

令和元年5月30日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H02216

研究課題名(和文)ベシクルからプロトセルへの道：代謝・情報・熱力学

研究課題名(英文)Road from vesicles to protocells: metabolism, information, thermodynamics

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) 35,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究はソフトマターと呼ばれる生体物質とは異なる一連の物質群を用いて、生命と同じ機能を有するシステム(ミニマルセル)を構築することによって生命を支える物理を明らかにしようとするものである。研究は(1)ベシクル膜をコードした情報高分子の合成、(2)情報高分子と連携したベシクルの成長と分裂の実現である。その結果、両親媒性分子AOTからなるベシクルの上でアニリンを重合すると、その化学構造にAOT分子の親水基がコードされたポリアニリン(PANI-ES)が合成され、そのPANI-ESがベシクルの成長・分裂を促進する相互促進機構を持つミニマルセルの創成に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生命は自律的に自らを再生産し、かつ進化するという物質科学から見て極めて特異な性質を持つシステム群であり、このようなシステムがどのようにして通常の物質群から生まれたのかを明らかにすることは現代科学の最も重要な挑戦の一つである。この研究では、この非生命物質から生命が生まれるための鍵である、情報分子の誕生とそれに連携したモデル細胞の増殖に成功した。現時点では生命にははるかに及ばないが、その基本的な性質の再現には成功しており、今後の研究によっては自律した代謝反応により情報分子を介した再生産と進化も可能になる。このような研究から生命と物質を一つのフレームワークの中で考えることができると期待している。

研究成果の概要(英文)：This research aims to construct minimal cell having essence of biological functions by using non-biological substances, so-called soft materials, whereby we reveal physics underlying the life. We focused on molecular assembly systems composed of synthesizing information polymer encoding vesicle membrane and growth-division vesicle coupled with the synthesis of information polymer. We succeeded to demonstrate the reproduction of vesicles coupled with an enzymatic polymerization reaction (synthesis polyaniline: PANI-ES) occurring on the surface of vesicles composed of AOT and cholesterol. An important characteristic of this reproduction system is that the AOT/cholesterol vesicles encourage the synthesis of PANI-ES and PANI-ES promotes the growth of AOT vesicles. This mutual promotion kinetics captures an essential feature of minimal cells.

研究分野：ソフトマター物理

キーワード：ミニマルセル 代謝 情報 熱力学 プロトセル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

物質科学から見て「生命とは何か」という問いは、Schrödinger の "What is life?" に始まり、様々な非平衡物理学的な手法で捉えられているがその実体は見えにくい。近年、合成生物学では、生命として最小限の要素を有する細胞、プロトセルまたはミニマルセル、を人工的に合成し物質と生命の境界を解き明かす構成生物学的アプローチが進んでいる。この生命の最小限の要素として 1) 自らを外界と隔てる閉じた分子集合体膜 (ベシクル) の自己生産、2) 原料をベシクル外から取り込み、自らを構成する分子や活動に必要なエネルギーを生産する代謝、3) 代謝と自己生産を制御しそれを次世代に伝える情報、があげられており、DNA を内包したベシクルの成長と分裂などの一定の成果が得られているが、最も核心的な問題「膜情報をコードした情報分子の合成とベシクルが成長・分裂が相互触媒的なネットワーク (collective autocatalytic set) を構成しているか」が達成されていない。

2. 研究の目的

ソフトマターを用いて、生命の基本機能を発現する分子集合体モデル系を構築することは、ソフトマター物理の究極的な目的の一つである。本基盤研究では、申請者のこれまでの多成分ベシクルによる形態制御・分子の幾何学的形状と膜の曲率との結合を利用したベシクルの自己生産・化学刺激によるベシクルダイナミクス制御、に関する研究成果を踏まえ、生命としての最小限の要素を備えたプロトセルを 1) 情報分子を持つベシクル、2) 代謝系を持つベシクルに焦点を当てて開発する。その上で、この両者が互いに連携した (相互触媒的なネットワークを形成する) システムの構築を目指す。また自己生産ベシクルに見られる不可逆的な性質を理解するために、このモデル系をベースに 3) プロトセルの統計熱力学を明確にする。これらの研究より分子集合体が生命的な性質を獲得した道を明らかにし、物質から生命への進化のカギを握る非平衡ソフトマター物理を探究する。

3. 研究の方法

上記 3 つのプロジェクトに対して、以下のように研究を進めた。

(1) 情報分子を持つベシクルの創成:

ミニマルセルを実現するための最大の難関は、ベシクル膜の情報分子をもつ高分子の合成とその情報高分子を用いたベシクルの成長・分裂である。この高分子の合成には共同研究者であるスイス ETH の Walde 教授が開発したベシクル膜上での鑄型重合に着目し、細胞サイズのベシクル上での鑄型重合の再現と重合機構の確認を行った上で、外部からの膜分子を認識してベシクルの成長を引き起こすかを検討した。さらにベシクル膜上に固定された情報分子とバルク中での情報分子の成長速度の違いについても検討した。

