

膜分子生成が誘発する奇妙なベシクル形態変化

東京大学大学院総合文化研究科・助教 鈴木健太郎（平成 21 年度代表）
教授 菅原 正（平成 22 年度代表）

1. 初期の研究目標と実際の研究推進

ベシクルのバーシングは、膜ダイナミクスの解明のみならず、ベシクルの自己生産系設計の上で重要である。我々はこれまで、膜分子を生成する化学反応を利用して、時間と共にベシクルバーシングが起こる系を構築してきた。そこには、単なる膜分子添加とは異なる、様々の奇妙なダイナミクスが見られる。適切なモデル分子を設計合成することで、そこに見られる現象をマイクロからマクロへの階層的に理解することを目標とし、変形ダイナミクスの鍵となる膜分子のモデル分子を合成するなどして、ダイナミクス精査を行った。

2. 研究成果

2-1. モデル化合物を利用した化学反応誘起型バーシングダイナミクスの時空間解析

化学反応性膜分子 A からなる GV に、A と同じ長さを持った別の両親媒性分子 B を外部から添加すると、GV 膜内部の疎水環境を利用して A と B が化学的に連結され、双頭極性型膜分子 T が生成する。T は、A の約二倍の長さを有するため二分子膜を貫通するように配置される。そのため、双頭極性型分子 T は、二分子膜内部での濃度の高まりに伴い、他のサイトより剛直なドメインを形成し、ベシクルの球形構造を不安定化する分裂誘発物質として振る舞うと想定される。実際、A からなる入れ子状 GV の示す形態変化ダイナミクスを観測すると、B の添加後直後は大きな変化は見られないが、ある時点から突然にバーシングダイナミクスが生じる(図 1) [1]。

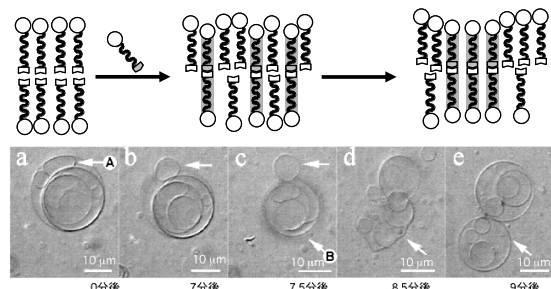


図1 双頭極性型分子 T 生成に伴うベシクルバーシングダイナミクス

このことは、反応の進行による T 濃度増加との関連性を強く示唆する。このバーシング機構を検証するのに必要なモデル膜分子を設計・合成し、ベシクル中のモデル分子含有量に対するベシクルサイズの変化を、動的散乱法による粒度分布測定により追跡した。その結果、ベシクル中のモデル分子の濃度が増加するにつれ、ベシクルのサイズ分布は半径の大きい側へとシフトするが、その量が 60% を越えると、ベシクルのサイズ分布は半径の小さい側へとシフトした。このことは、化学反応によって T が生じるにつれ、ベシクルが肥大し分裂する現象をよく説明する。

2-2. 自己複製ベシクルの集団解析と多重膜ベシクルの等分割モデル

脂質二重膜からなるベシクルが、外的刺激により繰り返しほぼ同じサイズのベシクルに分裂するダイナミクスを起こせば、ベシクルの自己生産といえる。しかし、外部からの膜分子補給が無い限り、ベシクルのサイズは次第に減少することになる。我々は、カチオン性の両親媒性分子からなる多重膜ベシクルに、膜分子の前駆体を取り込ませ、膜内の触媒の作用で

膜分子をベシク膜内で生産させることで、ベシクル型自己生産系を完成させた[2]。また、ベシクル集団（約 5×10^4 個）として、このダイナミクスをセルソータおよびフローサイトメータを用いたポピュレーション解析し、サイズがほぼ一定に保たれる仕組みを解明した[3,4]。また、神戸大学の梅田准教授は、膜弾性理論に基づく「多重膜ベシクルの等分割モデル」を構築し、その機構を考察している。

2-3. ベシクル型人工細胞—ベシクル内DNA複製とベシクル分裂の連動

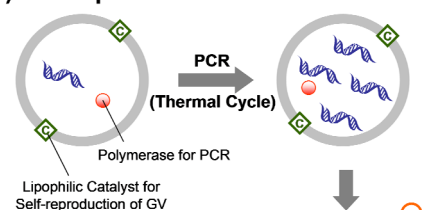
ベシクル内での DNA の自己複製が刺激となって、ベシクル膜の肥大・分裂が起これば、ソフトマターにより原始細胞モデルが構築されたこととなり、生命の起源を探る上でも重要な成果となる。我々は、上記のカチオン性膜分子を含む一定の膜組成からなるベシクルを用意し、内部に DNA 複製に必要な基質、DNA 合成酵素、プライマー、 Mg^{2+} をくるみ込み、そのベシクル分散液を熱サイクルにかけることで、ベシクル内部で DNA が増殖（DNA は熱サイクル 20 回で、平均 200 倍に増幅）することを、蛍光プローブで確認した（PCR 法）[5]。次いで、そのベシクルの分散液に膜分子前駆体を添加すると、内水相で DNA が増幅したベシクルは、V*添加直後から数分間に、複数のベシクルに分裂した。さらに、分裂後のベシクルの内水相が強い蛍光を放つことより、分裂前のベシクルの内部で増幅された DNA が、分裂したベシクルにも分配されていることも確認された。一方、内水相に少量の鋳型 DNA は含むが、PCR を行っていないベシクルは、同様の操作を行っても、殆ど分裂ダイナミクスを起こさない。さらに膜をローダミン修飾脂質で染色したベシクルを用いて PCR を行ない、熱サイクルの回数とベシクルの分裂頻度との間に強い相関があることが明らかになった。このことは、ベシクル分裂を引き起こす DNA の増加量に閾値があることを示唆している。[6]

ここで実現した人工細胞は、ベシクル分裂にタンパク質は係わっていないにもかかわらず、増幅した DNA と膜分子および膜分子前駆体の協同的ダイナミクスが、ベシクルの形態変化を誘発したことに注目したい。

<参考文献>

- 1) K. Takakura, T. Toyota, K. Yamada, M. Ishimaru, K. Yasuda, T. Sugawara, *Chem. Lett.*, 404-405 (2002),
- 2) K. Takakura, T. Sugawara, *Langmuir.*, 20, 3832-3834 (2004),
- 3) T. Toyota, K. Takakura, Y. Kageyama, K. Kurihara, N. Maru, K. Ohnuma, K. Kaneko, T. Sugawara, *Langmuir*, 24, 3037-3044, (2008),
- 4) K. Kurihara, K. Takakura, K. Suzuki, T. Toyota, T. Sugawara, *Soft Matter*, 6, 1888 (2010),
- 5) K. Shohda, M. Tamura, Y. Kageyama, K. Suzuki, A. Suyama, T. Sugawara, *Soft Matter*, in press (2011),
- 6) 菅原正, 化学で挑む生命の起源, 科学, 89(7) 712-720, 岩波書店, 2010

1) Self-replication of DNA



2) Self-reproduction of GV

