

## 液－液相分離と生命の起源

Tony Z. Jia<sup>1,2\*</sup>・藤島 皓介<sup>3,4</sup>・丹羽 達也<sup>5</sup>

## はじめに

生命は、自身を維持するために必要な化学反応を起こすための場として細胞という構造単位を持つ。細胞自身も、さまざまな生体高分子が自己組織的に集合することで構成された、より小さな構造体であるオルガネラ（細胞内小器官）からできており、それぞれのオルガネラが特定の機能を担うことで維持されている。

細胞そのものの本質についてはさまざまな議論が行われている。細胞とは通常、リン脂質に代表される膜を伴いつつも、さまざまな分子を外界とやり取りする非平衡状態の開放系であり、内在する遺伝情報物質であるDNAを複製し、分裂増殖をおこない、外界からエネルギーを取り込んで光合成やクエン酸回路に代表される、さまざまなエネルギー代謝反応ネットワークの駆動・制御系でもある<sup>1)</sup>。

一方で、細胞は生命にとっての基本構成単位ではあるが、近年の研究では教科書に書かれた“細胞”の定義を必ずしも満たさない場合でも細胞として捉える例が増えてきている。たとえば人工細胞の研究においては、合成生物学的な手法で再構成された膜系が上記にあげた細胞としての特徴の一つないし複数備えていることを示した報告例がある<sup>2-6)</sup>。中には、現存の生物が利用したことのない分子を用いたケースもあることから<sup>7-9)</sup>、我々の細胞に対する認識とその再定義が求められつつある。

教科書上の細胞の定義は、特に初期の生命（プロトセルとも呼ばれる）がどのように原始地球において生じ、現在見られるような細胞になったのかのプロセスを考察するための概念として重要である。なぜなら細胞の起源は生物における未解決問題の一つである「生命の起源」問題とも密接に関わっているからである。我々が教科書で定義している細胞<sup>10)</sup>（触媒能を有するタンパク質群、遺伝情報を格納した核酸、代謝に必要な有機物、これらを包むリン脂質二重膜）に基づいて原始細胞をモデル化する場合、各々の機能に対応する前生物的にアクセス可能な分子群を介して構築することになる。本稿では、このような既存の生命に関連する分子に基づいた系を構築する試みをトップダウン的アプローチと定義し、逆に地球化学的な反応によっ

て生命誕生以前の地球において存在が仮定されている有機分子や化学合成によってのみ手に入る分子群に基づいた系を構築する試みをボトムアップ的アプローチと定義する。したがって、ボトムアップはトップダウンに比べると生物学的な分子に偏っていない分、まったく新しい自己組織的な構造体が生まれる可能性を含んでいる。

そのようなトップダウン的アプローチとして、これまでに原始細胞の様相を再現したモデル系として単純な脂肪酸（または脂肪族アルコール類）の脂質二重層から構築されたカプセルの中に初期の遺伝物質としてのRNA<sup>11)</sup>および原始的な触媒分子としてのペプチド<sup>12)</sup>を含んだ細胞の再構成が考案されてきた。具体例として、細胞の成長<sup>13,14)</sup>、複製<sup>15)</sup>、および細胞分裂<sup>16,17)</sup>など実際の細胞に見られる挙動を有する原始細胞の実験室内シミュレーションに関してはすでに報告がある。しかしこれらの生体関連分子が初期地球のどういった環境において優先的、継続的に合成・維持され、初期の細胞への進化を促したのかに関しては、ここ最近の研究の進展にも関わらず<sup>18-22)</sup>、未だに確固たる共通仮説は見いだせていない。特に原始地球環境では、さまざまな代謝に関わる低分子有機物から生体関連高分子の前駆体まで、さまざまな化合物が非生物学的な分子と混ざった状態で存在していることが知られているからである<sup>23,24)</sup>。

したがって現状、原始のスープから細胞までの道筋が明確に示されていない以上、現代の生物学に基づいた細胞の固定観念による地球初期の原始細胞モデルをリポソームやベシクルなどを用いたトップダウン的なアプローチで再現するよりも、部分的であっても「細胞のような挙動」を示す原始的な区画化とその機能を研究する方が合理的かもしれない。特に区画化という特徴は前生物学的な研究において重要なものであり、区画化が分子の濃縮<sup>25,26)</sup>、反応後産物の分離<sup>27)</sup>、分解から防ぎ保護効果<sup>28)</sup>、さらには複製能を持つRNA分子がパラサイトRNAに負けずに進化するうえで重要な役割を担った<sup>29)</sup>という研究報告例が知られている。

