膜タンパク質搭載エンベロープ型人エウイルスレプリカの構築と 機能解析

(鳥取大院工¹・京大院工²) 〇古川 寛人¹・稲葉 央¹・佐々木 善浩²・秋吉 一成²・ 松浦 和則¹

Construction and functional analysis of enveloped artificial viral replica equipped with membrane proteins (¹*Graduate School of Engineering, Tottori University*, ²*Graduate School of Engineering, Kyoto University*) \bigcirc Hiroto Furukawa,¹ Hiroshi Inaba,¹ Yoshihiro Sasaki,² Kazunari Akiyoshi,² Kazunori Matsuura¹

We have demonstrated that β -annulus peptide derived from tomato busy stunt virus (TBSV) selfassembled into artificial viral capsid in water, which can encapsulate some guest macromolecules and can be modified with some functional materials on the surface.¹⁾ Recently, we have succeeded in constructing the enveloped viral capsid by complexing with anionic artificial viral capsid and lipid bilayer comprising of DOTAP/DOPC by a hydration method.²⁾ In this study, we showed that the intracellular uptake of DOTAP/DOPC enveloped capsid increased than of unmodified capsid (Fig. 1). Furthermore, we constructed enveloped artificial viral replica equipped with membrane protein Connexin43 (Cx43) by using cell-free protein expression system (Fig. 2a). Interestingly, TEM image of the Cx43-equipped artificial viral replica showed formation of contacted spherical assemblies, which indicates formation of gap junction structures between Cx43 on the enveloped capsids (Fig. 2b). *Keywords : β-Annulus peptide; Artificial viral capsid; Envelope; Self-assembly; Membrane protein*

我々はこれまで、TBSV 由来βAnnulus ペプチドの自 己集合により人工ウイルスキャプシドの形成に成功 している¹⁾。また最近、カチオン性 DOTAP/DOPC とβ Annulus-EE ペプチドからなるアニオン性キャプシド の静電相互作用により脂質二分子で覆われたエンベ ロープ型人工ウイルスキャプシドの構築に成功した ²⁾。本研究では、まず蛍光修飾エンベロープ型キャプシ ドをヒト肝癌由来細胞 HepG2 細胞への導入を CLSM 観察により評価した。その結果、キャプシド単体や DOPC のみで複合化させたものに比べ、細胞導入効率 の大幅な向上が確認された(Fig 1)。また、無細胞タン パク質発現系 PURE system により膜タンパク質 Connexin43 (Cx43)を搭載させたエンベロープ型人工 ウイルスレプリカを構築した(Fig. 2a)。ウエスタンブ ロットにより Cx43 の発現が、蛍光相関分光測定・TEM

観察により膜上へのCx43の 搭載が確認された。さらに、 Cx43の発現量を増やすと、 Cx43間でギャップジャンク ション構造を形成したよう な TEM 像が観察され、Cx43 の機能が維持されて搭載さ れていることが示唆された (Fig. 2b)。



Figure 1. Fluorescence intensity derived from TAMRA-labeled capsids inside HepG2 cells (N= 20). (Right) DOPC complexed capsid, (Middle) capsid, (Left) DOTAP/DOPC enveloped capsid.



Figure 2. (a) Schematic illustration and (b) TEM image of artificial viral replica equipped with Connexin43. The sample was stained with EM stainer.

K. Matsuura, Chem. Commun. (Feature Article), 54, 8944 (2018)
H. Furukawa, H. Inaba, F. Inoue, Y. Sasaki, K. Akiyoshi, K. Matsuura, Chem. Commun., 56, 7092-7095 (2020)