(2) 代謝系を持つベシクルの創成:

ベシクルの外部に溶液中に存在する膜分子を選択的に取りこんで成長・分裂するベシクルの開発を目指した。このとき鍵になるのは、外部にある膜分子を膜に取り込ませるかである。膜表面での「鑄型」重合により合成した高分子との特異的な相互作用により、溶液中の膜分子の化学ポテンシャルを変調することで溶液からベシクル膜への流れを引き起こすモデルを実験的に検証する研究を進めた。マイクロインジェクション法を用いて膜分子を供給する実験により、このモデルの検証を行なった。さらには鑄型重合を進めるエネルギー分子の合成など代謝の中でも異化の作用を実装、さらには同化についても検討を行った。

(3) プロトセルの統計熱力学:

まずはベシクルの分裂を引き起こす物理モデルの確立を目指して、分子形状と膜曲率との結合によるベシクル分裂の分子シミュレーションを行った。その上で、温度変化によるベシクルの分裂過程の非平衡熱力学的な記述を行い、分裂をひきおこす機構を解明した。この結果を確認するために分子動力学計算の熱力学的積分法を用いて系の自由エネルギーを計算し分裂過程の統計力学を確立を目指した。さらに、ミニマルセルを非平衡状態に保つための化学反応ネットワークの安定性についても解糖系での振動現象を例に検討した。

4. 研究成果

上記 3 つのプロジェクトに対して以下の研究成果が得られた。特に今回「代謝系を持つベシクルの創成」と「情報分子を持つベシクルの創成」を連携させることにより「膜情報をコードした情報分子の合成とベシクルが成長・分裂の相互触媒的なネットワーク (collective autocatalytic set) の形成」が実現したことが非常に大きな成果として挙げられる。

(1) 情報分子を持つベシクルの創成:

鑄型重合による情報高分子の合成と分子認識

アニリンを重合してポリアニリン (PANI) を合成する反応は、ベシクル存在下で行うとベシクルを構成する膜分子の種類によって、合成される PANI の構造が異なることを見出した。実験では親水基が硫酸基である陰イオン性界面活性剤の AOT・SDBS・Sulfatide、中性リン脂質の DOPC、陰イオン性リン脂質の DOPG・DOPA・DOPS で実験を行い、親水基が硫酸基である陰イオン性界面活性剤のグループでは PANI の構造異性体の中でも直鎖状に polaron 状態が伸びた PANI-ES と呼ばれる導電性高分子が選択的に合成されるのに対して、リン酸基を親水基にもつ両親媒性

分子からなるベシクルでは側鎖の多い分岐した PANI が形成されることがわかった。このような選択性は硫酸基の酸素とアニリンの NH 基間の水素結合のような立体特異的な相互作用により生じていると考えられる。

情報高分子を用いたベシクルの成長

AOT ベシクル上での鑄型重合により合成された PANI-ES (情報高分子) は、AOT 分子との特異的な相互作用によりその疎水性を変調 (AOT と PANI-ES の結合により AOT のイオン性が低下) して、外部水溶液中の AOT 分子が疎水環境を持つ AOT 膜内に取り込まれる流れを作る可能性がある。このモデルを確認するため PANI の重合原料であるアニリン、触媒 HRP を含む溶液中に AOT ベシクルを分散させそこに重合開始剤の H₂O₂ と AOT ミセルをマイクロインジェクションしたところ、AOT ベシクルの成長が観察された (図 1)。これはリン酸基を親水基にもつ両親媒性分子からなるベシクルでは観察されず、また硫酸基を持つ両親媒性分子ベシクルではベシクル成長が観察されることから PANI-ES を介した選択的なベシクルの成長が達成されたことになる。特筆すべきは AOT ベシクルが PANI-ES の合成を促進し、PANI-ES が AOT ベシクルの成長を促進する相互促進ネットワーク (collective autocatalytic set) を構成している点である、ベシクルの成長と情報分子の合成が連携した初めての例である。