またそれ以外にも区画化が備えている特徴として、特定の基質を取り込み、内部で反応を進行させながらも、副産物を外に逃がすといった基質選択的の反応場としての

著者紹介 <sup>1</sup>東京工業大学地球生命研究所（特任助教） E-mail: tzjia@elsi.jp

<sup>2</sup>Blue Marble Space Institute of Science, USA. <sup>3</sup>東京工業大学地球生命研究所（特任准教授）

<sup>4</sup>慶應義塾大学政策・メディア研究科（特任准教授）、<sup>5</sup>東京工業大学科学技術創成研究院（助教）

役割が期待できることがあげられる<sup>30)</sup>。たとえば、脂肪酸の膜を持つベシクル系はプロトセルとして核酸や低分子有機化合物に対する透過性を示すことが知られている<sup>31-33)</sup>。一方で、これらの脂肪酸の膜の非生物的な合成経路がわからないことが問題として残っている。

ここで生体関連分子であり、初期地球においても比較的単純に合成可能で、かつ細胞の持つ機能を再現するための区画化を実験室内で実現可能な系としてポリマーに基づいた液-液相分離があげられる<sup>25,27,34-36)</sup>。

液-液相分離現象の例として、ポリマーが水溶液中でエネルギー的に安定な状態をとる(エントロピー効果や水素結合などによる)<sup>37)</sup>ことで溶液内に共在する形で液滴を形成することが知られている。この時、ポリマー同士は共有結合で結ばれておらず<sup>38)</sup>、異なる性質、あるいは長さの集合体として共在することが可能であり、初期地球における環境に近い条件でも同様の現象が観察されることが期待されている。

本稿の目的は、生命の起源と液-液相分離現象の関連性について述べることであるが、(他の章にも書かれているとおり)液-液相分離自体がさまざまな生物学的プロセスに広く関係する概念であり、細胞内で膜を持たない区画として分子の分離および区画化を引き起こす重要なものであることから<sup>39-41)</sup>、液-液相分離が生物にとって最初期から普遍的かつ重要だった可能性が考えられる。そこで本稿では試験管内で再現された原始的な液-液相分離系の事例をその構成要素や構造、機能に関して紹介するとともに、細胞の起源の解明につながるような大きな命題に関して議論したい。

### 水性2相系

水性2相系とは1種以上のポリマーを含む液-液相分離系を意味しており、さまざまな工学的、生物工学的な応用例がこれまでに知られている。代表例として、高濃度のポリエチレングリコール(PEG)と多糖類であるデキストランからなる水性2相系はタンパク質<sup>42)</sup>、さらにマクロスケールではオルガネラや細胞<sup>43,44)</sup>の区画化の制御にも用いられている。

水性2相系はそれを構成するポリマーの濃度依存的に2相に分離する性質を持っており、濃度が高ければ高いほど、その相分離の度合いも顕著となる。また、温度やその他のパラメーターにも影響を受けることが知られている<sup>25,42,45)</sup>。

それぞれのポリマーを含む溶液が混ざった後に攪拌されると(初期地球環境ではたとえば風、潮の満ち引き、地上や深海の熱水循環系によって引き起こされると想

定<sup>46)</sup>、二つの相が極性の違いによって膜を持たない液滴に分離する。PEG/デキストラン系の場合、バルクのPEGに富む相内にデキストランに富む液滴が形成され、そのサイズは数十ミクロンまで到達する<sup>25)</sup>。やがて液滴同士が互いに合体を繰り返しながら時間経過とともに二つの相に完全に分離し、液滴のない、上相と下相に別れた状態になる。

液滴の自発的な形成機構を理解するために、近年の生命の起源の研究では前生物的な系が持ちうる機能に関して注目が集まっている。たとえば、原始的な生体高分子やその前駆体とされる核酸(RNA)<sup>47)</sup>やアミノ酸やペプチド<sup>48)</sup>なども水性2相系の液滴に相分離することが示されており、その液滴内部での濃度が周辺の溶媒よりも増加していることから、分子の非平衡状態に伴う特定の化学反応を誘引することが期待できる。興味深いことに、液滴間で物質を交換することも可能なことから、初期の前生物学的な系においても液滴組成の違いに応じて栄養源となる代謝物あるいは核酸やアミノ酸に代表される遺伝情報や触媒分子の部品を交換することができたかもしれない。

