

メンブレンベシクルの人工発生装置

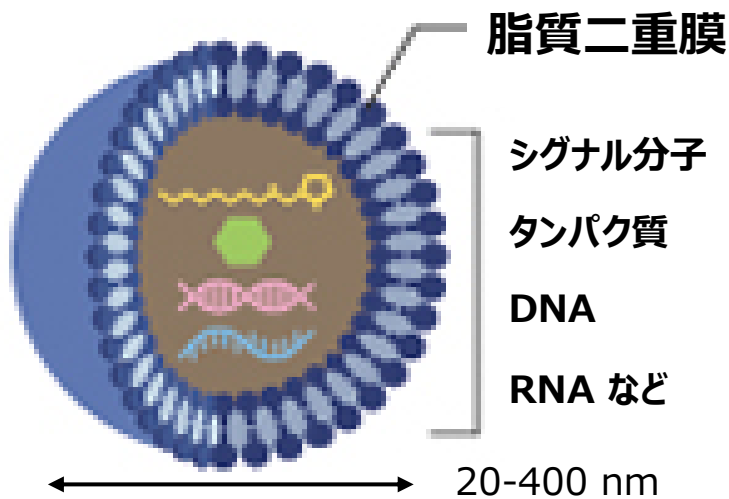
神戸大学 大学院 科学技術イノベーション研究科

特命助教 高 相昊

2023年10月19日

メンブレンベシクルって？

メンブレンベシクル (MV)



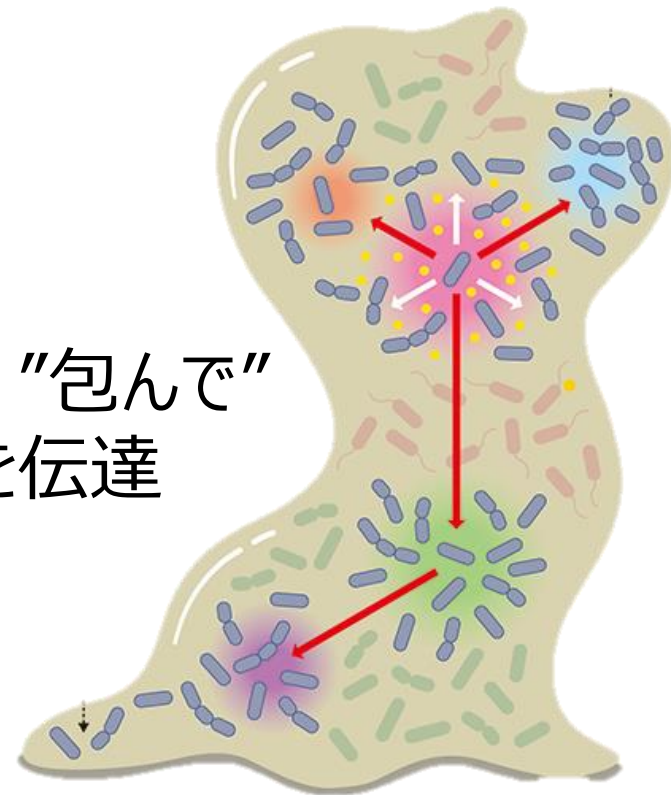
“情報”：タンパク質/核酸/シグナル物質
を運んで届ける「コミュニケーションツール」

MVの応用展開可能性

腸内細菌叢の活性化 = プレバイオティクス
土壌微生物の活性化 = 土壌改良剤 ...etc

バイオフィーム = 細菌のかたまり
(腸内細菌叢、口腔細菌叢、土壌微生物 など)

ベシクルに “包んで”
情報を伝達



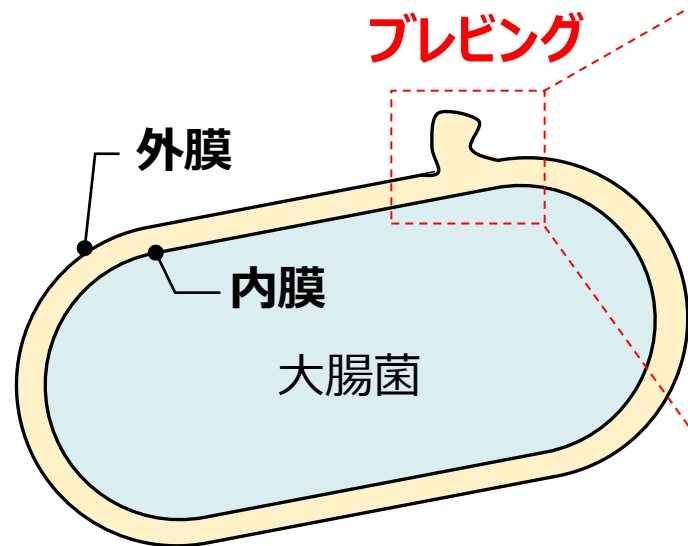
筑波大 豊福雅典先生「細菌社会の情報の運び役 メンブレンベシクル」
<https://www.brh.co.jp/publication/journal/095/research/1>
の図を一部改変引用

