

令和元年6月12日現在

機関番号：82626

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K21034

研究課題名（和文）膜内化学反応と膜ダイナミクスが協同した人工細胞システムの創製と機能創出

研究課題名（英文）Construction of an artificial cell system having cooperation with chemical reaction and dynamics

研究代表者

森田 雅宗（Morita, Masamune）

国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・研究員

研究者番号：90708504

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：本提案では、生体分子反応系と機能がリンクした人工細胞（人工分子）システムの構築と制御を目指した。この試みを通して、DNAをベースとしたマイクロスケールの人工構造物及び、内部で増殖可能な生細胞を内封した人工細胞の構築に成功した。本研究で構築された人工分子システムおよび人工細胞、また、これらを構築するための手法は、様々な分子や細胞を組み合わせることで、ユニークな細胞スケールの人工物を作製できることを広く示しており、この技術が汎用的に利用されると期待する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で構築されたDNAマイクロ構造体は、これまでマイクロスケールでは作製が困難であった幾何学的に複雑な構造を分子の自己組織化反応のみで構成できた点が意義深く、また作製方法も非常にシンプルで今後様々な分子を用いて構造物を作成する基礎技術として重要である。また生細胞を増殖させる人工細胞は、今後、自然界に存在する生物資源の確保、この技術を利用することによる薬剤スクリーニングなどの産業応用が期待される。

研究成果の概要（英文）：In this proposal, we aimed to construct and control of the artificial cell-like system having cooperation with chemical reaction and dynamics. Through this attempt, we succeeded in constructing DNA-based micro-sized architectures and living cell-containing artificial cells. These findings and developed methods in this study are expected to be used for creating unique artifacts by combining various biological molecules or cells.

研究分野：生物工学

キーワード：人工細胞 リボソーム エマルジョン DNAナノテクノロジー 微生物

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

1. 研究開始当初の背景

近年、生命システムの構成的理解と工学的応用のために、物質から人工細胞システムを構築する「ボトムアップ合成生物学」の分野が進展している。細胞と同程度の微小空間・界面特性を有するリポソームや油中水滴を用いて、その内部に生体分子を封入し、様々な分子反応系(転写・翻訳・複製など)が実現されている。これらの研究の多くは、リポソームや油中水滴を「器」として利用している。しかし、細胞は広範な分子反応系と細胞膜構造がリンクするシステムが形成されているが、このようなシステムを実現した研究例は、まだ少ない。分子反応系と機能がリンクするような人工的なシステムを構築・制御する方法論やベースを開発することは、生命システムの理解と今後のバイオテクノロジー開発に期待されている。そこで、本研究提案では、分子反応系と機能が協同するような人工細胞(人工分子)システムの構築を目指した。

2. 研究の目的

本提案では、油中水滴およびリポソームをベースに、これら膜小胞内部および界面において生体分子反応系が作用することで、構造の変形や情報処理などの機能に及ぼす影響について、解析する。これらの実験を通して、生体分子反応系と機能がリンクした人工細胞(人工分子)システムの構築と制御を目指す。

3. 研究の方法

本研究期間内において、生体分子反応系と機能がリンクした人工細胞(人工分子)システムの構築を目指すべく、以下2つの研究項目を実施した。

(1) DNAをベースとした人工分子システムと機能付加

細胞サイズの油中水滴(人工細胞膜)をベースに、油中水滴内部にDNAを内封し、DNA分子の自己組織化反応によって形成される構造とその形成プロセスについて解析、さらに、この構造にRNA転写の機能付与も試みた。

(2) 生細胞を内封した人工細胞システムの構築

細胞が持つ広範な分子反応系を人工細胞にそのまま転用し細胞機能を利活用した人工細胞の構築を目指し、細胞を丸ごとリポソーム内部に内封し、リポソーム内部での細胞機能の観察を試みた。また、人工細胞を構築する上で、細胞サイズのリポソームの作製手法は重要な課題であり、出来上がったリポソームの物性を理解しておくことは重要である。そこで、異なる作成手法で得られたリポソームの物性の違いを明らかにするべく、膜界面上での外来分子と膜成分のリン脂質が反応によって細胞サイズのリポソームの変形に及ぼす影響を観察し解析した。

4. 研究成果

(1) DNAをベースとした人工分子システムと機能付加

DNAが油中水滴内で自己組織化反応により、DNAナノ構造体を形成、さらにナノ構造体を1ユニットとし自己組織化することで、油中水滴界面に集積、マイクロスケールの構造体形成に成功した。DNA分子の反応時間を調節することで、異なる形の構造体が形成されることを明らかにした。また、構造体の形を油中水滴内で可逆的に制御することにも成功した。そして、異なる形の構造体が形成されるメカニズム、構造体形成プロセスを顕微鏡での直接観察により明らかにした。さらに、構造体へRNAを転写する配列を付加することで、DNAからRNAを転写させる機能の付加にも成功した。

