

【研究の目的】

大腸菌の細胞外小胞である外膜小胞(OMVs)に着目し、新規なタンパク質分泌ツールを提案することで、タンパク質生産の宿主としての利用幅を拡大する。

【研究の背景】

- 大腸菌は、異種タンパク質の生産宿主として有用なグラム陰性細菌である。
- グラム陽性細菌や酵母、動物培養細胞のようなタンパク質分泌機構を持たず、分離精製コストが高いという問題点がある。

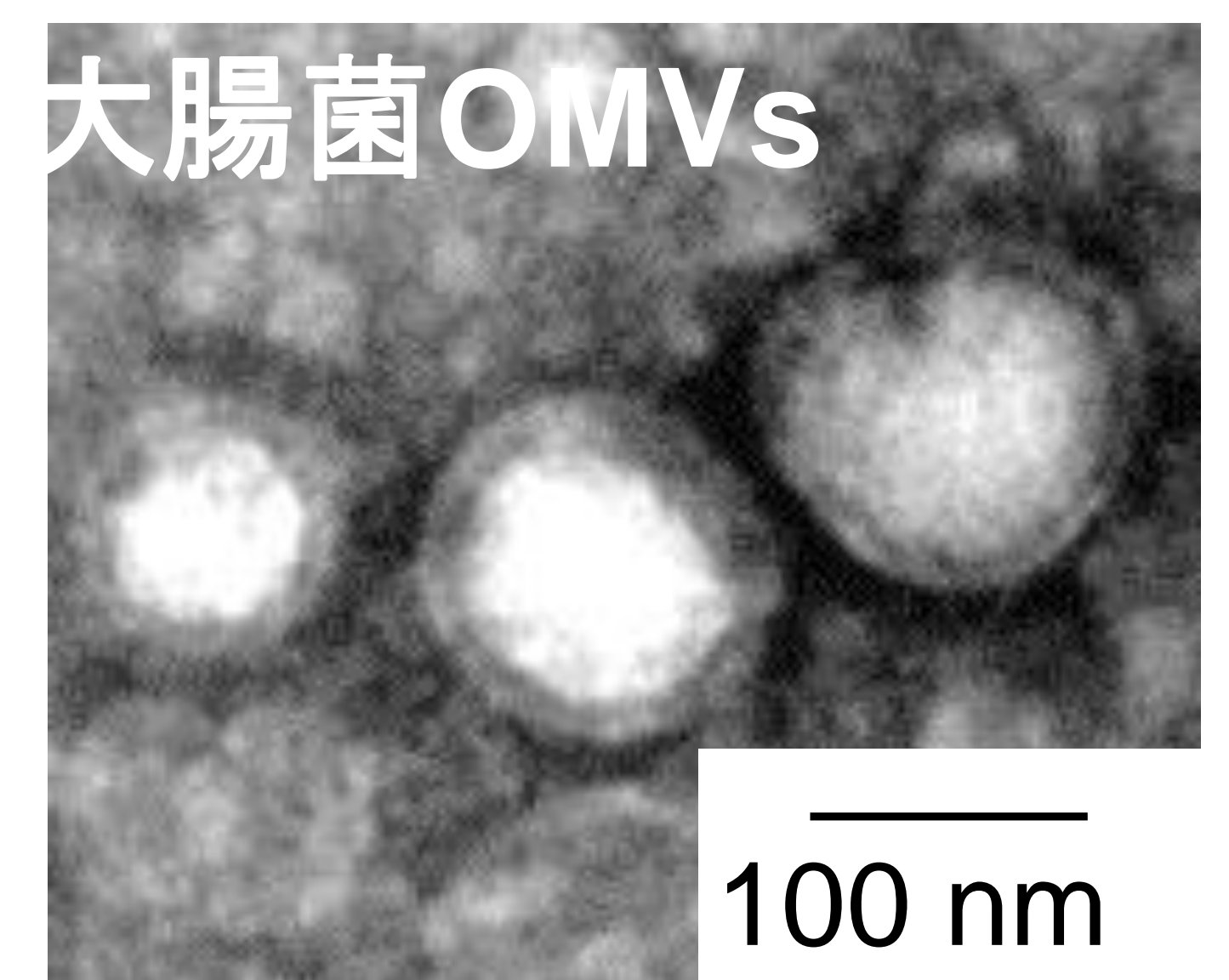