有用物質を含む「MVの内包生産技術」が求められている

既存のMV発生原理 ①

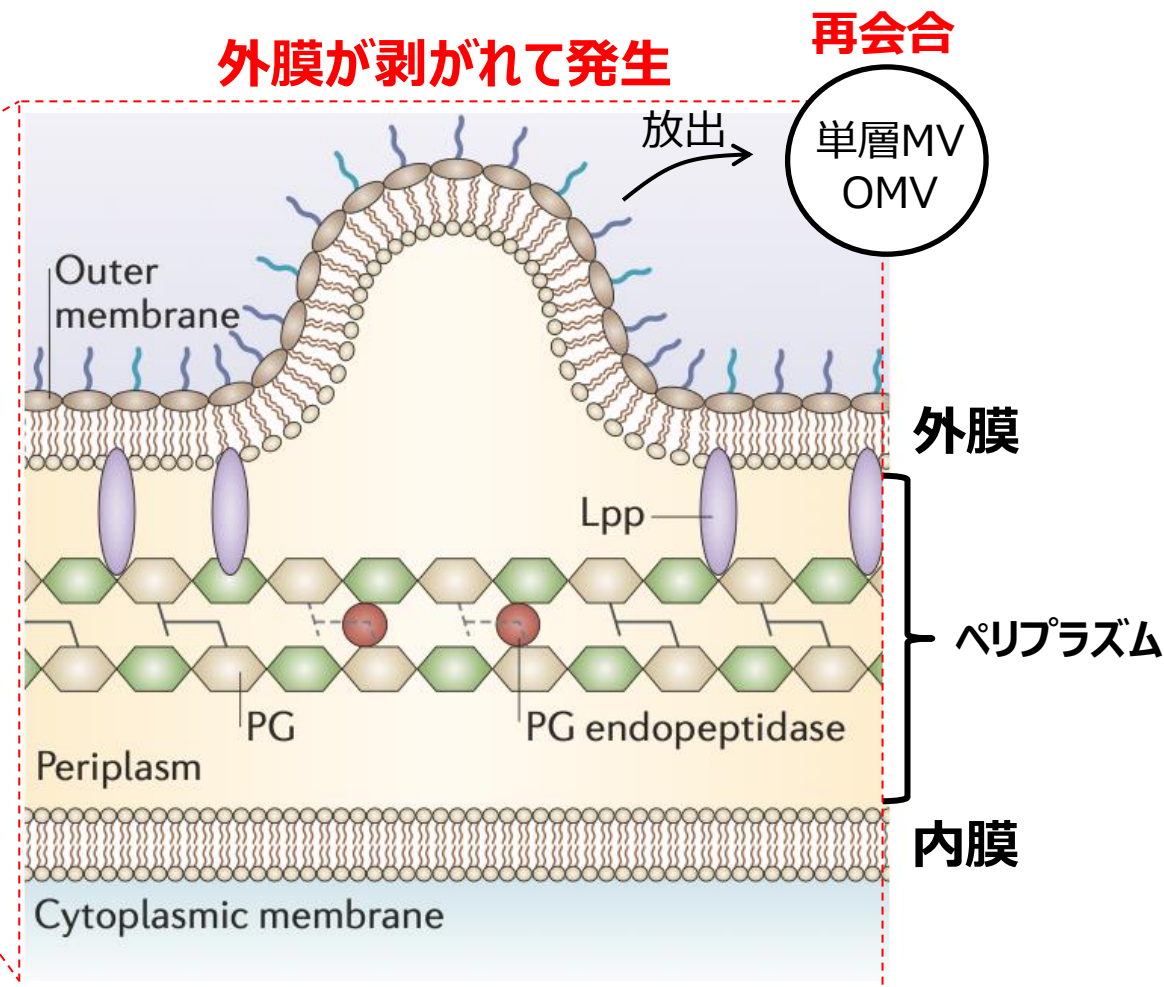
「ブレビング」

グラム陰性細菌 (大腸菌)



二重の膜：外膜 + 内膜

C. Schewechheimer et al., *Nat. Rev. Microbiology*, **13**, 605-619 (2015)
の図を一部改変引用



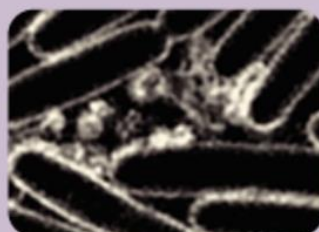
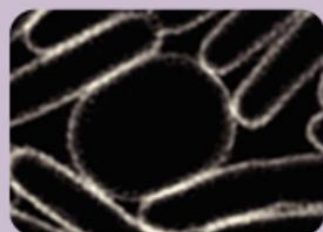
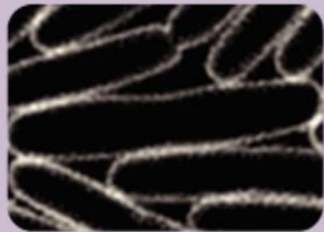
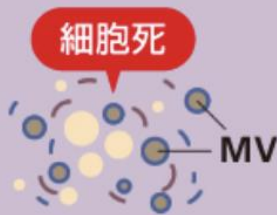
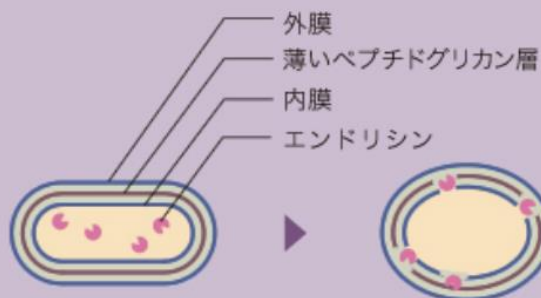
(問題点) 人為的な発生制御が困難

