

RNA-DIRECTED MOLECULAR ASYMMETRY OF AMINO ACIDS

Koji Tamura^{1,2,3}

¹Department of Biological Science and Technology, and ²Research Institute for Science and Technology, Tokyo University of Science,
2641 Yamazaki, Noda, Chiba 278-8510, Japan

³PRESTO, Japan Science and Technology Agency, 4-1-8 Honcho, Kawaguchi, Saitama 332-0012, Japan

koji@rs.noda.tus.ac.jp

(Received November 13, 2010; Accepted December 25, 2010)

(Abstract)

Although living organisms have a symmetrical appearance at the macroscopic level, biological systems are composed of typical asymmetrical molecules: nucleic acids (RNA and DNA) have ribose with D-configuration while proteins have alpha-carbons with L-configuration. However, the origin of biomolecular homochirality is still unknown. Proteins are synthesized on the ribosome by the elongation of L-amino acids that are attached to tRNAs. Therefore, aminoacylation of tRNA could be the key step in the origin of amino acid homochirality. With this in mind, we attempted non-enzymatic aminoacylation of an RNA minihelix (primordial tRNA) with an aminoacyl-phosphate-D-oligonucleotide, which revealed chiral-selective aminoacylation of the RNA minihelix with a clear preference for L-amino acids. A mirror-image RNA system with L-ribose exhibited aminoacylation with the preference for D-amino acids. These results suggest that the stereochemistry of RNA could be the determinant of chiral-selectivity of amino acids. The D-ribose-based "RNA world" was probably established by chiral-selective ligation of oligonucleotides, which would have generated a "winner" sequence with an important chemical ability for evolution of life.

(Keywords)

homochirality; amino acids; tRNA; minihelix; RNA world; aminoacylation; stereochemistry

RNA が生み出すアミノ酸の分子非対称性

田村浩二^{1,2,3}

¹東京理科大学 基礎工学科 生物工学科

²東京理科大学 総合研究機構

〒278-8510 千葉県野田市山崎 2641

³科学技術振興機構 さきがけ

〒332-0012 埼玉県川口市本町 4-1-8

E-mail: koji@rs.noda.tus.ac.jp

1. はじめに

生命の起源はあり得ない奇跡に例えられる。生命は数多くの生体分子が何よりも精巧な寄木細工のごとく組み上がり、絶妙な連携プレーを行っている。熱力学第2法則に従えば、生体分子のような重合体が自発的に生成するはずはなく、生命系は開放系の非平衡系として特徴づけられる[1,2]。外部からのエネルギーの導入によって、局所的にエントロピーを低下させ、自己組織化を図っている。こうした生体分子の中

で、核酸とタンパク質は、地球上の生命を構成する典型的な分子である。DNA は、Watson と Crick により提唱された二重らせん構造を有し[3]、その遺伝情報は mRNA を経由し、最終的にタンパク質へと翻訳されて機能を発揮している。

地球上の生命は、分子レベルでは極めて非対称性を持ったものとして存在しており、核酸は D 型 (右手型) の糖から、タンパク質は L 型 (左手型) のアミノ酸からのみ構成されている[4]。アミノ酸が一方のキラリティーからのみ構成されていることを「アミノ酸のホモキラリティー」と呼ぶが、その起源についての十分な解答は与えられていない。

宇宙を構成する素粒子間には、基本的に4つの相互作用 (重力相互作用、電磁相互作用、強い相互作用、弱い相互作用) が関与しているが[5]、「パリティの破れ」と呼ばれる弱い相互作用に見られる対称性の破れの結果として、L-アミノ酸が D-アミノ酸よりも多く存在し得るという議論がある[6]。これらの L-アミノ酸が彗星などによって原始の地球に運ばれ、結果として、L-アミノ酸から構成される原始生命体ができたとするものである[7-9]。最近、オリオン座付近に広大な円偏光の領域が発見され[10]、宇宙空間での L-アミノ酸の優位性が議論されている。

