\beta$ シートのペプチド・ライゲーションの研究が進んでいることも、今後のペプチドの再帰的な生産系として注目すべきである(5-7)。

第3段階で注目すべきことが、Eigen が示したポリマーの複製の正確さと複製されるポリマーの大きさ(タンパク質であれば残基数)との相関関係(8)を考慮すると、タンパク質が正しく生産されその活性を指標とした進化が可能になるためには、アミノ酸重合が核酸の配列情報に依存すること、すなわち翻訳系の出現が必須である、ということである。ペプチドのみによる再帰的な生産がアミノ酸の重合によって鑄型と同じ配列を創り出す正確さが高くないであろうことを想定すると、核酸の鑄型なしにタンパク質の本質である疎水コアを持ったフォールディングに必要な100残基程度のタンパク質が進化的に出現したとは考えにくい。核酸の鑄型依存的正確な複製は、ワトソクリック塩基対の水素結合の形成と認識能力、および、伸長中の鎖(プライマー)末端と新たに取り込まれるヌクレオチドそれぞれの塩基の間のスタッキング相互作用に依存している。RNAポリメラーゼ・リボザイムについて、この数年の研究の進展で、自分自身のヌクレオチド長の逆数よりも小さい、100回の重合あたり1回以下のエラーで済むように改善されている。ワトソクリック塩基対の選択性の向上については、塩基対のマイナーグループについての水素結合受容体の保存性(プリン3位の窒素およびピリミジン2位のケト基)とを水素結合で認識するメカニズムが重要であり、これはタンパク質酵素だけでなくリボソーマルRNAによっても達成されていることから、今後のRNAポリメラーゼ・リボザイムの人工進化により、よ

り高い正確さが達成されることも期待できる。このメカニズムについて、タンパク質ポリメラーゼではそのポケットが水分子の侵入を防いでいることも非常に重要である。さらに加えて、タンパク質酵素は、新たに取り込まれるヌクレオチドの塩基部分のプライマーと逆の面を芳香族アミノ酸とのスタッキングで支えることも可能である。結果として、校正メカニズムが無い Taq DNA ポリメラーゼの重合あたりの間違ったヌクレオチドの取り込み確率が  $10^{-4}$ 、校正メカニズムがある DNA ポリメラーゼでは  $10^{-8}$  から  $10^{-10}$  という低いエラー率が達成されている。一方、オリゴペプチド形成におけるアミノ酸モノマー間の相互作用や、 $\beta$ ストランドや  $\alpha$ ヘリックスといった二次構造単位の間相互作用といった、疎水ポケットをつくる事が出来ないサイズのアミノ酸単量体またはオリゴペプチドによる認識が、溶液中の相互作用としてこのような塩基対形成についての低いエラーレートと同様の低いレートで達成されることは想像しがたい。このため、オリゴペプチドの再帰的な生産系があったとしても、現在の翻訳系に観られるような、アミノ酸 1 残基の重合あたり 99.99% の正解率となることは期待できない。つまり、生体高分子触媒として働く一定の長さを持ったタンパク質の出現と進化には、核酸のワトソニック塩基対形成に依存した複製と翻訳系の存在が必須である。

#### 4、ヌクレオチド重合とアミノ酸重合のファーストコンタクト

核酸の複製とタンパク質の生産が、互いに助け合う形で成立している現在の複雑な翻訳系が、一度に成立したと考えることは難しく、ヌクレオチド重合とアミノ酸重合の共生関係のより単純なかたちを考察し実験的に示すことが、生命の起源と進化の研究について重要となる。RNA がアミノ酸を特異的に認識できることは、一連のアミノ酸結合アダプターの創出によって確認された。さらに、アダプターやアミノ酸認識 RNA を連結することによる特定配列ジペプチドの生産については各所で想定されてきており、続いて、2012 年の Yarus によるグループでのこの想定の記事化(9)、2014 年の本学会における田村のグループによる試行の発表があった。さらには、同年、Harada らによる、5.7 倍の反応性向上が報告されている(10)。また、アミノ酸選択性が低いものの、RNA によるジペプチドの生産自体は、より以前の論文についても報告されていた(11)。アミノ酸の水中での脱水縮合にはアミノ酸の活性化が必要になるが、ATP を利用したこの機能もリボザイムで達成されている。まとめると、RNA ワールドにおいて、特定のジペプチドやオリゴペプチドを合成するリボザイムが創発されて、化学進化によるペプチドの再帰的な生産メカニズムを引き継ぐ、という進化上の主要遷移が生じたと考えられる。

