

分子システムとしてつくる人工細胞

(神奈川大学) 菅原 正

Artificial Cell Constructed as a Molecular System

(Kanagawa University) Tadashi Sugawara

【序】 階層性のある分子集合体において、要素間の相互作用の協同効果で高次の機能が発揮される場合、このような分子集合体を分子システムと呼ぶ。では、分子システム概念を推し進め、外部刺激により引き起こされるマイクロな階層でのダイナミクスが、上位の階層に伝達されシステム全体の動きを誘発する現象(創発性)を示す分子システムを実現することはできないであろうか？本講演では、両親媒性分子の自己集合体であるベシクルを対象とし、ベシクル自己生産が内部でのDNAの自己複製と連動し、自己複製系の回帰性の獲得、内部の情報分子とベシクルの自己生産能の相関を備えたベシクル型人工細胞を、分子システムとして構築することについて論じる[1]。

【結果および考察】

1) **ベシクルの自己生産** 我々はすでに、以下の二つの自己生産系を構築した。i)ベシクルの内水相で、両親媒性分子の疎水部と親水部が脱水縮合反応を起こし、生成した膜分子から娘ベシクルが形成され、ベシクルの外膜をすり抜けて増殖する系(Birthing) [2]、ii) 両末端に親水部が導入された膜分子前駆体が、ベシクル膜に溶存する両親媒性触媒の作用で加水分解して膜分子を生成し、それに伴いベシクルが肥大し分裂する系(Budding)である[3]。特に後者の系は、分裂に伴い減少する触媒を途中で添加すると、分裂が数回継続して起こり、約100倍に増幅する[4]。

2) **ベシクル自己生産と内封DNAの自己複製との連動** ジャイアントベシクル内部で自己複製した情報分子[5]が、いかにして自らを閉じ込めている分子集合体(ベシクル)の自己生産ダイナミクスに関わるかという問題を考える。我々は、あえて膜成分として、ポリアニオン性であるDNAとLipoplex(カチオン性分子とアニオン性高分子の複合体)を形成するカチオン性膜分子を用い、膜電荷をアニオン性のリン脂質で中和したハイブリッドなジャイアントベシクルを用意した。そのベシクル内でPCR法によりDNAを増幅させた後、膜分子前駆体を添加したところ、内部でDNAが増殖したベシクルのみが優先的に肥大して分裂し、増殖したDNAは新たに誕生したベシクル内に分配された。この挙動は、増殖したDNAが、カチオン性膜分子を含むベシクル膜の内表面に局在化することで膜分子生産の活性サイトを形成し、Budding様式の肥大・分裂を誘発したと解釈される [6]。

3) **回帰性のあるベシクル自己生産系における相の循環** 実現したベシクル型自己複製系のダイナミクスに注目すると、そこには、明瞭に区別できる4つの相(捕食相I、増幅相、捕食相II、肥大・分裂相)が認められること、各相にはその相を駆動する外部刺激、また場合によっては、その相を終結させる事象が存在し、そのような特性を備えることで、自己複製系の回帰性を獲得している。

捕食相I(dNTPの取り込み):ベシクル分裂で生成したベシクル(娘ベシクル)は、外部より取り込んだ前駆体V*から生産したカチオン性のVを多量に含むため、正の膜電荷を帯びている。ここに、負の膜電荷

をもち、dNTP(DNAの原料)を内封したベシクルを添加し、pHジャンプという外部刺激によりベシクル融合させると、dNTPが娘ベシクルに移送された。膜電荷の中和で捕食相Iは終結する。

増幅相(DNA複製): dNTP充填ベシクルにPCRの温度昇降を施すことで、ベシクル内DNAを増幅する。

この相の終期には、増幅したポリアニオンであるDNAと膜内のカチオン性膜脂質Vや両親媒性触媒Cとの間でLipoplexが形成され、膜脂質生産の活性サイトとなる。dNTPの枯渇で増幅相は終結。

