

『人工生命』の構築を目指す諸研究

試験管内進化、人工遺伝暗号系、DNA コンピュータ」

東京工業大学 大学院総合理工学研究科 知能システム科学専攻 木賀大介

(木賀研究室 web ページより改変)

私の研究目標は、DNA、RNA、タンパク質を組み合わせたシステムとして、「人工生命」を創ることです。このようなテーマは私が大学院を選ぶころは完全な夢物語でしかありませんでした。しかし、私も大学院生・ポスドク・助手として携わってきた、この10数年の進化分子工学の技術進展・生体高分子システム改変の研究技術の進展が、「人工生命」の構築を夢物語から、研究の対象へと変化させてきました。

もちろん、現在の生命の持つ全ての特性を兼ね備えた人工生命を作製するには何十年かかかるでしょう。しかし、それまでの間にも、科学・工学的な成果を得ることが可能です。すでに、進化分子工学によってさまざまな「モノ」や「システム」を創り活用することが可能になっています。同様に、今後の「生命全体」の構築を目指す研究の途中段階でも、研究者の望みのままに振舞う「生体高分子システム」が創られてきます。これらは、「究極の遺伝子工学」として工学的に活用されることは言うまでも無く、生命に関する科学的な考察を与える「構成的生物学」しても期待されています。

構成的生物学：創ることで初めてわかる生物学

目次

- 1．生命の進化での偶然と必然： 比較対象を創る
- 2．生命の起源と初期進化について「モノ」を用いて論じる
- 3．生命の特性を抽出・再構築し、その特性の理解を容易にする
- 4．過去の仕事の紹介：実際の創り方

1．生命の進化での偶然と必然： 比較対象を創る

例えば、なぜ「ヒトの指は5本になったのか？」という問題を考えてみましょう。これまでの分子生物学的アプローチならば、「親指ではこれこれのホメオボックス遺伝子が発現するから親指で、中指では…」だとか、指と指の間の細胞でアポトーシスが起きるので指が分かれる、だという説明がなされるでしょう。しかし、これでわかることは、

「なぜ指は5本になるか」

です。もし、

「なぜ指は5本になったか」

を知りたいときには、別のアプローチが必要でしょう。もちろん、化石を調べたり、系統樹から考えることでもこの問いに近づくことは可能ですが、それでもわかることは、

「どのようにして指は5本になってきたか」

でしかありません。そもそも、4本指や、6本指の霊長類は、ゲノムの変異によって生まれえたのでしょうか？もし生まれていたならば、様々な指の本数を持った霊長類が競争した結果、5本指が生き残ってきたのでしょうか？

変異は確率的に生じますし、形質の異なる個体間の競争の結果も確率が支配しますから、進化の過程には偶然が大きく作用した可能性があるわけです。ここで、私が考えたい「なぜ現在の生命が今のかたちになったのか」、という問題意識には、「そのかたちになったことは、あまり起きそうに無いことが生じた偶然の結果なのか、確率的に起きても当然の過程だったのか」、ちょっと乱暴な表現をすれば、**偶然だったのか必然だったのか**、ということを考えてみたいという欲求が含まれています。

このように考えると、以下の問題にぶつかります。それは、

現在の生命はこの地球上で一回限りの進化の産物である

ということです。一回しか生じていないことだけを観察して、確率で論じることはナンセンスでしょう。

本節で考えたような、設定した範囲の生物種で共通している問題について考えるためには、実験系での進化を様々な条件で何度も繰り返し、その結果を観察したり、人工進化の産物と天然進化の産物とを**比較して論じる**ことが有効なアプローチであると、私は考えます。そして、私が考えたい問題とは、ほとんど全ての生物種に共通している特性についての疑問、

「なぜ DNA・RNA には今の 4 種類のヌクレオチドが、

タンパク質にはなぜ 20 種類のアミノ酸が使われるようになったか？」

です。実は、これまでに発表した論文には明示的に書くことは出来ませんでした。本稿の後半で述べる私のいくつかの仕事は、この問いに部分的に答えるための構成的アプローチの一環でした。

