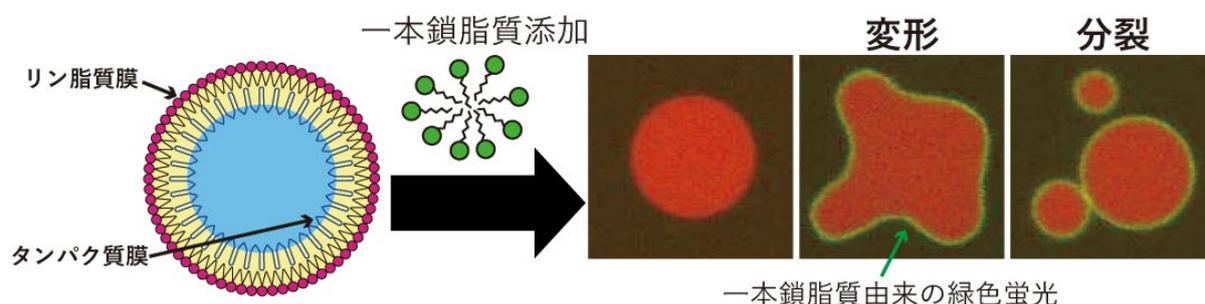


2023年2月20日

報道関係者 各位

リン脂質とタンパク質から非対称人工細胞膜を形成！ 細胞のように小胞が効率的に成長・分裂

群馬大学（群馬県前橋市）理工学府分子科学部門 神谷厚輝助教と同大学物質・生命理工学教育プログラム博士前期課程2年生 鈴木允人は、リン脂質と両親媒性タンパク質から形成した非対称膜小胞が、シンプルかつ高効率な小胞の成長と分裂を引き起こすことを突き止めました。



これまでにリン脂質と両親媒性タンパク質から形成した非対称膜小胞の形成の前例はなく、今回、外膜をリン脂質、内膜を両親媒性タンパク質のオレオシンから構成した脂質-オレオシン非対称膜小胞の形成に世界で初めて成功しました。この非対称膜小胞は、人工膜のリポソームと同様に膜流動性や膜タンパク質の機能化能を持つことを明らかにしました。そして、リン脂質膜とタンパク質膜の双方の利点を活かし、小胞の高効率な成長と分裂の誘発に成功しました。

1. 本件のポイント

- 外膜をリン脂質、内膜を両親媒性タンパク質から形成した非対称膜小胞を世界で初めて形成した。
- リン脂質膜とタンパク質膜の双方の利点を活かすことで、シンプルかつ高効率な小胞の成長と分裂が誘発した。

2. 本件の概要

細胞膜はリン脂質二重膜から構成されています。リン脂質は親水性の頭部と疎水性の尾部をもつ両親媒性分子です。このリン脂質二重膜構造を人工的に再現したリポソームは、細胞膜と酷似した性質をもち、膜タンパク質（注1）再構成可能などの点から人工細胞研究に広く利用されています。近年、リン脂質と同様に、分子内に親水性部分と疎水性部分をもつ、両親媒性タンパク質から二重膜を構成したタンパク質小胞が多く報告されています。リポソームと比較したタンパク

質小胞の大きな利点として、タンパク質小胞膜は物理的に丈夫である点です。しかし、細胞サイズのタンパク質小胞は形成が難しく、また、タンパク質二重膜は細胞膜と比較して膜厚がとて厚く膜タンパク質再構成は困難です。今回は、外膜をリン脂質、内膜を両親媒性タンパク質のオレオシンで構成することで、リポソームとタンパク質小胞の利点を併せ持つ細胞サイズの非対称膜小胞を形成しました。まず、脂質-オレオシン非対称膜小胞に膜タンパク質を再構成し機能を観察しました。次に、脂質-オレオシン非対称膜小胞を用いて、リン脂質、オレオシン、リゾリン脂質（注2）のみからなるシンプルで高効率な小胞の成長と分裂モデルを構築し、その機構解明を行いました。本研究で形成した脂質-オレオシン非対称膜小胞によって、外部環境に応じた継続的な成長と分裂を可能にする細胞モデルによる進化の過程の再現や、細胞機能を高度に模倣する人工細胞の構築が期待されます。

用語

（注1）膜タンパク質：細胞膜に存在するタンパク質。物質輸送やシグナル伝達などの細胞の重要な機能を担う。

（注2）リゾリン脂質：1本のアシル基を持つリン脂質。水溶液中で自発的に脂質膜へと挿入される。

3. 発表雑誌

雑誌名:iScience

論文題名: Cell-sized asymmetric phospholipid–amphiphilic protein vesicles with growth, fission, and molecule transportation