一方、分子にはキラリティを増幅するような構造的な要素を含んでいるという主張もある。5-ピリミジルアルコールを不斉自己触媒としたピリミジン-5-カルバルデヒドとジイソプロピル亜鉛との反応に見られるように、片方のキラリティーを持つ物質が核になり、不斉自己増殖が起こる例が報告されている[11,12]。しかも驚いたことに、この不斉自己増殖は、中性子1個分の違いに相当する、キララな同位体によっても起こりうることを示されており[13]、宇宙空間での、あるいは、地球上での、最初のわずかなキララ分子の存在比の違いが、ホモキラリティーの生成に関与していることがあり得たかもしれない。

しかしながら、アミノ酸のホモキラリティーの起源を考える上においては、地球上の生命の起源を考える必要がある。本稿では、Biological な進化の立場から、アミノ酸のホモキラリティーの謎について重要なパースペクティブを与えるであろう、RNA ミニヘリックスのキララ選択的アミノアシル化の発見について述べる。

2. RNA ワールドと tRNA のアミノアシル化

Crick は DNA の遺伝情報は RNA に転写され、それがタンパク質に翻訳されるというセントラルドグマを提唱した[14]。逆転写酵素の発見な

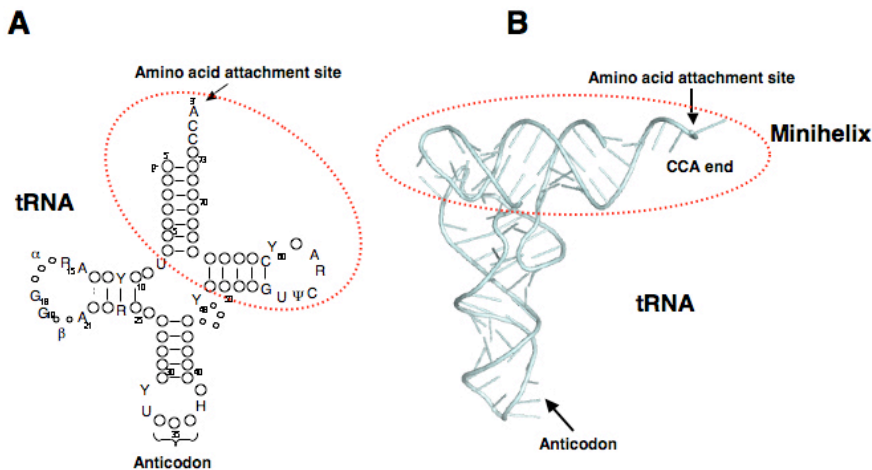


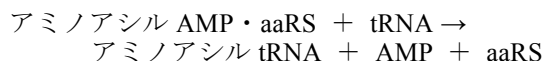
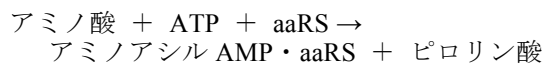
Figure 1. Structure of tRNA. (A) Secondary clover-leaf structure of tRNA with invariant nucleotides and conserved secondary structure elements. (B) Tertiary L-shaped structure of tRNA (PDB ID 1EHZ). Minihelices (shown in red circle) correspond to one arm of the L-shaped tRNA with the CCA end. These minihelices are believed to have evolved into the L-shaped tRNAs by the addition of another arm with an anticodon.

どにより[15,16]、一部、逆方向の情報の流れが明らかになったものの、基本的に、セントラルドグマの重要性は揺らいでいない。RNAの配列とアミノ酸の配列との対応が遺伝暗号であるが、彼はまた、RNAとアミノ酸の構造の相違性から、両者の物理化学的相互作用は困難であると考え、アダプター分子の存在を予言した[17]。そして、tRNAの発見としてその予言は的中した[18]。CechとAltmanによるリボザイムの発見によって[19,20]、核酸が先か、タンパク質が先か、という「鶏と卵」の問題に解決の道が開かれ、Gilbertが「RNAワールド」と名付けた、生命の起源における新しい概念が登場した[21]。

