

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔令和4（2022）年度 中間評価用〕

令和4年3月31日現在

研究期間：2020年度～2024年度
課題番号：20H05701
研究課題名：プログラム可能な動的微粒子群「オートマター」の創成と展開

研究代表者氏名（ローマ字）：野村慎一郎（NOMURA Shin-ichiro）
所属研究機関・部局・職：東北大学大学院・工学研究科ロボティクス専攻・准教授
研究者番号：50372446

研究の概要

本課題では、プログラム通りに自動的に活動し物質生産する人工細胞群を「オートマター」と呼び、その実現を目指す。そこで不可欠となる動作制御のために、分子制御、電子制御とそのインタフェースを開発し、人間のプログラムに従うよう設計を行う。分子分解能での設計からマクロな仕事を実現するために、大量の人工細胞を群れとして協調動作させるためのメカニズムと原理を探求する。

研究分野：人工細胞工学、合成生物学

キーワード：オートマター、人工細胞、自己複製、大量生産、電子-分子インタフェース

1. 研究開始当初の背景

人工細胞構築の研究は、生命は物質からいかに誕生しうるのか、という謎に実証例を与えることと、生物に学んだ新しい物質生産システムの基盤となるキーテクノロジーとして近年非常に注目を集めている。これまで人間社会を豊かにしてきた物質工学の分野において、細胞に匹敵するような、望まれる物質・構造を生産し続ける分子システムは実現されていない。生物の限界を超えたものづくりのためには、合成生物学やゲノム編集生物が実施する天然物の改造のみならず、ボトムアップ式の分子システム設計が必要となる。代表者・野村はこれまでに、遺伝子を発現する人工細胞を創出（*ChemBioChem*, 2002）し、人工細胞から生細胞へと分子を交換可能であることを示した（*Biomaterials*, 2009）。さらに外部刺激により運動モードをスイッチング可能な世界発の人工細胞型分子ロボットを発表（*Science Robotics*, 2017）し、人工細胞を制御する課題に分子分解能から挑戦を続けている。そして本課題では人工多細胞体に注目し、プログラム通りに自動的に活動し物質生産する「オートマター」の実現を目指す。物質科学と生命現象との融合領域における人工物を情報化して制御する新たな技術基盤に挑む。

2. 研究の目的

本研究計画では、プログラム可能な自動微粒子群・オートマターの実現に向けた要素技術の開発と統合を目的とする。人工細胞の大量生産制御技術が発展し、物質科学・生命科学・情報科学分野へと展開できるものと期待される。本課題の要素技術として4つのサブテーマ1) 自己複製能、2) 分子制御、3) 自動大量生産、4) 電子制御-分子インタフェースの実現を目指す。

3. 研究の方法

下記4つのサブテーマを推進し、要素技術を統合してオートマターのプロトタイプ構築を目指す。
【サブテーマ1：自己複製溶液】人工細胞構造の複製に向けて、100種類程度のタンパク質のPURE同時発現系の構築を目指す。特に、タンパク質翻訳酵素・リボソームの自己組織的再構成の実現に注力する。
【サブテーマ2：分子制御】プログラム可能性を実現するために、物質生産および複製反応を行う人工細胞の内部状態の変化を、時間的・空間的に制御する分子システムの開発を行う。分担者・大野らの開発したタンパク質応答型とmiRNA応答型のスイッチを人工細胞用に改良し、特定の遺伝子発現のON/OFFを分子回路で自在にスイッチするシステムを構築する。
【サブテーマ3：自動量産技術】天然細胞の増殖と同等以上の生産速度を目指して、オートマターユニット・人工細胞の生成技術を確認する。細胞膜の原料となる脂質分子と内包溶液とを供給することで持続的に人工多細胞構造を出力し続けるジェネレータを構築する。
【サブテーマ4：電子制御-分子インタフェース】人工細胞の外部制御のために、電子信号と分子信号を接続するインタフェースを研究する。内外分子通信と生産プログラムの両面での制御を人工細胞ユニット単位で実現することを目指す。
以上4つの課題を達成し、これらを統合することで、プログラム通りに自動的に活動し物質生産する人工細胞群「オートマター」の実現を目指す。

4. これまでの成果

2022年3月末までに行われた研究経過について、4つのサブテーマとその統合についての進捗を述べる。
【サブテーマ1：自己複製溶液】自己複製溶液の構築を行うためには、3種類のリボソームRNA（rRNA）および54種類のリボソームタンパク質からなる巨大複合体のリボソームが、生理的条件下において自己組織化される条件を見出す必要がある。分担者の清水らは、生理的条件下におけるリボソーム小サブユニットの自己組織化条件について既に報告しており、本課題では大サブユニットの自己組織化の検討を行った結果、天然型のrRNAおよび人工タンパク質として個々に調製したリボソームタンパク質からタンパク質

合成活性を持つリボソーム大サブユニットを世界で初めて自己組織化させることに成功した(論文1)。この研究では、下條らの成果との融合にも成功しており、54種類全てのリボソームタンパク質を人工タンパク質として用いた活性のあるリボソームの構成についても世界で初めて行っている。また、リボソームの自己組織化を定量的に検出可能な方法論の構築を行っており、質量分析による定量プロテオミクスの方法を新たに開発し、論文発表を行っている(論文2)。