【研究概要】

①技術の特徴

大腸菌の外膜小胞(OMVs)に着目し、新規なタンパク質分泌生産系を提案する。

②概要

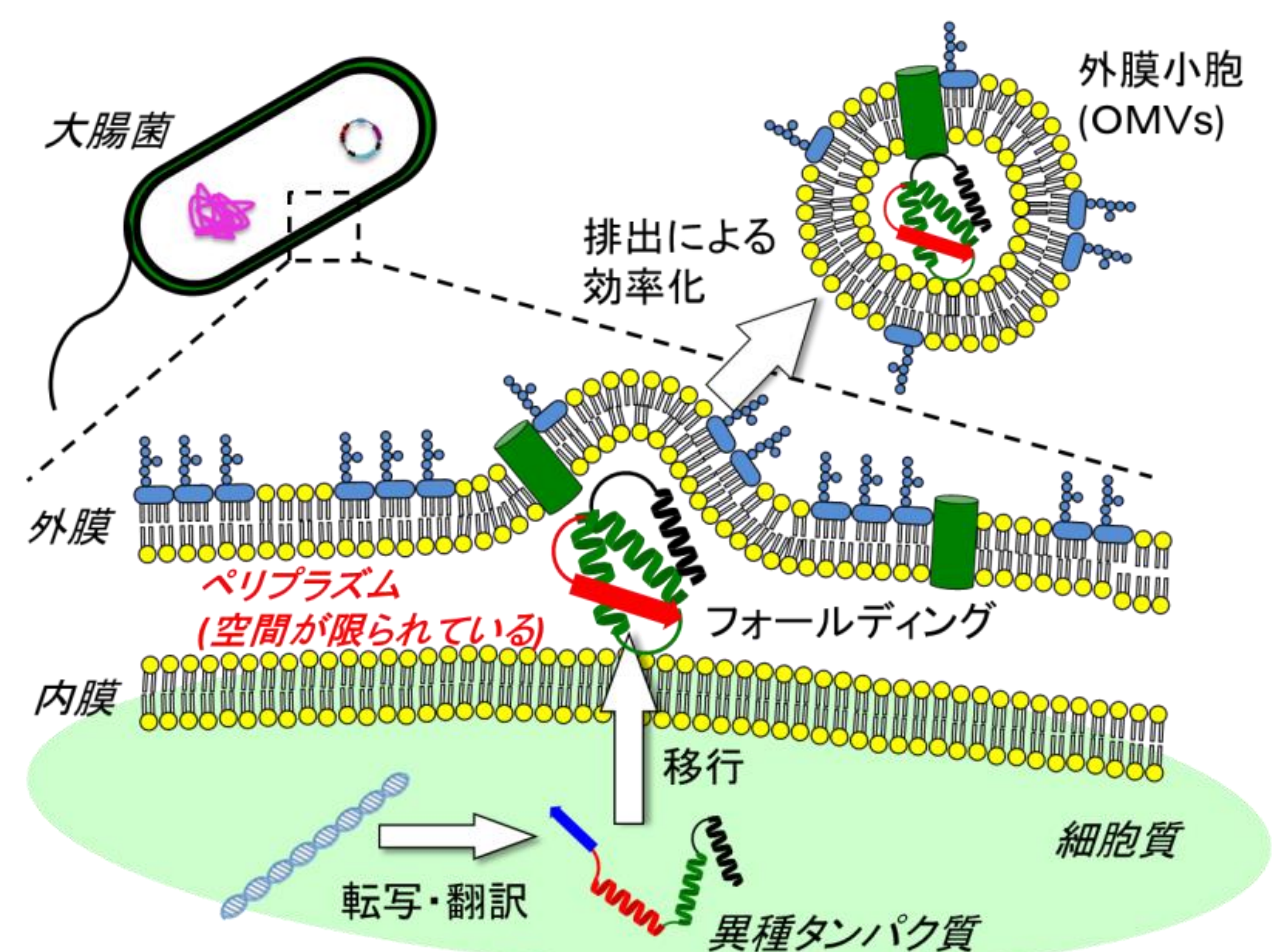
OMVsとは外膜が隆起し形成される細胞外小胞であり、ペリプラズム成分を放出する現象である。OMVs生産が促進した変異株で、モデルタンパク質であるGFPを発現すると、培養液中に数mg/Lを分泌可能であり、新たな分泌ツールと成りうることがわかった。