tRNAのアミノアシル化は、遺伝情報の流れの根幹に位置し、RNAとアミノ酸とがはじめて出会うステップである。アミノアシルtRNA合成酵素(aaRS)によって、対応するtRNAに正しく結合したアミノ酸だけが、リボソーム上で繋がっていくことでタンパク質を生成させる[22]。

aaRSを構成する部分のうち、アミノ酸を活性化し、tRNAに結合させるのに寄与する領域は、同一クラス内では、アミノ酸の種類が違っていても構造が保存されているが、tRNAのアンチコドン認識する領域は、同一クラス内でも、アミノ酸の種類によって大きく構造が異なっている[23,24]。一方、tRNAはクローバーリーフ状の二次構造が2つのヘリックスを中心にした構造に折り畳まれ、L字型の立体構造として存在している(Fig. 1)[25,26]。aaRSの構造が多様であるのに対し、tRNAのL字型は生物種を違えても保存されており、L字型の一方の端(CCA末端:アミノ酸結合部位)ともう一方の端(アンチコドン:mRNAとの対合部位)は約75Å離れて位置している。CCA末端を含むL字型の片方のヘリックス部分は「ミニヘリックス」と呼ばれ、L字型tRNAの始原的形態であると考えられている(Fig. 1)[23,24]。

tRNAのアミノアシル化は、一般的に、次に示すような2段階反応である[22]。



aaRSはATPのエネルギーを使い、アミノ酸をアミノアシルAMPという形態で活性化する。アミノアシルAMPに見られるアミノアシルリン酸結合は高エネルギー結合であり、2段階目でやって来たtRNAのCCA末端のアデノシンの3'-OH(あるいは2'-OH)のOがアミノアシルリン酸結合のカルボニル炭素を求核攻撃することで、最終的に、tRNAのアミノアシル化が完結する(Fig. 2)。2段階目の反応はエネルギー的にダウンヒル反応であり、aaRSはアミノアシルAMPとtRNAとの絶妙な空間的配置を実現している。

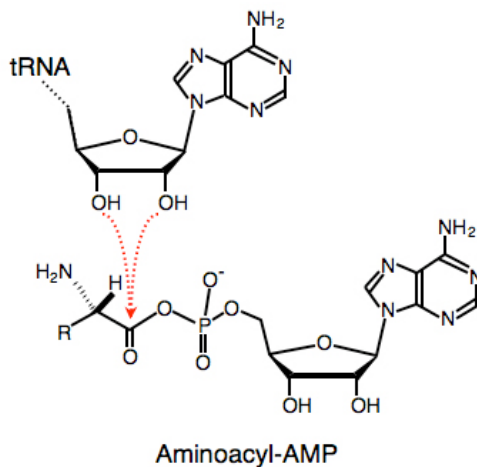


Figure 2. The process of tRNA aminoacylation. Aminoacyl-tRNA synthetases form aminoacyl adenylates as intermediates and the 2'-O or 3'-O of the terminal adenosine of tRNA attacks the carbonyl carbon of aminoacyl adenylates, producing aminoacyl-tRNA.

