OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Adaptation, diversification, and increase in complexity of an artificial RNA genome replication system
Author(s)	水内, 良
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/69727
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

論 文 内 容 の 要 旨

氏 名 （ 水内 良 ）	
論文題名	Adaptation, diversification, and increase in complexity of an artificial RNA genome replication system （人工RNAゲノム複製システムの適応、多様化、複雑化）

論文内容の要旨

Reconstituting biological abilities from known molecules is a direct approach to understand sufficient factors for biological phenomena. It also provides a novel biological system to advance biotechnology and contributes to understanding the origin and the early evolution of life. To date, various important biological functions were reconstituted in vitro, such as genome replication, translation of genetic information, and dynamic boundary to encapsulate biological components. However, an artificial system that has sufficient ability of evolution has not been achieved.

Evolution is one of the most remarkable characteristics of living organisms, which has enabled them to persist for four billion years and caused the emergence of diverse and complex species. It is believed that through the evolution, the organisms diversified by adapting to different environments and gradually increased their complexity by acquiring new components and genes. Therefore, a reconstituted evolutionary ability must enable adaptation and the increase in complexity.

In a previous study, a translation-coupled RNA replication (TcRR) system was constructed by combining a translation system and an RNA genome encoding a replication enzyme. A subsequent study found that the RNA genome self-improved the TcRR activity through repetitive replications in a cell-like compartment, but the experiment was performed only in an optimized condition. Therefore, its ability to adapt to various severe conditions and the possibility of becoming a more complex system are unknown. On this basis, I investigated those potentials using the TcRR system.

In the first half of the dissertation, I examined the adaptation ability of the TcRR system. First, I repeated the replications in a severe translation condition, reduced ribosome concentrations, and proved that the RNA genome gradually improved the TcRR activity and accumulated mutations in the condition, which is an evidence of adaptation. I further showed that a possible adaptation mechanism was a simple RNA structural modification. Next, I repeated the replications in newly prepared four different translation-impaired conditions and found that the RNA genome accumulated condition-specific mutations and diversified toward distinct genome sequences. Taken together, I proved that the TcRR system has a certain ability of adaptation.

In the latter half of the dissertation, I focused on the other major evolutionary phenomenon, the increase in complexity by acquiring new cooperative replicating entities, which has been considered unstable due to spontaneously appearing parasitic replicators that lost functional genes. By mimicking a plausible evolutionary process, I added another replicating RNA encoding a metabolic enzyme to the TcRR system so that two RNAs cooperatively replicate through translation of the different genes. Through a long-term replication, I found that the increased complexity can be evolutionary sustained in a certain range of RNA concentrations by overcoming the parasite problem, the biggest barrier for the evolution of complexity. I also proved that the complex system kept the ability to further self-improve the replication. Overall, a simple artificial RNA replication system has considerable evolutionary potential to adapt to various conditions and become more complex.

様式7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名	（　水内　良　）	
論文審査担当者	（職）	氏　名
主 査	教授	松田　史生
副 査	教授	清水　浩
副 査	教授	前田　太郎
副 査	教授	松田　秀雄
副 査	教授	若宮　直紀

論文審査の結果の要旨

本論文は人工RNAゲノム複製システムの適応、多様化、複雑化について研究したものである。生命システムの起源の解明と人工有用物質生産系の構築にむけ、試験管内でRNAゲノムを複製、翻訳する人工システムを用いて、RNAゲノムの環境適応、多様化、複雑化を実験的に再現する方法論の構築を目的としている。

第1章は序論である。本研究の背景と目的について述べている。

第2章では人工RNAゲノム複製システムの環境適応系を構築している。翻訳に必要なリボソームを減らした環境で30世代の進化実験を行い、RNAゲノム複製（translation-coupled RNA replication (TcRR)）活性が向上するようにRNAゲノムが変化する環境適応が起きることを実証している。また、生化学的な解析から、TcRR活性の向上は翻訳のされやすさに起因することを明らかにしている。

第3章では、人工RNAゲノム複製システムの多様化を行っている。翻訳を担うタンパク混合液（PURExpressシステム）から、異なる成分を除いた5条件でおいて進化実験を行い、いずれの場合もTcRR活性が向上するが、そのタイミングが異なることを明らかにしている。また、条件間でRNAゲノムに異なる変異が生じることを示し、RNAゲノムの多様化を実験的に再現することに成功している。

第4章では、人工RNAゲノム複製システムの複雑化を行っている。RNA複製酵素をコードするrep-RNAに加え、RNAを構成する部品を供給するNDK-RNAを追加したシステムを構築し、その作動条件を最適化することで150世代にわたってrep-RNAとNDK-RNAが協調して複製する系の構築に成功した。また、150世代の進化実験により、rep-RNAとNDK-RNAが相互依存的に活性向上したことを明らかにしている。

第5章では、本研究で得られた知見をまとめ、展望について述べている。

このように、本論文では人工RNAゲノム複製システムの適応（第2章）、多様化（第3章）、複雑化（第4章）を実験的に再現する方法論の構築に成功している。本結果は人工有用物質生産系の最適化および生命システムの起源の解明につながるRNAゲノム複製システムRNAゲノムの適応、多様化、複雑化を実験的に実証した点で価値がある。したがって、本論文は博士（情報科学）の学位論文として価値のあるものと認める。