

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 7 日現在

機関番号：82648

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K17850

研究課題名(和文) 交差触媒系を内包するベシクル型人工細胞の構築

研究課題名(英文) Construction of artificial cell encapsulating cross-catalyst system

研究代表者

栗原 顕輔 (KURIHARA, Kensuke)

大学共同利用機関法人自然科学研究機構(岡崎共通研究施設)・岡崎統合バイオサイエンスセンター・特任准教授

研究者番号：80740919

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：膜生産反応を促進する触媒は、あらかじめベシクルに封入する以外に方法がなく、内部で触媒を生産する系はあまり展開されていない。そこで本研究はベシクルを構成する膜分子の生産を促す触媒システムを、ベシクル内部で構築することを目的とした。イミダゾール塩酸塩を持つアルデヒドをベシクル外部より添加した結果、ベシクル内部のデシルアニリンと反応しイミン結合を持つ触媒分子が生成した。次いで、この内部に触媒を持つベシクルに、膜分子前駆体であるアルデヒドを添加すると、15時間以内にベシクル膜上で膜分子が生成し、ベシクルの外側の膜が剥離しながら増殖するピーリング様の自己生産挙動が微分干渉顕微鏡で観察された。

研究成果の概要(英文)：In Sugawara's self-reproducing vesicular systems, the vesicle containing amplified DNA self-reproduced more rapidly. It means that compartment and information interacted each other. However, little research has been done on the protocellular system in which reproduction of container interacts with reproduction of another element, i.e. catalyst. In order to realize the protocell containing the catalyst-producing system, we introduce a cross-catalytic vesicular system. In our protocell cell, production of the vesicular membrane molecules is accelerated by the catalyst synthesized in the same vesicle, whereas the catalysts are produced in the hydrophobic environment of the vesicular membrane. After addition of the membrane precursor to the vesicle containing synthesized catalyst, we observed self-reproduction of the vesicle. Furthermore, we succeeded in construction of the cellular system in which membrane molecules and catalysts coordinated by synthesizing from the same substances.

研究分野：超分子化学

キーワード：ベシクル

1. 研究開始当初の背景

生命を構築するためには、次の3要素をもつことが重要である。それらは自己と環境を分けるための境界、自己の性質を記述するための情報、そしてそれらの生産反応を起こすための代謝(触媒)である。すなわち生命の最小単位である細胞を構築するには、情報物質の自己複製と境界膜の自己生産(外部から取り込んだ養分を自分の構成物質に変換して個体を増殖すること)の2つのダイナミクスが必要である。菅原らは、情報分子であるDNAと相互作用するよう、ベシクル(中空状の超分子集合体)の膜分子をカチオン性にすることを着想し、設計・合成した両親媒性分子からなるベシクルを構築した。ポリマーゼ連鎖反応後に、膜分子の前駆体(養分)を添加することで増殖する人工細胞の構築に世界で初めて成功した[K. Kurihara et al., Nature Chem. 3, 775-781 (2011)]。本ベシクル型人工細胞の特徴は、内部で増幅したDNA量が多いほど、ベシクルが迅速に分裂することであり、これはアニオン性であるDNAがベシクル膜の内部に入り込んだ際に、カチオン性触媒との複合体を構築し、そこが膜生産の拠点となっていることが分かった。このベシクル型人工細胞は、DNAの自己複製とベシクルの自己生産が連携した好例と言える。

一方でこの人工細胞の問題点として、ベシクルが自己生産するにつれて触媒が徐々に減少することで、ベシクルの自己生産反応が鈍化する点が挙げられる。現在のところ、触媒系はベシクルの外部より添加するか、もしくは予め内部に混入するしか報告例がなく、膜分子生産を触媒する分子システムを内包したベシクルは実現されていない[Fletcher et al., Angew. Chem. Int. Ed. 2013]。そこで応募者は、境界の生産系と触媒の生産系の連動性に着目し、ベシクル膜を触媒場とする交差触媒系を導入した新規の人工細胞システムを構想した。