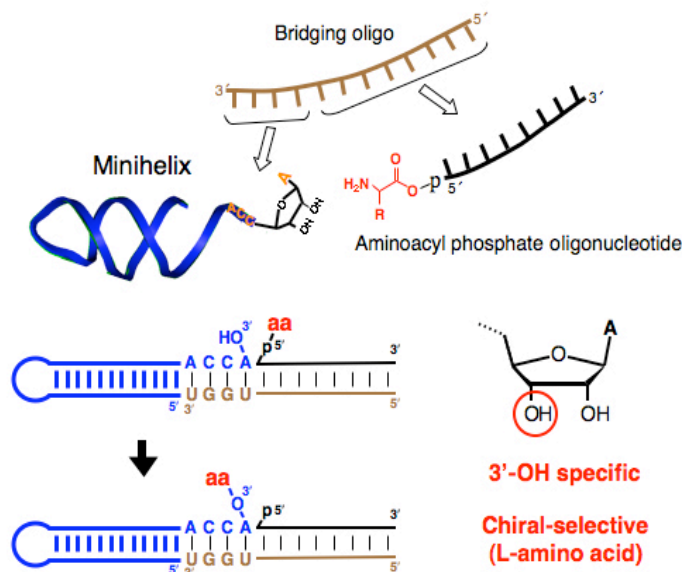


Figure 3. Non-enzymatic aminoacylation of an RNA minihelix with an aminoacyl phosphate oligonucleotide occurs site-specifically (3'-OH) and chiral-selectively (L-amino acids).

3. RNA ミニヘリックスの非酵素的・キラル選択的アミノアシル化

アミノアシル AMP は、原始地球を模した前生物学的環境においても生成されることが示されている[27]。一方、活性化モノヌクレオチドが、非酵素的にオリゴヌクレオチドにまで重合されることも明らかになっている[28,29]。これらの事実から、アミノ酸のカルボキシル基とオリゴヌクレオチドの 5'-リン酸基との間にアシル結合を有する「アミノアシル-リン酸-オリゴヌクレオチド」という分子も、化学進化の過程で生成され得たことが考えられる。そこで、このアミノアシル-リン酸-オリゴヌクレオチドを用いて、原始の tRNA のアミノアシル化のモデルを作製した (Fig. 3) [30]。RNA ワールドの要請は、ミニヘリックスのような原始 tRNA に、タンパク質酵素の存在なしで、アミノアシル化が行われることであろう。

アミノアシル化の本質は、活性化されたアミノ酸を、適切に空間的に配置し、エネルギーの高い方から低い方へと丘を下るようにダウンヒル反応させることである。そこで、アミノアシル-リン酸-オリゴヌクレオチドとミニヘリックスの CCA 末端を、双方の配列に相補的な配列を有する架橋分子を用いて近づけた (Fig. 3) [30]。アミノアシル AMP (モノヌクレオチド) ではなく、アミノアシル-リン酸-オリゴヌクレオチドを用いる利点は、オリゴヌクレオチドが有する塩基間のスタッキング効果により、相補鎖とのワトソン・クリック型相互作用の構築を容易にすることである。スタッキング相互作用とワトソン・クリック型相互作用の効果が相まって、アミノ酸のドナーであるアミノアシル-リン酸-オリゴヌクレオチドと、アミノ酸のアクセプターであるミニヘリックスを、しっかりと近接位置に繋ぎ止めることを可能にしている。このモデル系において、アミノ酸はオリゴヌクレオ

チドのリン酸基からミニヘリックスの 3'-末端のアデノシンの OH 基へと移動し、確かにミニヘリックスのアミノアシル化が起こった。しかも反応部位はアデノシンの 3'-OH の部分に限られるという空間的な制約が見られた。この制約は、L-アミノ酸と D-アミノ酸との識別にも作用し、L-アラニンが 4 倍も優位にアミノアシル化された。この傾向は、アラニンの場合に限らず、他のアミノ酸の場合にも明らかであった (Fig. 3) [30]。

現在の地球上の生物の RNA を構成する糖は D 型 (D-リボース) であるが、「鏡の中の世界」での実験、すなわち、すべての RNA を L 型のリボースで作製した分子を用いて実験を行ったところ、D-アミノ酸の方が優位にミニヘリックスにアミノアシル化された[30]。この結果は、アミノ酸のキラリティーと RNA の糖のキラリティーは密接に関係していることを示している (Fig. 4) [31]。

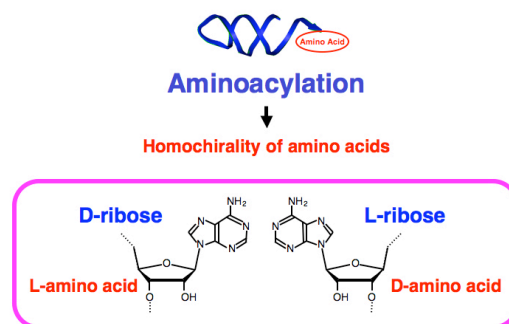


Figure 4. Chiral-selective aminoacylation of an RNA minihelix is dependent on the chirality of the ribose. The stereochemistry of RNA could be the determinant of the chiral-selectivity of amino acids.

