

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 8 日現在

機関番号：11301

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2013～2017

課題番号：25103009

研究課題名(和文)ソフトマターから人工細胞への物理的アプローチ

研究課題名(英文)Physical approach from soft matter to artificial cell

研究代表者

今井 正幸 (Imai, Masayuki)

東北大学・理学研究科・教授

研究者番号：60251485

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 85,010,000円

研究成果の概要(和文)：基本的な分子群を用いて生命の基本的機能(情報分子による遺伝・代謝・自己生産)を有する人工細胞、および自己駆動を再現する分子集合体を創成し、そこから生命機能を支える物理的機構を明らかにすることを目指した。人工細胞のプロジェクトでは情報分子と連携した自己生産する2種類の人工細胞の創成に成功し、そのうちの一つでは周囲の環境変化に応じて持続的に分裂させることにも成功した。さらにこれらの人工細胞は情報分子を介した遺伝と進化の能力を持つことも明らかとなった。自己駆動モデルについては、化学刺激により自らを変形させて泳ぐ分子集合体の創成に成功し、生命が運動能力を獲得した新しいモデルを提案した。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to create the molecular assembly (artificial cell) having the essential functions of cellular life (heredity using information molecules, metabolism, self-reproduction of container) and the self-propelling ability. We will reveal the physical background of the cellular life through the artificial cells. 1) We have succeeded to create two types of artificial cells. Both of them demonstrate the vesicle reproduction coupled with the information molecules. One of them shows a primitive model cell cycle comprising four discrete phases (ingestion, replication, maturity and division), i.e., repeatable cell division. Both artificial cell has a potential of heredity and evolvability through the information molecules. 2) We also succeeded to create self-propelled tubular vesicles triggered by chemical stimuli, where the migration is coupled with the wavy motion of the tube. These findings shed light on the way from the molecular assembly to the cellular life.

研究分野：ソフトマター物理学

キーワード：人工細胞 ベシクル 情報分子 自己駆動

1. 研究開始当初の背景

近年、基本的分子群を用いて遺伝情報分子を複製しながら増殖するモデル膜(ベシクル型人工細胞)や化学反応を利用して自己駆動するベシクルなど、生命系に特徴的な機能を基本的な分子群で再現する事に本研究グループが世界にさきがけて成功した。このような研究を通して、生命の起源に迫るのみならず、物性物理・物質科学へ生命系の特徴である自己修復・自己生産・自律性といった新概念を持ち込むことに繋がり、生き物らしさを持つ物質の創成に結びつくことを期待している。

2. 研究の目的

生命機能発現の場においてゆらぎと構造の協奏がどのような形で進んでいるのかを明らかにする。具体的には以下の研究テーマを進める。(1)モデルミニマルセル系では複製された情報分子とモデル膜での膜分子合成経路との相互作用がベシクルの自己生産速度・膜変形ダイナミクスに大きな影響を与える。その情報分子と膜分子の相互作用による反応場がメソスケールの膜変形ダイナミクスに繋がる機構を解明する。(2)外部からの化学刺激により膜変形を誘起し、それを駆動力にして運動する自己駆動ベシクルにおいても、化学刺激と膜の形状ゆらぎの結合がメソスケールでの自己駆動の方向性を決定する。持続的な自己駆動に不可欠な物質供給系の供与という化学刺激が自己駆動を引き起こす機構を解明する。これらの研究から、物質から生命への発展を考える時に欠かす事のできない化学反応系のもつマイクロなゆらぎがメソ構造の変化を駆動する非平衡物理を展開する。

3. 研究の方法

(1)モデルミニマルセル系の創成では、持続的に情報分子を複製しながら増殖する基本となるベシクル系を確立する。増殖の進行とともに枯渇する成分を補給する為の膜融合による物質輸送システムを実現させる。一方で、ベシクル変形の3次元解析法の確立とそれを用いたベシクルのモデル自己生産系の解析を行なう。情報分子のタイプによるベシクルの増殖速度・変形ダイナミクス関係を定量的に理解する。さらに、夫々異なるタイプの情報分子を持つ複数のベシクルで数世代にわたり増殖させ、淘汰と進化のモデル系を構築する。

(2)自己駆動ベシクルについては、化学刺激によってベシクルが自己駆動する条件を膜分子の構造の観点から検討する。まずは、化学刺激により膜の一部を放出することで推力を得るシステムと外部からの膜分子供給系を結合した持続的自己駆動システムを構築し、化学刺激によって誘起される膜の形状ゆらぎとその対称性の破れから発現する自己駆動現象を解明する。さらに、化学エンジンによる自己駆動ベシクル系の普遍性を確かめるため、膜内で推力の原料を合成し、そ