このような液滴はさらに脂質二重膜でコーティングされることで区画化能を強化することも可能であり、内部に異なる相を持つ、多様で原始的な細胞様構造を試験管内で再構築した例も存在する<sup>47)</sup>。また、脂質膜成分の前生物学的な起源が定かではない中、水性2相系の液滴が粘土鉱物を外側の淵の部分に集めることができることが示された<sup>49)</sup>。これは相の界面が固体粒子によって安定化するピカリングエマルション<sup>50)</sup>によく似た現象で、初期の原始ポリマーの重合反応や自己組織化を促進するうえでの足場となる鉱物と区画化が共在可能であることを示す(図1)。さらに表面の固体粒子の層は液滴の合体を防ぎ、各液滴の個体としての形質が維持される<sup>51)</sup>ことから、このような層の形成が液滴内での原始複製ポリマーの選択的進化に重要な特性であると考えられている<sup>29)</sup>。

PEGやデキストラン、さらにこれまで主に水性2相系に用いられてきたポリマー自体は前生物的に妥当ではないかもしれないが、それでもこの相分離系の特性を研究するために有効なモデルであると言える。膜のない液滴は、地球初期において実現可能な単純な物理化学的プロセスと、水中油滴または油中水滴などの関連した系(これらもポリマーによる水性2相系に類似している)によって構築可能であり、生命の起源の原始区画としての重要性を示唆している。したがって、これらの系は今後も原始的な区画化の構造や機能を研究するうえでのモデル系として、その利用が期待されている。

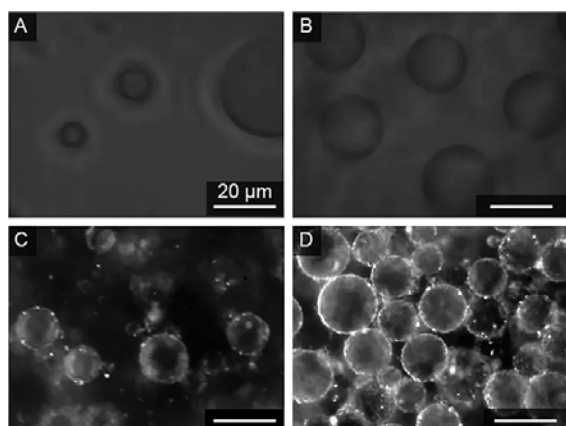


図1. PEG/デキストラン系における相分離した液滴. 粘土鉱物を加える前 (A, B) と後 (C, D) を示す. 粘土鉱物は2種類 kaolinite (C) と illite (D) を実験で試した. 粘土鉱物の粒子 (顕微鏡下で明るく光っている粒) がPEGに富む液滴の周りに吸着している様子が確認できる. 本画像の転載に関して文献49の著者より承諾済 (クリエイティブ・コモンズ・ライセンス).

### コアセルベート液滴

二つ目の液-液相分離現象の例として, コアセルベート液滴があげられる. コアセルベート液滴は本質的には水性2相系に似ているが, たとえば, 負に帯電しているATPと正に帯電しているポリリジンといった組合せのように, 逆の電荷を持つ分子間の相互作用から形成されるものを指すことから<sup>52)</sup>, 定義上コアセルベートは水性2相系とは異なる系である (図2). 相分離は分子間における結合時の溶媒和エネルギーのシフトによって生じる不混和性に起因し<sup>53)</sup>, pHや塩濃度, ポリマーの長さや濃度などさまざまなパラメーターに依存する<sup>54)</sup>. 水性2相系と同様に初期地球における攪拌プロセスによって, 高濃度に濃縮されたイオン性分子からなるコアセルベート液滴とそれ以外のバルクの水相に相分離することが知られている.

