

【研究内容の解説】

1. 研究の背景と目的 —人工細胞の構築による生命の起源の探究—

「生命は何処から来たか?」という根源的な問いには、現代の生命科学をもってしてもなお、明確な答えは用意されていない。この答えを導くには、21世紀の自然科学の総合的な取り組みが必要とされる。生命の起源については、核酸(RNA/DNA)が先か(→RNAワールド仮説)タンパク質が先か(→プロテインワールド仮説)というホットな議論がある。この議論は、どちらも生体を構成する高機能物質に生命の起源を求めている点で、物質重視の生命起源論といえる。しかし、それぞれの仮説の鍵となる物質群(RNA/DNA やタンパク質)を集めても、生命とはならない。生命現象を理解するためには、特定の物質だけではなく、選ばれた一連の物質同士のネットワークを作り上げることが重要である。

そこで我々は、RNAワールド仮説やプロテインワールド仮説といった考え方とは相補的な、合成化学を基盤とした構成的アプローチ(→構成的アプローチ)で、生命誕生の秘密に迫る研究を進めてきた(図1)。すなわち、生命の基本単位である細胞の本質を残しながらも、大胆にモデル化し、一部、人工的に合成した分子を用いながら(図2)、それらを組み上げることで、「生命らしさをもった原始的な人工細胞」を構築することを目指している。

我々が定義する生命の本質は、ゆらぎを内包したダイナミクスの階層性(→ダイナミクスの階層性)にある。すなわち、内部の反応系と外界とを仕切る袋状の膜(ベシクル(→ベシクル))の自己生産(→ベシクル自己生産)と、膜で包まれることで生まれた個性を、子孫に伝える情報物質(→情報物質)の自己複製(→自己複製)とが連動し、それにより実現した自己増殖(→自己増殖)が、世代間にまたがって繰り返されていく内に進化を遂げるという、ダイナミクスの階層化だ。

現実の細胞のもつ最大の特徴は、細胞分裂を繰り返しながら、何世代にもわたって遺伝子を伝えながら、自分と同じ個体を維持し続けることにある。我々はこれまでに、遺伝子に見立てたモデル情報分子を持った人工細胞が、分裂と同時に情報を子世代に伝えることに成功している(関連論文1、→従来の人工細胞)。今回我々は、このような人工細胞に、さらに何世代にもわたって繰り返し細胞分裂するという特性を付与した(図3)。