異種タンパク質 の大腸菌での発現

ペリプラズムでのフォールディング

OMVsを介して細胞外へ排出し生産を効率化

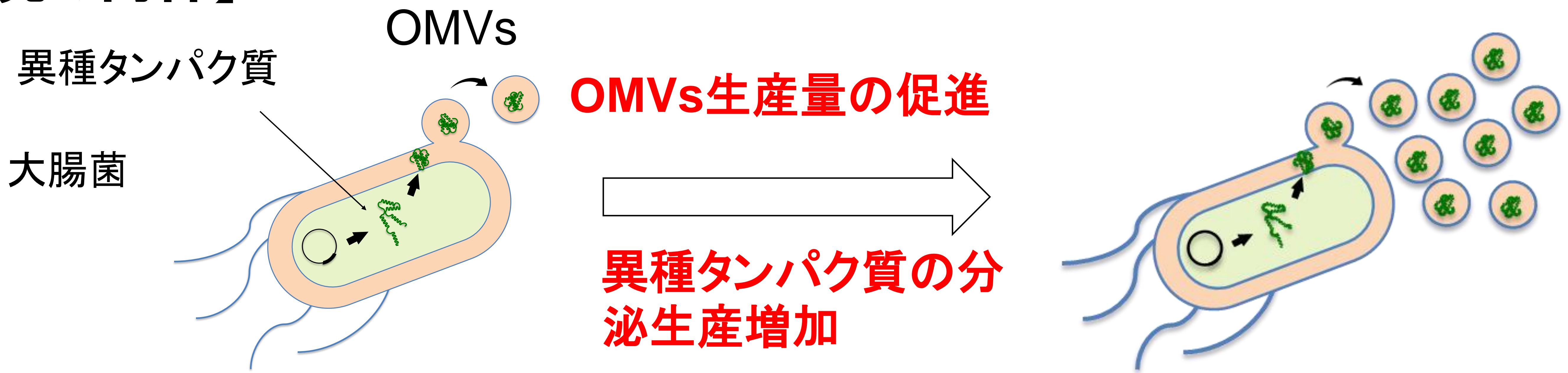


【想定される用途】