既存のMV発生原理 ②

「細胞の破裂」

グラム陰性細菌

細胞破裂型



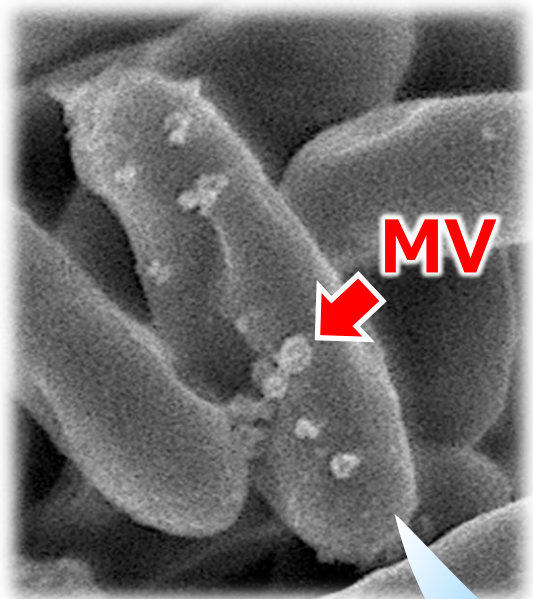
メリット： ON/OFFの切り替え
破裂（細胞死）を伴う
“一回性”のMV発生



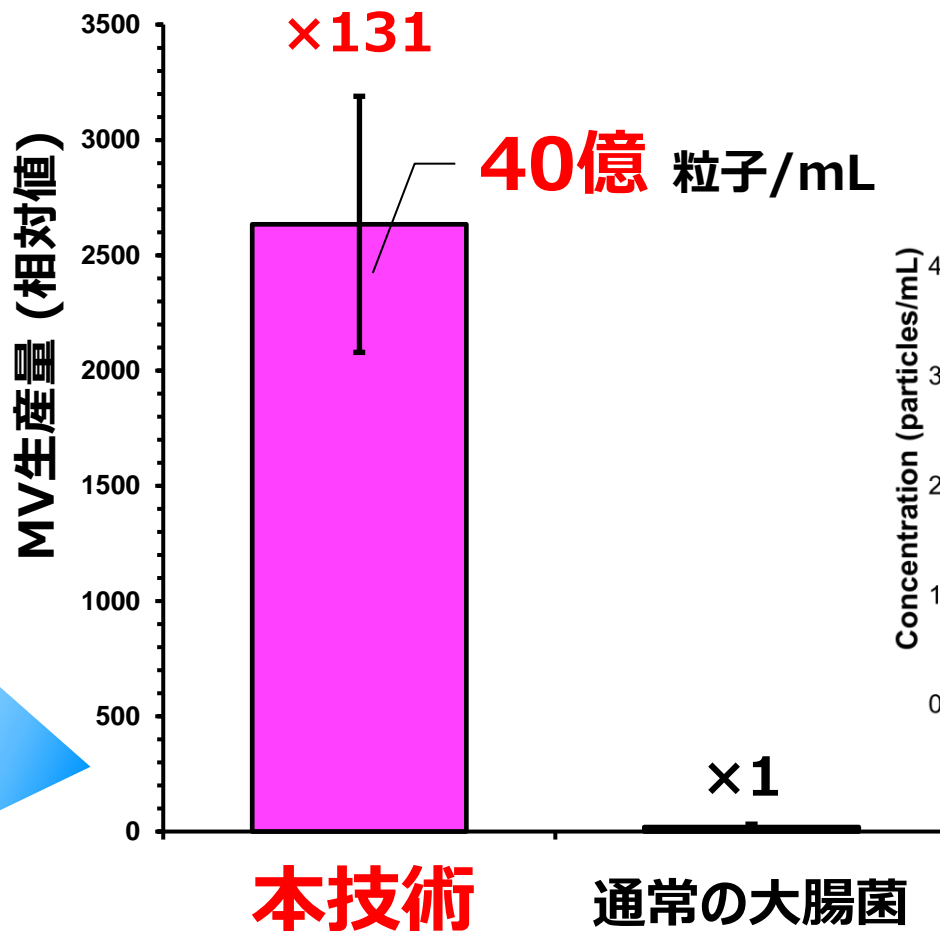
(問題点) MV連続生産に不向き

新技術の特徴 ①

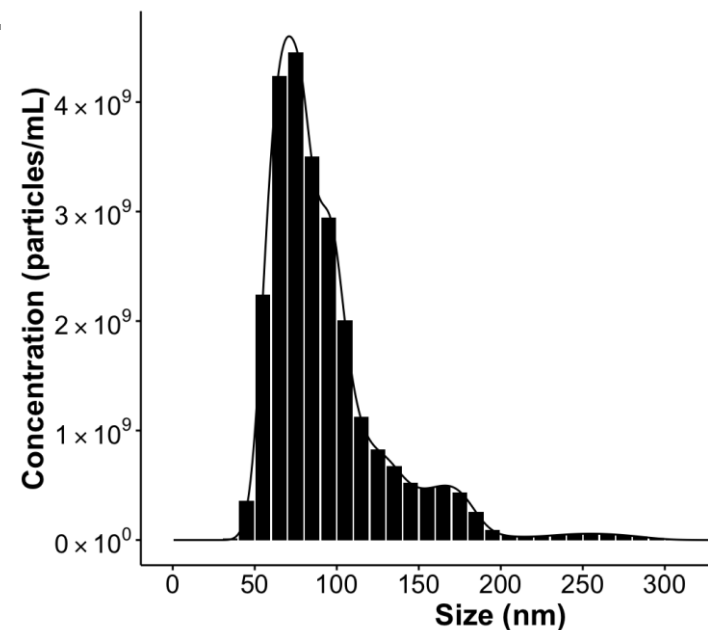
本技術 (大腸菌)