の原料分子を相分離により放出して駆動する自己完結型の自己駆動システムを構築する。

4. 研究成果

本研究グループは、生命の最も基本的な性質である、代謝・ベシクルの自己生産・遺伝情報分子との連携・自己駆動、の4つの機能を備えた人工細胞の創成を進めてきた。

ベシクル型人工細胞の創成

カチオン性膜分子からなるジャイアントベシクル(GV)に DNA を内封させることにより DNA の複製とベシクルの自己生産が連携した人工細胞系の創成に成功した。

I. 連携モデルの機構解明: DNA 内封GVの自己増殖系では、内水相で増殖したDNAを利用してジャイアントベシクル(GV)が、迅速な等割を起こすところに特徴がある。この機構を検討し以下の点を明らかにした。a) 両親媒性触媒CがGV膜内に陥入したDNAと近接していること。b)膜内に触媒分子とDNAとが共存する場合にのみ、自己増殖の相乗効果が現れる。

II. 繰り返し自己複製する人工細胞の実現: 自己増殖により生成した娘ベシクルに、基質を満たした運搬ベシクルを、一定のタイミングで選択的に吸着・融合させ、枯渇した基質を補充することで、「繰り返し自己増殖するGV型モデル原始細胞」を構築した。実現した回帰性をもつベシクル型人工細胞のダイナミクスに注目すると、そこには、現実の細胞周期に類似した明瞭に区別できる四つの相[捕食相、増幅相、成熟相、分裂相]が認められる。重要な点は、異なる外部刺激[温度昇降、pHジャンプ、膜分子前駆体の濃度増加]が、それぞれ特定の相にのみ有効なトリガーとして働き、次の相へと駆動しているところにある(図1)。

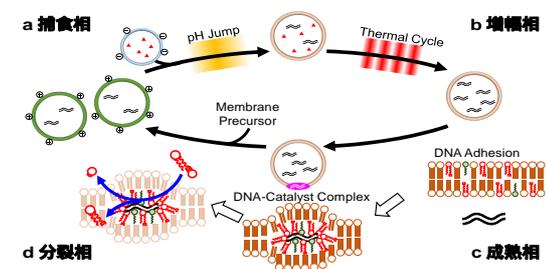


図1 回帰性をもつベシクル型人工細胞

III. 人工細胞における情報伝達と自然淘汰: 本研究の最終目的である進化する原始細胞モデルへの展開として、鎖長の異なるDNAを内封したGV型人工細胞が膜分子前駆体添加により誘導される形態変化を比較検討した。その結果、増殖率は内包したDNAの鎖長に強く依存することが明らかとなった。この結果はフラスコ内で、自然淘汰が起こり得ることを意味しており、進化する人工細胞に向

けた大きな成果といえる。

情報高分子と連携したベシクルの再生産

生体膜を模したベシクルを構成する膜分子の情報分子をコードした情報高分子をもとに、溶液中から膜分子を取り込み成長するベシクルと、そのベシクル上での情報高分子の重合が連携したミニマムセルモデルを構築した(図2)。この系では両親媒性分子 AOT が作るベシクル膜上でポリアニリン(PANI)を鋳型合成すると、AOT と PANI の間の SO-HN の水素結合を通して特定の立体構造をもつ PANI-ES が形成される。この PANI-ES が AOT ベシクル上にある時、AOT ミセルを系に加えるとベシクルは AOT 分子を選択的に取り込んでチューブ状に成長することがわかった。さらにこのベシクルに形状の異なる第二成分の脂質分子を加えると、ベシクルが limiting shape に変形したのち分裂する再生産過程が確認された。この系は膜分子が情報高分子の重合を触媒し、またこの情報分子が膜成長を促進する相互触媒的な系となっている点がミニマルセルモデルとして注目される。

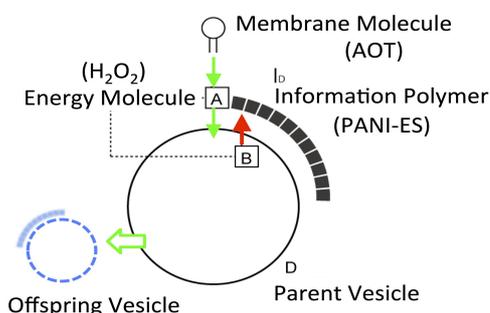


図2 ミニマルセルモデル

ひも状分子凝集体の波打ち変形を伴う駆動

外力なしに水中を駆動する細胞サイズの分子凝集体は、水中を動く細胞の単純な化学モデルとみなすことができ、原始細胞が運動能を獲得するシナリオの一つになりうることから、分子集合体の駆動様式を調べた。