一方、RNA の触媒機能をアミノ酸単量体やオリゴペプチドが増強する、という考えも広く信じられている。古くは、A Weiner による、正電荷を持つアミノ酸が、限定された種類の原子団しか持たない RNA の触媒作用を増強した、という仮説がある。さらには、リボソームタンパク質が、リボソームのコア領域においてはフォールディングしていないという X 線結晶構造解析の結果は、ペプチドと RNA の相互作用がリボソームまたはその祖先型酵素の起源において重要であったということ想起させる。また、本学会における根本のグループの発表などにみられる、リボザイムの機能を向上させるペプチドの選択実験の試行があり、今後の展開が期待されている。

上記 3 段階の遷移を踏まえて、ペプチド・タンパク質と核酸の生産についての鶏と卵の関係を改めて考えてみる。RNA ワールド仮説は、生命の起源における DNA とタンパク質についての鶏と卵の関係を解消できると広く考えられている。本稿は、オリゴペプチドとタンパク質を区別することで、この鶏と卵の関係をより深く記述するものである。これまでの化学進化の諸研究から、ペプチドの生産速度が RNA の生産速度よりも早いことが想定されることが、RNA ワールド仮説への典型的な批判であろう。本稿はこれを否定するものではないが、化学進化で間違いなく生じた第 1 段階のペプチドの蓄積、生じたかもしれない第 2 段階の特定の配列のオリゴペプチドの再帰的な生産について、生産された配列が現在の生命でも重要かもしれないものの、生産メカニズムが「のっとり」の結果によって現在の生命には残っていないことは間違いない。換言すると、最初は化学進化によって蓄積されたペプチドを RNA が利用し、のちに、ペプチド合成リボザイムが創発されて、化学進化による再帰的な特定配列ペプチドの供給を引き継いだのだろう。ヌクレオチドの蓄積や重合のための活性化を、オリゴペプチドが触媒した可能性もある。この意味で、化学進化によるペプチドの供給は、生命の起源と翻訳系の出現を考えるうえで重要である。惑星形成後の一定時間経過後の、種々の段階の「生命」の存在率を考えるフェルミ推定、換言すれば生命の起源版のドレーク方程式において(12)、ペプチドの化学進化による生産量の見積もりが必要であると考えられる。

#### 5、重合におけるモノマーの選択の正確さが低い場合の遺伝子の進化

現在のタンパク質合成においては、進化を行うために必要な正確な重合が達成されているが、翻訳系の成立時からこの高い正確性が発揮されていたとは考えられておらず、翻訳系の起源と進化を考察するためには、エラーレートが高い状況で可能なタンパク質の機能とその進化プロセスを実証することが重要である。現在の翻訳系では、1 千回から 1 万回の

アミノ酸重合に一回の割合でエラーが生じており、典型的なタンパク質のアミノ酸長を考慮すれば大多数のタンパク質分子には遺伝子にコードされたアミノ酸配列を持つ。一般的には、重合の正確さの逆数とポリマーの鎖長の関係を議論する Eigen リミットから、エラーレートの低い場合には遺伝子鎖長の限界が想定されているが、遺伝物質に核酸、機能性物質にタンパク質を分担した際のアミノ酸重合が正確でない場合には、このリミットはどのように作用するのであろうか。