2. 生命の起源と初期進化について「モノ」を用いて論じる

前節で述べたように、多くの生物種に共通している特性についての問題には、構成的アプローチが非常に有効です。しかし、構成的生物学の可能とすることは、これだけにとどまりません。構成アプローチは、**生命の起源と初期進化**において、過去にどのような「モノ」

が存在したかを頭の中で考えるだけでなく、**実際の「モノ」を創り出して論じる**ことを可能にします。

例えば、生命の起源に近い段階で、RNA が生命に必要な遺伝情報と触媒活性の多くを担っていたという、「RNA ワールド」仮説が、現在では広く信じられています。これに近いことは、非常に古くから唱えられていましたが、実際の証拠が無い以上、一つの空想として扱われていました。状況を一変させ、生命の起源に近い段階で「RNA ワールド」が存在したと多くの研究者が考えるようになった原因が、1982年の触媒活性を持つ RNA(リボザイム)の発見です。しかし、天然に見出されているリボザイムの活性は、RNA 鎖の切断・結合のみでしたので、RNA は生物を構成するために必要な多様な機能を本当に持ちえたのか、という疑問が残っていました。

私もかかわってきた、ランダムライブラリを出発点とする RNA の試験管内進化は、多彩な機能を持つ種々の RNA を、「モノ」として我々に示してきました。このような RNA 群の創出により、RNA ワールドが存在可能なことが、物資を基盤として示されてきています。

同様の生命の初期段階を考える研究として、タンパク質の進化分子工学により、原始的なタンパク質がどのような特性を持ちえたか、人工膜の研究により、局所環境を持った生体高分子システム（原始細胞とまで言うべきでしょう）がどのような性質を持ちえたか、という研究も始まりつつあります。

3 . 生命の特性を抽出・再構築し、その特性の理解を容易にする

生命について論じるときに、必ず何かの特性に注目しているはずですが。多段階の階層をもって構築される**生命の機能について論じる際に、必要な部分機能を抽出し、もしくは人工構成することで、その特性を理解**することが容易になります。

例えば、私の過去の仕事では、遺伝暗号翻訳システムを拡張するために、試験管内のタンパク質合成系（無細胞翻訳系）を活用しました。システムの拡張を試みたこの実験の初期においては、システムに対して非常に無理な条件を設定しています。この場合、もし最初から生の細胞を用いていれば、細胞が死んでしまうために、何の結果も得ることは出来なかったと考えられます。一方、試験管内のタンパク質合成系では、細胞抽出液を用いることで、生きる、という制限から逃れてタンパク質を生産することができます。このため、無理な条件設定に対しても、何かしらの実験結果を返してくれたため、実験条件の再検討へのフィードバックが可能になりました。最終的には、既存のシステムに対する負担が小さい条件設定が完成し、拡張した系を生きた細胞に戻すことが可能になったわけです。

別の例として、試験管内進化により、細胞に依存せずに、新規な機能を持つ DNA、RNA やタンパク質を創出・進化させることが可能になっています。試験管内での操作により、(1)ライブラリを大きくすること、(2)様々な評価手段を用いること、(3)世代ごとの変異の導入や組み換えを自由に設定すること、(4)世代あたりの時間を短くすること、などが可能になりました。結果として、細胞を使用した場合よりも非常に効率の良い探索が可能になり、

生体高分子が本来どのような特性を持ちえたかを追求することが、初めて可能になりました。

また、近年、アメリカの一部の研究グループが、大腸菌の中で人工的な遺伝子回路を構築し、数学的モデルに立脚した解析を行うことによって、生体分子の相互作用ネットワークについての理解を試みる狭い意味での“synthetic biology”の仕事積極的に進めています。確かに、解析対象の遺伝子の性質が観測し易い系を構築しているという意味での前進があるのですが、既存の細胞を使用することで制限を受けているこの路線だけでよいのでしょうか？