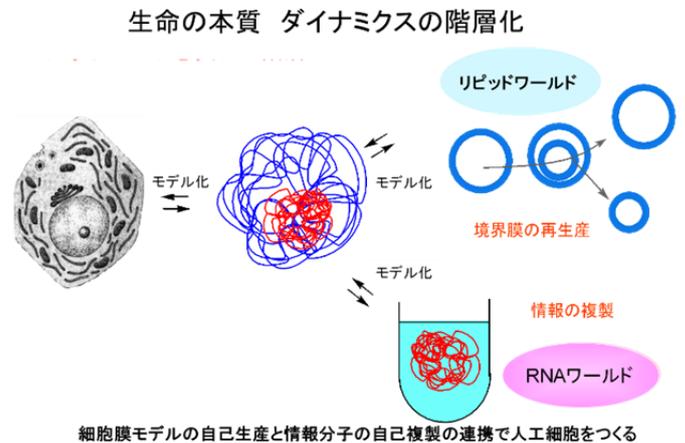


図1 構成的アプローチでつくる人工細胞

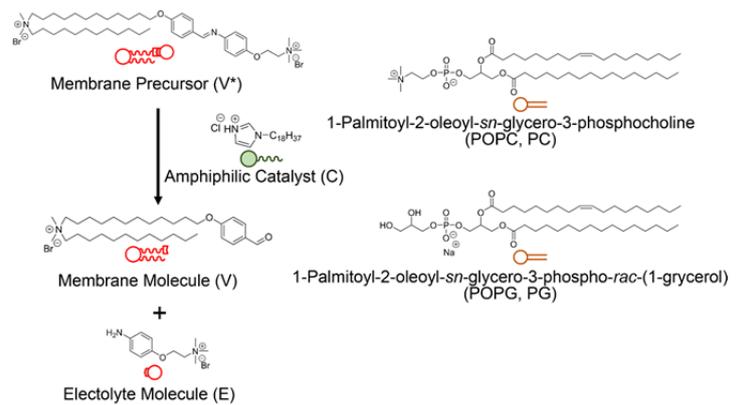


図2 人工的に合成した膜分子とリン脂質

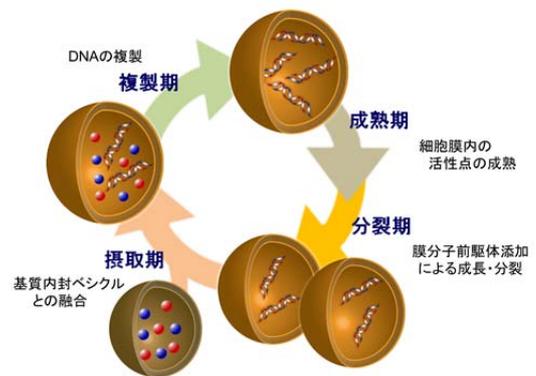


図3 回帰性のある人工細胞における細胞周期モデル

2. 今回の成果 —繰り返し自己複製するベシクル型人工細胞の実現—

従来の人工細胞では、親の世代の内部で遺伝子に見立てた DNA を複製する過程で、人工細胞内部に封入された DNA の原料物質をすべて消費してしまう。このため、子世代の人工細胞では、親から受け継いだ DNA を複製できず、それ以降は、親細胞と同様の効率のよい分裂を行わせることができなかった。そこで、本研究では、すでに我々が開発している、pH によってベシクルの表面電位(→ 表面電位)を制御する方法(関連論文2)を改良し、新たに生まれた子世代の人工細胞に対し、枯渇している物質の移送を可能にすることで、この問題を解決した(図4)。この過程を導入したことにより、親から子が生まれ、子から孫が生まれる一連の過程を、顕微鏡で観察したことは、今回構築した新しい人工細胞からなるシステムが、何世代にもわたって繰り返し細胞分裂できることを意味する。

従来の人工細胞では、自己生産までの過程は一代限りのイベントでしかなかったが、今回繰り返し細胞分裂できる人工細胞が実現されたことによって、新しく生まれた人工細胞が成熟し、次の世代の人工細胞を生み出すまでの過程を、何世代にもわたり観測できることとなった。さらに、一世代ごとの、誕生から次世代を生み出すまでの流れを精査しているうちに、そこに、区分可能な四つの相が存在することに気づいた(図5)。このような相の存在は、現実の細胞では細胞周期(→ 細胞周期)として知られている。この人工細胞にも原始的な細胞周期が存在することは、「生命らしさ」につながる要素となる。もし、人工細胞が、どれかの相に長時間留まると、いずれは平衡状態に達して、人工細胞の周期は停止してしまう。しかしながら、今回我々が構築した人工細胞では、各相の後半で、次の相につながる準備がなされるため、平衡状態に陥ることなく、新しい非平衡状態を獲得することとなる。非平衡開放系としての生命が定常的に持続されるためには、この人工細胞の原始的な細胞周期に見られるような、常に回帰的に非平衡状態を持続する仕組みが、重要なのではないだろうか。

最後に、この人工細胞が細胞分裂を持続するためには、周期的な外的環境(温度、pH、外部からの物質供与)が必要とされる点に触れておきたい。このような周期的な環境変化は、太古の地球環境であったとしても、海あるいは間欠泉さえ存在すれば存在可能である(→ 太古の地球環境)。従って、今回我々が用いた物質群と同じ働きをするような分子が地球上にある程度存在すれば、今回と同じような状況が、自然発生的に出現しても、何ら不思議ではない(図6)。

