

外部刺激に応答したリポソームの非対称膜形成システムの開発とタンパク質集積への応用

(群馬大院理工) ○李 水民・神谷 厚輝

Development of formation system of lipid asymmetry in liposomes by external stimulations and protein accumulation in asymmetric liposomes (*Graduate School of Science and Technology, Gunma University*) ○Sumin Lee, Koki Kamiya

Asymmetric lipid vesicles that emulate cellular membrane composition have been used to understand cellular functions. We develop a system to convert lipid symmetry to lipid asymmetry of liposome membranes by external stimulations. In this system, phospholipase D (PLD)-cording riboswitch and cell-free protein synthesis systems are encapsulated into PC symmetric liposomes. When a chemical signal is added to the outer solution, the expressed PLD hydrolyze PC to PA in the inner leaflet. This system converting symmetric liposomes to asymmetric liposomes has the potential to observe consecutive phenomena caused by lipid asymmetry. Furthermore, we investigated accumulation of proteins on the liposome membrane using this system. We demonstrated the control of the protein accumulation by the PLD enzymatic function.

Keywords : lipid asymmetry vesicles; cell-free protein synthesis systems; riboswitch

真核生物の細胞膜は内側と外側で構成するリン脂質の組成が異なるという非対称性をもつことが特徴的であり、非対称膜に起因する細胞機能を解明するため、細胞膜の組成を模倣した非対称膜リポソームを用いた研究が盛んに行われている。本研究では、対称膜リポソームを外部刺激によって非対称膜リポソームへと変換するシステムを開発することで、連続的な観察による非対称の機能の追跡が可能になると考えた。

フッ素イオンに応答して遺伝子発現を制御するリボスイッチ DNA¹⁾の下流に、ホスファチジルコリン (PC) をホスファチジン酸 (PA) に加水分解する酵素であるホスホリパーゼ D (PLD) をコードすることで、非対称膜形成システムの構築を目指した (Fig.1A)。無細胞タンパク質発現系を封入した PC 対称膜リポソームを作製し、外液に NaF を添加することで PLD が発現して、内側が PA の非対称膜リポソームに変換することを観察した (Fig.1B)。さらにこのシステムを応用し、タンパク質の膜集積を外部刺激によって制御できることを実証した。

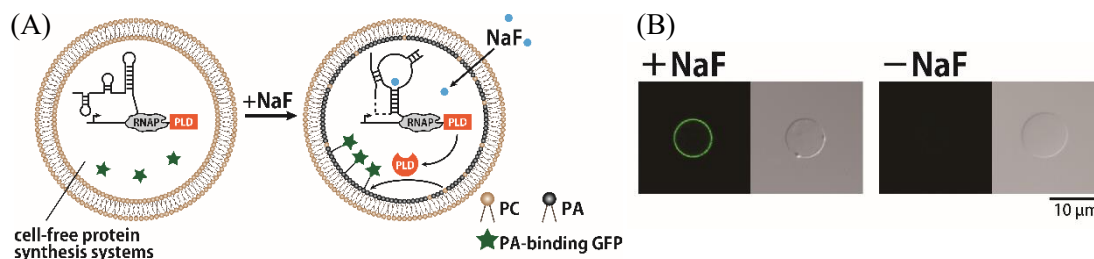


Fig.1 リポソームの非対称膜形成システムの模式図 (A) と顕微鏡画像 (B)

1) Boyd et al., Sci. Adv. 9, eadd6605 (2023)