

エンベロープ型ウイルスを模倣した脂質修飾ペプチドナノカプセルを『合成分子のみから創る』ことに世界で初めて成功！

【概要】

鳥取大学工学部化学バイオ系学科の松浦和則教授と大学院生の古川寛人さんらの研究グループは、京都大学大学院工学研究科の佐々木善浩准教授・秋吉一成教授らの研究グループとの共同研究により、エンベロープ型ウイルスを模倣した脂質修飾ペプチドナノカプセルを「合成分子のみから創る」ことに世界で初めて成功しました（図1）。

インフルエンザウイルスやコロナウイルスのような「エンベロープ型ウイルス」は、核酸とタンパク質からなる複合体を脂質二分子膜が覆った複雑な構造をとっていますが、これまでそのような構造を化学的に創ることはできませんでした。本研究では、負電荷を有するウイルス由来ペプチドの集合体と正電荷を有する脂質からなるリポソーム*1を複合化させることで、エンベロープ型ウイルスのような脂質修飾ペプチドナノカプセルを合成分子のみから創ることに成功しました。また、この脂質修飾ペプチドナノカプセルは、ペプチド集合体のみや、リポソームのみの場合と比較して、粒径が均一で安定性も高いことが示されました。本成果により、薬物送達材料やウイルスに対するワクチン開発のための材料としての応用が期待されます。

本研究成果は、日本学術振興会 科学研究費助成事業 基盤研究 B（18H02089）の支援により得られたもので、2020年5月28日に英国王立化学会(Royal Society of Chemistry)が発行する「Chemical Communications」誌（インパクトファクター＝6.16）のオンライン版に掲載されました。

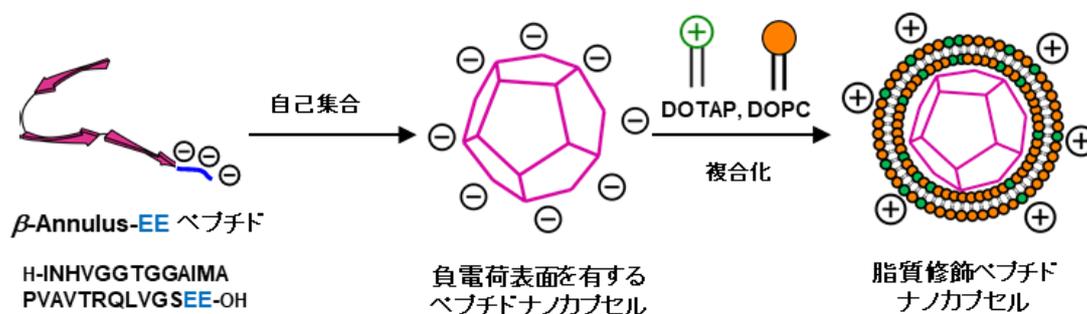


図1. ウイルス由来β-アニュラスペプチドの自己集合により形成される負電荷を有するペプチドナノカプセルを、正電荷を有するリポソームで被覆することで「脂質修飾ペプチドナノカプセル」を構築した。

(参考資料)

【研究背景】

天然のウイルスは、非常に精巧に作られた 20~100 nm 程度の大きさ・形状が明確に決まった球状や棒状のナノ構造体です。比較的単純なウイルスは、遺伝情報を司る核酸（DNA や RNA）をタンパク質の集合体（キャプシド）が被覆した「ヌクレオキャプシド」と呼ばれる構造をとっています。また、より複雑な構造をもつインフルエンザウイルスや HIV、コロナウイルスなどの「エンベロープ型ウイルス」では、ヌクレオキャプシド構造の表面を脂質二分子膜が覆っています（図 2）。このようなウイルス構造から核酸を除いた構造は、均一な大きさの空洞を有する「ナノカプセル」であることから、薬物送達材料などのナノサイズの入れ物として近年注目を集めています。このようなウイルス類似ナノ構造体を構築するには、宿主細胞にウイルスを感染・培養するなどのプロセスが必要でした。しかし、**これまで、エンベロープ型ウイルスのような脂質で覆われた均一な大きさのナノカプセルを「合成分子のみ」から構築した例はありませんでした。**

