勝手に動く超分子システムをつくる - さらなる生物らしさをめざして -

東京医科歯科大学生体材料工学研究所
日本学術振興会特別研究員
野村 M. 慎一郎

1. はじめに

人が生き物を見て感じる「生物らしさ」には、死で終わるまで動き続けること、殖えることを基本に、治る / 進む / 逃げる / 迷う / 慣れるなどなどの動きが挙げられよう。エネルギーの出入りがある中で、これらの動きが勝手に生じる条件を自らつくる存在こそが生物であるとも言えよう。生物の基本単位は μm スケールの細胞である。細胞は脂質分子と膜タンパクとの超分子集合体^{*1}からなる膜によって自他を分離し、内封した遺伝子発現と酵素反応ネットワークに基づく外界とのクロストークの結果、我々に生物らしさを感じさせている。このような存在をつくりだそうとする人工細胞・人工生命への実験的アプローチは数多くあるが（最近では Deamer¹⁾, Szostak²⁾など）、本稿では「勝手に動く」ということを生物らしさの1つのキーワードとみなし、マイクロスケールで勝手に動く超分子システムをつくる試みについて紹介する。まず、脂質二分子膜製のチューブ構造が勝手に往復運動を繰り返す系について、次に、リボソーム^{*2}内で化学反応が勝手に進行する系を構築する試みについて述べる。

*1 超分子構造、すなわち非共有結合による多数の分子の自己組織体であるということは、構造が「勝手にできる」ということであり、構築に要するエネルギーのコストが小さくてすむ。

*2 リボソーム (liposome): 脂質二分子膜の閉じた球状小胞をさす。本稿では直径1-10 μm のものを細胞サイズとよぶ。

2. 勝手に往復運動をする脂質チューブ

細胞のような水溶液中の μm スケールの空間では慣性運動は生じない。よって、物体を動かし続けるためには常に力を加え続ける必要がある。そしてたとえば、エネルギー流の中で系の性質として常に平衡点を行き過ぎ、しかし平衡点へと引き戻される振る舞いを示せば連続した往復運動が生じるであろう。ここでは勝手に動くシステムの例として、筆者らの実現した、脂質二分子膜からなるチューブ構造の往復運動を紹介する³⁾。膜の表面積が一定であると仮定すると、膜の等方的張力 F は温度変化 dT に対し $dF = -KdT$ という応答を示す(K は張力に関する正の定数⁴⁾)、つまり、温まると張力は小さくなる。系に与えるエネルギー源としては、赤外レーザートラップの焦点を中心に直径約1 μm の領域のみが局所加熱される現象を用いた。レーザー光学系の工夫により双安定な捕捉ポテンシャル場が焦点付近に形成される (Fig.1a)。焦点に捕捉された脂質チューブ構造は2つのうちいずれかの捕捉場に配向する。レーザーを連続照射する間、チューブが2つの捕捉場を秒のオーダーの時間スケールで往復する様子が観察された (Fig.1b)。この系では、チューブの直径以下の領域で不均一な温度場が形成されているため、同一膜上において局所的な張力の違いができ、チューブ全体が曲がることで別の捕捉場へと動いていると推察される (Fig.1c)。

この脂質チューブが示すメトロノーム様の往復振動実験では、超分子集合体の構造と物性、そして適切なエネルギーの注入・散逸、および、それに伴うフィードバックを利用することで、時間周期性のある「動き」が得られた。ほかの系でも、対象が動くための適切な条件・特性を読み切ることができれば「勝手に動く系」は同様に設計・制御できるであろう (同アイディアは単一荷電高分子の折りたたみ・解きほぐしの高次構造変化に対しても適用され実現された⁵⁾)。

3. 勝手に動く「可能性のある」リボソーム系

次に、物質透過を制限する膜で溶液空間を閉じた構造である細胞サイズのリボソームを動かす試みについて述べる。まずリボソームが提供する μm スケールの内部空間の特徴をみよう。 μm スケールつまりfLオーダーの

Making of Supramolecular System for Autonomous Working

Shin-ichiro M. NOMURA

Department of Organic Materials, Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University

Fig.1 (a) Upper : Spatial distribution of the laser intensity at 10 μm from the focal plane. Lower : Schematic image of lipid tubule oscillation. The tubule oscillates between the two attractive potential wells created around the regions with maximum laser intensity. (b) Sequential images of lipid tubule oscillation at laser power of 50 mW. (c) Scheme of an optically trapped lipid tubule oscillation. (i) First, the tubule is trapped in either one of the potential wells. A "root" of the tubule is then locally heated. The resulting temperature gradient around the tubule loses tension (F) on the proximal side of the tubule. (ii)-(iii) The imbalance in tension between the proximal and distal sides drives the tubule toward the other side of the bistable potential. After transient swinging, the distal side cools down (iv), and the cycle repeats³⁾.