大腸菌のゲノム配列が確定したとはいえ、この単純な単細胞生物ですら、未だに機能未知の遺伝子が多数存在しています。そのようなブラックボックス内に存在する、機能が未確定な因子やその相互作用の働きで出力されるデータセットからネットワークを数学的モデルによって解析しても、様々な落とし穴が待ち受けていることは明らかでしょう。

そこで私は、**ブラックボックス無しの生体高分子システムを構築し、解析を行う**ことで、分子間ネットワークの本質を理解する、というアプローチを取ろうとしています。その結果得られる知見は、さらに複雑な生体高分子システムを構築するための助けとなることは間違いありません。実は、このような、情報科学・生化学の両面から研究を進めることは、各分野の専門家たちが知恵を出し合うことで成功を収めてきた、日本における DNA コンピュータの研究者コミュニティがもっとも得意とするところです。

4. これまでの仕事の紹介：実際の創り方

人類は過去数千年間、種々の動植物の改良を行う育種を重ねてきました。

近年の分子生物学的手法の発展は、その改良の速度を著しく上昇させただけでなく、新規な機能性生体高分子分子やシステムの作製・構築をも可能にしています。

下の表で、この10年ほどで進展した、生体高分子およびそれらが協調して働くシステムの「創りかた」について解説します。

	扱う対象	
	生体高分子単体	生体高分子システム
既存	進化分子工学	遺伝暗号表の拡張
新規	ランダムプールからの RNA の試験管内進化	人工遺伝子回路 DNA コンピュータ

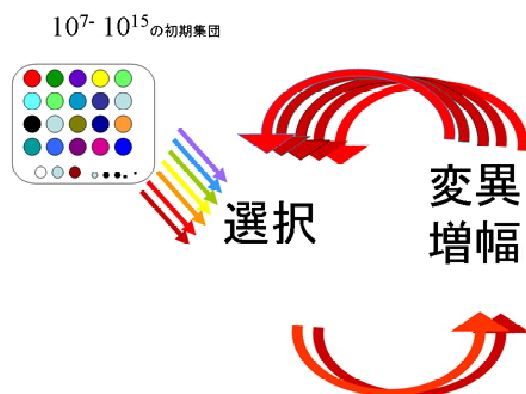
進化分子工学

1970 年代に、生物全体ではなく、特定の一つのタンパク質に狙いを定めて指定した変異

を導入することが可能になりました。この技術は、タンパク質の立体構造解析技術の進展とあいまって、タンパク質の機能を著しく向上させることが期待され、いくらかの成果を挙げています。

しかし、実際には部位特異的な変異導入が狙い通りの機能向上をもたらすことは稀でした。このため、変異を導入した遺伝子ライブラリを作製し、それらが生体内で発現することにより細胞の機能が変化することを指標として、機能が向上した変異体遺伝子が単離されていました。

この状況を大きく変化させた 2 つの技術が、核酸とタンパク質の対応付け技術と、試験管内の DNA 組み換え技術です。前者は酵素活性などタンパク質の特性を試験管内で直接測定することでスクリーニングの精度を向上させ、後者は人工進化の速度を飛躍的に向上させています。



元となる遺伝子に変異を導入し、活性の高い娘集団を選択し、それらに対して増幅を行うと同時に変異を導入して次世代のライブラリとしてさらなる選択を行う（上図）といった進化サイクルを進めることで、医薬品や小分子生産用酵素の進化学、洗剤用酵素の人工進化など、様々なタンパク質の機能向上が行われました。

RNA の試験管内進化

進化分子工学の初期集団として、完全にランダムな RNA を用いることもできます。その場合、これまでの生命の進化とは別に人工進化を行うことができたため、現在の生命に見つからない機能性 RNA を「創る」ことが可能になりました。

その結果、私の仕事のように小分子を認識する RNA や、RNA 酵素が次々と見つかっていきます。これらの研究により、生命のごく初期の段階で RNA を主成分として構成された生命、「RNA ワールド」が存在したのではないかと、という考え方がより広く信じられるようになりました。

