

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：12201

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H04876

研究課題名(和文)表現型と遺伝子型が連携する人工細胞モデルの創成

研究課題名(英文)Creation of artificial cell with phenotype and genotype

研究代表者

栗原 顕輔 (KURIHARA, KENSUKE)

宇都宮大学・共同教育学部・研究員

研究者番号：80740919

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 19,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は原始地球においてペプチドを主成分とする液滴を形成し、その液滴から最初の生物が誕生したとするオパーリンのコアセルベート仮説を支持するものである。当初は核酸と堅固な膜を用いた原始細胞を構築する予定だったが、膜と核酸の相互作用が強く、核酸の情報を膜に伝達することが困難だったため、個体組成を情報とするコンポソームの概念を取り入れ、より原始細胞に近い単純な物質から原始細胞モデルを構築することができた。本モデルは、チオエステル骨格を持つ分子を常温常圧の水に添加することで、20マイクロメートル程度の液滴の自発的形成が認められた。さらに合成した分子を添加すると、液滴は肥大と分裂を繰り返し、増殖した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来のRNAワールド仮説は、RNAが情報と触媒能を担い最初の生命となったとされている。またリピッドワールド仮説では、境界膜が最初の生命となったとされている。本研究では、それらの構成する分子よりもより、単純な分子、単純な組成で構成されている原子生命体でも、情報と境界が密接に連携していることが示唆された。本液滴は、膜を持たない境界を採用したことで、各構成物をどの段階でも吸収できるため、非生命と生命の境界を探る上で、各ワールド仮説がいかに統合していったかを実験的に検証できる系といえる。

研究成果の概要(英文)：This study supports Oparin's coacervate hypothesis: peptide-based droplets were formed on the primitive Earth and that the first organisms were born from these droplets. Initially, we planned to construct a primitive cell using nucleic acids and a rigid lipid membrane. However, the interaction between the membrane and nucleic acids was stronger than expected. Therefore it was difficult to transfer information from the nucleic acids to the membrane. Here, we adopted the concept of the composome (individual composition is information), and were able to construct a primitive cell model from simple materials that are more similar to primitive cells. In this model, spontaneous formation of droplets of about 20 micrometer in size was observed by addition of molecules with a thioester skeleton to water at room temperature and 1 atm. When the synthesized molecule was added, the droplets repeatedly grew and divided, that is, proliferated.

研究分野：界面化学

キーワード：液滴

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

今世紀はじめ J.W.シヨスタックらは、初期の細胞には情報物質の自己複製および境界膜の自己再生産(養分を構成物質に変換して個体を増殖すること)の 2 つのシステムが必要であると論じた[Szostak et al., Nature 2001]。この設計指針のもと、申請者らは、合成した両親媒性分子からなるベシクル内で DNA を人工的に増幅させたのち、膜分子の前駆体を添加した[K. Kurihara et al., Nature Chem. 2011]。取り込まれた前駆体はベシクル内部で膜分子に変換され、ベシクルは肥大・分裂した。この人工細胞の特徴は、増幅した DNA の量が多いほどベシクルが速く分裂することであり、2 つの生産系が連携した好例と言える。しかしながら、同じ DNA でも鎖長や前駆体の添加時間によりベシクルの分裂様式に違いが認められ、DNA の配列情報がベシクルの分裂に反映されたかについては疑問が残っていた。このように、仮に長い塩基配列をもつ核酸をもつ原始細胞が誕生したとき、その情報が表現型に適切に伝達したとは考えにくく、より単純で、短い鎖長さの核酸などが最初の生命に関与していたのではと考案した。

2. 研究の目的

ダーウィン型進化を可能とする「遺伝子型と表現型が連携する人工細胞の創成」を達成するためには、遺伝子型の DNA 塩基配列(情報)と表現型のベシクル膜(境界)形成が相互作用する必要がある。そこで本研究では当初、DNA の核酸塩基情報とベシクル境界の相互作用の実現をめざした。