ごく最近になって筆者のグループは、アラニン又はセリンが一定確率で特定のコドンに対して本来そのコドンがコードするアミノ酸に対して混入する、試験管内の翻訳系である「移動平均遺伝暗号(あいまい暗号)」を開発した(特願 2017-041685)。例えば、トレオニンのコドンに対応してトレオニンでなく一定確率でセリンが混入する場合、合成されるタンパク質分子群は、それぞれ異なった配列を持つことになる。実際、この確率が低い場合は合成されるタンパク質分子全体で若干の比活性低下がみられた。この確率がより高くなるように実験操作を施すと、徐々に比活性が低下し、最終的には検出限界以下となった。

興味深いことに、野生型と変異型の遺伝子から合成されるタンパク質の熱耐性を比較した際に、普遍暗号で翻訳した際は野生型遺伝子の方が生産される酵素の熱耐性が高い一方、移動平均暗号で翻訳した際には、変異型遺伝子の方が生産される酵素の熱耐性が高い例を見出し、配列空間での活性地形と合わせた議論を進めている。変異型の遺伝子についてのこの現象は、普遍遺伝暗号で指定するアミノ酸配列の置換の不利さを、翻訳時のアミノ酸配列の二次的な置換によって相補した結果と考えられる。天然の進化においても、重合の正確さの高い場合と低い場合とで、進化の結果として得られる遺伝子の配列が異なる場合があったと推察できる。概して、特定の遺伝子変異体からの普遍暗号による産物の熱耐性が野生型タンパク質と同等以上であった場合は、普遍暗号と移動平均暗号では前者の翻訳産物の方が熱耐性が高かった。一方、特定の遺伝子変異体からの普遍暗号による産物の熱耐性が野生型タンパク質よりも低い場合は、普遍暗号と移動平均暗号では後者の方が熱耐性が高い場合が頻繁に見られた。この現象は、配列空間での活性地形を念頭に置けば、普遍遺伝暗号で活性が高いアミノ酸配列をコードする遺伝子については、あいまい指定をする移動平均暗号によって周辺のより低い活性の配列が混入し比活性が低くなった、と解釈できる。一方、普遍遺伝暗号で活性が低いアミノ酸配列をコードする遺伝子については、あいまい指定をする移動平均暗号によって周辺のより高い活性の配列が混入し比活性が高くなった、と解釈できる。

生命の起源により近い段階と考えることが

できる、あいまい指定を行う移動平均遺伝暗号によって、配列空間の活性地形における山と谷がなだらかになることは、配列が進化プロセスにおいて局所解に留まってしまう確率を下げることとなり、この点は進化的に有益となる。生命の初期進化におけるタンパク質進化では、その合成の不正確さ故に、逆説的ではあるが効率的なアミノ酸配列空間の探索がなされて種々のタンパク質のフォールドが創成されてきたかもしれない。さらに想像をたくましくするならば、タンパク質合成の正確さが高い生物が、低い生物と共生することで、後者による遺伝子の新規創出と、その遺伝子の水平伝搬の前者への導入も想定される。

この最新の研究による議論を一般化するならば、遺伝情報担体と機能物質担体を分離することの進化的な意義に、新たな一面を示すこととなる。この分離は、遺伝情報担体と機能物質担体のアルファベットサイズを異なるものとするを可能にする。そして、遺伝情報担体のアルファベットサイズが少ないことが複製の正確さの維持に貢献し、機能物質担体のアルファベットサイズが大きいことが、原子団の種類増加による機能向上に貢献していると考えられている。これに加え本研究からの推論として、この分離の意義は、正確な複製による遺伝可能な情報量の担保と、あいまいな機能性分子重合による配列空間の効率的な探索を同時に可能にしている、という意味で、地球生命の核酸とタンパク質の関係にとどまらない、普遍生物学の観点からの生命の起源と進化における意義であると考えられることができる。