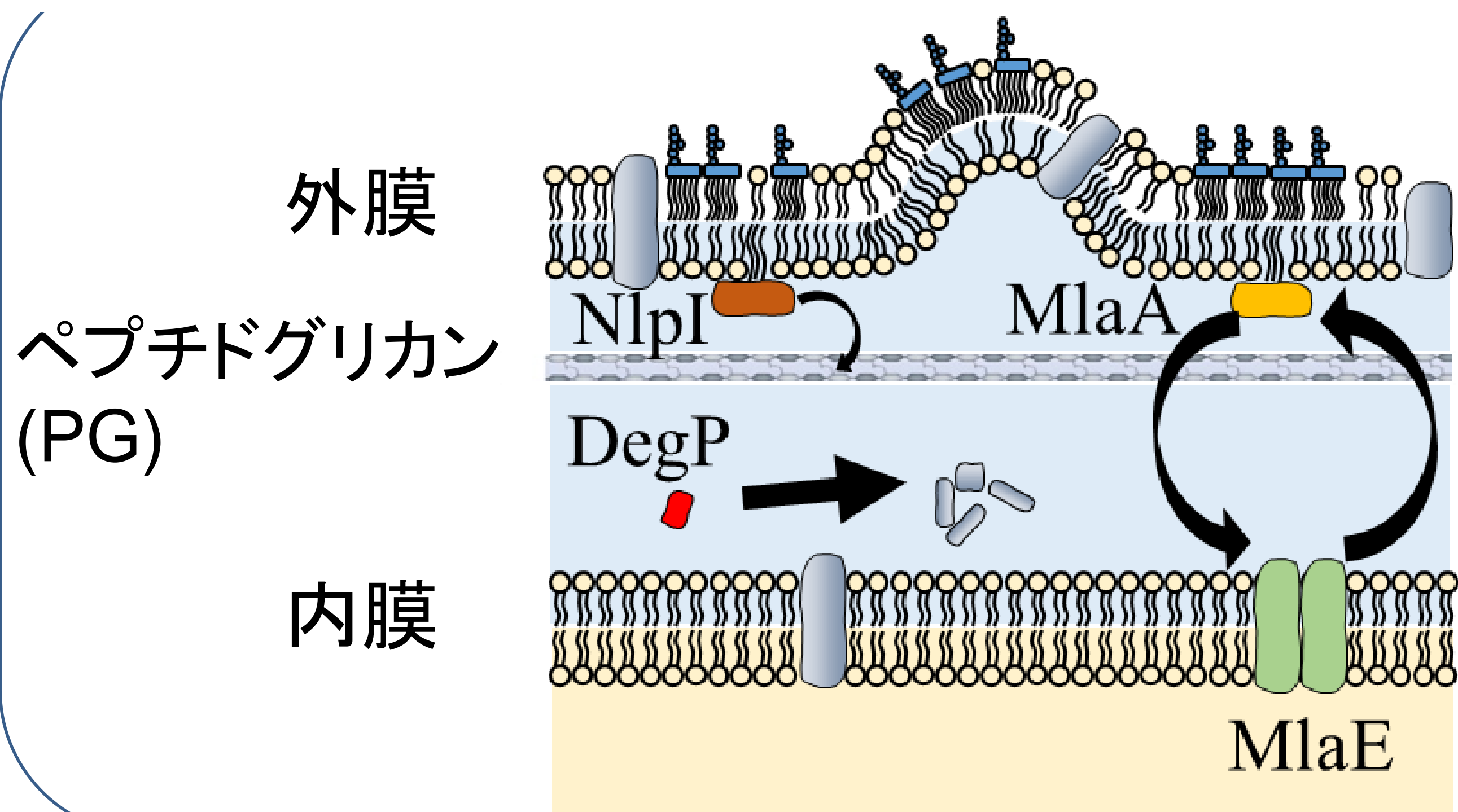
- ・インターフェロン、ヒトインスリンなどの第1世代バイオ医薬品生産
- ・抗体医薬などを含めた異種タンパク質生産
- ・新規なプロバイオティクスとしての微生物利用