最近のトップダウン的な生物学において, 液-液相分離によって生じるコアセルベート液滴が細胞内で生じていることが明らかになりつつある. たとえば, プロテアミン<sup>56,57)</sup>, RNA顆粒<sup>58)</sup>, クロマチン<sup>59)</sup>, および核小体<sup>60)</sup>はすべて現代の細胞コアセルベートの例であり, その一部はヒト疾患とも密接に関与している<sup>61)</sup>. 同様に, *in vitro*でこれまでに構築されたコアセルベート液滴の種類も多様でその一部は構造的にも複雑であることが知られている<sup>62,63)</sup>. 特に, 構成要素であるDNA<sup>64)</sup>やRNA<sup>65-67)</sup>, 液晶, さらにはタンパク質<sup>68)</sup>などの重要な生体関連高分子を分離および区画化できると同時に脂質膜が濃集するための足場となることも知られている<sup>69)</sup>.

コアセルベート液滴は, 脂肪酸の膜に比べて低分子の

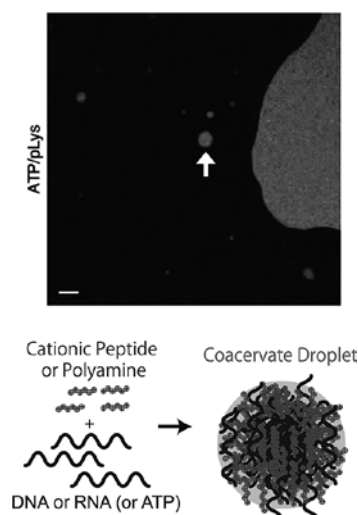


図2. ATPに代表される負電荷を帯びた核酸と正電荷を持つカチオンペプチド (ポリリジン; pLys) によるコアセルベート液滴形成. 白い線は10 μm. 上の図の転載に関して文献47の著者より承諾済 (クリエイティブ・コモンズ・ライセンス). 下の図は文献55の著者より承諾済 (クリエイティブ・コモンズ・ライセンス).

化合物の透過性が高く, モノヌクレオチドや短鎖ペプチドなどの比較的単純な分子から形成可能で, 脂肪酸の必要性が排除できる<sup>70)</sup>. この化合物の透過性は生命の起源の初期において重要な形質だと考えられていることから, 単純な生体関連分子からなるコアセルベート液滴は, 分子選択性が高い区画構造と比較して, より多様な化学進化の道筋を探索できたと考える.

ここに示したコアセルベートの例は, 主にペプチド-ペプチド, ペプチド-ヌクレオチド, ペプチド-RNA/DNA, さらにはポリアミン-ヌクレオチドといった生体高分子および単分子間における相互作用によって成り立っている. これらの高分子の中には, たとえば核酸のポリマーなど前生物的にその存在を仮定するのが難しい分子も含まれているが, 同様の構造と機能を維持するような前生物的にあり得たコアセルベート液滴系を探索するうえで重要な足がかりとなる<sup>71)</sup>. 最新の研究では非常にシンプルな10-15残基から成るペプチド<sup>26,72,73)</sup>やATPのようなポリイオンの最小単位, または比較的短いポリアミン<sup>74)</sup>などの化学構造がそこまで複雑ではない分子間においてもコアセルベートが生じることが示されており, 生命の起源研究に新しい視座を与えている.

### ポリエステル液滴

水性2相系やコアセルベートのように化学的, 生物学的に入手可能なポリマーなどの構成要素から相分離現象に迫るやり方がある一方で, より原始的な区画化の様相



を理解するための直接的なボトムアップ型アプローチも存在する。特に前生物学的な環境はさまざまな化学物質が入り混じった雑多で不均一な場であった可能性が高く、現在の生命に関連する無機物/有機物以外の化合物も多数含まれていたと想定される<sup>23)</sup>。

生命の起源に関連した研究はこれまで主に生体関連分子に注目してきたが、前生物化学におけるそれ以外の分子種が化学進化を促した可能性もある<sup>75)</sup>。たとえば非生体関連分子として比較的豊富にその存在が確認されている分子として $\alpha$ -ヒドロキシ酸( $\alpha$ HA)が知られており、これはユーリー・ミラーに代表される放電実験<sup>76)</sup>や初期の地球に降り注いでいたとされる炭素質隕石<sup>77)</sup>からも普遍的に見つかっている。