【サブテーマ2: 分子制御】人工細胞の時間制御システムとして、特定の分子を検出し、任意の生体分子発現という出力に変換できるシステムを構築し、空間制御システムとしては、RNAを分子足場として特定の入力分子に応じた人工細胞内分子の空間配置制御を行うことを目指す。入力分子特異的な分子足場の形状変化を実現するため、リボスイッチやタンパク質結合RNAモチーフを組み込み、特定の入力分子によって形状変化を制御できる構造体の構築に成功した(未発表)。この構造体を足場として利用することで、特定の分子を入力として、任意の機能性タンパク質の集合状態を変化させるシステムが構築できると期待される。

【サブテーマ3: 自動量産技術】オートマターのボディである人工多細胞の生成技術の確立を目指している。本課題開始以前に野村グループで見出した技術の、疎水化高分子多孔質に脂質と人工細胞内容液を浸して絞ることで、人工細胞を大量生産する手法が基礎となっている。本課題では、より嵩高い疎水基を有する脂質分子を共存させることで人工多細胞構造が簡便かつ大量に得られること、さらにその調製操作が自動化できることを示した(論文3)。この手法で得られる人工多細胞体は全長がmm以上におよぶ。さらに、多細胞体同士の相互作用に向けてDNAオリガミナノポアを設計・構築し報告した(論文4)。

【サブテーマ4: 電子制御-分子インタフェース】オートマターの回路となる分子システムの外部操作可能性を求めて、瀧ノ上グループでは核酸を材料とした操作可能な機構を構築している(論文5)。本課題では光の波長に応じて立体構造を変えるアゾベンゼンをモチーフ間の結合部位(粘着末端)に挿入することで、光応答性DNA液滴を開発した。UV照射によりゲルから液相、分散相に相転移し、可視光(Vis)の照射で再び分散相から液相に可逆的に相転移することが確認された。さらに、光応答性の有無を異にするモチーフを組み合わせることで、異なる相変化の共存により界面由来の流体力学的挙動を実現した。これらの結果は、人工細胞の種々の機能を実現する反応場(人工オルガネラ)を外部制御可能にする重要な成果である。

5. 今後の計画

下記4つのサブテーマについて研究を進め、その成果の統合を目指す。

【サブテーマ1】引き続き、人工的に調製した構成要素によってリボソームの自己組織化に注力し、自己複製溶液の構築を目指す。またサブテーマ2~4との連携による人工細胞への組み込み研究を進め、オートマターへの実装を目指す。

【サブテーマ2】これまでに構築した分子制御システムを発展させ、自律的な遺伝子発現周期を有するシステム、およびその外来分子による制御機構を開発する。それらをPURE system複製系とリンクさせ、人工細胞を単位とした自己複製の制御を目指す。

【サブテーマ3】人工多細胞体の自動調製システムと、コンパートメント間相互作用/内外情報伝達システムの実現に注力する。自動調整システムをロボット操作で実現し、多岐にわたる条件検討を効率よく行う。

【サブテーマ4】外部制御可能な分子デバイスとして、光応答性核酸液滴の開発を進める。DNA液滴の単分散生成手法の確立を目指し、オートマターに応用できる新しいDNA液滴の開発に取り組む。

以上のサブテーマを各チームで進めることに加えて、テーマ間の連携を深める。分子的・外的な制御と、人工多細胞体内部での機能評価を進める予定である。

6. これまでの発表論文等(受賞等も含む)

1. Aoyama, R., Masuda, K., Shimojo, M., Kanamori, T., Ueda, T., *[Shimizu, Y.](#) (2022) In vitro reconstitution of the *Escherichia coli* 70S ribosome with a full set of recombinant ribosomal proteins. *J. Biochem.* **171**: 227-237.
2. Masuda, K., Kasahara, K., Narumi, R., Shimojo, M., *[Shimizu, Y.](#) (2021) Versatile and multiplexed mass spectrometry-based absolute quantification with cell-free-synthesized internal standard peptides. *J. Proteomics* **251**: 104393.
3. *[Nomura, S.-i. M.](#), Shimizu, R., Archer R. J., Hayase, G., Toyota, T., Mayne, R., Adamatzky, A. (2022) Spontaneous and driven growth of multicellular lipid compartments to millimeter size from porous polymer structures. *ChemSystemsChem* **Just accepted**. DOI: 10.1002/syst.202200006
4. Iwabuchi, S., Kawamata, I., Murata, S., *[Shin-ichiro, M. N.](#) (2021). A large, square-shaped, DNA origami nanopore with sealing function on a giant vesicle membrane. *Chemical Communications*, 57(24), 2990-2993.(Open Access)
5. *[Sato, Y.](#), *[Takinoue, M.](#) (2022) Capsule-like DNA hydrogels with patterns formed by lateral phase separation of DNA nanostructures, *JACS Au*, Vol.2, pp.159-168.

他論文・著書 15 件、招待講演 5 件、学会発表 32 件。

7. ホームページ等

作成中。暫定的に代表者・野村の Web ページ (<https://sites.google.com/site/smnomuralaboratory/lab-outline-in-english>) で紹介。