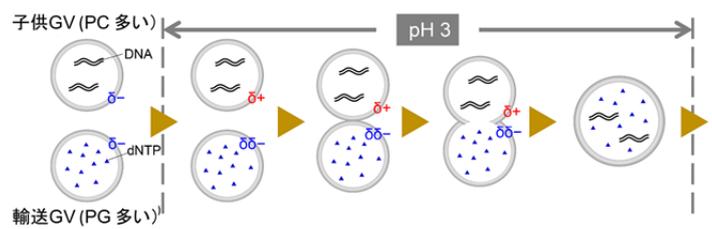


図4 膜の表面電荷の違いを利用したベシクル融合と物質輸送

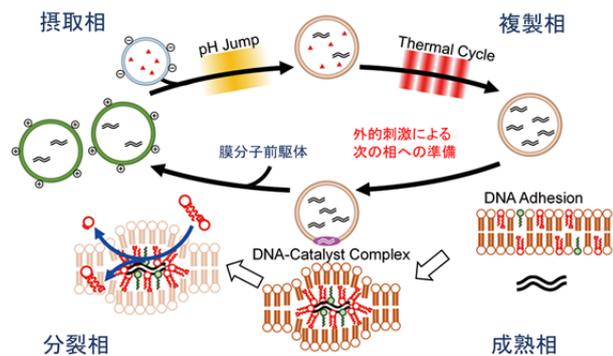


図5 ベシクル型人工細胞の示す原始的細胞周期

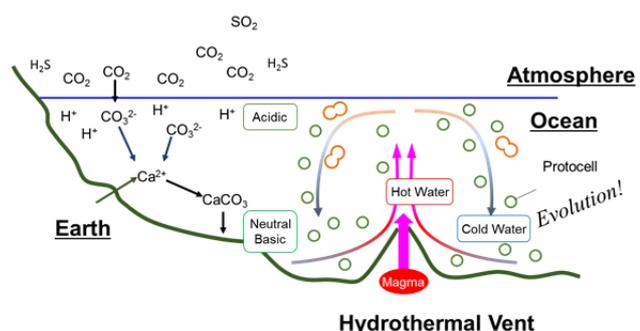


図6 前生物的環境下での自己増幅型人工細胞の自立性

3. 展望

我々の人工細胞では、情報分子である DNA が触媒分子とジャイアントベシクル(GV)膜内で複合体を形成し、擬似酵素として作用することで、DNA の原始的情報と、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)との間に相関が生じる。このことは、幾世代にもまたがる自己生産と相俟って、ベシクル型人工細胞が進化を起こす潜在能力を秘めていることを意味する(図7右端)。なお、我々は現在存在する細胞が、このようにしてでき上がったと主張しているのではない。重要なことは、人工的に合成することができる分子や高分子を組み合わせ、一つのシステムをつくり上げ、ある環境に置いてやると、ベシクルの外部と内部の物質の出入り、外的刺激への応答の中から、あたかも生命のようなダイナミクスが創発してくることを示した点にある。

