

膜透過性ペプチドを介した効率的な脂質二重膜を横切るタンパク質輸送条件の検討

(群馬大¹・千葉大²・九州大³) ○三輪 明星¹・伊藤 弘明²・樋口 佑次³・神谷 厚輝¹
 Investigation of the cell penetrating peptide-mediated protein transportation through lipid bilayer (¹ Graduate School of Science and Technology, Gunma University, ² Graduate School of Science, Chiba University, ³ Research institute for information technology, Kyushu University) ○Akari Miwa,¹ Hiroaki Ito,² Yuji Higuchi,³ Koki Kamiya¹

Cell-penetrating peptides (CPPs) can transport proteins into living cells by mixing or conjugating with the target protein¹. In this study, we investigated the conditions for the transportation of water-soluble proteins through liposome membranes (simple lipid bilayer) and cell membranes (containing sugar chains and membrane proteins). In transportation into liposomes, we examined transportation efficiency using coarse-grained molecular dynamics simulation² and wet experiments. We identified the conditions of the high-efficiency protein transportation inside the liposome. In addition, we demonstrated cytoplasmic transportation by changing the fusion site and combination of two types of CPP sequences conjugated to proteins. We obtained both the combination and topology of fusion sites of the two CPPs affecting the cytoplasm transportation efficiency. Finally, we explain the mechanism of a generic protein delivery system through the cell membrane using CPPs.

Keywords : Cell penetrating peptide; liposomes; membrane transport; cell membrane

膜透過性ペプチド(CPP)は、生体高分子を複合化または結合させることで細胞内に輸送する能力を持つ¹。本研究では、単純な脂質二重膜を有するリポソームと糖鎖等が存在する脂質二重膜を有する細胞へのタンパク質の高効率な輸送条件を検討した。リポソーム内への輸送において、粗視化シミュレーション²とウェット実験の両面から考察した。粗視化シミュレーションでは電荷非対称膜リポソーム内へのナノ粒子透過の輸送の観察を行った。ウェット実験では、リポソームを形成する脂質の組成(電荷や非対称性)と、タンパク質と CPP の複合形成比を変えて輸送条件の検討を行った。その結果、シミュレーションとウェット実験のいずれも複合体形成比が高く、さらに内膜の負電荷脂質が多いほどタンパク質がリポソーム内部に輸送されることが分かった(図 1a)。次に、CPP の融合位置と組み合わせを変えた融合タンパク質を発現し、効率的に細胞内にタンパク質を輸送させる CPP 融合位置と組み合わせを明らかにした(図 2b)。当日は、汎用的にタンパク質を細胞質に輸送するシステムの構築を報告する予定である。

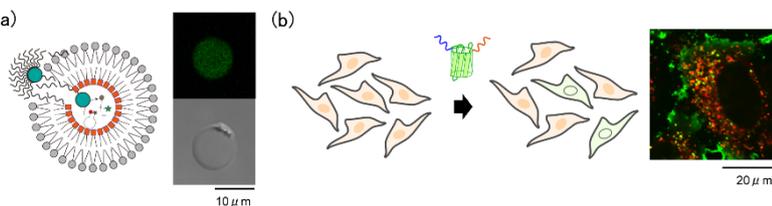


図 1 概略図 (a)リポソーム内への輸送 (b)細胞内への GFP の輸送

- Justin M. Horn and Allie C. Obermeyer, (2021) *Biomacromolecules*, 22, 12, 4883–4904
- Naofumi Shimokawa, Hiroaki Ito and Yuji Higuchi, (2019) *Phys. Rev. E*, 100, 012407:1-14