4. RNA ワールドから見た L-アミノ酸の起源

これまでの結果は、RNA ワールドで成熟したアミノアシル化システムの結果として、L-アミノ酸が選択され、それが繋がった形での「L-アミノ酸から成るタンパク質」の誕生というイベントが、1つの可能性として考えられることを示している。しかし、進化は一回性のものであり、*Science* が扱うには不向きなものなのかもしれないが、少なくとも、明らかに、*Scientific* に、RNA が持つ構造の中にはアミノ酸のキラリティーを選択する要素が含まれていることは言えるであろう。これはまた、逆も真なりで、アミノ酸の構造の中に RNA のキラリティーを選択する要素が含まれているとも言える。後者の立場からの進化論も考えられ、筆者は決してそれを否定するものではないが、本稿では、前者の立場に立って、推測するに留めたい。

生命進化のごく初期の時点で、RNA ワールドというものが存在したであろうことについては、いくつかの証拠が集められて来ている[32]。RNA ワールドの形態が具体的にどのようなものであったかは推測の域を出ないが、自己複製する実体としての RNA を中心とした段階はあったのではないかと考えられる。*Weiner* と *Maizels* は、酵素としての RNA レプリカーゼと鋳型としての RNA レプリカーゼに機能分化した自己複製 RNA において、複製の「タグ」の役割として tRNA 様構造が出現したのではないかと「ゲノミックタグモデル」を提唱している[33]。しかし、これらの過程で、いきなり長い RNA が存在したとは考えられず、RNA は短いオリゴマーの重合によってできたであろう。このような任意のエナンチオマーで構成される活性化オリゴマーを出発物質として、それらの重合で得られる長い RNA は、すべて D (D-ライブラリー) か、すべて L (L-ライブラリー) から成る RNA に限られることが実験的に示されている[34]。しかも、これらのオリゴマーの重合過程が確率論的に起こると仮定すれば、RNA が長くなっていくにつれて、実際に、その RNA を構成する配列の数は、理論的に可能な配列の数に比べて、はるかに少なくなってくるのである。つまり、この重合過程において、ある長さを境にして、「対称性の破れ」は起こるべくして起こるのである (Fig. 5)。言い換えれば、D-ライブラリー、L-ライブラリーを構成する、それぞれの RNA の配列は同一のものではなく、ある特定の配列を持つ RNA は、D-ライ

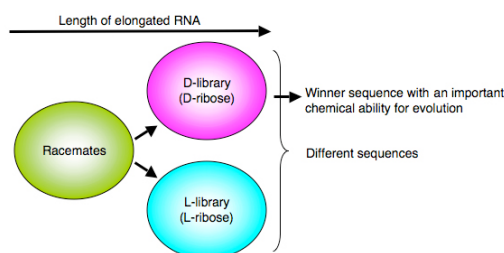


Figure. 5. “Symmetry violation” due to chiral-selective ligation of oligomer RNAs generated a “winner” sequence with an important chemical ability for evolution. This sequence would have been present only in the D-library, establishing a D-ribose-based “RNA world.”