細胞は生きたまま
MV生産



サイズ均一
50-200 nm

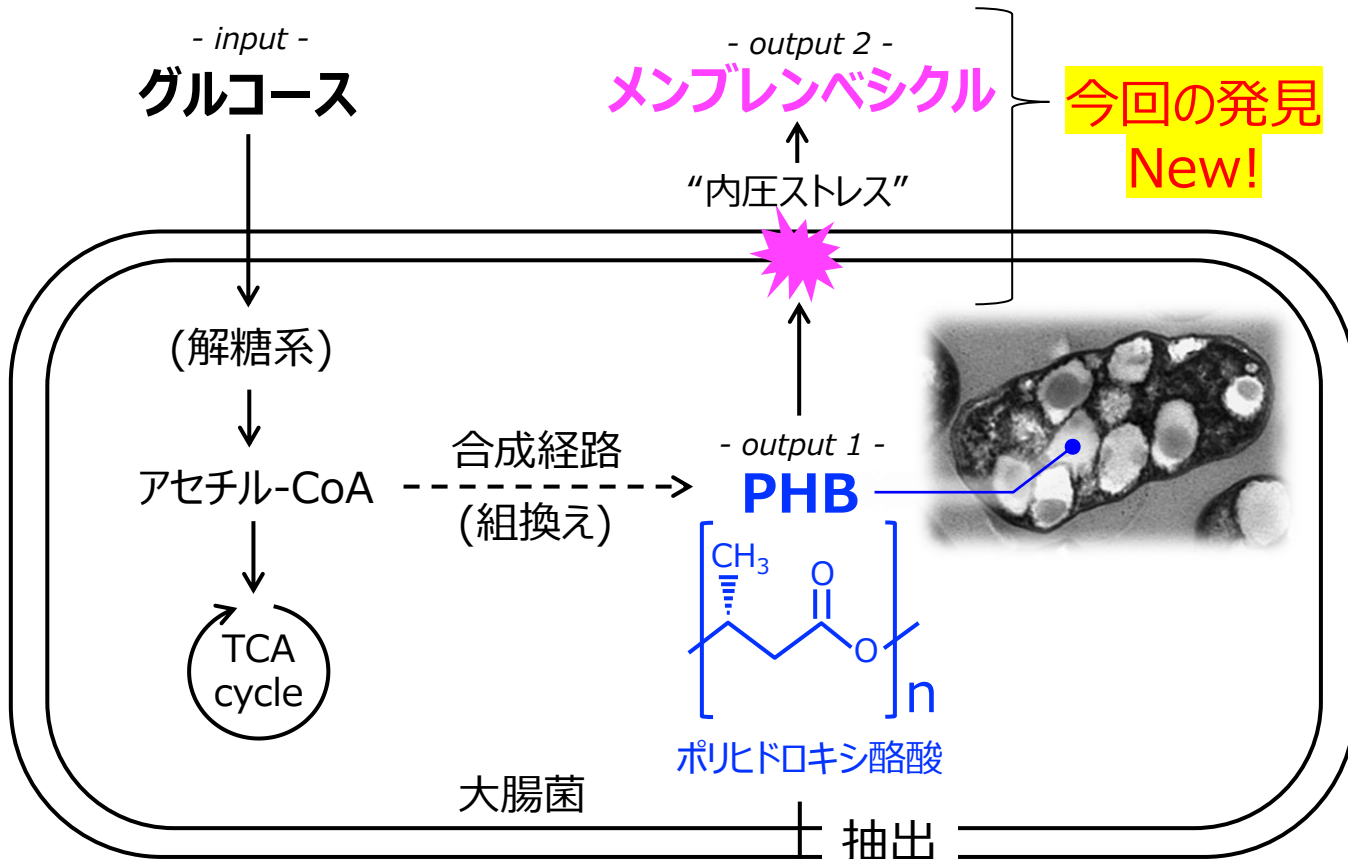


S. Koh et al., *Sci. Rep.*, 12, 3393 (2022).

“生きた細胞” からMVを “連続かつ大量に” 生産

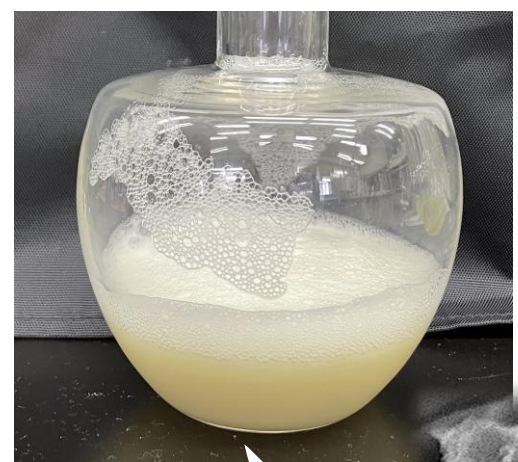
新技術の特徴 ②

～ トリックは「ポリマー合成」～

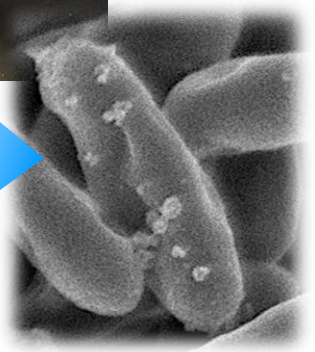


今回の発見
New!

この「泡」は何？



菌体を
観察してみると...