6、 化学的に均一でないモノマーによるポリマーでも触媒活性が発揮できる  
種々のL-アミノ酸の間のモノマー選択の誤りによるアミノ酸配列の不均一さだけでなく、側鎖や塩基の構造の配列としては同じであってもモノマーの化学的性質が均一でないポリマーの触媒活性についても注目されており、近年になってこのような不均一ポリマーでも触媒活性が発揮できることが、実験によって示されている。Szostak のグループは、高頻度でdNTPをRNAに取り込んでしまうRNAポリメラーゼを使用した試験管内進化によって、デオキシリボースが混入した状態でも活性を発揮するアプタマーの単離に成功している(13)。またこのグループは、ハンマーヘッドリボザイムについて、は、2'-5'結合が3'-5' backbone に対して 25%含まれても、活性を発揮できることを示している(14)。同様に、今後、ホモキラリティが若干崩れたポリマーについても、配列に依存した活性が発揮できることが実験的に示される例が増加してきてることが期待できる。

7、 均一配列ポリマー触媒によるキラリティの向上

ペプチドと RNA の相互作用が、重合の正確さの向上と、それに続く進化可能なポリマー鎖長の増大をもたらし、ポリマーの機能向上を達成した、というシナリオを想定すると、ヘテロキラルからホモキラルへの進展についても、複数種の生体高分子がかかわる進化の過程が想定できる。すなわち、ホモキラルなペプチドが蓄積されているならこれを使える複製リボザイムが有利なことはいまでもなく、そのために、複製リボザイムが必要とするホモキラルなペプチドを作れるリボザイムが有利、という状態が想定される。この意味合いでも、4 節で議論した、ペプチド合成リボザイムが創発されて化学進化による特定配列のペプチドの供給を引き継ぎつづ、という RNA ワールドとの相互作用を前提としたシナリオが、ペプチドの配列だけでなく、ホモキラル化のプロセスにも適用できるだろう。この観点で、Tamura らによる RNA ヘアピン末端とアミノ酸の相互作用に関するキラル選択能を示した論文は重要である (15)。

#### 8、まとめ

生命の起源と初期進化を考える際に、それまでに存在していたメカニズムが「のっとり」の結果現在の生命に引き継がれないことが多々あるものの、そのメカニズムによる分子の供給量が「のっとり」の主体となる後発メカニズムの時間当たりの出現確率を決めてい

る、という観点を持つことが重要である。

#### 謝辞

本研究の一部は、大学共同利用機関法人自然科学研究機構アストロバイオロジーセンター (AB281002) および早稲田大学特定課題研究助成費 (課題番号 2016B-186 および 2016S-103) の助成を受けたものである。

1. M. Rodriguez-Garcia *et al.*, *Nat Commun* **6**, 8385 (2015).
2. R. Wiczorek *et al.*, *ChemBiochem* **14**, 217 (2013).
3. E. C. Izgu *et al.*, *J Am Chem Soc* **138**, 16669 (2016).
4. K. Adamala *et al.*, *Nat Chem* **5**, 495 (2013).
5. B. Rubinov *et al.*, *Angew Chem Int Ed Engl* **48**, 6683 (2009).
6. B. Rubinov *et al.*, *ACS Nano* **6**, 7893 (2012).
7. Y. Raz *et al.*, *Chem Commun (Camb)* **49**, 6561 (2013).
8. M. Eigen, *Naturwissenschaften* **58**, 465 (1971).
9. R. M. Turk-MacLeod *et al.*, *J Mol Evol* **74**, 217 (2012).
10. K. Harada *et al.*, *ChemBiochem* **15**, 794 (2014).
11. L. Sun *et al.*, *Chemistry & Biology* **9**, 619 (2002).
12. C. Scharf *et al.*, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **113**, 8127 (2016).
13. S. G. Trevino *et al.*, *Proc Natl Acad Sci U S A* **108**, 13492 (2011).
14. A. E. Engelhart *et al.*, *Nat Chem* **5**, 390 (2013).
15. K. Tamura *et al.*, *Science* **305**, 1253 (2004).