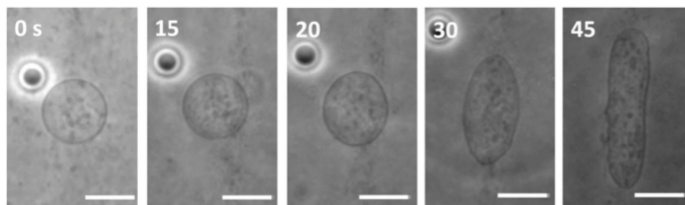


図 1 情報高分子 PANI-ES の合成と連携した AOT ベシクルの成長

ベシクル上での情報高分子の成長

今までのミニマルセル研究ではベシクル内に情報分子が閉じ込められ、外部から膜を通過して原料が運び込まれ情報分子の重合反応を行う、またはまだ膜による情報分子の閉じ込めが行われておらずバルク状態で情報分子の重合が行われる条件で反応速度が議論され、ハイパーサイクルのような安定性が議論されている。しかしフリーの情報分子に対して膜に拘束された情報分子の場合は、その重合ネットワークは大きな影響を受けるはずである。膜に拘束された情報分子の重合速度を、膜にアンカーされた DNA の ligation から計測することに初めて成功した。

化学刺激によるベシクルダイナミクス

この研究の中で上に挙げたような化学反応や化学刺激に呼応してベシクルが変形や駆動などのダイナミクスを示すことが明らかとなった。このような化学刺激に対するベシクルの挙動は、ベシクルの携帯制御において重要な役割を果たすために、それらのダイナミクスを系統的に調べた。

(2) 情報分子を持つベシクルの創成:

情報高分子を用いたベシクルの再生産

鑄型重合により合成された情報高分子を表面にもつベシクルの成長は確認できたが、そのベシクルはチューブ状に成長するのみ (図 1) で分裂して増えていかない。ベシクルを分裂するためにはベシクルのガウス曲率弾性率を制御する必要がある。分子形状を利用してガウス曲率弾性率の制御が可能であるので、ベシクルに第二成分として負の自発曲率を持つコレステロールを加えて同様な成長実験を行うとベシクルの分裂が観察された。これにより情報分子とベシクルの成長・分裂が連携した初めての系の創成に成功した。

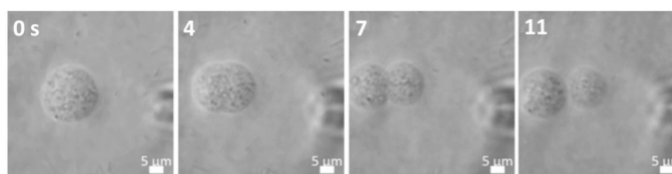


図 2 情報高分子 PANI-ES の合成と連携したベシクルの再生産

異化反応の導入

この系では情報高分子の合成に必要な原料を直接与えている。自立したミニマルセルを創成するには、容易に入手できる原料物質からエネルギー分子や膜分子を合成できることが望ましい。本研究では鑄型重合のエネルギー分子 H₂O₂ をグルコースを分解することにより合成し、その H₂O₂ を用いて情報高分子 PANI-ES の合成とそれと結合したベシクルの成長に成功した。これは代謝系を実装したミニマルセルの初めての例である。

(3) プロトセルの統計熱力学:

ベシクル分裂の物理モデル

ベシクルを分裂させるためには、そのガウス曲率エネルギーの制御が重要である。この制御のためにはベシクルを形成する膜分子を 2 成分

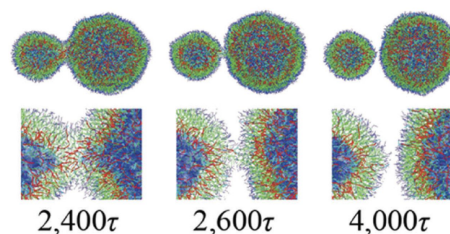


図 3 逆コーン型とシリンドラー型脂質からなる 2 成分ベシクルの分裂過程のシミュレーション

にして膜分子の形状と膜の曲率の結合させることが重要である。このシリンダー状脂質と逆コーン脂質からなる2成分ベシクルが分裂を引き起こすことを分子動力学計算により示した(図3)。このシミュレーションにより分子の負の自発曲率が大きいほど、分裂を引き起こしやすいことが明らかになった。

プロトセルの統計熱力学

2成分ベシクルの分裂過程の非平衡熱力学的な記述を行い、ベシクルの分裂において、膜の曲げ弾性エネルギーやベシクルの分裂による並進エントロピーなどの寄与に比べて、膜を構成する2成分のリン脂質の混合のエントロピーが主要な寄与を果たしていることがわかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 9件)