しかしながら、核酸塩基と脂質の相互作用が強いため、より単純モデルが要請された。そこで、より単純かつ太古地球でも生成可能であったペプチドを組成に持つ液滴を考案した。本系における境界は液滴であり、情報は液滴組成である。最初の原始生命として液滴が優れている点は、融合分裂しやすい、反応場が大きい、水中でも疎水場を保持できるなどいくつかある。本研究課題では、自発的に増殖可能であり、どのような分子でも取込むことができる液-液相分離液滴の構築を目指した。

3. 研究の方法

本研究では、水中で自発的にペプチドを生成するように、チオエステル骨格を持つ分子を合成し、ネイティブケミカルライゲーション法(N 末端にシステインをもつペプチドと C 末端にチオエステルをもつペプチドどうしが、還元的雰囲気の中で自発的にアミド縮合する)によってペプチドを合成できるように分子設計した。システイン側鎖のチオールは酸化されやすいため、モノマーどうしをジスルフィドで架橋したシスチン由来のモノマー前駆体を設計した。シスチンのジスルフィド結合は還元剤(ジチオトレイトール、DTT)で切断することにした。脱離基が疎水相互作用により液滴になるようベンジルメルカプタンを選択した。

合成分子は、NMR や質量分析などで同定した。また形成された液滴の存在評価は、微分干渉顕微鏡やレーザー走査型共焦点顕微鏡、液滴の粒径評価は顕微鏡の他に動的光散乱型粒度分布計など、液滴内の反応評価は、NMR 測定や質量分析測定など、液滴の組成評価は顕

微ラマン分光法などで行った。

4．研究成果

水中に前駆体（50 mM）と DTT（125 mM）を添加したところ、溶液が徐々に白濁したことが肉眼で認められた。微分干渉顕微鏡観測の結果、24 時間後には 5-20 μm の分子集合体形成が見出された。これら分子集合体が球状であり、分子集合体どうしが融合した事実から、形成された分子集合体は液滴であることが示唆された。液滴生成には合成でできたオリゴペプチドとベンジルメルカプタンが不可欠であった。

形成された液滴の自己再生産能を検証するため、すでに形成している液滴に前駆体と DTT を再添加した際の粒径変化を粒度分布計で計測した結果、元の液滴の分布以外に新しい分布は形成されなかった。一方で、20 時間毎に継続的に前駆体と DTT を添加すると、粒径は再帰的に変動したため、形成された液-液相分離液滴が自触媒的に自己再生産していることが明らかとなった。