2. 研究の目的

従来のベシクル型人工細胞において懸念材料であった、世代を経るにつれてベシクル内部の触媒量が減少していくという問題を解決するために、内部で触媒を合成することが可能な自己生産するベシクル系を構築することを目的とする。ベシクル膜を疎水性反応場として利用することで、境界の生成系と触媒の生産系が連動する人工細胞の実現を目指す。新規分子群からなるベシクルの形成と形態変化を微分干渉顕微鏡でリアルタイム観察すると同時に、ベシクルの増殖挙動を粒度分布計測で、分子の生産挙動をNMR計測で追跡することで、触媒と境界の両生産系の相関を明確化する。

次いで、セルソーターを用いたベシクル集団計測により、系を構成する分子群の分子構造や初期濃度の差異によるベシクルの増殖効率の違いが、膜生産や形態変化、さらには

集団としての挙動に影響する仕組みを統計的に解析する。上記の測定により得られた知見を、分子設計やサンプルの初期調製に帰還させることで、集団間の競争が可能な人工細胞を実現し、生命起源を支持するリビッドワールド仮説を実証できる系の構築へとつなげる。

3. 研究の方法

交差触媒系を構築するために、養分分子であるデシルアニリンと反応するアルデヒド基を持つ膜分子前駆体、およびイミダゾール塩酸塩部位を持つアルデヒドである触媒分子前駆体をそれぞれ設計し、有機合成する。合成を簡易にするために、両前駆体とも同じ4-ヒドロキシベンズアルデヒドから出発することにした。また、ベシクルの膜分子をデシルアニリンと膜分子前駆体を脱水縮合させて、合成する。両前駆体分子の官能基を同じアルデヒド基に統一し、触媒分子が膜分子生成における脱水縮合反応を触媒するだけでなく、自らの合成を促進する自触媒になるよう企図した。各両親媒性分子の生成は、NMRにより追跡することにした。

ベシクルは、デシルアニリンとイミン結合を持つ膜分子をフラスコ内のクロロホルムに溶解させた後、クロロホルムを蒸発させて脂質薄膜を形成する。その後薄膜に脱イオン水を加える薄膜水和法にて調製する。

ベシクルのもつ情報(組成、サイズなど)が発散しすぎるのを防ぐため、触媒分子前駆体の親水基を嵩高いイミダゾール基にして、膜内で触媒分子が増えすぎるとベシクル膜が不安定化してベシクルは崩壊する[Toyota, Kurihara et al., Langmuir 2008]よう設計した。逆にベシクルが分裂して個体数が増えすぎると、触媒分子生産が追いつかず膜内の触媒濃度が下がり、ベシクルの生成速度は減少することも予想できる。

4. 研究成果

各前駆体アルデヒドは、NMR測定と質量分析などで合成したことを確認した。一方で、デシルアニリンと膜分子前駆体アルデヒドを脱水縮合させてベシクル膜分子を合成した。膜分子とデシルアニリンをクロロホルムに溶解させた後、薄膜水和法にてジャイアントベシクルが形成されることを微分干渉顕微鏡にて確認した。また、薄膜法でベシクルを調製する際に、膜分子と同時に疎水性の蛍光分子を添加することで、蛍光顕微鏡で膜内に蛍光分子が含まれていることを確認した。

デシルアニリンを含むベシクルの分散液に、触媒分子前駆体であるイミダゾール塩酸塩を持つアルデヒドを、外部より添加した結果、ベシクル内部のデシルアニリンと反応しイミン結合を持つ触媒分子が生成した。これをNMRで確認し、また微分干渉顕微鏡と蛍光顕微鏡にて観察してもベシクルの形状が保たれていることが分かった。