ブラリーか L-ライブラリーかの、いずれか一方にしか存在していないという状況が現実的に起こることになる。だとすると、このどちらかのライブラリーにしか含まれない、特定の配列を持つ RNA だけが「何らかの」化学反応を触媒し、生命の進化を進めた (それが偶々 D-ライブラリーに含まれていた)、と考えれば、D-リボースから成る RNA の選択性の説明になるかもしれない (Fig. 5) [35,36]。この場合、ホモキラリティーの起源は偶然だったことになるが。

5. おわりに

生物界のホモキラリティーの起源の謎はつきない。生命の起源を探求する立場からは、ホモキラリティーが生まれた過程を明らかにするだけでなく (How)、ホモキラリティーが生まれなければならなかった解を求める必要があるであろう (Why)。しかも、これは、RNA やアミノ酸などの生体分子が、単にどちらか一方のホモキラリ性を有しているという点だけでなく、本稿で「偶然」として逃げ道を作った、D 型、L 型の個別性・特異性をも含んだ部分についても、しっかりとした「必然」の理由を明らかにしなければならないであろう。この問題こそが、生命の本質に関わっている可能性があり、今後の課題になってくると思われる。しかし、地道に実験を行い、実証的に向き合うことで、活路は開けてくるであろう。生命の起源の問題は、生物学だけの閉じた学問ではなく、地球科学や宇宙科学までも含めた、総合的な科学として、今後立ち向かっていく必要性を痛感する。

謝辞

本稿には、The Scripps Research Institute の Paul Schimmel 博士との共同研究の成果が含まれており、Schimmel 博士には有益な助言を賜った。また、科学技術振興機構・さきがけ (RNA と生体機能)、および、文部科学省・私立大学戦略的研究基盤形成支援事業による助成をいただいた。ここに感謝の意を表したい。

引用文献

1. Prigogine, I. *Thermodynamics of Irreversible Processes* (Second ed.), Interscience, New York, NY, USA (1961)
2. Kauffman, S. *Origins of order: Self-organization and selection in evolution*, Oxford University Press, Oxford, UK (1993)
3. Watson, J. D. and Crick, F. H. C. *Molecular structure of nucleic acids: A structure for deoxyribose nucleic acid*, *Nature* 171, 737-738 (1953).
4. Gujjarro, A. and Yus, M. *The origin of chirality in the molecules of life: A revision from awareness to the current theories and perspectives of this unsolved problem*, A Royal Society of Chemistry book, London, UK (2009).
5. Griffiths, D. J. *Introduction to elementary particles*, 2nd, revised edition, Wiley, Hoboken, NJ, USA (2008)
6. Hegstrom, R. A. *Parity violation and symmetry breaking of a racemic mixture*, *Biosystems* 20, 49-56 (1987).
7. Oró, J. *Comets and the formation of biochemical compounds on the primitive Earth*, *Nature* 190, 389-390 (1961).
8. Chyba, C. F. and Sagan, C. *Endogenous production, exogenous delivery and impact-shock synthesis of organic molecules: an inventory for the origins of life*, *Nature* 355, 125-132 (1992).
9. Chyba, C. F., Thomas, P. J., Brookshaw, L. and Sagan, C. *Cometary delivery of organic molecules to the early Earth*, *Science* 249, 366-373 (1990).

