事例紹介

リポソーム／細胞間の分子通信

Molecular Communication between Liposomes and Cells

野村 慎一郎^{*1} 森谷 優貴^{*2} 秋吉 一成^{*3}^{*1}京都大学 WPI 物質-細胞統合システム拠点 (iCeMS), JST さきがけ (兼任) ^{*2}NTT DOCOMO R&D センタ先進技術研究所^{*3}京都大学工学研究科高分子化学専攻Shin-ichiro Nomura^{*1}, Yuki Moritani^{*2} and Kazunari Akiyoshi^{*3}^{*1}Institute for Integrated Cell-Material Sciences (iCeMS), Kyoto University & JST PRESTO ^{*2}Research Laboratories, NTT DOCOMO, Inc.^{*3}Department of Polymer Chemistry, Graduate School of Engineering, Kyoto University

40 億年の進化を経て現在稼働中の分子機械のひとつ、膜タンパク質は、わずか 5 [nm] 厚の細胞膜にあって内外の精緻な分子情報変換を担う。本稿では、人工細胞モデル・リポソームに哺乳動物の膜タンパク質を実装し、細胞との分子通信デバイスに利用するという研究例を紹介したい。

細胞と細胞は、サイトカインの受け渡しや表面の膜電位変化を介して互いに通信する。特に分子を直接 (いわば暗号変換なしに) 交換する代表的な例がギャップジャンクション (GJ), 隣接する細胞間隙をバイパスして中身同士をつなぐチャネルである。これを構成するコネクシン (Cx) は 4 回膜貫通型のタンパク質で、6 分子が会合して半チャネルであるコネクソンとなる。細胞間隙でコネクソン同士が向き合い接合すると、直径約 2 [nm] の GJ チャネルが開き、濃度差に従って 1.5 [kDa] までの溶質を通す「穴」として機能する [1]。細胞同士はこの穴を使って様々な小分子のクロストークを行っている。一方、我々の研究チームでは細胞膜のモデルであるリポソームを扱い、遺伝子発現 (タンパク質合成) 機能を働かせる研究を行っていた。そこで仮説として、Cx をリポソームに導入することで、生きた細胞との間に物質交換ルートが形成され得るのではないかと考えた。修士 2 年 (当時) の金田誠氏と始めたこの仕事は結果、5 年に及んだ。発現した Cx がリポソーム膜に挿入されることは電子顕微鏡で証明された。GJ チャネルの機能として、Cx 付きリポソームにサイズの小さな色素を含ませ、培養細胞のシャーレに加えることで、細胞が染まっていく過程が確認された (図 1; リポソームなし, Cx なし, また GJ 阻害剤存在下では生じない現象)。分子サイズが 1.5 [kDa] より大きな色素や、タイプの異なるコネクシン同士では輸送は生じないことが確認された。これはまっ

図 1 コネクシンを組み込んだリポソームによる、培養細胞への物質輸送の模式図と結果 (蛍光顕微鏡像)

たく新しい薬剤送達システム (DDS) にもなりうると考え、リポソームから GJ 経由で薬剤分子を直接、細胞内へ導入し、発ガン性遺伝子 (COX2) の発現を抑制することにも成功した [2]。ところが、制御性に問題があった。GJ チャネルの開閉は、リン酸化と呼ばれる分子修飾で制御されうる。さらに、Cx が膜に挿入される向きが決定的に重要となる。当初用いた実験系では、これらの状態が制御されておらず、リポソームのサイズ分布、膜層構造のばらつきも大きかった。そこで、リン酸化の生じない再構成無細胞タンパク質合成系と規定サイズのリポソーム (直径 100~300 [nm]) を用いて、実験系を再構築した。その結果、Cx は合成時にリポソームに挿入され、高い配向性を示す (消化実験で証明) こと、またコネクソンがチャネル機能を示すことが蛍光消光法により確認された [3]。こうして我々の用いた GJ は「物」を「数 (濃度)」に従って直接かつ双方向に伝えるチャネルであることから、細胞から情報を抽出して行う分子演算など、分子通信 [4], DDS のみならず多彩な利用法が期待される [5]。一方で、GJ を経由する物質は単純拡散により運ばれ混合されるため、正確だが、遅い。神経細胞をモデルに、膜電位における興奮波を使えるイオンチャネル／ポンプ系膜タンパク質を実装した素早い通信デバイスも今後、提案されてくるに違いない。