小胞に包埋されて分泌するため、タンパク質機能を保護する効果も期待できる。

【研究の内容】



遺伝子欠損によるOMVs生産量の増加

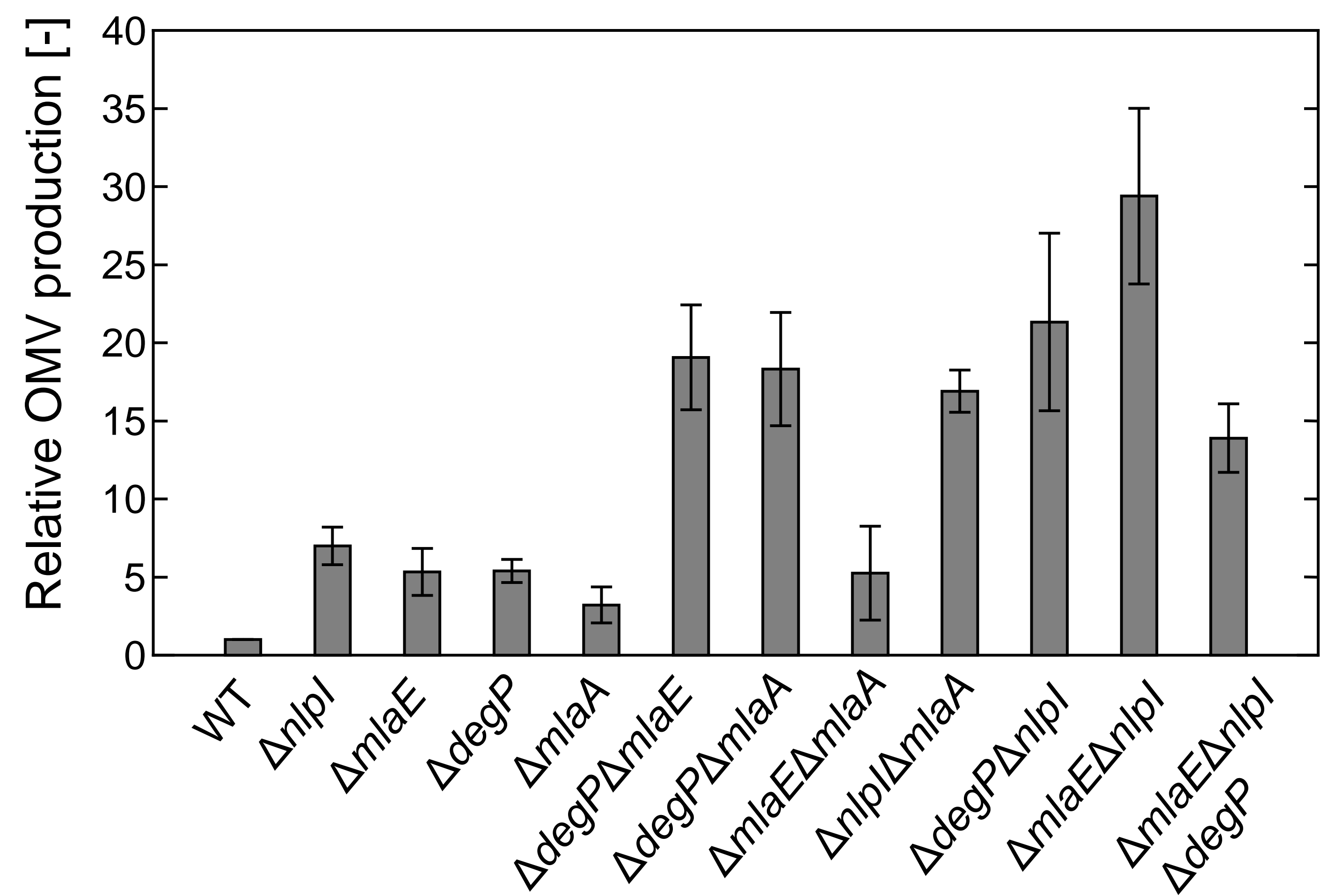
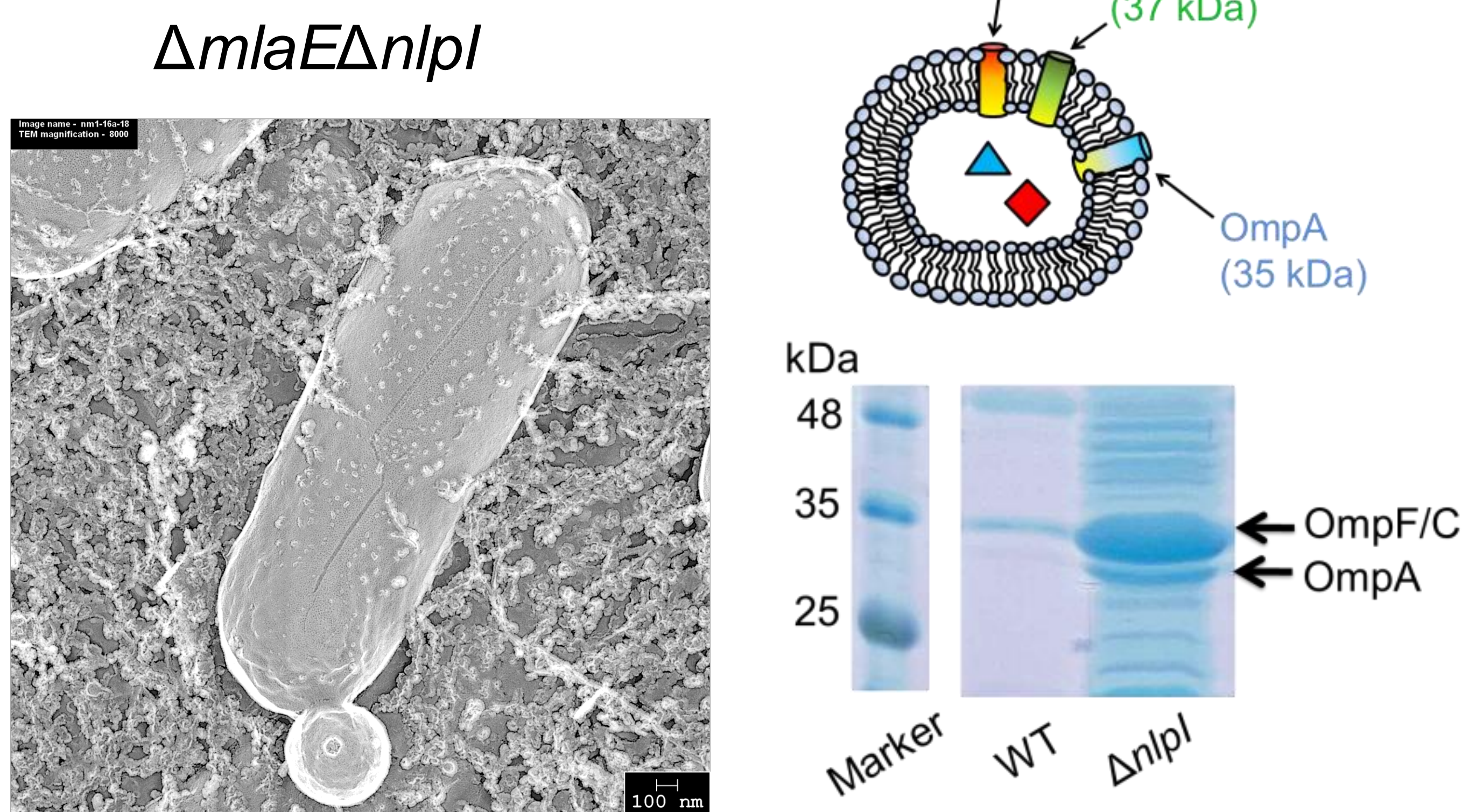