10. Fukue, T., Tamura, M., Kandori, R., Kusakabe, N., Hough, J. H., Bailey, J., Whittet, D. C., Lucas, P. W., Nakajima, Y. and Hashimoto, J. Extended high circular polarization in the Orion massive star forming region: implications for the origin of homochirality in the solar system, *Orig. Life. Evol. Biosph.* 40, 335-346 (2010).
11. Soai, K., Shibata, T., Morioka, H. and Choji, K. Asymmetric autocatalysis and amplification of enantiomeric excess of a chiral molecule, *Nature* 378, 767-768 (1995).
12. Blackmond, D. G. Asymmetric autocatalysis and its implications for the origin of homochirality, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101, 5732-5736 (2004).
13. Kawasaki, T., Matsumura, Y., Tsutsumi, T., Suzuki, K., Ito, M. and Soai, K. Asymmetric autocatalysis triggered by carbon isotope ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) chirality, *Science* 324, 492-495 (2009).
14. Crick, F. H. Central dogma of molecular biology, *Nature* 227, 561-563 (1970).
15. Baltimore, D. RNA-dependent DNA polymerase in virions of RNA tumour viruses, *Nature* 226, 1209-1211 (1970).
16. Temin, H. M. and Mizutani, S. RNA-dependent DNA polymerase in virions of Rous sarcoma virus, *Nature* 226, 1211-1213 (1970).
17. Crick, F. H. C. From DNA to protein: On degenerate templates and the adapter hypothesis, a note for the RNA Tie Club, (1955).
18. Hoagland, M. B., Stephenson, M. L., Scott, J. F., Hecht, L. I. and Zamecnik, P. C. A soluble ribonucleic acid intermediate in protein synthesis, *J. Biol. Chem.* 231, 241-257 (1958).
19. Kruger, K., Grabowski, P. J., Zaug, A. J., Sands, J., Gottschling, D. E. and Cech, T. R. Self-splicing RNA: autoexcision and autocyclization of the ribosomal RNA intervening sequence of *Tetrahymena*, *Cell* 31, 147-157 (1982).
20. Guerrier-Takada, C., Gardiner, K., Marsh, T., Pace, N. and Altman, S. The RNA moiety of ribonuclease P is the catalytic subunit of the enzyme, *Cell* 35, 849-857 (1983).
21. Gilbert, W. The RNA world, *Nature* 319, 618 (1986).
22. Schimmel, P. Aminoacyl tRNA synthetases: general scheme of structure-function relationships in the polypeptides and recognition of transfer RNAs, *Annu. Rev. Biochem.* 56, 125-158 (1987).
23. Schimmel, P., Giegé, R., Moras, D. and Yokoyama, S. An operational RNA code for amino acids and possible relationship to genetic code, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 8763-8768 (1993).
24. Schimmel, P. and Ribas de Pouplana, L. Transfer RNA: from minihelix to genetic code, *Cell* 81, 983-986 (1995).
25. Kim, S. H., Suddath, F. L., Quigley, G. J., McPherson, A., Sussman, J. L., Wang, A. H., Seeman, N. C. and Rich, A. Three-dimensional tertiary structure of yeast phenylalanine transfer RNA, *Science* 185, 435-440 (1974).
26. Robertus, J. D., Ladner, J. E., Finch, J. T., Rhodes, D., Brown, R. S., Clark, B. F. and Klug, A. Structure of yeast phenylalanine tRNA at 3 Å resolution, *Nature* 250, 546-551 (1974).
27. Paecht-Horowitz, M. and Katchalsky, A. Synthesis of amino acyl-adenylates under prebiotic conditions, *J. Mol. Evol.* 2, 91-98 (1973).
28. Sawai, H. and Orgel, L. E. Oligonucleotide synthesis catalyzed by the Zn^{2+} ion, *J. Am. Chem. Soc.* 97, 3532-3533 (1976).
29. Sawai, H. Catalysis of internucleotide bond formation by divalent metal ions, *J. Am. Chem. Soc.* 98, 7037-7039 (1976).
30. Tamura, K. and Schimmel, P. Chiral-selective aminoacylation of an RNA minihelix, *Science* 305, 1253 (2004).
31. Tamura, K. Origin of amino acid homochirality: Relationship with the RNA world and origin of tRNA aminoacylation, *Biosystems* 92, 91-98 (2008).
32. Joyce, G. F. The antiquity of RNA-based evolution, *Nature* 418, 214-221 (2002).
33. Weiner, A. M. and Maizels, N. tRNA-like structures tag the 3' ends of genomic RNA molecules for replication: implications for the origin of protein synthesis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84, 7383-7387 (1987).
34. Bolli, M., Micura, R. and Eschenmoser, A. Pyranosyl-RNA: chiroselective self-assembly of base sequences by ligative oligomerization of tetranucleotide-2',3'-cyclophosphates (with a commentary concerning the origin of biomolecular homochirality), *Chem. Biol.* 4, 309-320 (1997).
35. Tamura, K. Molecular handedness of life: Significance of RNA aminoacylation, *J. Biosci.* 34, 991-994 (2009).
36. Tamura, K. Amino Acid Homochirality and the RNA World: Necessities for Life on Earth, *J. Cosmol.* 5, 883-889 (2010).