次いで、この内部に触媒を持つベシクルに、膜分子前駆体であるアルデヒドを添加後 15 時間以内に、ベシクル膜上でイミン結合を持つ膜分子が生成した。このとき、ベシクルの外側の膜が剥離しながら増殖するピーリング様の自己生産挙動が微分干渉顕微鏡で観察された。蛍光顕微鏡で観察すると新しく生成したベシクルも蛍光が確認された。このことは、新しく形成した娘ベシクルが元の親ベシクルから誕生し、蛍光分子が娘ベシクルへと分配されたことを意味している。ピーリング様の自己生産挙動が起こった理由として、触媒分子前駆体を外部から添加したので、外側の膜に触媒が多く生成したと考えられる。外膜で触媒が多く生産されたため、外膜上で膜生産が盛んであり、かつ生成される膜分子が不飽和結合を持ち柔らかいためであると結論づけられた。

一方で、デシルアニリンを用いずオクチルアニリンを用いた場合、ベシクルとはならず自己生産する油滴となった。自己生産する油滴に、膜分子前駆体アルデヒドを添加すると、添加後 10 時間以内にすべての油滴がオリゴメラジャイアントベシクルに変化することが分かった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 3 件)

Y. Natsume, H. Wen, T. Zhu, K. Itoh, L. Sheng & K. Kurihara, "Water-in-oil emulsion centrifugation method to prepare giant vesicles encapsulating micrometer-sized particles", *J. Vis. Exp.* (119), e55282, doi:10.3791/55282 (2017). [査読あり]

L. Sheng & K. Kurihara, "Transformation of oil droplets into giant vesicles", *Chem. Commun.*, 52, 7786-7789 (2016). [査読あり].

L. Sheng & K. Kurihara, "Generation of catalytic amphiphiles in a self-reproducing giant vesicle", *Chem. Lett.*, 45, 598-600 (2016). doi:10.1246/cl.160107 [査読あり]

[学会発表](計 23 件)

栗原顕輔, 「自己増殖する油滴システムを利用したベシクルの形成と応用」, 第 97 回日本化学会春季年会, 慶應義塾大学日吉キャンパス, 横浜市, 神奈川県, 2017 年 3 月 16 日.

栗原顕輔, 「化学的人工細胞が提案する生命起源への戦略」, ABC プロジェクトミニ WS 「低温度星周りの光合成」, 東京大学本郷キャンパス, 文京区, 東京都, 2017 年 3 月 8 日.

K. Kurihara & Y. Natsume, "Basic

research on primitive cell model based on Lipid World hypothesis", 5th Life in the Universe workshop by Astrobiology Center, Hitotsubashi Hall, Chiyoda, Tokyo (Japan), March 6th-7th, 2017.

K. Kurihara, "Synthesis of peptides in vesicles by using self-reproducing oil droplet system as scaffold" The 5th International Symposium on Dynamical Ordering of Biomolecular Systems for Creation of Integrated Functions, The University of Tokyo, Meguro, Tokyo (Japan), January 21st-22nd, 2017.

栗原顕輔, 「自己再生産する油滴システムを利用したベシクルの形成」, 第 54 回日本生物物理学会年次大会, つくば国際会議場, つくば市, 茨城県, 2016 年 11 月 26 日

栗原顕輔, 「化学で創る人工細胞」, 細胞を創る研究会 9.0, 早稲田大学早稲田キャンパス, 新宿区, 東京都, 2016 年 11 月 22 日.

伊藤卓郎、栗原顕輔, 「油滴のベシクル変換を利用したペプチド合成系の取り込み」, 細胞を創る研究会 9.0, 早稲田大学早稲田キャンパス, 新宿区, 東京都, 2016 年 11 月 21-22 日.

K. Kurihara, "A constructive biology approach to artificial cell", Okazaki Institute for Integrative Bioscience Retreat 2016, Mikawan Resort Linx, Okazaki, Aichi, Japan, November 21st, 2016.

夏目ゆうの, 伊藤一実, 夏目雄平, 栗原顕輔, 「ベシクルに大小 2 種のコロイド粒子を内包させた系の相分離 - 朝倉・大沢理論との対応 - 」, 日本物理学会秋季大会, 金沢大学角間キャンパス, 金沢市, 石川県, 2016 年 9 月 13 日.

