

膜分子生成が誘発する奇妙なベシクル形態変化

東大院総合・助教 鈴木 健太郎

膜中や膜周辺での化学反応により、膜を形成する両親媒性分子が生成できるような分子システムを利用したジャイアントベシクルは、その反応に伴って様々なダイナミクスを発現する。特に我々は、細胞分裂に似た分裂ダイナミクスを示すベシクル系に注目して研究を行ってきた。本年度は、膜貫通型両親媒性分子が生成することによって起こるベシクル分裂ダイナミクスの機構をモデル分子を用いて精査すると共に、自己生産するジャイアントベシクル内部に、ポリアニオンである DNA を封入した際に見られる、分裂ダイナミクスの得意な加速効果について研究を行った。

1. モデル膜分子を利用したベシクル分裂ダイナミクスの時系列解析

疎水部末端に化学反応性部位としてベンズアルデヒド部位を有する膜分子 **A** からなるにジャイアントベシクルは、**A** と同様の構造を有し、反応部位反応性部位としてアミン部位を有する両親媒性分子を外部より添加すると、時間と共にジャイアントベシクルが分裂し、もともとほぼ同じ大きさを持ったベシクルが生じるというダイナミクスを示す(図 1 a, b)[1, 2]。両親媒性分子 **B** は、膜を不安定化する界面活性剤として働くため、本来はベシクルの不安定化をもたらす。しかし本系では、ベシクル膜内部の疎水的環境における **A** との化学的な連結反応によって双頭型膜分子 **T** が生じ、そのことが同程度のサイズのベシクルが生じるという、本系の特色を産み出していると推測される。しかしながら、**T** の分裂への具体的な寄与については明確ではなかった。そこで、化学的に不安定な **T** に変わって、安定で構造のよく似た双頭型膜分子 **T_{AZO}** を、モデル分子として新規に合成し、化学反応の自系列に対応した濃度比率の **T_{AZO}** を含むベシクルを調整した(図 1 c, d)。このようなベシクルは、時間発展するベシクル膜分子組成のスナップショットを創り出したことに相当する。各状態におけるベシクル粒径を、動的光散乱法により計測したところ、膜中の **T_{AZO}** 濃度が 20% を超えるとベシクル粒径の増大が観測され、50% 以上ではむしろ減少することを見出した。膜を貫通する構造を持った **T** は、膜中で集合化した際に平面性の高い自発曲率を与えると考えられるが、それ自身に成膜性が乏しいため、良好なベシクルとなるためには、適切な比率のくさび形膜分子 **A** が必要となるためとみられる。以上の結果から、分裂ダイナミクスにおける **T** の役割は、**T** 濃度が少ないうちは、**B** による不安定化を補いベシクルを安定化させ、ある程度以上に **T** 濃度が貯まるとベシクルに綻びが生じさせ分裂を引き起すという、多面的な働きがあると推測される(図 1 e)。

