

## 論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 栗原 顕輔

### 序

生命システムを構成的に理解するアプローチの中でも、人工細胞モデルの構築は、生命の本質に迫るものとして注目が集まっている。栗原氏の博士論文は、両親媒性分子が水中で形成する、細胞とほぼ同じサイズのベシクルという構造体を用いて、ベシクル内部での情報分子 (DNA/RNA) の自己複製と、ベシクルそのものの自己生産が連動する人工細胞モデルの構築を目指したものである。

### 論文の概要

第一章では、本研究の背景、目的とその意義について述べている。第二章では、DNAの複製が起こりうる高電解質水溶液中で、自己生産が可能なベシクル系の構築とその自己生産ダイナミクスの集団解析について述べている。水素結合によるDNAの相互認識が水中で行われるには、高電解質溶液である必要があるが、その条件はベシクル形成には不利であり、両親媒性分子は不定形な凝集体を形成し易い。栗原君はこの問題を、疎水性の大きな膜分子と触媒分子を合成し、それらを用いたベシクル系を用いることで克服し、膜分子前駆体の添加により、ベシクルの自己生産が起こることを顕微鏡観察で明らかにした。さらに、フローサイトメトリーにより、数万の個数のベシクル集団を対象とした自己生産ダイナミクスの集団解析を行い、第二世代以降の集団をサイズごとに分け取り、その部分集団の自己生産プロセスを精査することで、自己生産ダイナミクスに及ぼすベシクルのサイズ効果を明らかにした。また、ベシクル集団が3, 4回の自己生産を行なった後も、ベシクル集団のサイズ分布がほぼ一定に保たれる原因を解明する上で貴重な知見を得ている。

第三章で栗原君は、ベシクル自己生産ベシクル内部でDNA複製を行うための条件を考慮し、二種のリン脂質 (双性イオンPOPCとアニオン性リン脂質POPG) とベシクル再生産ダイナミクスに必要なカチオン性膜分子からなるハイブリッドな膜を用意した。このベシクル分散液に2段階からなる温度昇降プロセスを20回行ったところ、二本鎖DNAが約数十倍に増幅することを、蛍光プローブを用いることで明らかにした。また、増幅した二本鎖DNAが鋳型DNAと同じ鎖長を持つことは、ゲル電気泳動により確認している。

ついで、PCR後のベシクルに、膜分子の前駆体分子を添加したところ、内水相でDNAが増幅したベシクルのみが、約10分の間に選択的に数個のベシクルに分裂すること、さらに、蛍光顕微鏡による観察より、分裂前のベシクルの内水相に含まれていたDNAが、新たに分裂したベシクルにきちんと分配されていることを見出した。この結果は、ベシクル内部のDNAの存在が、ベシクル分裂ダイナミクスの進行を速めたことを意味している。本成

果は、RNA ワールドを構成する情報伝達分子の増幅と、リピッドワールドに関連する膜分子生産反応のダイナミクスが連動する人工細胞モデルが誕生したことを述べている。

## 審査結果

この発表を受け審査会では、以下のような質疑討論を行なった。

第二章の研究成果を基に、大きな障壁があると思われる挑戦的テーマに挑戦し、よく吟味したな実験条件を設定して優れた成果を挙げた点が高く評価された。特に、自己生産ベシクルの内部で DNA の複製系を実現するには、1) 内部に DNA の複製に必要な化学物質を、全てくるみ込めるような中空ベシクルの高電解質水溶液中での作製、2) 可能な限り物理化学的に複製を実現するに当たり、二本鎖 DNA を熱的に解くため必要とされるベシクル形状の熱耐性 (約 95℃)、3) ポリアニオンである DNA と、膜複製に必要とされるカチオン性膜分子を含むベシクル膜との微妙な相互作用の導入、が満たされなければならず、その条件をクリアする膜成分を見出したことは申請者としての高い能力を示すものといえる。

前向きコメントとして、膜分子前駆体を添加した時、ベシクル内部で DNA の増殖が起こっているベシクルのみが迅速な分裂 (自己生産ダイナミクス) を起こす実験結果は重要である。その際、1) ベシクル内の DNA 量にダイナミクスを誘発する閾値があるのはいか。2) ベシクルが内部の DNA の情報 (遺伝子型: ジェノタイプ) を読み、それがダイナミクスあるいは形態 (形態型: フェノタイプ) に反映されるようになれば、進化の可能性を内包した人工細胞へと展開することも可能となろう。3) このモデルでは、分裂したあとにさらに何代にもわたり自己生産を続けていくための仕組みはないが、今後、分子輸送システムを組み込むことで、世代にまたがり連携のある分裂が行われるようになろう。とのコメントがあった。

論文の記述に対して、DNA 増殖ベシクルに膜前駆体添加で迅速に分裂する機構についてより明快な記述や、上記にダイナミクスに関し対照実験結果があれば本文に明記して欲しいとの要望があり、その後すでに改訂がなされている。

栗原君の博士論文は、昨年度ノーベル化学賞を受賞した Szostak、生命に起源を化学的に解明する研究の先駆者である Luisi および Partel が、2001 年に、細胞の最も本質的な三要素として、内部の反応系を外部の反応系と仕切るコンパートメント (膜)、内部の代謝反応に不可欠な触媒 (酵素)、細胞の個性を子孫に伝える情報物質 (RNA, DNA) を挙げ、そこには、情報物質 (RNA, DNA) の複製と膜の自己生産という二つのダイナミクスが連動することが、細胞としての最小限の要件であるとの論文を発表している。その後様々な試みがあったがまだ、十分な系が提示されていなかった中であって、待望久しかった Szostak らの提唱した膜分子再生産と DNA 複製が連動するベシクル型人工細胞モデルを実現したものであり、関連分野のマイルストーンとなる成果として、高く評価された。

## 結び

論文の公表状況であるが、今研究の第 2 章に記述されているフローサイトメトリーによるジャイアントベシクルの集団解析に関しては、(申請者が筆頭著者でないため) 参考論文であるが、すでに膜物性の専門誌 *Langmuir* に掲載されている。また、本論文の 2 章の内容は *Soft Matter* に投稿し受理された。第 3 章の内容は、閲覧率の高い一般誌 *Angewandte Chemie* に投稿し高い評価を得たが、一部考察を追加するようにとのコメントがあり、改訂稿を準備中であり、近々再投稿できると考えている。それぞれ共著者との共同研究であるが、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

よって、本論文は博士(学術)の学位申請論文として合格と認められる。