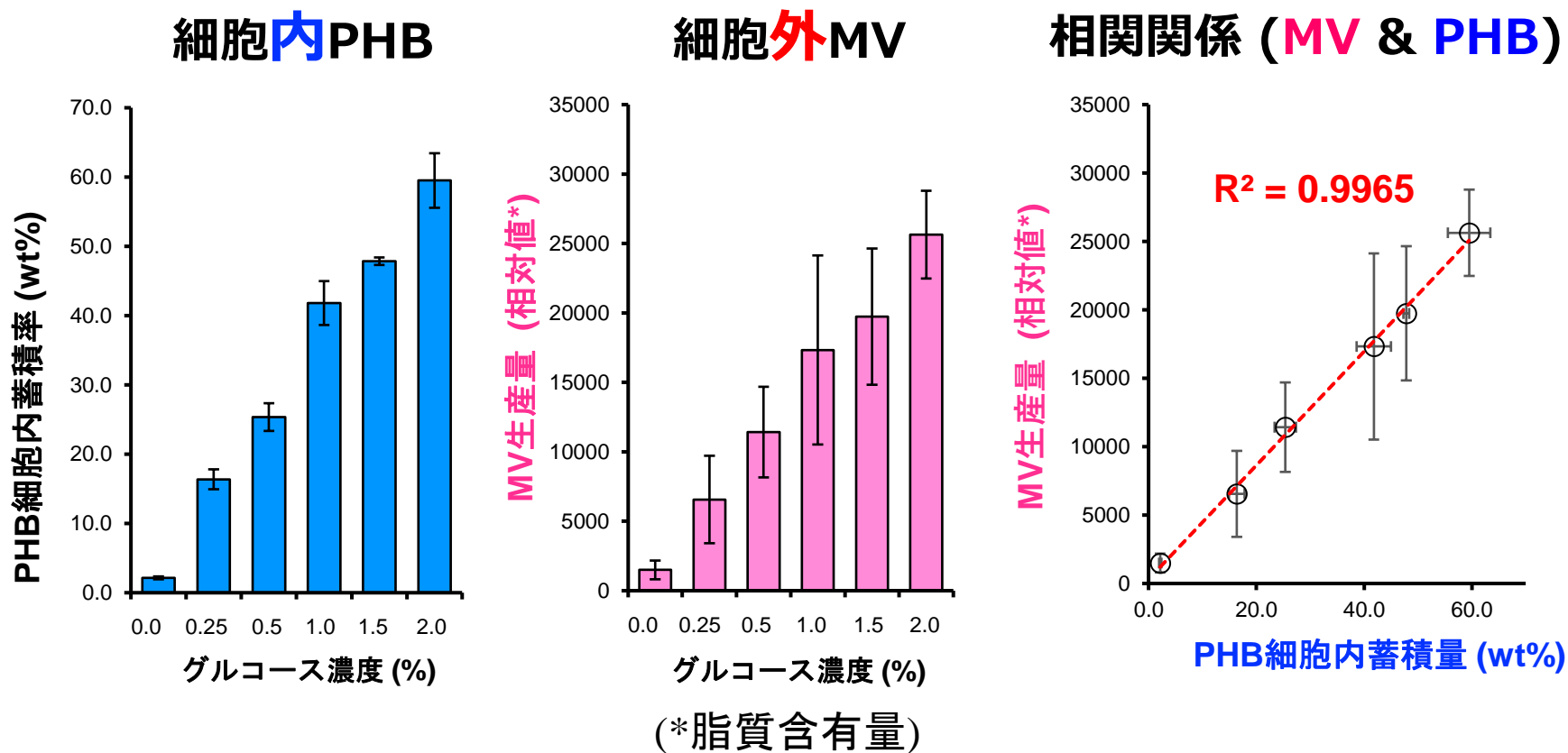
ポリマーの発酵生産培養の過程で
“偶然” 見つかった



“高付加価値” ポリマー & MV (オリゴマー入り) のダブル生産

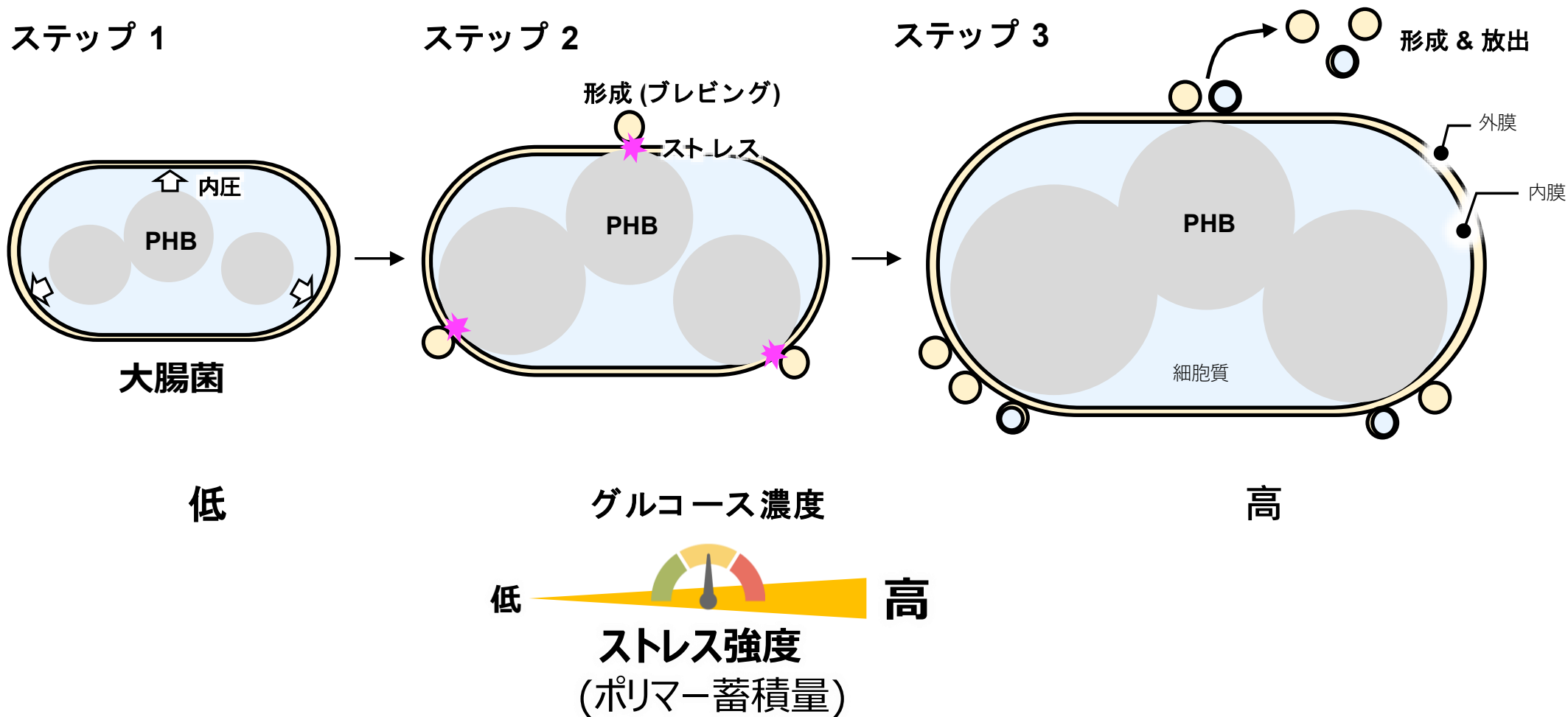
新技術の特徴 ③

グルコース濃度によってMV生産量を“精密に”コントロール可



S. Koh et al., *Sci. Rep.*, **12**, 3393 (2022).

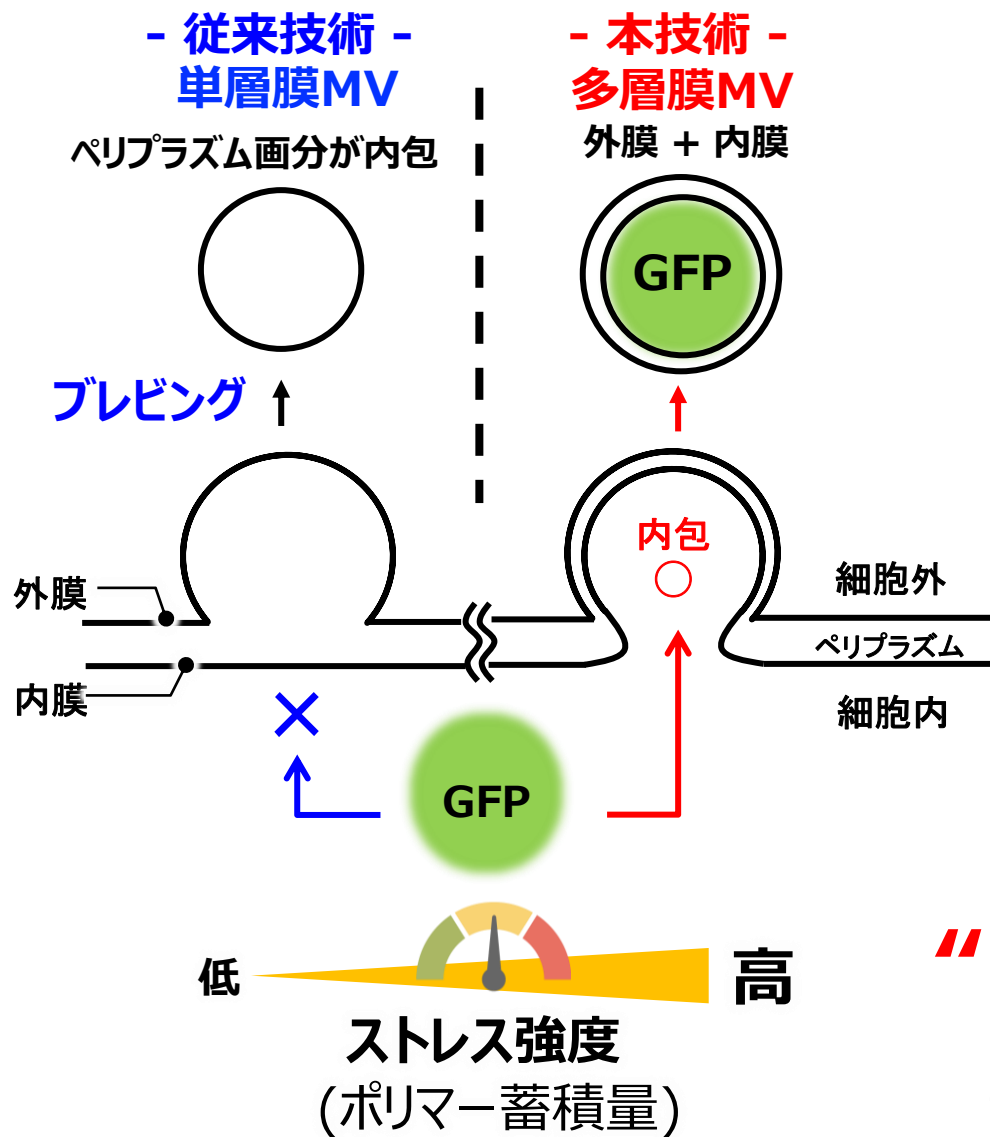
本MV発生メカニズム



グルコースによって精密調節可能なMV発生装置

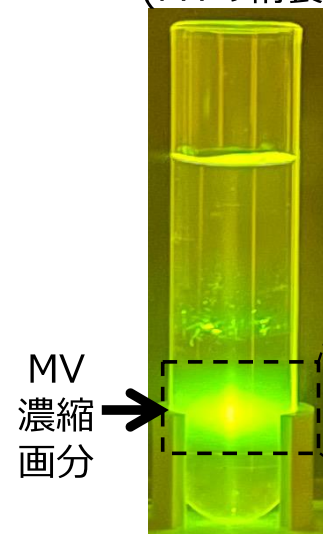
S. Koh et al., *Sci. Rep.*, 12, 3393 (2022).