- 1) Schwechheimer *et al.*, *Microbiologypen*, **4**, 375-389 (2015)
- 2) Roier *et al.*, *Nat. Commun.*, **7**, 10515 (2016)
- 3) Schwechheimer *et al.*, *J. Bacteriol.*, **195**, 4161-4173 (2013)

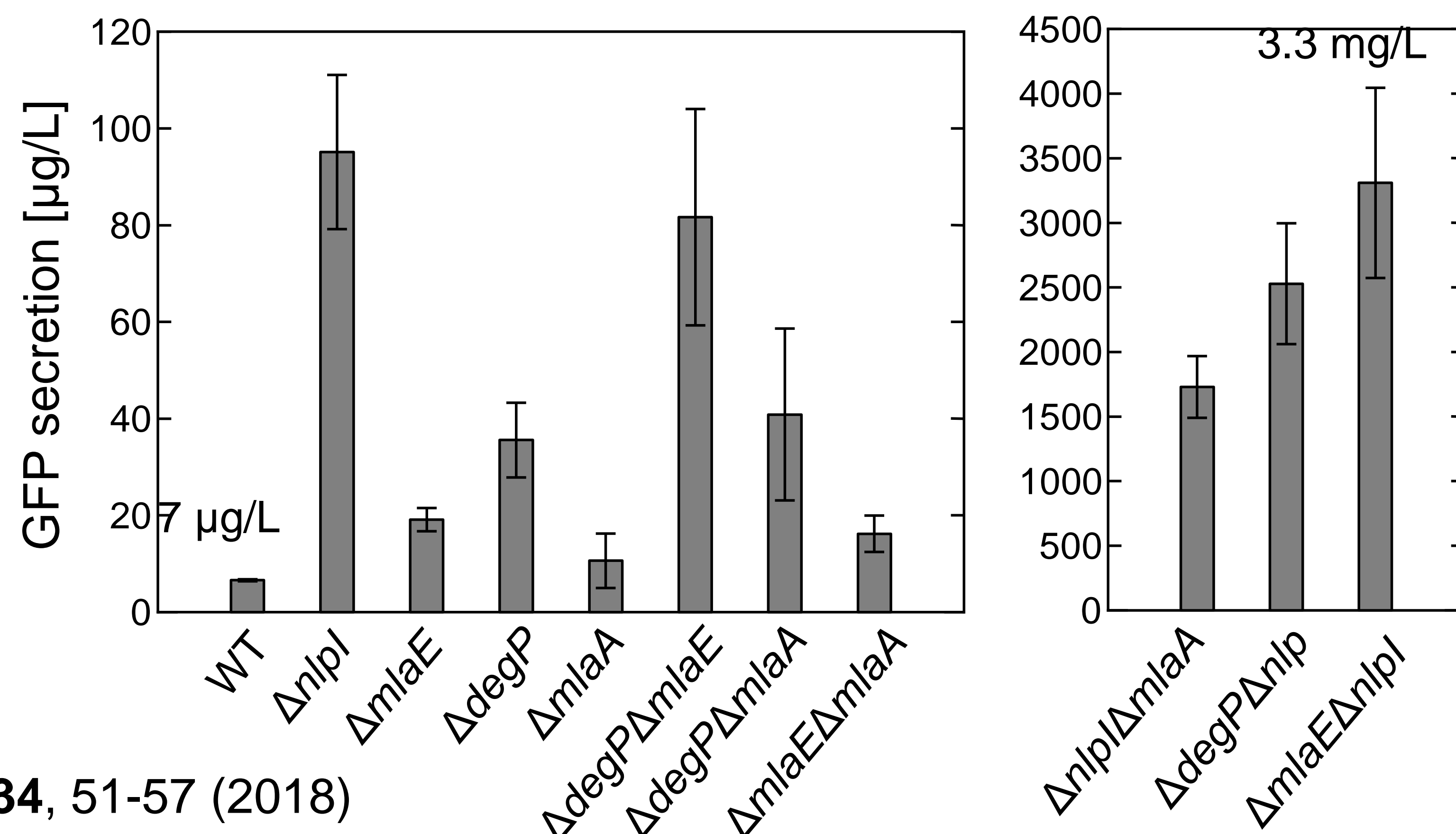
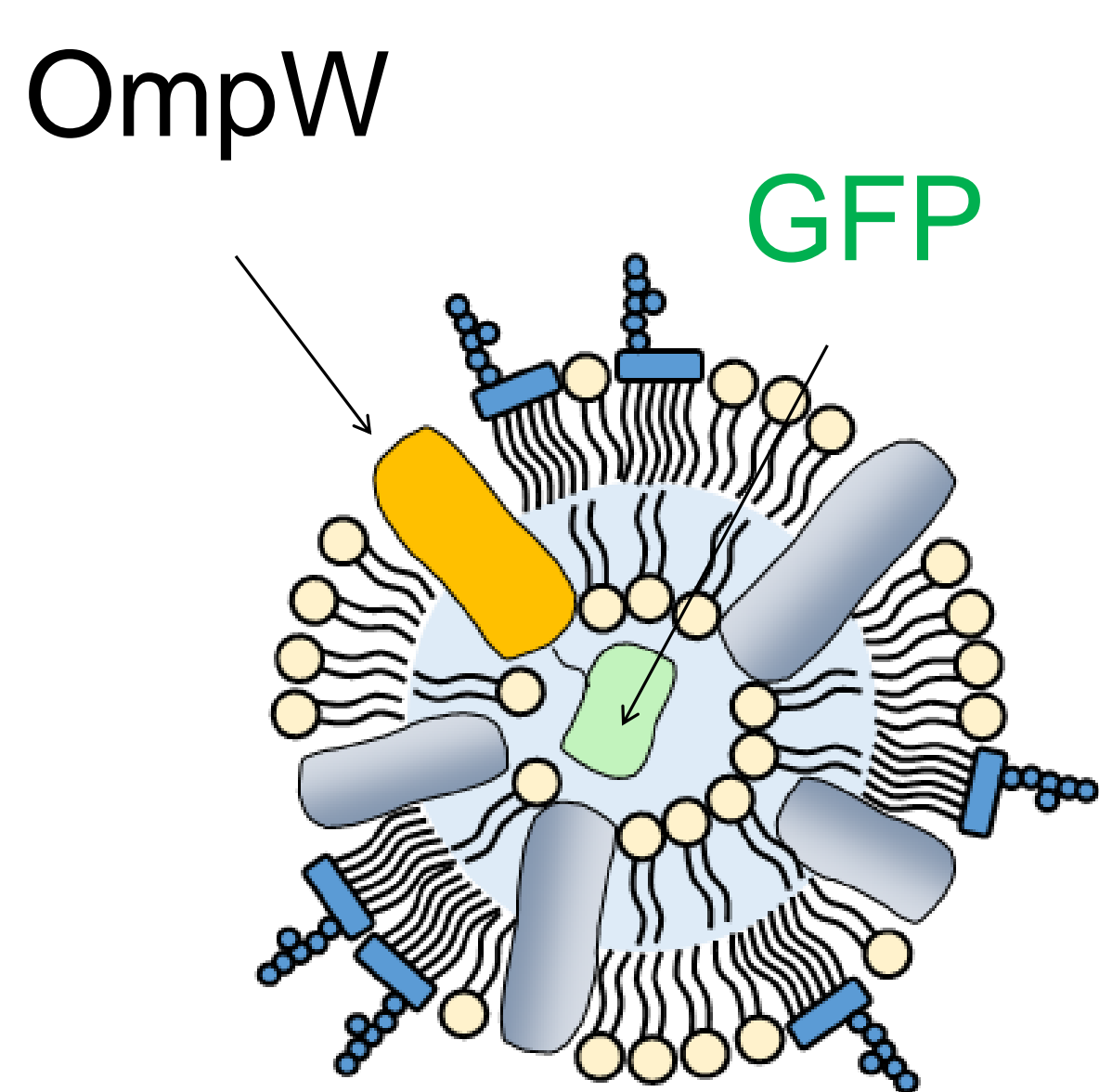
$\Delta nlpI$; PG-外膜の架橋の脆弱化¹⁾
 $\Delta mlaA$, $\Delta mlaE$; リン脂質が外膜外葉に蓄積²⁾
 $\Delta degP$; 不要なペリプラズムタンパク質の蓄積³⁾

OMV生産は、ペリプラズムタンパク質の蓄積、PG-外膜架橋の脆弱化、外膜でのリン脂質の蓄積によって促進

OMVs生産量



GFP分泌量⁴⁾



$\Delta mlaE\Delta nlpI$ 株は、3.3 mg/Lの濃度でGFPを分泌した

OMVsがタンパク質分泌ツールとして、利用できる可能性

4) Ojima *et al.*, *Biotechnol. Prog.*, **34**, 51-57 (2018)