体積の溶液内では分子は単純拡散のみで激しく混合されるため、反応が拡散律速となることはない。また、表面積 / 体積比が大きくなり、表面の効果を無視できなくなる、すなわち膜表面近傍では不均一な反応が進行する可能性が大きい。その例として、脂質分子・脂質膜の共存下において、変性したタンパク質の天然状態への折りたたみと膜への取り込みが促進されるという報告がある⁶⁾。これらの特徴から、リボソーム内で行われる溶液実験系は、ガラスの試験管で行われる実験系とは異なる、しかし興味深い結果をもたらすことが想像できる。このようなリボソームを「勝手に動く」系とするには、特異な分子の膜を介した物質の注入・放出によるエネルギー流が必要である。その上で、リボソーム内水相の化学反応系が動くことと、脂質膜自体が動くことが生物らしさを醸す上で外すことのできない車の両輪となるだろう。

まず、生物らしく動く溶液化学反応系として、巨視系での事例をみてみよう。時間周期性を示す化学反応の例としてBZ (Belousov-Zhabotinsky) 反応が有名である。この反応では溶液内の酸化還元電位が周期的に変化し、混ぜておくだけで「勝手に」時空間のパターンを生じる。最近、BZ 反応溶液に共存させた高分子の凝縮・

溶解が、反応に対応して周期的に変化する様子が観察されている⁷⁾。混ぜるだけで進行する生物らしい反応という意味で *in vitro* 酵素反応系を小サイズのリボソームで行う研究は多く、バクテリオロドプシンとATPaseの共存などさまざまな手法で実現されている (詳細はWaldeらの総説⁸⁾などを参照されたい)。問題となるのは細胞サイズの系でいかに反応系を動かし、その動きを測定するか? という点である。

細胞サイズのリボソームを含む溶液は、均一系ではなくなるために分光光度計などで平均値を求める定量手法が非常に使いづらく欠点がある。これを補うためには、細胞のふるまいを追う場合と同様に、顕微鏡による直接観察手法が望ましい。近年、光学顕微鏡により細胞サイズのリボソームのダイナミックな構造変化が確認されてきている⁹⁾。特にリボソーム内に封入した溶液の時間発展性に注目すると、反応のわずかな進行をも確認できる技術が必要となる。筆者らは、細胞サイズリボソームの形成法と光学顕微鏡による単一分子観察の手法を改良することで、生体高分子を内封した細胞サイズリボソームの形成および内封された長鎖DNA分子の高次構造の実時間直接観察法を確立してきている¹⁰⁾。さらに、DNA からRNA への転写反応の進行を

Fig.2 Schematic illustration and experimental images of a giant liposome entrapping T7 DNA and the transcripts¹¹⁾. (a) Fluorescence images of DAPI on T7 DNA entrapped in the liposome. (b) Fluorescence images of BODIPY on RNA in the same liposome as a. Here, RNA transcripts are observed in the state of binding to T7 DNA.

リアルタイムに直接観察する手法を確立している¹¹⁾。Fig.2にその観察例を示す。リポソームに内封されているのは、蛍光色素DAPIにて染色されたDNA上で、RNA (蛍光標識されたUTPを含む) がRNAポリメラーゼによって合成される反応である。外部からのRNAse添加に対してもリポソーム内部のRNAの蛍光シグナルは安定であった。

最近ではリポソーム内での蛍光タンパク質 (green fluorescence protein) の合成も報告されている¹²⁾。筆者らも同様のデモ実験に成功しており、リポソーム内におけるRNAやタンパク質の合成に代表される低分子から高分子を形成する化学反応系では、高分子の折りたたみや高分子同士の結合による高次構造の形成を通じて (細胞同様に) リポソーム自体をダイナミックに動かすことが期待できる。実際、リポソーム内にてアクチンや微小管が重合する過程でリポソームが変形していく様子が観察されている^{13,14)}。一方、閉鎖空間に封入されたまま動き続ける化学反応系を考える場合、消費された基質を補充し、反応生成物を排出するからくりが必要となる。BZ反応ではCSTR (連続循環反応槽) としてこれが実現されており、外部からエネルギーの連続的な注入が行われている。リポソームの系ではエネルギーとなる分子としてATPなどの外部からの導入が求められるが、脂質二分子膜の物質透過能は特に親水性分子について悪く、たとえば膜を介したD-グルコ

ースの移送には内外に 10^8 倍以上の濃度差が必要となる。電荷をもつATPではさらに悪い。これを解決するためには、膜を動かすというアプローチとのカップリングが重要と考えられる。