実証：細胞内GFPの“濃密”内包分泌 (GFP：緑色蛍光タンパク質)

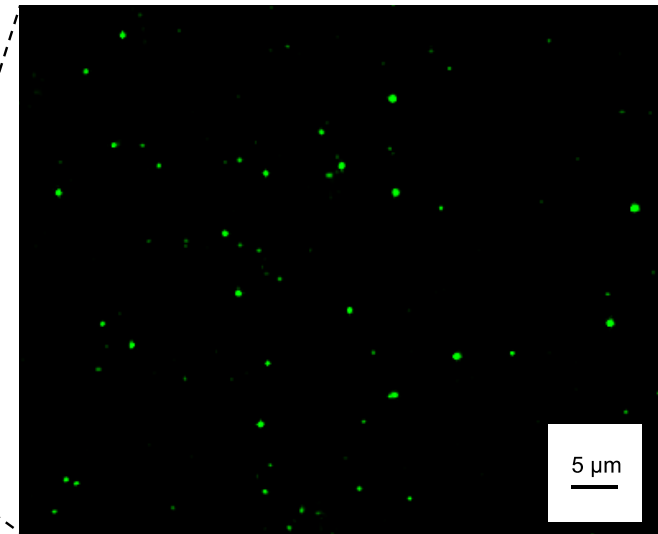


GFPをMVの中に“凝縮”

密度勾配超遠心
(MVの精製)