(1) 脂肪族アミン - 酢酸 - 水の 3 成分系で、リオトロピック液晶が幅数十 μm 、長さ数百 μm のひも状分子凝集体となり水相内を一方方向へ移動しつつ波打ち変形することを観察した。

(2) リン脂質 DMPC を水に分散させると、幅数十 μm 、長さ数十~百 μm のひも状多重膜ジャイアントベシクルが形成する。これにオレイン酸ナトリウムを添加すると、波打ち変形しながら一方方向に駆動する現象を見出した(図3)。この運動は脂質の相転移温度を利用してスイッチングでき、DMPC 分子が水相へ溶解してゆく過程が DMPC 膜のゲル相と液晶

相と異なるためと推測される。

ひも状分子凝集体の波打ち変形を伴う駆動現象は、駆動と変形のカップリングによるアクティブマターの新しい運動様式としても注目される。

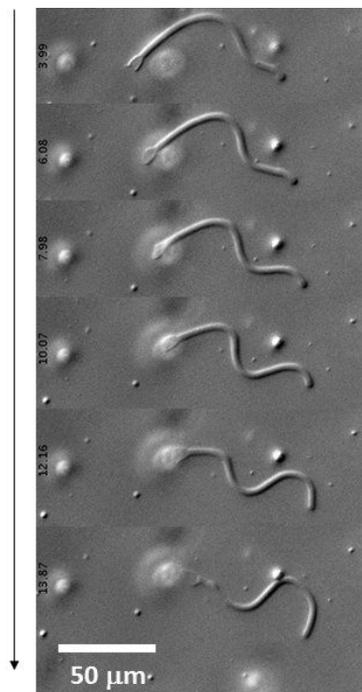


図3 ひも状分子凝集体の波打ち運動(2秒間隔)

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24件)

1) N. Urakami, T. Jimbo, Y. Sakuma and M. Imai,

Molecular mechanism of vesicle division induced by coupling between lipid geometry and membrane curvatures, *Soft Matter*, in press (2018) 査読あり
10.1039/C7SM02188G

2) S. Uemoto, T. Toyota, L. Chiari, T. Nomoto, M. Fujinami,

Assemblies of molecular aggregates in the blebbing motion of an oil droplet on an aqueous solution containing surfactant, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 529, 373-379 (2017). 査読あり
10.1016/j.colsurfa.2017.06.016

3) A. Kodama, Y. Sakuma, M. Imai, T. Kawakatsu, N. Puff, and M. I. Angelova, Migration of Phospholipid Vesicles Can Be Selectively Driven by Concentration Gradients of Metal Chloride Solutions, *Langmuir* 33, 10698-10706 (2017). 査読あり
10.1021/acs.langmuir.7b02617

4) S. Honda and T. Toyota, Photo-triggered solvent-free metamorphosis of polymeric materials., *Nature Communications* 8, 502 (2017). 査読あり

10.1038/s41467-017-00679-1
5) N. Ueno, T. Banno, A. Asami, Y. Kazayama, Y. Morimoto, T. Osaki, S. Takeuchi, H. Kitahata, T. Toyota,
Self-propelled motion of monodisperse underwater oil droplets formed by a microfluidic device,
Langmuir 33, 5393-5397 (2017).
査読あり
10.1021/acs.langmuir.7b00092
6) T. Banno, A. Asami, N. Ueno, H. Kitahata, Y. Koyano, K. Asakura, T. Toyota,
Deformable self-propelled micro-object comprising underwater oil droplets,
Scientific Reports 6, 31292 (2016).
査読あり
10.1038/srep31292
7) K. Suzuki, and T. Sugawara,
Phototaxis of oil droplets comprising a caged fatty acid tightly linked to internal convection,
ChemPhysChem 17, 2300-2303 (2016).
査読あり
10.1002/cphc.201600273
8) T. Jimbo, Y. Sakuma, N. Urakami, P. Zihnerl, and M. Imai,
Role of inverse-Cone-Shape Lipids in Temperature-Controlled Self-Reproduction of Binary Vesicles,
Biophysical J. 110, 1551-1562 (2016).
査読あり
10.1016/j.bpj.2016.02.028
9) A. Kodama, Y. Sakuma, M. Imai, Y. Oya, T. Kawakatsu, N. Puff, and M. I. Angelova,
Migration of phospholipid vesicles in response to OH- stimuli,
Soft Matter 12, 2877-2886 (2016). 査読あり
10.1039/C5SM02220G
10) K. Kurihara, Y. Okura, M. Matsuo, T. Toyota, K. Suzuki, and T. Sugawara,
A recursive vesicle-based model protocell with a primitive model cell cycle,
Nature Communications 6, 8352 (2015).
査読あり
10.1038/ncomms9352
11) N. Urakami, A. Takai, M. Imai and T. Yamamoto,
Molecular dynamics simulation for shape change of water-in-oil droplets,
Molecular Simulation 41, 986-992 (2015).
査読あり
10.1080/08927022.2014.931582
12) K. Ikari, Y. Sakuma, T. Jimbo, A. Kodama, M. Imai, P.-A. Monnard, and S. Rasmussen,