(2) 生細胞を内封した人工細胞システムの構築

生細胞を内封した新型の人工細胞の構築を目指し、界面透過法と呼ばれるリポソーム作製手法で、細胞を丸ごとリポソーム内部に封入した。観察の結果、人工細胞内部で生細胞が増殖する様子をとらえることに成功した。現在、これをベースとした新型の人工細胞の構築研究を進めている。界面透過法および静置水和法により、それぞれ得られる細胞サイズリポソームと界面活性剤分子との相互作用反応について観察した。静置水和法で得られるリポソームと比較して、界面透過法で得られるリポソームの変形プロセスの多様性が確認された。また、リポソームの可溶化プロセスにおけるポアサイズを比較・解析することで、静置水和法および界面透過法で得られるリポソームの膜物性の違いを明らかにすることができた。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計6件)

Masamune Morita*, Yuri Ota, Kaoru Katoh, Naohiro Noda*, "Bacterial Cell Culture at the Single-Cell Level Inside Giant Vesicles", Journal of Visualized Experiments., 146, e59555, 1-7, (2019) 査読有, doi:10.3791/59555

Masamune Morita*, Kaoru Katoh, Naohiro Noda*, "Direct Observation of Bacterial Growth in Giant Unilamellar Vesicles: A Novel Tool for Bacterial Cultures", ChemistryOpen, 7, 845-849, (2018) 査読有, doi:10.1002/open. 201800126

Yusuke Sato, Masayuki Endo, Masamune Morita, Masahiro Takinoue, Hiroshi Sugiyama, Satoshi Murata, Shin-ichiro M. Nomura, Yuki Suzuki*, Environment-Dependent

Self-Assembly of DNA Origami Lattices on Phase-Separated Lipid Membranes, *Adv. Mater. Interfaces*, 1800437, 1-6, (2018) 査読有, doi:10.1002/admi.201800437
Chikako Kurokawa, Kei Fujiwara, Masamune Morita, Ibuki Kawamata, Yui Kawagishi, Atsushi Sakai, Yoshihiro Murayama, Shin-ichiro M. Nomura, Satoshi Murata, Masahiro Takinoue*, Miho Yanagisawa*, “DNA cytoskeleton for stabilizing artificial cells”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA (PNAS)*, 114(28), 7228-7233, (2017). 査読有, doi: 10.1073/pnas.1702208114
Masamune Morita, Shin-ichiro M. Nomura, Satoshi Murata, Miho Yanagisawa, Masahiro Takinoue*, “Formation of DNA micro-skeleton structures in water-in-oil microdroplets”, *Proc. microTAS*, 159-160, (2017) 査読有
Daisuke Ishikawa, Yuki Suzuki, Chikako Kurokawa, Masayuki Ohara, Masamune Morita, Miho Yanagisawa, Ryuji Kawano, Masayuki Endo, Masahiro Takinoue*, “Self-assembled microcapsules of amphiphilic janus DNA nanoplates at the water-oil interface” *Proc. microTAS*, 116-117, (2016) 査読有

[学会発表](計 18 件)