蛍光顕微鏡像
緑色蛍光ナノ粒子 = GFP内包MV

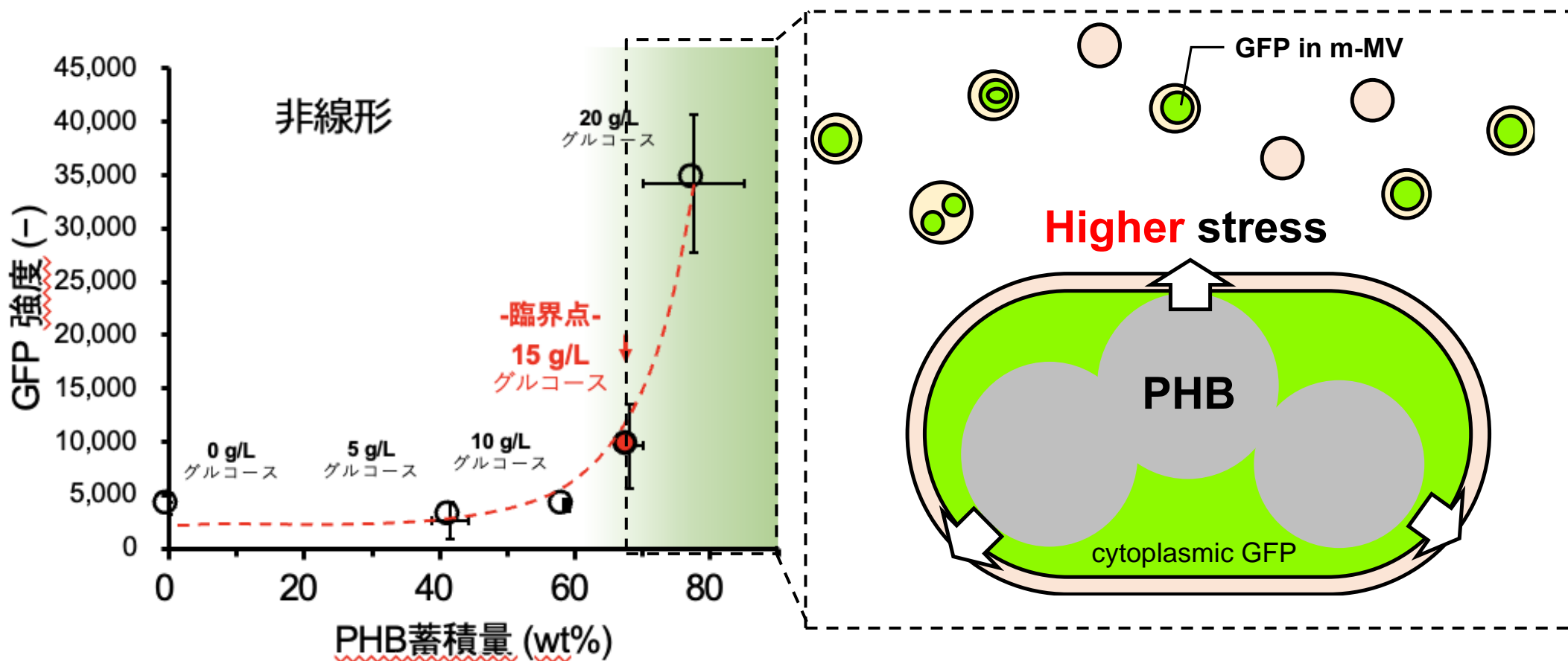


“生細胞”で連続培養可能！

S. Koh et al., *Appl. Microbiol.*, 3(3), 1027-1036 (2023).

新技術の特徴 ④

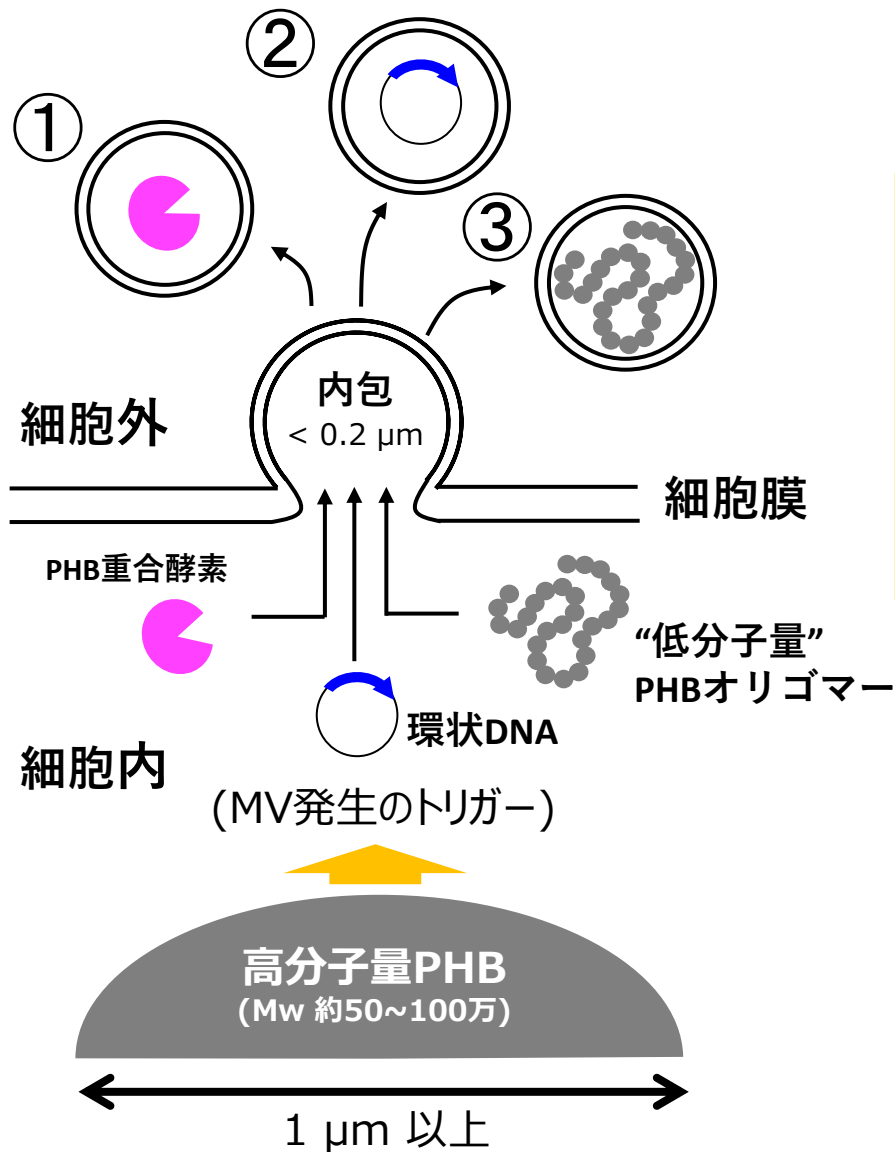
グルコース臨界点 (15 g/L) 以上で**多層膜MV**が発生



S. Koh et al., *Appl. Microbiol.*, 3(3), 1027-1036 (2023).

新技術の特徴 ⑤

蛋白質/核酸/脂肪酸エステル (オリゴマー) を収容可能



< 内包が確認されたもの >

- ① PHB合成酵素
- ② 環状プラスミドDNA
- ③ “低分子量” PHBオリゴマー (Mw 約3千)

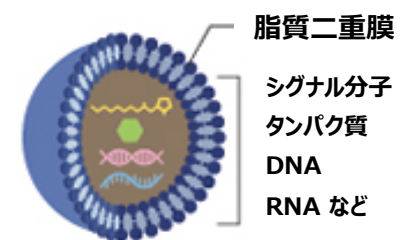
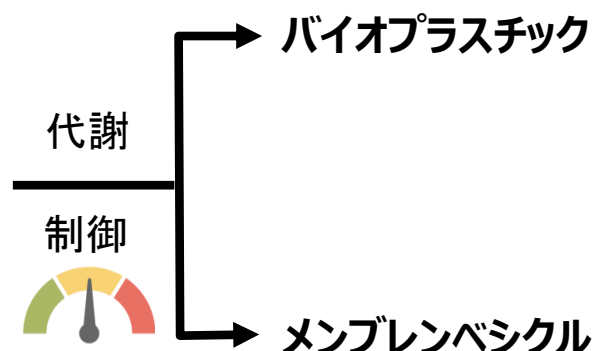
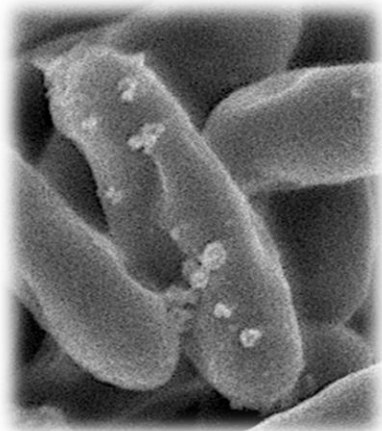
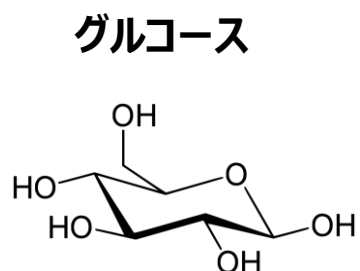
(特願 2023-030519)

新技術のアドバンテージ

- ① “**生きた細胞から**” “**連続的に**” MVを安定生産
- ② “**安価なグルコース**” から “**高付加価値**” ポリマー&MVのダブル生産
- ③ グルコースの添加量でMV生産量を自在に “**コントロール**”
- ④ 細胞質内の “**有用物質**” を濃縮し、MVで細胞外に**分泌生産**可能
- ⑤ 核酸/蛋白質/脂肪酸エステル (オリゴマー) を収容可能

< 安価な原料 >

< 高付加価値物質 >



本技術の応用アイデア①（食品）

< 先行研究：プレバイオティクス >

- ① 「ケトン体：ヒドロキシ酪酸」がヒト腸内細菌を活性化
- ② その重合体であるポリヒドロキシ酪酸 (PHB) でも、効果有り

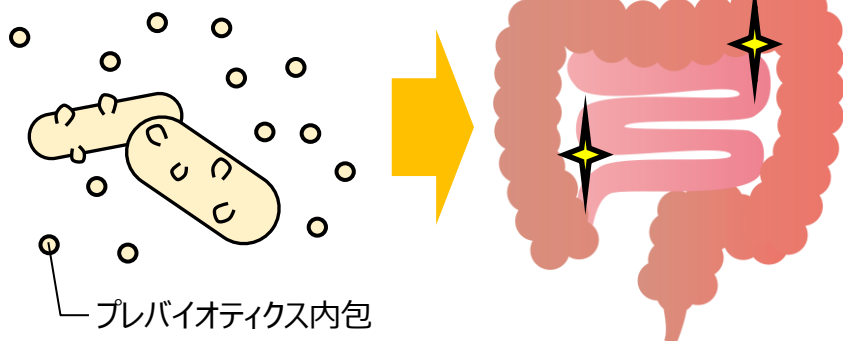
1. Miyamoto J et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, **116**(47):23813-23821 (2019).
2. Fernández J et al. *Int. J. Biol. Macromol.* **203**:638-649 (2022).