Dynamics of fatty acid vesicles in response to pH stimuli,
Soft Matter 11, 6327-6334 (2015).
査読あり
10.1039/C5SM01248A
13) Y. Kageyama, T. Ikegami, N. Hiramatsu, S. Takeda, and T. Sugawara,
Structure and growth behavior of centimeter-sized helical oleate assemblies formed with assistance of medium-length carboxylic acids,
Soft Matter 11, 3550-3558 (2015).
査読あり
10.1039/C5SM00370A
14) M. Mizuno, T. Toyota, M. Konishi, Y. Kageyama, M. Yamada, and M. Seki,
Formation of monodisperse hierarchical lipid particles utilizing microfluidic droplets in a non-equilibrium state,
Langmuir 31, 2334-2341 (2015). 査読あり
10.1021/acs.langmuir.5b00043
15) H. Noguchi, A. Sakashita and M. Imai,
Shape transformations of toroidal vesicles,
Soft Matter 11, 193-201 (2015). 査読あり
10.1039/C4SM01890G
16) A. Sakashita, M. Imai, and H. Noguchi,
Morphological variation of a lipid vesicle confined in a spherical vesicle,
Physical Review E 89, 040701/1-4 (2014).
査読あり
10.1103/PhysRevE.89.040701
17) K. Takakura, T. Yamamoto, K. Kurihara, T. Toyota, K. Ohnuma, and T. Sugawara,
Spontaneous Transformation from Micelles to Vesicles Associated with Sequential Conversion of Comprising Amphiphiles within Assemblies,
Chemical Communications 50, 2190-2192 (2014). 査読あり
10.1039/C3CC47786J
18) Y. Sakuma, T. Taniguchi, T. Kawakatsu, and M. Imai,
Tubular membrane formation of binary giant unilamellar vesicles composed of cylinder and inverse-cone-shaped lipids,
Biophysical J. 105, 2074-2081 (2013).
査読あり
10.1016/j.bpj.2013.09.021
19) Y. Kageyama, N. Tanigake, Y. Kurokome, S. Iwaki, S. Takeda, K. Suzuki, and T. Sugawara,
Macroscopic motion of supramolecular assemblies actuated by photoisomerization of azobenzene derivatives,
Chemical Communications 49, 9386-9388

(2013).査読あり
10.1039/C3CC43488E

〔学会発表〕(計 146 件)

- 1) M. Imai,
Vesicle Growth Coupled with Template Polymerization - Toward Vesicle Based Self-Reproducing Automaton -, Cell-Free Synthetic Biology Workshop (Nov. 25, 2017), Fukuoka, Japan.
- 2) M. Imai,
Morphologies in Vesicle-Vesicle Adhesion, Association in Solution IV (Jul. 31-Aug. 4, 2017), St. Johns, Canada.
- 3) T. Sugawara,
How RNA/DNA, Protein, and Lipid Worlds meet in a vesicle-based model protocell?, The Origin of Life -Synergy among the RNA, Protein, and Lipid Worlds- (May 29-30, 2017), Tokyo, Japan.
- 4) M. Imai,
Self-reproduction of vesicles: Membrane physics approach, The Origin of Life -Synergy among the RNA, Protein, and Lipid Worlds- (May 28-29, 2017), Tokyo, Japan.
- 5) Y. Sakuma,
Control of vesicle deformation toward protocell, The Origin of Life -Synergy among the RNA, Protein, and Lipid Worlds- (May 28-29, 2017), Tokyo, Japan.
- 6) T. Toyota,
Self-propelled Motion of Molecular Aggregates for Mobile Model Protocell The Origin of Life -Synergy among the RNA, Protein, and Lipid Worlds- (May 28-29, 2017), Tokyo, Japan.
- 7) T. Sugawara,
Identity as life acquired by hierarchical emerged in molecular system, 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM 2015) (Dec. 15-20, 2015), Hawaii, USA.
- 8) M. Imai,
Chemical control of vesicle dynamics, iCeMS International Symposium Hierarchical Dynamics in Soft Materials and Biological Matter (Sep. 23-26, 2015), Kyoto, Japan.
- 9) Y. Sakuma,
Approach to Minimal Cell based on membrane physics, International Workshop on Challenge to Synthesizing Life (Aug. 25-26, 2015), Hakone, Japan.