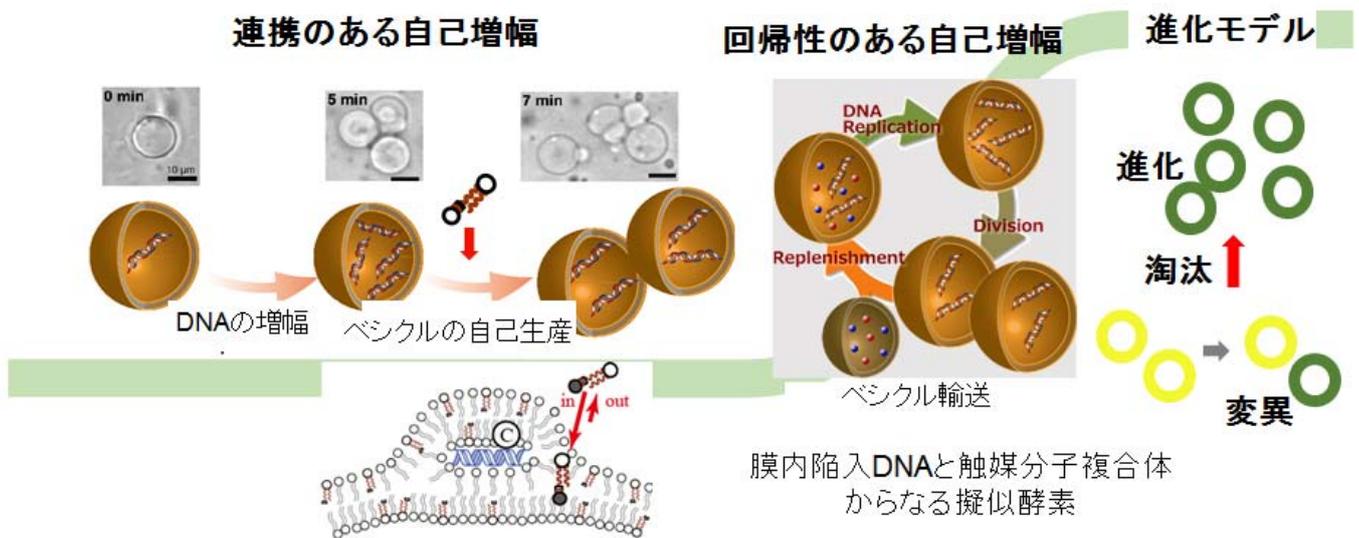


図7 GV型人工細胞のダイナミクスの階層化

【用語解説】

RNA ワールド仮説

現在の生物は、いわゆるセントラルドグマ(DNAから転写されたRNAからタンパク質が合成され、それがDNAを複製する)の上に成り立っているが、生命誕生直前の地球環境で、それらのうちのどちらが先に出現したかが、生命史上の問題となっている。複製能と遺伝情報をそなえたRNAの複製系が先に誕生し、後にタンパク質複製系が組み込まれたと考えるのが、RNAワールド仮説である。RNAは、単に情報を担う分子と言うだけでなく、RNA自身が、RNAを複製する酵素としての機能を持ちうるということが知られており、タンパク質を用いずとも自己増殖可能なことが、この仮説の重要な根拠となっている。しかしRNAは不安定な構造であり、単独では存在が難しいことが指摘されている。

プロテインワールド仮説

RNAワールド仮説に対して、タンパク質こそが先に出現したとする仮説。原始地球に存在したとされるアミノ酸がランダムに重合していくうちに、機能を持ったタンパク質となり、最初は小さなタンパク質が疑似複製をしていたが、やがてDNA/RNAを取り込み、タンパク質を作る情報が固定されたとする考え方。タンパク質を構成するアミノ酸は、4種の塩基からなるDNA/RNAと比較して多様であり、小規模なタンパク質でも様々な機能を持ちうるが、現時点で自己複製可能なタンパク質は見いだされていないという問題点がある。

構成的アプローチ

生命システムのような、様々な要素が内在する複雑なシステムの全貌を理解することは難しい。システムを、それを構成する要素(原子・分子)にまで分解し、その上で全貌を理解しようとする還元的アプローチには限界がある。そこで、要素に素性の明らかな比較的単純な物質を用いて、大胆なモデル化を行い、要素間の相互作用に焦点を当てつつ、元のシステムの本質を理解しようとする方法論を、構成的アプローチという。構成的アプローチは様々な分野に適応しうるが、筆者らは特に、生体分子と比較して、より単純な人工分子からなる人工細胞をつくり出すところにこのアプローチを適応し、生命システムを理解する研究を進めている。

ダイナミクスの階層性

我々のジャイアントベシクル(GV)型人工細胞においては、GV内部のミクロな階層(分子)における化学反応が、上位の階層であるGV膜(膜分子集合体)に伝播し、マクロな形態変化を誘発するといった階層性が存在する。この連携したダイナミクスは、さらにループを組むことで、繰り返し自己増殖が可能になり、さらに情報物質がGVの示す機能に影響を与える(遺伝子型と形質型の相関)ことで、進化という高次のダイナミクスに進む潜在力を秘めている。

ベシクル

リン脂質のような両親媒性分子が水中で自己集合すると、脂質二分子膜が形成され、それが袋状に閉じることで、ベシクルが形成される。ベシクル内部には、脂質二分子膜によって外部の水溶液から切り離された内水相が存在し、そこには、外部とは異なる水溶液を封入することができる。このベシクルの構造は、脂質二分子膜である細胞膜により細胞内物質が封入された細胞と相同であり、特に粒径が数マイクロメートルを超えるジャイアントベシクル(GV)は、人工細胞のモデル系として、広く用いられている。

ベシクル自己生産

細胞の「境界」を自己生産する系として、両親媒性分子が水中で形成する球状に閉じた自己集合体であるジャイアントベシクル(GV)に着目し、「自己生産するGV」を構築する研究が展開されている。ベシクル型自己生産系の特徴は、1) 外部から膜分子の原料を取り込み、膜内で触媒分子を用いて膜分子へと変換する、2) 膜分子が増えると形態変化が誘発され、鋳型がないにも関わらず、自己とほぼ同じ粒径をもったベシクルを生産する、ところにある。

情報物質

実在の細胞において、自分自身を構築する設計図となり、さらに自分自身のアイデンティティを保障しているのは遺伝子である。人工細胞において、これと同じ振る舞いをする物質を、情報物質と呼んでいる。我々の自己生産ベシクルでは、情報分子としてDNAを用いており、増幅したDNA自身が擬似酵素として、分裂の頻度および様式に影響を与えるとともに、分裂の足場として働くことが示唆されている。しかし、人工細胞系における情報分子は、このような特性を持つことができれば、DNA/RNAに限ることはない。