< 腸内フローラの高活性化：プレバイオティクス封入MV >

プレバイオティクス内包MV

産生細菌

腸活



プロバイオティクスへのMV応用
→ 「有用微生物」への実装

MVカプセルによる
“分解安定性” & “濃縮効果” に期待

本技術の応用アイデア② (環境)

< 先行研究：プラスチック生分解研究 >

プラスチックの生分解には、
プラ基盤上のバイオフィルム “プラステイスフィア” の形成が「鍵」

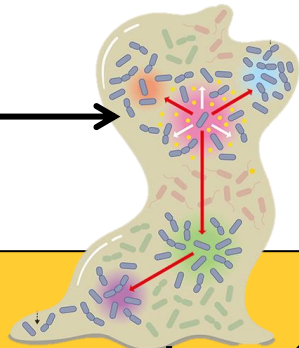
Suzuki M. et al. Polym. J. ,53:47-66 (2021).

< プラスチックゴミ問題解決に資する “分解酵素剤” 開発 >

シグナル分子 + 分解酵素

“濃縮”

プラステイスフィア



プラスチック

分解

“生プラ分解” のMV内包

バイオフィルム形成促進 + 生プラ分解促進

(シグナル分子)

(分解酵素)

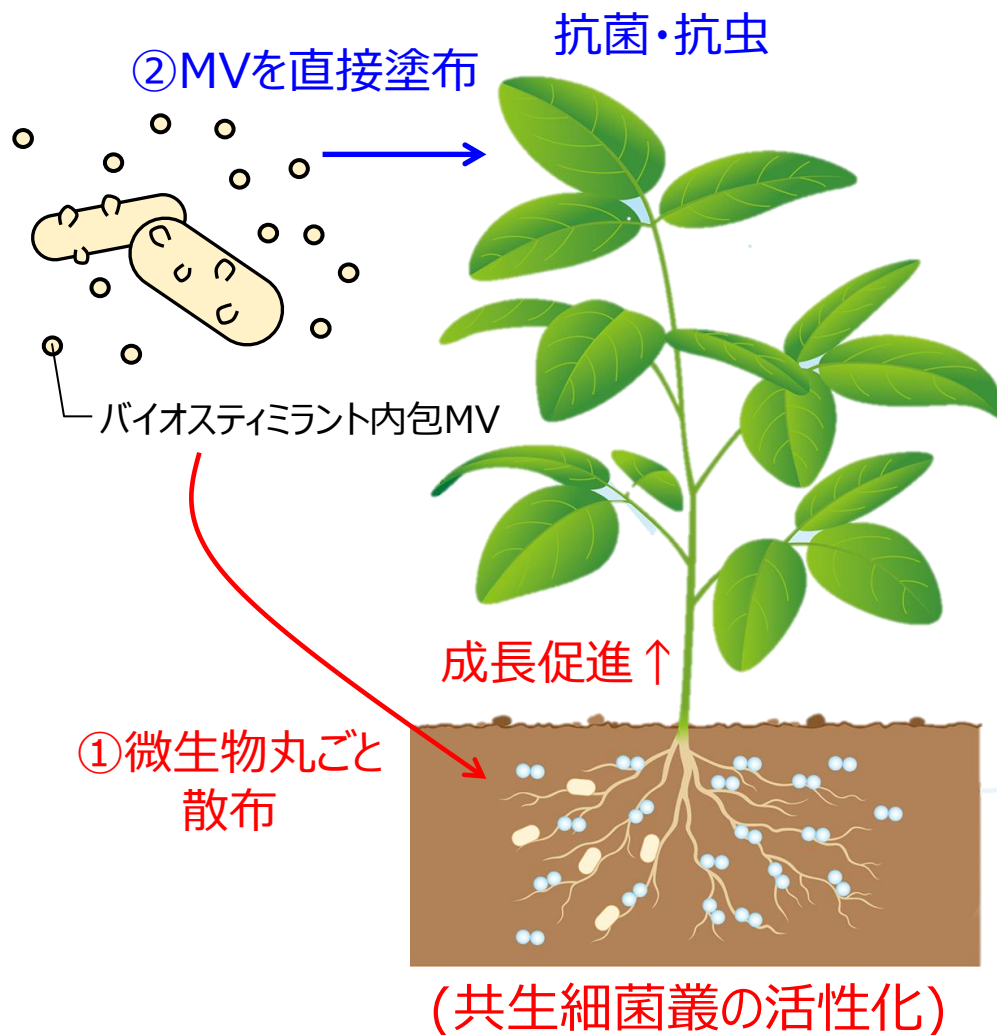


MVカプセル化

プラスチックの“高速分解”

本技術の応用アイデア③ (農業)

< 農業用バイオスティミラント剤 >



- 用途 -

- ① 土壌改良：共生細菌叢の活性化
- ② 抗菌剤・抗虫剤

バイオ
スティミラント

ペプチド・核酸・酵素
低分子PHBオリゴマーなど

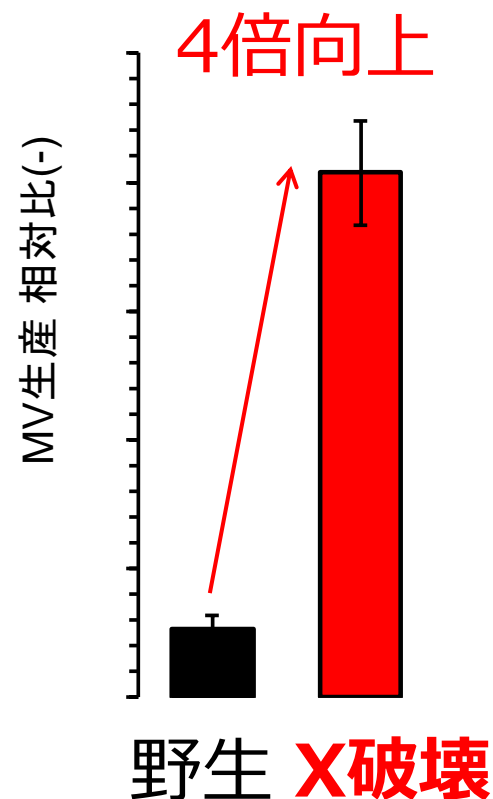


MVカプセルによる
“分解安定性” & “濃縮効果”に期待

実用化への課題

① MVのさらなる大量生産技術の確立

宿主ゲノムDNAへの変異導入（遺伝子X破壊）
によってMV過剰生産（現在、さらに、探索中）



② 大腸菌以外への他の「有用微生物」への展開

地道に、実施例を増やしていく

企業への期待

- 前述のアイディアにまつわる
“食品” ・ “環境” ・ “農業” 分野などでの
共同研究を募集
- このほかのアイディアもございましたら、
いつでも歓迎します。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : メンブランベシクルの生産方法及びメンブランベシクルを利用した物質生産方法
- 出願番号 : 特願2023-030519
- 出願人 : 神戸大学
- 発明者 : 田口精一、高相昊

お問い合わせ先

神戸大学

産官学連携本部 産学連携・知財部門

TEL 078 - 803 - 5945

FAX 078 - 803 - 5389

e-mail oacis-sodan@office.kobe-u.ac.jp