捕食相II(膜分子生産): 増幅相終期にベシクル内膜に膜脂質生産の活性サイトが形成されたベシクルは、V*の添加により、そのサイト付近で活発な膜脂質生産が行われ、Budding様変形が起こる。

肥大・分裂相(ベシクル生産): さらなる膜生産により、活性サイトを起点としベシクル膜の肥大・分裂が進行する。膜分子前駆体の消費、分裂に伴う膜内部の触媒濃度の減少などで、分裂相は終結する。

重要な点は、それぞれの外部刺激が特定の相にのみ有効なトリガーとして働くことであり、それにより、ベシクルの自己生産ダイナミクスは回帰性を獲得し、自己生産が世代にわたり繰り返される。

4) DNA鎖長に依存するベシクルの形態変化 我々の自己複製ベシクルでは、増幅したDNAと両親媒性触媒Cとがリポフレックスを形成することで酵素的な働きをし、ベシクルの肥大・分裂を実現している。したがって、内封する鋳型DNAの長さ(分子あたりのフォスフェートアニオン数)の違いにより、自己複製能に差異が生ずる可能性がある[7]。DNAとカチオン性脂質との相互作用をより顕著にするために、GV膜に分子量約1000(22量体)のポリエチレングリコール(PEG)鎖を担持したリン脂質(0.8mol%)を添加した。そのGVにそれぞれ長さの異なる3種のDNA(374 bp(塩基対), 1164 bp, 3200 bp)を内封し、DNA増幅後に、膜分子前駆体の添加で引き起こされる形態変化を共焦点レーザー蛍光顕微鏡で観測した。

- 1) PEG担持型リン脂質を入れない場合はBudding型変形しか起こらないのに対し、PEG担持型脂質を添加するとBirthing様の変形が観測された。
- 2) BuddingとBirthing変形の分岐点は、膜に接着したDNAがカチオン性の脂質とLipoplexを形成するサイトがベシクル2分子膜の間となるか(Budding変形)、内膜表面となるか(Birthing様変形)にある。
- 3) 等割に近い分裂(自己生産とみなせる)の全形態変化の総数に対する割合は、短いDNA(374 bp)、中程度のDNA(1164 bp) 長いDNA(3200 bp)で、0% : 38% : 9%とDNAの長さに明確に依存する。特に中程度の長さのDNA(1164 bp)の場合に、自己生産と見なせる形態変化が最も起こりやすい。

以上の実験結果は、DNAの長さ(遺伝子型)と、ベシクル型人工細胞のダイナミクスの頻度や形態変化の様式(表現型)との間に相関があることを示唆しており、幾世代にも跨る自己生産と相俟って、ベシクル型人工細胞の進化を考える上での重要な知見となろう。

【参考論文】

- [1] P. L. Luisi, *The Emergence of Life: From Chemical Origins to Synthetic Biology*. (Cambridge Univ. Press, UK, 2006), J. W. Szostak, D. P. Bartel, and P. L. Luisi, *Nature*. **409**, 387, (2001).
- [2] K. Takakura, T. Toyota, T. Sugawara, *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 8134–8140 (2003).
- [3] K. Takakura, T. Sugawara, *Langmuir*. **20**, 3832, (2004)
- [4] T. Toyota, K. Takakura, Y. Kageyama, T. Sugawara, et al. *Langmuir*. **24**, 3037, (2008).
- [5] K. Shohda, M. Tamura, Y. Kageyama, K. Suzuki, A. Suyama, T. Sugawara, *Soft Matter*. **7**, 3750, (2011).
- [6] K. Kurihara, M. Tamura, K. Shohda, T. Toyota, K. Suzuki, T. Sugawara, *Nature Chem.* **3**, 3, (2011).
- [7] M. I. Angelova, I. Tsoneva, *Chem. Phys. Lipids*. **101**, 123, (1999).