自己複製

ある分子が、自分自身のもつ情報(形、分子間相互作用)を鋳型として、原料物質から自分と全く同じものを作り出すことを自己複製と呼ぶ。DNAは、自らを鋳型として相補的なDNAを複製するところに特徴がある。

自己増殖

実際の細胞と同じように、人工細胞において、遺伝子(DNA/RNA)の自己複製と細胞膜の分裂とが連動して起こる場合、とくに自己増殖と呼ぶ。

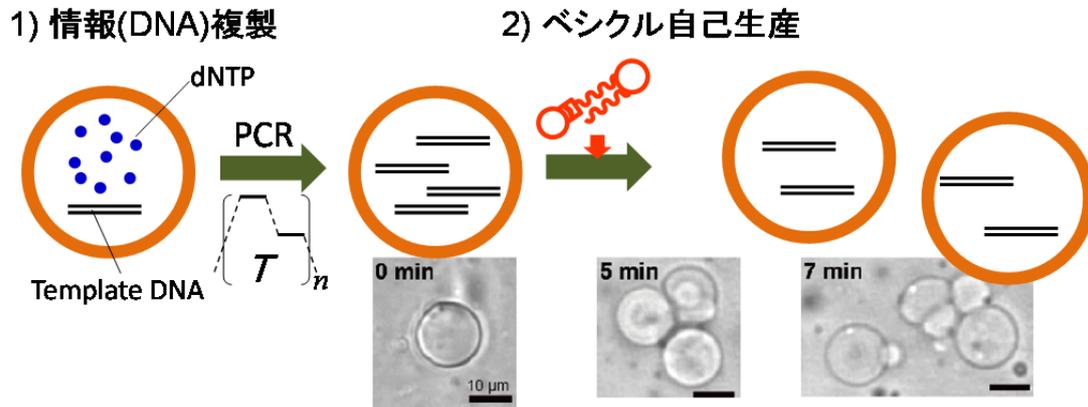
従来の人工細胞

我々はすでに、外部から供給された膜前駆体を利用し自己生産できるベシクルの内部で、情報分子のモデルとしてのDNAの複製を行い、複製されたDNAが、分裂時に新しくできたベシクルにも分配されるような人工細胞を構築している(関連論文1)。この人工細胞において、DNAの複製過程を行わなかった場合は、ベシクルの自己生産性が著しく低下する。これは、複製されたDNAが、次世代に伝わるべき情報として存在しているのみならず、ベシクル自己生産に積極的に関与していることを意味している。実際の細胞と同じように、DNAを複製できた人工細胞のみが、効率よく増殖できる仕組みを実現しているのは、増幅したDNAが、カチオン性の膜分子でとりまかれ疎水化し、ベシ

クル膜内に侵入して触媒分子を集めることで、膜分子前駆体から膜分子を効率よく生産する酵素のような機能を持った複合体を構築するためと考えられる。

図：ベシクル内での DNA の複製とベシクル自己生産とが連動したベシクル型人工細胞

表面電位



水中にある微粒子表面は、多くの場合、正または負に帯電している。このような静電的性質を表面電位と呼ぶ。本来、水中にある微粒子(たとえば、ベシクル)は、凝集し一つの塊になった方が、分散したままであるよりもエネルギー的に有利である。しかし、同一符号の表面電位を持った粒子間には斥力が働くため、粒子同士の凝集が妨げられる。一方、逆符号の粒子間には引力が生じ、凝集が促進される。ベシクルを始めとする多くのコロイド粒子で、定常的に分散状態が維持されているのは、粒子の表面電荷によるところが大きい。

細胞周期

親細胞からの分裂によって新たに生じた細胞が、次の世代の細胞を生み出すまでの周期を細胞周期と呼ぶ。その間に、細胞は次世代の細胞を作り出すのに必要な遺伝子を含む物質群を作り出す。細胞周期には4つの固有な相(期)が存在する。今回実現したベシクル型自己複製系のダイナミクスにおいても、これと同様に区別できる4つの相(捕食相、増幅相、成熟相、分裂相)の存在が認められる。

捕食相(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から生産したカチオン性膜分子を多量に含むため、正の膜電荷を帯びている。ここに、負の膜電荷をもち、dNTP(デオキシヌクレオシド三リン酸, DNA の原料)を内封した輸送ベシクルを添加し、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、DNA 増幅の準備が整う。