リポソームは反応容器として安定なガラスや樹脂とは異なり、脂質分子同士の弱い非共有結合によって構成されている。よって、ほかの両親媒性分子の侵入過程やその分子形状に起因して、変形・破壊などといったかたちで容器自体に変化が生じ得る。これまでにリポソームの自己触媒的な増加¹⁵⁾、膜の間欠的な振動や小胞放出など^{16,17)}の興味深い動的構造変化が報告されてきている。また、最近筆者らのグループは、脳・神経細胞に特に多く存在している糖脂質の一種であるガングリオシドを細胞サイズリポソームに添加することで安定なチューブ・リポソームネットワーク構造が誘起されることを明らかにした¹⁸⁾。分子の可逆的な流入・流出過程など外部の制御系を工夫し、フィードバックを導入する (困難であろうが) ことで膜は変化し動き続けるであろう。そして、前出のリポソーム内での化学反応系より両親媒性分子や膜タンパクが生成されると、その結果膜のダイナミックな構造変化が生じてサイトシス的な物質輸送や物質透過能を上昇させ、膜を介したエネルギー流を生じる...という展開も考えられる。

4. 展望

現状では、 μm スケールの勝手に動くシステムはまだデモンストレーションの粋を出ないように思える。しかし、少しずつ生物「らしさ」を実現していく点に意味があると筆者は考えている。それは現実にある要素・ふるまいを1つ1つヒトの制御下におき、理解することにつながる。その上で、「勝手にできる」超分子系の制御とは量の変化により現れる質の違いを活用するものであり、生物の用いる戦略をヒトが使えるようにするという意義がある。ここで述べた「動く」システムはまだ外から「動かされ」ている性格が強い。リポソーム内の化学反応系がエネルギーを取り込み、分子レベルのフィードバックをもち、反応を制御する中で系全体が時間発展をするようになるのはまだ先の話であるが、その研究の先には医療に役立つ人工細胞や、新たな知的エンタテインメントが待っているかもしれない。

謝 辞

本稿に紹介した研究は京都大学大学院理学研究科吉川研究室とフランス Louis Pasteur 大学の Ourisson & Nakatani 研究室、そして東京医科歯科大学生体材料工学研究所秋吉研究室との共同の仕事であり、本文に引用し

た原報^{3), 10), 11), 18)}の共著者に厚く感謝します。また平成13年度～14年度日本学術振興会特別研究員(No.03257)としてサポートをいただいたものであり、厚く感謝します。

文 献

(入門向け)

- 滝口金吾(2000)シリーズ・ニューバイオフィジックス II-5「細胞のかたちと運動」(日本生物物理学会 編) pp.47-63, 共立出版, 東京.
- 1) Pohorille, A. and Deamer, D. (2002) *TRENDS in Biotechnology* **20**, 123-128.
 - 2) Szostak, J. W. *et al.* (2001) *Nature* **409**, 387-390.
 - 3) Nomura, S.-i. M. *et al.* (2001) *Phys. Rev. Lett.* **88**, 93903.
 - 4) Cevc, G. and Marsh, D. (1987) *Phospholipid Bilayers*, pp.361-364, John Wiley & Sons, Tronto.
 - 5) Mayama, H. *et al.* (2000) *Chem. Phys. Lett.* **330**, 361-367.
 - 6) Bogdanov, M. and Dowhan, W. (1999) *J. Biol. Chem.* **274**, 36827-36830.

- 7) Yoshida, R. *et al.* (2002) *J. Am. Chem. Soc.* **124**, 8095-8098.
- 8) Walde, P. and Ichikawa, S. (2001) *Biomol. Eng.* **18**, 143-177.
- 9) Hotani, H. *et al.* (1999) *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **4**, 358-368.
- 10) Nomura, S.-i. M. *et al.* (2001) *CHEMBIOCHEM* **6**, 457-459.
- 11) Tsumoto, K. *et al.* (2001) *Langmuir* **17**, 7225-7228.
- 12) Yu, W. *et al.* (2001) *J. Biosci. Bioeng.* **92**, 590-593.
- 13) Kaneko, T. *et al.* (1998) *J. Mol. Biol.* **284**, 1671-1681.
- 14) Miyata, H. and Hotani, H. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89**, 11547-11551.
- 15) Wick, R. *et al.* (1995) *J. Am. Chem. Soc.* **117**, 1435-1436.
- 16) Saitoh, A. *et al.* (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **95**, 1026-1031.
- 17) Nomura, F. *et al.* (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**, 2340-2345.
- 18) Akiyoshi, K. *et al.* (2003) *FEBS lett.* **534**, 33-38.

野村 M. 慎一郎 (のむら しんいちろう)
 東京医科歯科大学学生体材料工学研究所, 日本学術振興会特別研究員
 連絡先: 〒101-0062 東京都千代田区神田駿河台2-3-10
 E-mail: nomura@exp.design.co.jp