本液滴は、液-液相分離液滴であることが示唆されたため、顕微ラマン分光法にて液滴内部の組成評価を行った。液滴に疎水性の脂質、親水性の DNA、RNA を添加すると、中心部に脂質が集まり、外周部に核酸が集まる傾向にあった。液滴の中心部はやや疎水的であり、外周部はやや親水的であることが確認された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Yuno Natsume, Erika Noguchi, Kensuke Kurihara	4. 巻 88
2. 論文標題 Spontaneous localization of particles in giant vesicles owing to depletion force	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Phys. Soc. Jpn	6. 最初と最後の頁 33001
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7566/JPSJ.88.033001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Muneyuki Matsuo, Yumi Kan, Kensuke Kurihara, Takehiro Jimbo, Masayuki Imai, Taro Toyota, Yuiko Hirata, Kentaro Suzuki, Tadashi Sugawara	4. 巻 9
2. 論文標題 DNA Length-dependent Division of a Giant Vesicle-based Model Protocell	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6916
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-43367-4	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Y. NATSUME, K. KOMORI, K. ITOH and K. KURIHARA	4. 巻 43
2. 論文標題 Spontaneous localization of two kinds of hard spheres in giant vesicles	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Trans. Mat. Res. Soc. J.	6. 最初と最後の頁 333-338
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.14723/tmsj.43.333	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 K. KURIHARA, M. MATSUO, T. YAMAGUCHI and S. SATO	4. 巻 1862
2. 論文標題 Synthetic Approach to biomolecular science by cyborg supramolecular chemistry	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochim. Biophys. Acta (BBA) - General Subjects	6. 最初と最後の頁 358-364
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbagen.2017.11.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kurihara Kensuke, Matsuo Muneyuki, Yamaguchi Takumi, Sato Sota	4. 巻 1862
2. 論文標題 Synthetic Approach to biomolecular science by cyborg supramolecular chemistry	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects	6. 最初と最後の頁 358 ~ 364
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbagen.2017.11.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Muneyuki Matsuo, Kensuke Kurihara, Taro Toyota, Kentaro Suzuki, Tadashi Sugawara	4. 巻 6
2. 論文標題 Physicochemical Cause and Effect Observed in DNA Length-Dependent Division of Protocell as the Primitive Flow of Information	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clin. Med. Biochem.	6. 最初と最後の頁 150-1 - 150-3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.35248/2471-2663.20.06.150	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Muneyuki Matsuo, Yuiko Hirata, Kensuke Kurihara, Taro Toyota, Toru Miura, Kentaro Suzuki, Tadashi Sugawara	4. 巻 11
2. 論文標題 Environment-Sensitive Intelligent Self-Reproducing Artificial Cell with a Modification-Active LipoDeoxyribozyme	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Micromachine	6. 最初と最後の頁 606-1-606-18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/mi11060606	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 13件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 栗原顕輔
2. 発表標題 物理学および化学的原始細胞モデルの構築
3. 学会等名 H31年度アストロバイオロジーセンター若手分野間連携ワークショップ (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kensuke KURIHARA
2. 発表標題 Constructive biology approach to supramolecular artificial cell
3. 学会等名 The 3rd UK-Japan Frontiers of Science Symposium (UK-Japan FoS 2019) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 栗原顕輔
2. 発表標題 ペプチド合成系を内包する自己再生産分子集合体の構築
3. 学会等名 日本油化学会第19回優秀論文賞受賞講演会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 栗原顕輔
2. 発表標題 原始的なタンパク質を内包する原始細胞モデルの創成
3. 学会等名 H30年度アストロバイオロジーセンター若手ワークショップ (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 栗原顕輔
2. 発表標題 原始的なタンパク質を内包する原始細胞モデルの創成とその挙動解析
3. 学会等名 第6回宇宙における生命ワークショップ (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 栗原顕輔
2. 発表標題 構成生物学的アプローチで迫る人工細胞の創成
3. 学会等名 野口遵研究助成金講演会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 栗原顕輔
2. 発表標題 構成生物学的アプローチで迫る人工細胞構築
3. 学会等名 大阪大学蛋白質研究所セミナー：再構成アプローチが開拓する生体膜・膜タンパク質研究の最前線（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 栗原顕輔
2. 発表標題 柔らかい分子集合体からなる原始細胞モデルの研究
3. 学会等名 公益財団法人クリタ水・環境科学振興財団研究優秀賞式典（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kensuke Kurihara
2. 発表標題 Strategy for origin of life research using chemical artificial cells
3. 学会等名 ELSI International Workshop "Reconstructing the Phenomenon of Life; To Retrace the Emergence of Life"（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kensuke Kurihara
2. 発表標題 Chemical Cell Models Based on Self-reproducing Vesicles
3. 学会等名 IMS Asian International Symposium Japan-China Joint Interdisciplinary Symposium on Coordination-based Hybrid Materials (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 栗原顕輔, 松尾宗征
2. 発表標題 化学的人工細胞モデルで探る生命起源
3. 学会等名 日本進化学会第19回大会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kensuke Kurihara
2. 発表標題 Constructive biology approach to artificial cells: Artificial cells based on vesicles from nonliving materials
3. 学会等名 6th International Conference in Biology, Chemistry and Agronomy (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 栗原顕輔
2. 発表標題 構成生物学的アプローチで迫る人工細胞構築
3. 学会等名 大阪大学蛋白質研究所セミナー 再構成アプローチが開拓する生体膜・膜タンパク質研究の最前線 (招待講演)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------