増幅相(DNA 複製) :dNTP 充填ベシクルに温度昇降を施すと、ベシクル内 DNA が増幅する。

成熟相(ベシクル膜の成熟) :増幅したポリアニオンである DNA が、ベシクル膜の内表面でカチオン性膜分子に取り巻かれ、ベシクル膜内に陥入して、カチオン性の両親媒性触媒と複合体を形成する。それに伴い、ベシクル膜は成熟し、膜分子前駆体を取り込んだ際に、これを加水分解して膜分子に変換する準備(触媒作用)が整う。

分裂相(ベシクル生産) :外部から膜分子前駆体が添加されると、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、回帰性を獲得したベシクルは、どこかの相に落ち込むことなく、自己生産を世代にわたり繰り返すことができるようになる。

太古の地球環境

以下の記述はあくまで推論に過ぎない。太古の地球にはまだ RNA、DNA のような情報分子や酵素となり得るタンパク質のように高度に発達した高分子は存在していなかったのではないか。それでも脂肪酸のような比較的単純な構造からなる両親媒性分子は既に存在し、海岸の岩場の干上がったところに多重膜を形成していたであろう。その岩場を豊富な養分を含む海水が覆うと、大小様々なミセルや袋状のベシクルが形成され、浮遊したであろう。そのようにして誕生したベシクルの膜分子の成分は多様であり、また、内封された高分子の内の或るものは、既に触媒としての性質を備えていたかも知れない。これらベシクルの内の或るものは、海底の熱水噴火孔の付近でできた対流に乗り、温度の上昇下降といった熱サイクルを経験したかも知れない。また、当時の大気は酸性であったので、海面付近の海水は酸性で、海底には粘土やゼオライトなどが堆積しており、中性あるいはアルカリ性なので、対流に乗ったベシクルは、pH の勾配に曝された可能性もある。その内に自己生産の能力をもった膜と情報を保存できる高分子（ポリペプチドやポリヌクレオチド、ポリサッカライドなど）とがベシクルの内部で出遭い、両者の増幅過程が互いに同期したものは、共に進化しつつ現在の細胞へと変遷していったのではないか。

関連論文 1

Kensuke Kurihara, Mieko Tamura, Koh-ichiroh Shohda, Taro Toyota, Kentaro Suzuki, Tadashi Sugawara, Self-reproduction of Supramolecular Giant Vesicles Combined with the Amplification of Encapsulated DNA, *Nature Chemistry* 3, 775-781(2011)

関連論文 2

Kentaro Suzuki, Ryo Aboshi, Kensuke Kurihara, Tadashi Sugawara, Adhesion and Fusion of Two Kinds of Phospholipid Hybrid Vesicles Controlled by Surface Charges of Vesicular Membranes, *Chemistry Letters* 41, 789-791 (2012);

Kentaro Suzuki, Kensuke Kurihara, Yusaku Okura, Taro Toyota, Tadashi Sugawara, pH-Induced Switchable Vesicular Aggregation of Zwitterionic and Anionic Phospholipids, *Chemistry Letters* 41, 1084-1086 (2012)

参考文献

菅原 正、鈴木健太郎、豊田太郎、ソフトマターがしなう・動く・生長する・増える — 両親媒性分子集合体のダイナミックモルフォロジー、*日本物理学会誌* 64, 2-11 (2009) [表紙に採用]

K. Suzuki, T. Toyota, K. Takakura, T. Sugawara, Sparkling Morphological Changes and Spontaneous Movements of Self-assemblies in Water Induced by Chemical Reactions, *Chem. Lett.* 38, 1010-1015 (2009) [Highlight Review]

菅原 正、化学で挑む生命の起源、*科学*、89(7)、712-720 岩波書店。(2010)

菅原 正、鈴木健太郎、分子科学の挑戦—可塑的応答・自律運動・自己生産する超分子システム、*Molecular Science*, 4 A0033 (2010)

菅原 正、生命らしさを分子システムで再構築する、現代生物科学入門 9 巻「合成生物学(浅島誠・黒岩常祥・原雄治編)」第三章 pp 67-120, 2010 岩波書店

菅原 正、豊田太郎、鈴木健太郎、分子システムで生命らしさに迫る、生命の起源をさぐる—宇宙からよみとく生物進化(奥野誠・馬場昭次・山下雅道編)、第 2 章 pp 62-79, 2010, 東京大学出版会

以上