森田雅宗, 加藤薫, 野田尚宏, 「細胞内小器官型人工細胞を指向したジャイアントベシクル内微生物培養法の構築」, 第 2 回分子ロボティクス年次大会, ポスター, 3/14-15, 東京工業大学, 大岡山
森田雅宗, 加藤薫, 野田尚宏, 「細胞サイズリボソーム(人工細胞)内での微生物培養」, 「細胞を創る」研究会 11.0, ポスター, 10/18-19, 2018, 東北大学, 仙台
Masamune Morita, Naohiro Noda, “Evaluation of membrane shape deformation of giant vesicles prepared by droplet transfer method”, 日本生物物理学会第 56 回年会, ポスター, 9/15-17, 2018, 岡山大学, 岡山
Yusuke Sato, Masayuki Endo, Masamune Morita, Masahiro Takinoue, Hiroshi Sugiyama, Satoshi Murata, Shin-ichiro M. Nomura, Yuki Suzuki, “Environment-dependent assembly of DNA nanostructures on phase-separated lipid bilayer membranes” 日本生物物理学会第 56 回年会, ポスター, 9/15-17, 2018, 岡山大学, 岡山
Masamune Morita, Shin-ichiro M. Nomura, Satoshi Murata, Miho Yanagisawa, Masahiro Takinoue, “Formation of DNA micro-skeleton structures in water-in-oil microdroplets”, The 21th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (microTAS 2017), Oral, No.2C3-2, 10/22-26, 2017, Savannah International Trade & Convention Center, Georgia, USA.
Masamune Morita, Shin-ichiro M. Nomura, Satoshi Murata, Miho Yanagisawa, Masahiro Takinoue, “Generation of complex self-assembled DNA microstructures inside water-in-oil microdroplets”, 19th IUPAB congress & 11th EBSA congress, Poster, 7/16-20, 2017, Edinburgh International Conference Centre, Edinburgh, Scotland
渡邊理佐, 森田雅宗, 柳澤実穂, 瀧ノ上正浩, 「マイクロ液滴界面を利用した RNA 転写可能な DNA マイクロ構造体の構築」, 「細胞を創る」研究会 10.0, Poster, 10/19-20, 2017, 京都教育文化センター, 京都
Risa Watanabe, Masamune Morita, Miho Yanagisawa, Masahiro Takinoue, “Construction of artificial cell nuclei with RNA transcription capability using a microdroplet interface” 日本生物物理学会第 55 回年会, ポスター, 9/19-21, 2017, 熊本大学, 熊本
Masamune Morita, Shin-ichiro M. Nomura, Satoshi Murata, Miho Yanagisawa, Masahiro Takinoue, “Self-assembly of DNA microstructures on a cationic lipid interface of water-in-oil microdroplet”, The 22nd International Conference on DNA Computing and Molecular Programming (DNA22), Poster, 9/4-8, 2016, Ludwig-Maximilians-Universität (LMU), Munich, Germany
Masamune Morita, Shin-ichiro M. Nomura, Satoshi Murata, Miho Yanagisawa, Masahiro Takinoue, “Construction of self-assembled DNA microstructures for synthesis of molecular robots”, Chem-Bio Informatics Society (CBI) Annual Meeting 2016, Poster, 10/25-27, 2016, タワーホール船堀, 東京
森田雅宗, 野村 M. 慎一郎, 村田智, 柳澤実穂, 瀧ノ上正浩, 「荷電脂質膜界面上で自己組織化された DNA マイクロ構造体の構築」, 第 10 回バイオ関連化学シンポジウム, 口頭, 9/7-9, 2016, 石川県立音楽堂, 石川
Daisuke Ishikawa, Yuki Suzuki, Chikako Kurokawa, Masayuki Ohara, Masamune Morita, Miho Yanagisawa, Ryuji Kawano, Masayuki Endo, Masahiro Takinoue*, “Self-assembled microcapsules of amphiphilic janus DNA nanoplates at the water-oil interface”, The 20th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (microTAS 2016), Oral, 10/9-13, 2016, Convention Center, Dublin, Ireland
森田雅宗, 「細胞サイズ油中水滴界面における自己組織化 DNA マイクロ構造の形成」, 非線形ソフトマター研究会 2016, 口頭, 10/29-30, 2016, 横浜市民ふれあいの里上郷・森の家,

横浜, 神奈川

Masamune Morita, Shin-ichiro M. Nomura, Satoshi Murata, Miho Yanagisawa, Masahiro Takinoue, "Formation of self-assembled DNA microarchitectures on a cationic lipid membrane surface", 日本生物物理学会第 54 回年会, ポスター, 11/25-27, 2016, つくば国際会議場, 茨城

Risa Watanabe, Masamune Morita, Miho Yanagisawa, Masahiro Takinoue, "Construction of DNA micro-structures with RNA transcription sequences using the interface of microdroplets" 日本生物物理学会第 54 回年会, ポスター, 11/25-27, 2016, つくば国際会議場, 茨城

森田雅宗, 野村 M. 慎一郎, 村田智, 柳澤実穂, 瀧ノ上正浩, 「荷電脂質膜界面上での自己組織化 DNA マイクロ構造体の構築」, 「細胞を創る」研究会 9.0, ポスター, 11/21-22, 2016, 早稲田大学国際会議場井深大記念ホール, 東京

渡邊理佐, 森田雅宗, 瀧ノ上正浩, 「マイクロ液滴界面を利用した RNA 転写配列を有する DNA フラクタルマイクロ構造体の構築」, 「細胞を創る」研究会 9.0, ポスター, 11/21-22, 2016, 早稲田大学国際会議場井深大記念ホール, 東京

森田雅宗, 石川大輔, 野村 M. 慎一郎, 村田智, 柳澤実穂, 瀧ノ上正浩, 「荷電脂質膜界面における DNA ミクロ構造の形成」, 化学とマイクロ・ナノシステム学会 (CHEMINAS33rd), ポスター, 4/25-26, 2016, 東京大学生産技術研究所, 東京

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称: 微生物を封入したベシクルを用いた微生物の培養方法
発明者: 森田雅宗, 野田尚宏, 高木妙子, 大田悠里, 斉藤加奈子
権利者: 産業技術総合研究所
種類: 特許
番号: 特願 2018-089417
出願年: 2018 年 5 月 7 日
国内外の別: 国内

取得状況 (計 1 件)

名称: 液滴製造デバイス, 液滴の製造方法, リボソームの製造方法, 固定具及び液滴製造キット
発明者: 瀧ノ上正浩, 森田雅宗, 山下仁義
権利者: 東京工業大学
種類: 特許
番号: 特許第 6031711 号
取得年: 2016 年 11 月 4 日
国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森田雅宗 (MORITA, Masamune)

産業技術総合研究所・生命工学領域・研究員

研究者番号: 90708504