$\alpha$ HAは構造が $\alpha$ -アミノ酸に非常に似ており、アミノ基がヒドロキシル基である以外は構造的に同じである。そのため $\alpha$ HAを単純に乾燥させるだけで脱水縮合により長いポリエステルポリマーが合成される<sup>78,79)</sup>。そしてポリエステルが湿潤によって水和すると液-液相分離された微小の液滴が生成される(図3)。

これらの微小液滴は、低分子の色素、RNA、およびタンパク質などの分離が可能である原始的な区画として機能することが確認され、それらの区画構造の安定性は液滴における化学組成や構成分子の交換速度などによって大きく影響を受ける。

実際、ポリエステル微小液滴の存在下でのタンパク質の機能と触媒RNA(リボザイム)機能は阻害されず、液滴の周りに脂質からなる構造が確認されたことから、これらの区画構造が生物学における細胞と互換性があることを示唆している。この系は構成要素の取り込み、保護、交換といった細胞が有する機能の一部をすでに有している。それゆえに、生命の起源における次なる目標として、非生物学的/生物学的なコンポーネントが共存する新し

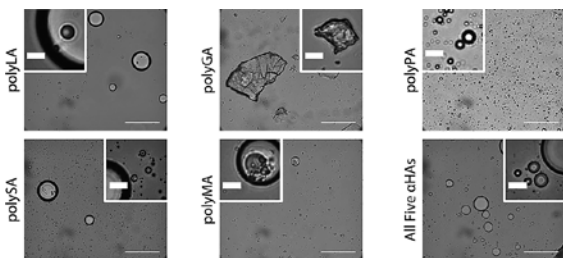


図3. 生命誕生以前から豊富に存在していた $\alpha$ -ヒドロキシ酸の乾燥によって得られたポリエステルからなる微小液滴。スケールバーは本図では100  $\mu$ m、拡大図では10  $\mu$ m。LA = 乳酸、GA = グリコール酸、PA = フェニル乳酸、SA = 2-ヒドロキシ-4-メチルチオ酪酸、MA = 2-ヒドロキシ-4-メチル吉草酸。図の転載に関して文献27の著者らより承諾済(著作権は以下に帰属される: Jia, T. Z., Chandru, K., *et al.*).

い液-液相分離構造の構築こそが、「乱雑な」初期地球における前生物的環境と初期生命の橋渡しをする新たな実験系として期待される。

### 結論と今後の課題

本稿では、生命起源の研究に関連して水性2相系、コアセルベート、ポリエステル微小液滴という三つの異なる液-液相分離系を紹介した。これらは現存する細胞内にみられる生体関連分子から派生したトップダウン型アプローチと、必ずしも生命とは関連しないが生命誕生前に豊富に存在していたであろう分子群に着目したボトムアップ型アプローチの両方を内包している。これら二つの異なるアプローチはいずれも生命の起源の理解に貢献する可能性が十分あり、引き続き研究を推進していくべき価値のある研究対象であるといえる。生命の起源における今後の課題として以下をあげる。

**液-液相分離系における構造と物理学的特性:** 異なる液-液相分離系のどれが生命誕生以前の形質に近いのか?

**液-液相分離系における特徴的かつ新しい機能:** 生命に見られるような触媒、代謝、複製、区画化、増殖、分裂といった、これまでに知られている特徴以外の特性を見つけた時に、それは“生命らしい”と定義できるのか? 何を生命らしさの特徴として位置づけるのか? どの機能が生命の誕生に貢献したのか?

**液-液相分離系の進化:** 液-液相分離系は構成分子の分配による動的な進化を受けるのか? (Composome という概念も提唱されている<sup>80)</sup>)

**現代生物学における過去の液-液相分離系の名残り:** もし液-液相分離系が生命の初期段階から重要な役割を果たしていた場合、その名残が現存の生命にも残っているのか? あるいは進化の途中で獲得した形質なのか?

**初期生命と原始的な液-液相分離系の分離:** 仮に細胞内小器官が原始的な液-液相分離系とは独立して誕生したと仮定し、一方で生命の起源に寄与した場合、液-液相分離系はいつ生物学から切り離されたのか? その場合、単に生体関連分子を濃縮するような単なる物理化学的反応場であり、その系自体は初期の細胞の構築のものには貢献しなかったのか?