栗原顕輔, 「自己再生産する油滴システムを利用したベシクルの形成」, 第 25 回日本バイオイメージング学会学術集会, 名古屋市立大学田辺通キャンパス, 名古屋市, 愛知県, 2016 年 9 月 5-6 日.

K. Kurihara, "Constructive biology approach to artificial cell", OIBB Summer School 2016-Observe, Read, Create the Life", Okazaki Institute for Integrative Bioscience, Okazaki, Aichi, Japan, August 18th-19th, 2016.

栗原顕輔, 「柔らかい分子集合体で創る人工細胞」, 第一回オルガネラ生理学研究会, 生理学研究所, 岡崎市, 愛知県, 2016 年 7 月 28 日

K. Kurihara, "A chemical approach to primitive cell," The 6th Yonsei-IMS Joint Workshop, Yonsei University, Seoul, South Korea, March 14th-15th,

2016.

K. Kurihara, "A study of the primitive cell as an assembly plant of the prebiotic materials," The 4th Astrobiology Workshop, Hitotsubashi Hall, Chiyoda, Tokyo, Japan, March 7th-8th, 2016.

栗原顕輔, 「外部環境に応答する原始細胞モデルの構築」, ABC ミニワークショップ「極限環境の光合成」, 立川グランドホテル, 立川市, 東京都, 2016年2月6-7日.

K. Kurihara, "Construction of vesicular system containing catalyst-producing system," Pacifichem2015, Hawaii Convention Center, Honolulu, The United States of America, December 17th, 2015.

K. Kurihara, "Chemical artificial cell," Okazaki Institute for Integrative Bioscience Retreat 2015, OIIB Yamate Campus, Okazaki, Aichi (Japan), December 9th-10th 2015.

K. Kurihara & L. Sheng, "Catalyst-producing system in a self-reproducing giant vesicle," The 4th International Symposium on Dynamical Ordering of Biomolecular Systems for Creation of Integrated Functions, Kyusyu University Nishijin Plaza, Fukuoka, Fukuoka, Japan, November 22nd, 2015.

栗原顕輔, 「化学で創る人工細胞」, 名大分子研リトリート研修「分子研・知られざる有機合成の世界」, 分子科学研究所山手地区, 岡崎市, 愛知県, 2015年11月17日.

栗原顕輔, 「触媒生成システムを内包する自己生産ベシクルの構築」, 第46回中部化学関係学協会支部連合秋季大会, 三重大学上浜キャンパス, 津市, 三重県 2015年11月7日.

- 21 栗原顕輔, 盛麗, 「内部で触媒を合成する自己再生産ベシクルの構築」, 第9回バイオ関連化学シンポジウム, 熊本大学黒髪南地区キャンパス, 熊本市, 熊本県, 2015年9月11日.

- 22 K. Kurihara, "Catalyst-producing system in a self-reproducing giant vesicle," International Workshop on Challenge to Synthesizing Life, Kagetsuen, Hakone, Kanagawa (Japan), August 25th-16th, 2015.

- 23 栗原顕輔, 「内部で触媒システムを合成する自己生産ベシクル」, 第3回「ソフトマターから人工細胞への物理的アプローチ」合同ゼミ, 東北大学青葉山キャンパス, 仙台市, 宮城県, 2015年6月6日.

〔図書〕(計 2件)

栗原顕輔, 「分子が関わる人工細胞から生命を考える」, JT 生命誌研究館 季刊生命誌 88 (2016).

T. Itoh, L. Sheng and K. Kurihara, "Life emerged from oil", Atlas of Sci. (2016).1頁.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

栗原 顕輔 (KURIHARA, Kensuke)

大学共同利用機関法人自然科学研究機構(岡崎共通研究施設)・岡崎統合バイオサイエンスセンター・特任准教授
研究者番号: 80740919

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし

(4) 研究協力者 なし