- 10) T. Sugawara,
Recursive Proliferation of Vesicle-Based Protocell, International Symposium on Fluctuation and Structure out of Equilibrium 2015 (SFS2015) (Aug. 20-23, 2015), Kyoto, Japan.
- 11) T. Sugawara,
Recursive Vesicle-based Protocell Constructed as a Molecular System, SysChem 2015 (May 19-22, 2015), Kerkrade, Netherland.
- 12) T. Sugawara,
Sustainability of Recursive Vesicle-based Protocell, AMS Seminar at POSTECH (Mar. 25, 2015), Pohang, Korea.
- 13) T. Sugawara,
How could a model protocell acquire identity as life through autonomous responses towards external stimuli? 4th Symposium on Artificial Life and Biomimetic Functional Materials (Nov. 28, 2014), Tokyo, Japan.
- 14) T. Toyota,
Locomotion of tubular giant vesicles, Bridging the gap between matter and life (Jun. 3, 2014), Tokyo, Japan.
- 15) M. Imai,
Chemophoresis of Vesicle, Workshop on Cross Correlation & Transport Phenomena in Soft Matter (Jan. 27-28, 2014), Tokyo, Japan.
- 16) M. Imai,
Chemophoresis of Neutral Phospholipid Vesicle, International Workshop "From Soft Matter to Protocell" (Sep. 18-20, 2013), Sendai, Japan.
- 17) Y. Sakuma,
Binary Vesicles Having Functions of Protocell, International Workshop "From Soft Matter to Protocell" (Sep. 18-20, 2013), Sendai, Japan.
- 18) T. Sugawara,
Approach to Evolvable Protocell, International Workshop "From Soft Matter to protocell" (Sep. 18-20, 2013), Sendai, Japan.

〔図書〕(計 3 件)

- 1) T. Toyota, Koichi Asakura
"Self-propelled motion of micrometer-sized oil-in-water droplets in aqueous solution of surfactant"

Properties and Uses of Microemulsions,
InTech (2017), 139-154

2) 佐久間由香、今井正幸

“リピッドワールドの物理 - 脂質ベシクルの
形態とダイナミクス”

「生体膜の分子機構リピッドワールドが先導
する生命科学」

化学同人 (2014), 117-152

3) 菅原正, 村田滋, 堀顕子

“まえがき、第一章 超分子化学とは”

“第二章 水素結合による超分子構築”

“第三章 ファンデルワールス相互作用による
超分子構築”

“第四章 電荷移動相互作用による超分子構
築”

“第六章 生体内で機能する超分子”

科学の指針シリーズ 超分子の化学」

裳華房 (2013), 1-133 / 173-211,

〔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

東北大学理学研究科物理学専攻 ソフトマタ
ー・生物物理研究室

<http://www.bio.phys.tohoku.ac.jp>

神奈川大学理学部化学科菅原研究室

<http://www.chem.kanagawa-u.ac.jp/~sugawara/>

東京大学大学院総合文化研究科豊田研究室

http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/toyota_lab/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

今井 正幸 (Imai, Masayuki)

東北大学・理学研究科・教授

研究者番号: 60251485

(2) 研究分担者

菅原 正 (Sugawara, Tadashi)

神奈川大学・理学部・教授

研究者番号: 50124219

(3) 研究分担者

豊田 太郎 (Toyota, Taro)

東京大学・総合文化研究科・准教授

研究者番号: 80422377

(4) 研究分担者

佐久間 由香 (Sakuma, Yuka)

東北大学・理学研究科・助教

研究者番号: 40630801