今後も、私の興味である「生命で今の 4 種類のヌクレオチドがなぜ採用されたか」という問いに答える研究を、この手法を用いて進めていきたいと考えています。

遺伝暗号の拡張（人工遺伝暗号表）

生命が一つのタンパク質だけで構成されているわけではなく、複数の核酸・タンパク質が協調して働くシステムであることを考えれば、一つのタンパク質の機能を改変してきた遺伝子工学は、システムの改変・拡張へと展開することが期待されました。

私は、合わせて100種類近い tRNA やタンパク質が共同して働くタンパク質合成システムを拡張し、20種類でなく21種類のアミノ酸を含有した遺伝暗号表の作成に成功しています。

論文に記してはいませんが、この研究は、私の興味である「生命で今の20種類のアミノ酸がなぜ採用されたか」という問いに対して、「**今の20種類のアミノ酸は上限ではない**」という部分的な解答を得た仕事です。

さらに、この研究の最初では試験管内のタンパク質合成反応における遺伝暗号表の拡張を行いました。その後、作成した因子を培養細胞に導入し、細胞内で21種類のアミノ酸を含むタンパク質が生産されています。細胞内の他のシステムを乱さないことから、「細胞内の部分生命システム」を拡張できた、という言い方もできるでしょう。

人工遺伝子回路

この数年間、細胞内で新規な遺伝子ネットワークを作成し、生命の本質を理解する助けとしよう、という研究が進展しています。また、ネットワークの組み方によって、例えば通常はI P T Gなどの小分子の添加で活性化される遺伝子発現を、逆にその分子の添加で抑制する、ということも可能になっています。私は、この研究を工学的に活用することを行っていました。また、別のネットワークの組み立てによっては、蛍のように点滅する（実際は数十分間隔ですが）大腸菌までもが作成されています。

DNA コンピュータ（DNA コンピューティング）

生体高分子コンピュータ

人工遺伝子回路の作製を、「細胞内での生体高分子システムの新規構築」として捕らえることができるのに対して、私は、DNA コンピュータの構築を、「**天然の細胞に依存しない新規生体高分子システムの構築を試験管内で行う**」研究である、と考えています。

新規な遺伝子ネットワークを作成し、情報科学的なモデルを用いて生命の本質を理解しようとする際に、今アメリカで盛んに行われている狭義の synthetic biology のように、微生物内で遺伝子回路を構築して解析するアプローチで良いのでしょうか？数千種類の核酸・タンパク質がどのように相互作用しているか完全にはわかっていない微生物という「**ブラックボックス**」のなかで、正しいモデルを作ることは難しいと、私は考えます。まずは、**系の中に何を入れたかを研究者が全てわかっている**生体高分子システムを構築して解析をするほうが望ましいのではないのでしょうか？

DNA コンピュータ研究の展開の歴史：

1994年に、Science誌にDNAコンピュータの論文が掲載されて以来しばらくは、DNAコンピュータは電子コンピュータよりも速い計算機となりうるのでは、という面から注目を集めました。この線の研究も十分面白く、我々の研究も高い評価を得てきました。とくに我々は、試験管内で**生体高分子が自律的に振舞う**能力を活かした研究を進めています。しかし、この分野を情報科学の研究のみとして扱うことは、この研究分野のごく一部しか追求したことになりません。

DNAコンピュータは、生体高分子を直接扱えるのですから、入力を mRNA とするなど、生命と親和性を持った人工システムとして生体高分子システムを構築することが出来るはずで。私は、前所属（東大・陶山件）ではそのような姿勢で研究を進め、面白い系を構築しました。まだ論文公表前ですが、今知りたい、という方は問い合わせてください。今後私の研究室でも、陶山研と共同してこの路線をさらに拡大していきます。

さらに、今の生命と独立した形で**自律的に振舞う生体高分子システムを創る**、というところから言えば、この構築は、「人工生命」を創っている、ということに他なりません。まさにこれが、私が10年以上前からDNAコンピュータの研究を行ってきた理由です。