- (1) M. Matsuo, Y. Kan, K. Kurihara, T. Jimbo, M. Imai, T. Toyota, Y. Hirata, K. Suzuki, and T. Sugawara, DNA length-dependent division of a giant vesicle-based model protocell
Sci. Rep. 9, 6916 (2019). 査読あり 10.1038/s41598-019-43367-4
- (2) H. Morohashi, M. Imai, T. Toyota,
Construction of a chemical motor-movable frame assembly based on camphor grains using water-floating 3D-printed models. Chem. Phys. Lett. 721, 104-110 (2019). 査読あり 10.1016/j.cplett.2019.02.034
- (3) A. Kodama, M. Morandi, R. Ebihara, T. Jimbo, M. Toyoda, Y. Sakuma, M. Imai, N. Puff, and M. I. Angelova, Migration of deformable vesicles induced by ionic stimuli,
Langmuir, 34, 11484-11494 (2018). 査読あり 10.1021/acs.langmuir.8b02105
- (4) 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, 14, 3018-3027 (2018) 査読あり 10.1039/C7SM02188G
- (5) M. I. Angelova, A.-F. Bitbol, M. Seigneuret, G. Staneva, A. Kodama, Y. Sakuma, T. Kawakatsu, M. Imai, and N. Puff, pH sensing by lipids in membranes: The fundamentals of pH-driven migration, polarization and deformations of lipid bilayer assemblies, Biochim. Biophys. Acta Biomem. 1860, 2042-2063 (2018) 査読あり 10.1016/j.bbamem.2018.02.026
- (6) 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
- (7) T. Toyota, T. Banno, J. M. Castro, and M. Imai
Locomotion and Transformation of Underwater Micrometer-Sized Molecular Aggregates under Chemical Stimuli, J. Phys. Soc. Jpn., Vol. 86, 101006 (2017) 査読あり 10.7566/JPSJ.86.101006
- (8) T. Jimbo, Y. Sakuma, N. Urakami, P. Zihlerl, and M. Imai
Role of Inverse-Cone-Shape Lipids in Temperature-Controlled Self-Reproduction of Binary Vesicles, Biophys. 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

〔学会発表〕(計 48件)

- (1) T. Kono, R. Ebihara, K. Murakami, Y. Sakuma, M. Imai and P. Zihlerl
Morphology of a Model Multicellular Organism,
Nano-structured soft matter: a synergy of approaches to amphiphilic and block copolymer systems, (2018)
- (2) M. Kurisu, H. Aoki, T. Jimbo, Y. Sakuma, M. Imai, S. Luginbhl, and P. Walde

Reproduction of Vesicles Coupled with Template Polymerization: Toward Self-Reproducing Automaton
International Liquid Crystal Conference 2018, (2018)

(3) K. Murakami, T. Kono, R. Ebihara, Y. Sakuma, M. Imai, and P. Ziherl
Morphology of vesicle aggregates

Mini Conference on Physical Chemistry of Molecular Assembly (2018)

(4) T. Kawakatsu

Multiscale Modeling on Complex Multiphase Flows

Nano-structured soft matter: a synergy of approaches to amphiphilic and block copolymer systems
(2018)

(5) 佐久間由香

脂質の分子形状と相分離の結合によるベシクル膜変形

「ベシクルの変形の物理と数理」勉強会, (2018)

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

Molecular dynamics simulation of vesicle division

The 12th SPSJ International Polymer Conference (2018)

(7) M. Imai, Y. Sakuma, T. Jimbo, T. Kawakatsu, and N. Urakami

Self-reproduction of vesicles: membrane physics approach

The Origin of Life: Synergy among the RNA, Protein and Lipid Worlds (2017)

(8) Y. Sakuma, and M. Imai

Control of vesicle deformation toward protocell

The Origin of Life: Synergy among the RNA, Protein and Lipid Worlds (2017)

(9) M. Imai

Morphologies in Vesicle-Vesicle Adhesion

Association in Solution IV (2017)

(10) M. Imai

Vesicle Growth Coupled with Template Polymerization: Toward Vesicle Based Self-Reproducing
Automaton

Cell-Free Synthetic Biology Workshop (2017)

(11) 川勝年洋, 佐久間由香, 今井正幸

ベシクルの自己生成過程の非平衡熱統計力学的アプローチ

日本物理学会 2017 年秋季大会 (2017)

(12) T. Jimbo, Y. Sakuma, M. Imai, N. Urakami, and P. Ziherl

Mechanism of Self-reproducing vesicles

Biophysical Society 61st Annual Meeting, (2017)

〔図書〕(計 0 件)

〔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：
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：
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>

山口大学大学院創成科学研究科 生体分子シミュレーション研究室

<http://web.cc.yamaguchi-u.ac.jp/~urakami/>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：川勝 年洋

ローマ字氏名：Toshihiro Kawakatsu

所属研究機関名：東北大学

部局名：理学研究科

職名：教授

研究者番号（8桁）：20214596

研究分担者氏名：浦上 直人

ローマ字氏名：Naohito Urakami

所属研究機関名：山口大学

部局名：理工学研究科

職名：准教授

研究者番号（8桁）：50314795

研究分担者氏名：佐久間 由香

ローマ字氏名：Yuka Sakuma

所属研究機関名：東北大学

部局名：理学研究科

職名：助教

研究者番号（8桁）：40630801

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。