

蛍光相関分光による分子クラウディング環境下での人工ウイルスキャプシド形成の解析

(鳥大院工) ○小林 利沙子・稲葉 央・松浦 和則

Fluorescence correlation spectroscopic analysis of formation of artificial viral capsids under molecular crowding conditions (*Graduate School of Engineering, Tottori University*) ○ Risako Kobayashi, Hiroshi Inaba, Kazunori Matsuura

Natural viral capsids are formed by self-assembly of proteins in molecular crowding environments such as host cell. We have developed artificial viral capsid with the size of 30-50 nm self-assembled from 24-mer β -annulus peptide fragment derived from tomato bushy stunt virus. Here, we report fluorescence correlation spectroscopy (FCS) analysis of artificial viral capsids formed by co-assembly of BODIPY-labeled β -annulus and β -annulus peptides under molecular crowding conditions (Fig. 1). The dissociation constants of capsids under molecular crowding conditions were greatly reduced than that in buffer. The exclusion volume effect of the high molecular weight PEG promoted the formation of capsids, but made the diameter reduced.

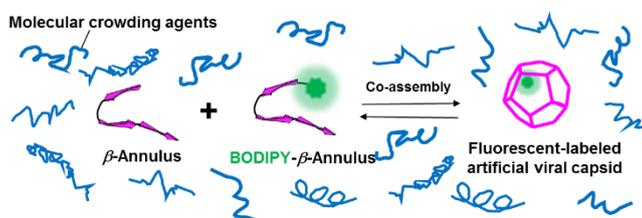
Keywords : Artificial viral capsid; Co-assembly; Molecular crowding; Fluorescence correlation spectroscopy

近年、自己集合性タンパク質ナノカプセルとして注目されている球状ウイルスキャプシドの希薄水溶液中の自己集合過程の解析が進められている¹⁾。しかし、細胞内のように生体分子が高密度に存在する分子クラウディング環境下でのキャプシドの自己集合過程の定量的なその場解析は行われていない。我々は、水中で TBSV 由来 β -Annulus ペプチド (INHVGTTGGAIMAPVAVTRQLVGS) の自己集合により人工ウイルスキャプシドを創製してきた²⁾。本研究では、Polyethylene glycol(PEG) や Glycerol を用いた分子クラウディング環境下における人工ウイルスキャプシドの形成挙動を蛍光相関分光法(FCS)によって解析した。その結果、クラウディング剤を添加することで、解離定数が希薄水溶液中と比べて大きく減少した。PEG の濃度・分子量に依存して、排除体積効果によりキャプシド形成が促進されることがわかった。さらに、PEG 濃度に依存してキャプシドの見かけの粒径は減少した。

近年、自己集合性タンパク質ナノカプセルとして注目されている球状ウイルスキャプシドの希薄水溶液中の自己集合過程の解析が進められている¹⁾。しかし、細胞内のように生体分子が高密度に存在する分子クラウディング環境下でのキャプシドの自己集合過程の定量的なその場解析は行われていない。我々は、水中で TBSV 由来 β -Annulus ペプチド (INHVGTTGGAIMAPVAVTRQLVGS) の自己集合により人工ウイルスキャプシドを創製してきた²⁾。本研究では、Polyethylene glycol(PEG) や Glycerol を用いた分子クラウディング環境下における人工ウイルスキャプシドの形成挙動を蛍光相関分光法(FCS)によって解析した。その結果、クラウディング剤を添加することで、解離定数が希薄水溶液中と比べて大きく減少した。PEG の濃度・分子量に依存して、排除体積効果によりキャプシド形成が促進されることがわかった。さらに、PEG 濃度に依存してキャプシドの見かけの粒径は減少した。

1) 中村陽子, 松浦和則, *化学*, **73**(5), 72 (2018)

2) K. Matsuura, *Chem. Commun.* (Feature Article), **54**, 8944 (2018)



	K_d [μ M]
10mM Tris-HCl buffer(pH 7.0)	45.0
5wt% Glycerol	21.6
5wt% PEG ₄₀₀	15.1
5wt% PEG ₂₀₀₀	14.4
10wt% PEG ₂₀₀₀	6.69
15wt% PEG ₂₀₀₀	4.24

Fig 1. Dissociation constants of BODIPY-labeled artificial viral capsid under molecular crowding conditions.