原稿受付 2010 年 9 月 1 日

キーワード: Molecular Communication, Liposome, Membrane Protein, Connexin, Artificial Cell Model

^{*1}〒 606-8501 京都市左京区吉田牛ノ宮町

^{*2}〒 239-8536 横須賀市光の丘 3-5

^{*3}〒 615-8510 京都市西京区京都大学桂

^{*1}Sakyo-ku, Kyoto-shi, Kyoto

^{*2}Yokosuka-shi, Kanagawa

^{*3}Nishikyo-ku, Kyoto-shi, Kyoto

実働する人工細胞モデルの構築には、細胞の使っている原理と生きている環境を知り、使える要素を使い切る姿勢が必要だろう。当面は、高機能な分子種を追加していく手法が有効と思われる。しかし少し複雑なシステム（例えば外部の特異的な分子の増加に応答して、特定の Cx 分子のみを選んで大量発現させ、密集させ機能させる等）を目指す、各分子が働く場所とタイミングをいかにプログラムするか、という問題が生じる。これを予測可能かつ信頼できるシステムとして組み上げるためには、同じ階層で、細胞と互換性のあるプロトコルをもち、情報と機能を統合するプログラム可能なウェットウェア [6] が必要だろう。その候補筆頭として、DNA 分子ロボティクス技術に寄せられる期待は大きい。

謝 辞 本記事の内容は、特定領域バイオ操作 (20034016)、学術創成プロジェクト (18GS0421) の支援を受け、筆者らが東京医科歯科大学・森田育男教授のグループと共同研究を行った成果の一部である。この場を借りて感謝を述べさせていただきます。

参 考 文 献

- [1] N.M. Kumar and N.B. Gilula: "The gap junction communication channel," *Cell*, vol.84, pp.381-388, 1996.
- [2] M. Kaneda, S.-i.M. Nomura, S. Ichinose, S. Kondo, K. Nakahama, K. Akiyoshi and I. Morita: "Direct formation of proteo-liposomes by in vitro synthesis and cellular cytosolic delivery with connexin-expressing liposomes," *Biomaterials*, vol.30, pp.3971-3977, 2009.
- [3] Y. Moritani, S.-i.M. Nomura, I. Morita and K. Akiyoshi: "Direct integration of cell-free-synthesized connexin-43 into liposomes and hemichannel formation," *FEBS J.*, vol.277, no.16, pp.3343-3352, 2010.
- [4] 澤井 編：生命と情報通信。オーム社，pp.60-95，2009.
- [5] S. Hiyama and Y. Moritani: "Molecular communication: Harnessing biochemical materials to engineer biomimetic communication systems," *Nano Communication Networks*, vol.1, no.1, pp.20-30, 2010.
- [6] D. Bray: *Wetware: A computer in every living cell*. Yale University press, 2009.

野村慎一郎 (Shin-ichiro Nomura)

2002 年京都大学大学院博士課程修了。博士 (理学)。日本学術振興会特別研究員を経て、東京医科歯科大学 21 世紀 COE 特任講師，2008 年より京都大学 WPI 物質-細胞統合システム拠点に在籍。2008 年より (独) 科学技術振興機構・さきがけ研究者を併任 (界面の構造と制御)。専門は応用生物物理，人工細胞モデル構築の研究に従事。2006 年 IEEE/MHS2006 論文賞。生物物理学会，高分子学会などの会員。

森谷優貴 (Yuki Moritani)

2000 年京都大学情報学研究科修士課程修了。同年 NTT ドコモ入社，移动通信に関する研究を経て 2004 年より分子通信と関連するナノバイオテクノロジーの研究に従事。現在同社先進技術研究所研究主任。2007 年より東京医科歯科大学大学院博士課程に在籍。Nano Communication Network journal (Elsevier) 編集委員。IEICE，生物物理学会などの会員。

秋吉一成 (Kazunari Akiyoshi)

1985 年九州大学大学院工学研究科博士課程修了。工学博士。米国 Purdue 大学博士研究員，長崎大学工学部講師，京都大学助教授を経て，2002 年より東京医科歯科大学教授。2010 年より京都大学工学研究科教授，現在に至る。専門は生体高分子。1997 年高分子学会賞，2001 年カナダ・モントリオール大 Barre Lecturer Awards など受賞。日本化学会，日本バイオマテリアル学会，高分子学会，米国化学会などの会員。