

コネキシン搭載エンベロープ型ウイルスレプリカを用いたリポソーム・細胞への分子輸送

(鳥取大院工¹・京大院工²) ○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

Molecular transport from enveloped viral replica embedded with connexin into liposomes and cells. (¹Graduate School of Engineering, Tottori University, ²Graduate School of Engineering, Kyoto University) ○Hiroto Furukawa,¹ Hiroshi Inaba,¹ Yoshihiro Sasaki,² Kazunari Akiyoshi,² Kazunori Matsuura¹

We have demonstrated that β -annulus peptide derived from tomato bushy stunt virus (TBSV) self-assembled into artificial viral capsid in water, which can encapsulate some guest macromolecules and can be modified with some functional materials on the surface.¹⁾ Previously, we have succeeded in constructing the enveloped viral capsid by complexing cationic lipid bilayer with anionic artificial viral capsid self-assembled from β -annulus-EE peptides. Membrane protein connexin-43 (Cx43) is a four-fold transmembrane protein that forms gap junction structures to transport molecules between cells. In this study, we constructed enveloped artificial viral replica embedded with Cx43 by using cell-free protein expression system and demonstrated molecular transport from the viral replica into Cx43-expressing liposomes and HepG2 cells through gap junctions.

Keywords : β -Annulus peptide; Artificial Viral Capsid; Envelope; Self-assembly; Membrane Protein

我々はこれまで、水中で TBSV 由来 β -Annulus ペプチドの自己集合により人工ウイルスキャプシドを創製している¹⁾。また、カチオン性脂質とアニオン性キャプシドの静電相互作用によりエンベロープ型人工ウイルスキャプシドの構築にも成功している²⁾。本研究では、無細胞タンパク質発現により膜タンパク質コネキシン(Cx43)を搭載させたエンベロープ型ウイルスレプリカを構築し、Cx43 間のギャップジャンクション構造を介した Cx43 発現ジャイアントリポソームや細胞内への物質輸送を検討した(Fig. 1)³⁾。ウエスタンブロッティング、蛍光標識抗 Cx43 抗体添加後の蛍光相関分光測定、金ナノ粒子標識二次抗体添加後の TEM 観察によりエンベロープ上への Cx43 の搭載が確認された。さらに、蛍光色素を内包した Cx43 搭載エンベロープ型ウイルスレプリカを Cx43 発現 GUV 及び HepG2 細胞に添加すると、Cx43 を介してジャイアントリポソームおよび細胞内へ 5-TMR が輸送されていることが CLSM 観察により確認された。

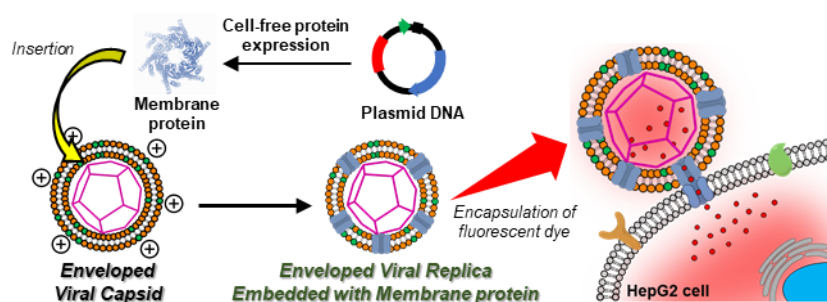


Figure 1. Schematic illustration of construction of enveloped viral replica embedded with Connexin-43 and transportation of fluorescent dye into HepG2 cell.

ウエスタンブロッティング、蛍光標識抗 Cx43 抗体添加後の蛍光相関分光測定、金ナノ粒子標識二次抗体添加後の TEM 観察によりエンベロープ上への Cx43 の搭載が確認された。さらに、蛍光色素を内包した Cx43 搭載エンベロープ型ウイルスレプリカを Cx43 発現 GUV 及び HepG2 細胞に添加すると、Cx43 を介してジャイアントリポソームおよび細胞内へ 5-TMR が輸送されていることが CLSM 観察により確認された。

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

2) H. Furukawa, H. Inaba, F. Inoue, Y. Sasaki, K. Akiyoshi, K. Matsuura, *Chem. Commun.*, **56**, 7092 (2020)

3) H. Furukawa, H. Inaba, Y. Sasaki, K. Akiyoshi, K. Matsuura, *RSC Chem. Biol.*, DOI: 10.1039/D1CB00166C (2022)