著者:Masato Suzuki, Koki Kamiya

DOI番号: <https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.106086>

本論文は、2023年2月14日にオンライン公開されました。

4. 本件に関するお問い合わせ先

【報道に関すること】

群馬大学理工学部事務部庶務係（広報担当）

Tel: 0277-30-1011 FAX: 0277-30-1020

E-mail:k-dayori@jimu.gunma-u.ac.jp

研究の詳細

単一の小胞を用いて成長と分裂を行う場合、小胞膜の成長には内水相への膜構成要素の封入が必須になります。リポソームは膜タンパク質再構成可能、膜の形態変化可能など、人工細胞モデルとして多くの利点を持ちます。しかし、リン脂質の合成経路は8個の酵素と7個の中間体を経由する複雑な反応であり、リポソームへの封入は困難です。一方で、両親媒性タンパク質の合成経路はDNAからmRNAに転写され、タンパク質が翻訳されるというシンプルな反応系であり、タンパク質小胞への封入は容易です。また、遺伝子組み換え技術を用い性質を改変することで水溶液への溶解度を変化させることができ、遊離した膜構成タンパク質そのものをタンパク質小胞内へ封入することが可能です。しかし、タンパク質小胞膜は細胞膜と膜厚などの物理的性質が大きく異なり、膜タンパク質の再構成が困難になっています。本研究では、リン脂質膜とタンパク質膜、双方の利点を併せ持つ、リン脂質-タンパク質非対称膜小胞を形成しました。まず、両親媒性タンパク質のオレオシンを水溶液に溶解し、オイルを加えボルテックスによって水層とオイル層を混ぜ合わせ、オイル層と水層の界面にオレオシンが配列した油中水滴を作製しました。このオレオシンが配列した油中水滴を、リン脂質の単分子膜に重層し遠心することで、外膜をリン脂質、内膜をオレオシンで構成した非対称膜小胞を形成しました(図1)。蛍光小分子を封入した脂質-オレオシン非対称膜小胞に、ナノサイズの小さな穴を膜上に形成する膜タンパク質outer membrane protein G (OmpG)を再構成し、小胞内の蛍光の減少からOmpGの機能観察を行いました。本作製法では、オレオシンを水層に溶解しているため、脂質-オレオシン非対称膜小胞の内水相には、膜を構成しないオレオシンが存在しています。この残留のオレオシンを含む脂質-オレオシン非対称膜小胞に蛍光標識したリゾリン脂質を添加することで、小胞膜上へのリゾリン脂質の挿入に伴って小胞の面積の増加と変形・分裂が観察されました(図2)。一方で、内水相の残留オレオシンを減らすために、オレオシン使用量を限界まで減らした脂質-オレオシン非対称膜小胞にリゾリン脂質を添加した場合には小胞の面積変化は観察されませんでした。ここまでの結果から、脂質膜へのリゾリン脂質の挿入とオレオシン膜への残留オレオシンの挿入によって、脂質-オレオシン非対称膜小胞の成長と変形・分裂が引き起こされたと考えられます。膜の構成要素を封入可能なタンパク質膜の利点と、膜の形態変化可能なリン脂質膜の利点の双方を生かすことでシンプルかつ高効率な小胞の成長と分裂が実現しました。

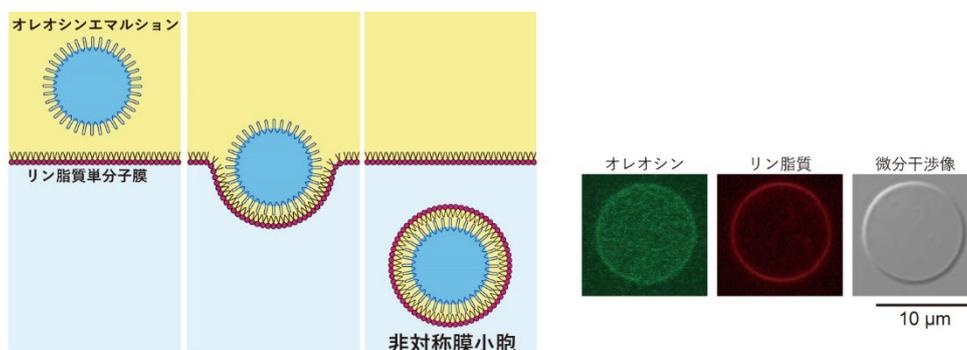


図1 脂質-オレオシン非対称膜小胞の形成概略図と顕微鏡画像、小胞膜上にオレオシンとリン脂質に付加した蛍光がそれぞれ観察された。

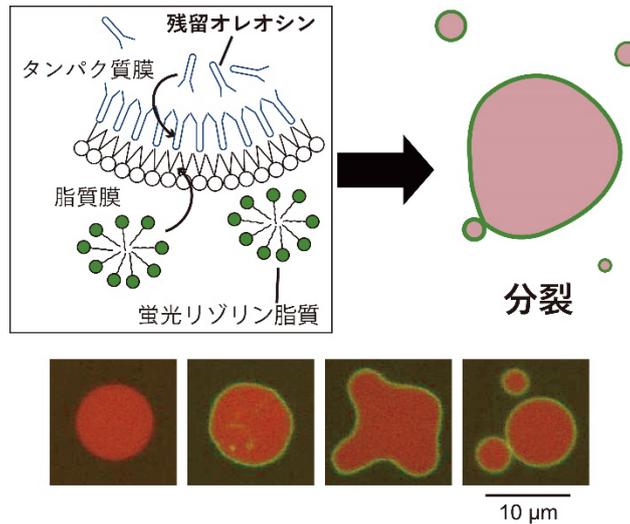


図2 脂質-オレオシン非対称膜小胞へのリゾリン脂質挿入に伴う小胞の変形と分裂

社会に対する成果の還元、今後の展望

本研究で、リン脂質と両親媒性タンパク質のオレオシンから脂質-オレオシン非対称膜小胞を形成し、シンプルかつ効率的な小胞の成長と分裂モデルを構築しました。この脂質-オレオシン非対称膜小胞は、外部環境に応じた継続的な成長と分裂を可能にする細胞モデルによる進化の過程の再現、細胞機能を高度に模倣する人工細胞の構築として外部環境に応答して複雑な酵素反応を行うバイオリクターとしての応用が期待されます。今後は、膜タンパク質を介して外部シグナルに応答して成長と分裂を引き起こす小胞や、内水相にオレオシンの無細胞発現系を封入して継続的な成長と分裂を可能にする小胞を構築する予定です。