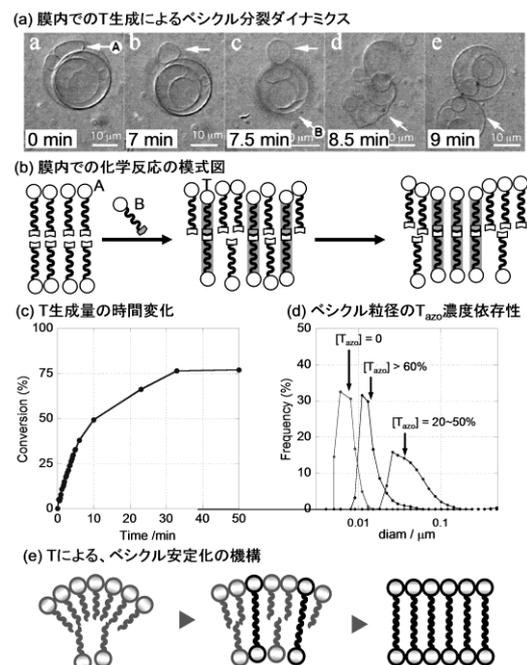


図 1

2. DNA を封入した自己生産ベシクルダイナミクス

我々が既に構築しているベシクル自己生産系[1, 3]を、より高次の人工細胞系へと昇華するには、自己生産ベシクル内部で、DNA などの情報の複製を行い、さらにその増えた情報が、次世代のベシクルへと引き継がれていく系を構築することが重要である。そこで、DNA 複製反応として知られる PCR(Polymerase Chain Reaction)に必要な成分を内水相に封入した、リン脂質 POPC および POPG および、自己生産反応に必要な膜分子 **V** および触媒 **C** からなるジャイアントベシクルを作成し、PCR に必要な温度昇降サイクルを実行したところ、ベシクル内部での DNA の増幅が確認された。さらに、このベシクルに、外部より膜前駆体分子である **V*** を添加したところ、数分の時間を経てベシクルが分裂し、さらに新たに生まれたベシクル内部に増幅した DNA が引き継がれて居ることを確認した。一方、同じ膜組成を持ちながら、内部で DNA を増幅しなかったベシクルでは、**V*** を添加から分裂までに約数時間を要した。このことは、ベシクル内部で増幅した DNA に、ベシクル自己生産時の分裂ダイナミクスへの加速効果があることを意味している。DNA 増幅時には、膜に含まれるカチオン性の **V** に対して、同じ比率でアニオン性の POPG が存在するため、膜表面電荷はほぼ中性であるが、ここにさらにカチオン性である **V*** を添加すると、膜の表面電荷はカチオン性となる。ポリアニオンである DNA は、非常に強くカチオン性膜に吸着し、DNA が吸着したサイトとは逆方向にベシクルを観入させる働きがあることが知られている[4]。従って、内部に DNA を十分な量もつベシクルでは、**V*** が導入されると、膜内部での膜分子生産反応が起こると同時に、内部の DNA がベシクルを外側に向かってふくらむように変形させるため、両者の相乗効果によって分裂に要する時間が早められたものと推測している。本系の膜組成はあくまで自己生産のためにのみ調整されたものであるにもかかわらず、このような相乗効果が自発的に生み出されたと言うことは、極めて興味深い。

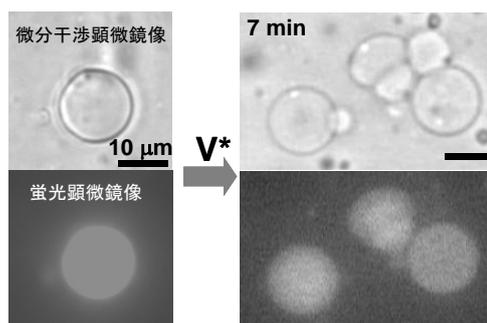


図2 内部で DNA を増殖させた内封したベシクルの、自己生産による分裂。蛍光は二本鎖 DNA を認識する蛍光プローブによる。

3. その他

本特定内のネットワークを利用して、いくつかのプロジェクトが進行中である。「自己生産ベシクルの分裂ダイナミクスの三次元計測(今井教授(お茶大))」「オレイン酸螺旋構造体の内部構造の観測(瀬戸教授(KEK))」「化学反応により自発的に泳動する油滴の理論解析(梅田准教授(神戸大))」

<参考文献>

- [1] K. Takakura, T. Toyota, K. Yamada, M. Ishikawa, T. Sugawara, *Chem. Lett.* **30**, 404-405 (2002).
- [2] K. Suzuki, T. Toyota, T. Takakura, T. Sugawara, *Chem. Lett.*, **38**, 1010-1015 (2009).
- [3] K. Takakura, T. Sugawara, *Langmuir* **20**, 3832-3834 (2004).
- [4] M. Angelova, N. Hristova, I. Tsoneva, *Euro. Biophys J.* **28**, 142 (1999)