これらの未解決課題は生命の起源研究において液-液相分離系の機能、ダイナミクス、進化という新しい切り口からのアプローチを提示するものであり、多くの科学者の参入を期待するところである。

## 文 献

- 1) Alberts, B. *et al.*: *Molecular Biology of the Cell*, Garland Science (2007).
- 2) Stano, P.: *Life*, **9**, 3 (2018).
- 3) Hindley, J. W. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **116**, 16711 (2019).
- 4) Buddingh', B. C. and van Hest, J. C. M.: *Acc. Chem. Res.*, **50**, 769 (2017).
- 5) Berhanu, S. *et al.*: *Nat. Commun.*, **10**, 1325 (2019).
- 6) Kurihara, K. *et al.*: *Nat. Commun.*, **6**, 8352 (2015).
- 7) Voegelé, K. *et al.*: *Nat. Commun.*, **9**, 3862 (2018).
- 8) Eto, H. *et al.*: *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **11**, 21372 (2019).
- 9) Yewdall, N. A. *et al.*: *ChemBiochem*, **20**, 2643 (2019).
- 10) Mansy, S. S. and Szostak, J. W.: *Cold Spring Harb. Symp. Quant., Biol.*, **74**, 47 (2009).
- 11) Gilbert, W.: *Nature*, **319**, 618 (1986).
- 12) Brack, A.: *Chem. Biodivers.*, **4**, 665 (2007).
- 13) Adamala, K. and Szostak, J. W.: *Nat. Chem.*, **5**, 495 (2013).
- 14) Hentrich, C. and Szostak, J. W.: *Langmuir*, **30**, 14916 (2014).
- 15) Adamala, K. and Szostak, J. W.: *Science*, **342**, 1098 (2013).
- 16) Zhu, T. F. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 9828 (2012).
- 17) Zhu, T. F. and Szostak, J. W.: *J. Am. Chem. Soc.*, **131**, 5705 (2009).
- 18) Milshcheyn, D. *et al.*: *Life*, **8**, 11 (2018).
- 19) Becker, S. *et al.*: *Science*, **366**, 76 (2019).
- 20) Forsythe, J. G. *et al.*: *Angew. Chem. Int. Ed Engl.*, **54**, 9871 (2015).
- 21) Li, L. *et al.*: *J. Am. Chem. Soc.*, **139**, 1810 (2017).
- 22) Gillams, R. J. and Jia, T. Z.: *Life*, **8**, 10 (2018).
- 23) Guttenberg, N. *et al.*: *Philos. Trans. A Math. Phys. Eng. Sci.*, **375**, 20160347 (2017).
- 24) Walker, S. I. *et al.*: *Philos. Trans. A Math. Phys. Eng. Sci.*, **375**, 20160337 (2017).
- 25) Keating, C. D.: *Acc. Chem. Res.*, **45**, 2114 (2012).
- 26) Aumiller, W. M., Jr and Keating, C. D.: *Nat. Chem.*, **8**, 129 (2016).
- 27) Jia, T. Z. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **116**, 15830 (2019).
- 28) Shirt-Ediss, B. *et al.*: *Beilstein J. Org. Chem.*, **13**, 1388 (2017).
- 29) Bansho, Y. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 4045 (2016).
- 30) Szostak, J. W. *et al.*: *Nature*, **409**, 387 (2001).
- 31) Budin, I. *et al.*: *Biophys. J.*, **107**, 1582 (2014).
- 32) Chen, I. A. and Walde, P.: *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **2**, a002170 (2010).
- 33) Luisi, P. L. *et al.*: *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, **4**, 33 (1999).
- 34) Mann, S.: *Acc. Chem. Res.*, **45**, 2131 (2012).
- 35) Yin, Y. *et al.*: *Nat. Commun.*, **7**, 10658 (2016).
- 36) Matsumura, S. *et al.*: *Science*, **354**, 1293 (2016).
- 37) Alberti, S. *et al.*: *Cell*, **176**, 419 (2019).
- 38) Pascal, R. and Boiteau, L.: *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **366**, 2949 (2011).
- 39) Lin, Y. *et al.*: *Cell*, **167**, 789 (2016).
- 40) Alberti, S.: *Curr. Biol.*, **27**, R1097 (2017).
- 41) Chong, S. *et al.*: *Science*, **361**, eaar2555 (2018).
- 42) Iqbal, M. *et al.*: *Biol. Proced. Online*, **18**, 18 (2016).
- 43) Walter, H. *et al.*: *Partitioning in Aqueous Two-Phase System*, Elsevier (1985).
- 44) Sakuta, H. *et al.*: *Front Chem.*, **7**, 44 (2019).
- 45) Yanagisawa, M. *et al.*: *J. Mol. Liq.*, **200**, 2 (2014).
- 46) Chiodini, G. *et al.*: *Geochim. Cosmochim. Acta*, **89**, 265 (2012).
- 47) Jia, T. Z. *et al.*: *Orig. Life Evol. Biosph.*, **44**, 1 (2014).
- 48) Chu, I.-M. and Chen, W.-Y.: *Methods Biotechnol. Vol. II, Aqueous Two-Phase Systems Methods and Protocols* (ed. Hatti-Kaul, R.), p. 95, Humana Press (2000).
- 49) Cakmak, F. P. and Keating, C. D.: *Sci. Rep.*, **7**, 3215 (2017).
- 50) Yang, Y. *et al.*: *Front. Pharmacol.*, **8**, 287 (2017).
- 51) Smith, E. and Morowitz, H. J.: *The Origin and Nature of Life On Earth. The Emergence of the Fourth Geosphere*, Cambridge University Press (2016).
- 52) Priftis, D. and Tirrell, M.: *Soft Matter*, **8**, 9396 (2012).
- 53) Veis, A.: *Adv. Colloid Interface Sci.*, **167**, 2 (2011).
- 54) Priftis, D. *et al.*: *J. Colloid Interface Sci.*, **398**, 39 (2013).
- 55) Jia, T. Z. and Kuruma, Y.: *Challenges*, **10**, 28 (2019).
- 56) Balhorn, R. *et al.*: *Mol. Reprod. Dev.*, **56**, 230 (2000).
- 57) Hud, N. V. *et al.*: *Biochemistry*, **33**, 7528 (1994).
- 58) Kedersha, N. and Anderson, P.: *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.*, **90**, 155 (2009).
- 59) Widom, J.: *Curr. Biol.*, **8**, R7881 (1998).
- 60) Weber, S. C. and Brangwynne, C. P.: *Curr. Biol.*, **25**, 641 (2015).
- 61) Shin, Y. and Brangwynne, C. P.: *Science*, **357**, 4382 (2017).
- 62) Mountain, G. A. and Keating, C. D.: *Biomacromolecules*, doi:10.1021/acs.biomac.9b01354 (2019).
- 63) Sato, Y. *et al.*: *arXiv*, arXiv: 1907.10252 (2019).
- 64) Martin, N. *et al.*: *Angew. Chem.*, **131**, 14736 (2019).
- 65) Poudyal, R. R. *et al.*: *Nat. Commun.*, **10**, 490 (2019).
- 66) Drobot, B. *et al.*: *Nat. Commun.*, **9**, 3643 (2018).
- 67) Poudyal, R. R. *et al.*: *Biochemistry*, **57**, 2509 (2018).
- 68) Martin, N. *et al.*: *Langmuir*, **32**, 5881 (2016).
- 69) Dora Tang, T.-Y. *et al.*: *Nat. Chem.*, **6**, 527 (2014).
- 70) Frankel, E. A. *et al.*: *Langmuir*, **32**, 2041 (2016).
- 71) Qiao, Y. *et al.*: *Nat. Chem.*, **9**, 110 (2017).
- 72) Koga, S. *et al.*: *Nat. Chem.*, **3**, 720 (2011).
- 73) Taniguchi, S. *et al.*: *J. Pept. Sci.*, **22**, 36 (2016).
- 74) Aumiller, W. M. *et al.*: *Langmuir*, **32**, 10042 (2016).
- 75) Chan, M. A. *et al.*: *Astrobiology*, **19**, 1075 (2019).
- 76) Parker, E. T. *et al.*: *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **30**, 2043 (2016).
- 77) Peltzer, E. T. and Bada, J. L.: *Nature*, **272**, 443 (1978).
- 78) Chandru, K. *et al.*: *Commun. Chem.*, **1**, 30 (2018).
- 79) Chandru, K. *et al.*: *Life*, **10**, 6 (2020).
- 80) Lancet, D. *et al.*: *J. R. Soc. Interface*, **15**, 20180159 (2018).