これまでに本研究グループでは、植物ウイルスであるトマトブッシュスタントウイルスの内部骨格形成ペプチド（ β -アニュラスペプチド）を化学合成し、その自己集合により 50 nm 程度の「人工ウイルスキャプシド」を構築することに成功しています。この人工ウイルスキャプシドは天然のウイルスのような感染能・増殖能は無く、内部には DNA・タンパク質・無機ナノ粒子などの様々な物質を内包でき、外部表面にタンパク質などの機能分子を修飾することもできます。本研究では、この β -アニュラスペプチドからなる人工ウイルスキャプシドに脂質を被覆することにより、エンベロープ型ウイルスのような脂質修飾ペプチドナノカプセルを「合成分子のみ」から構築することにチャレンジしました。

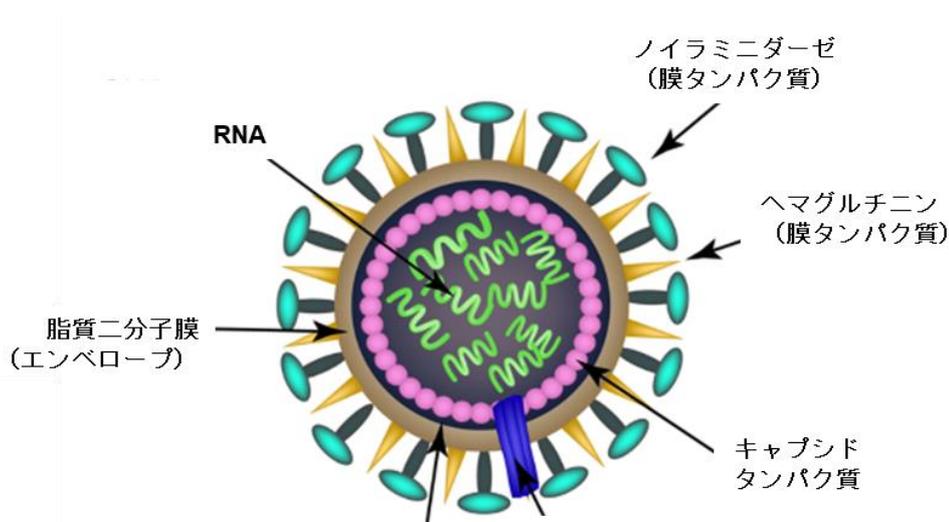


図 2. エンベロープ型ウイルスの一種であるインフルエンザウイルスの構造

【研究内容】

本研究では、人工ウイルスキャプシドの外部表面に配向している β -アニュラスペプチドのC末端側に負電荷を有するグルタミン酸を2つ配置した24残基ペプチドを設計し、Fmoc固相合成法により合成しました。これを水中で自己集合させると、直径約67 nmの人工ウイルスキャプシドが形成され(図3左)、その表面電位はマイナスの値となりました。この負電荷を有する人工ウイルスキャプシドに、正電荷を有する脂質(DOTAP)と両イオン性の脂質(DOPC)を1:10で混合したリポソームを静電相互作用で複合化させると、直径約84 nmの球状の複合体が形成されました(図3中央)。透過型電子顕微鏡(TEM)により、この複合体の表面に脂質二分子膜の厚みに相当する6~12 nmの層の存在が確認され、表面電位がプラスになっていることから、脂質で覆われたことが確認されました。この脂質修飾ペプチドナノカプセルの粒径分布は、リポソーム単独の粒径分布(図3右)よりも明らかに狭く、均一なナノ構造体を形成していることがわかりました。また、脂質と β -アニュラスペプチドにそれぞれ異なる蛍光色素をラベル化して脂質修飾ペプチドナノカプセルを構築すると、蛍光共鳴エネルギー移動(FRET) *2が効率よく観測された(図4)ことから、ペプチド集合体に脂質が被覆された構造であることが確認されました。また、興味深いことに、負電荷を有する人工ウイルスキャプシドと脂質修飾ペプチドナノカプセルの臨界会合濃度(CAC) *3を比較すると、脂質修飾ペプチドナノカプセルの方が100倍低濃度でもナノ構造体を形成することがわかりました(図5)。つまり、**静電相互作用を介して脂質を被覆することにより、ペプチドナノカプセル構造(人工ウイルスキャプシド)が安定化された**と言えます。

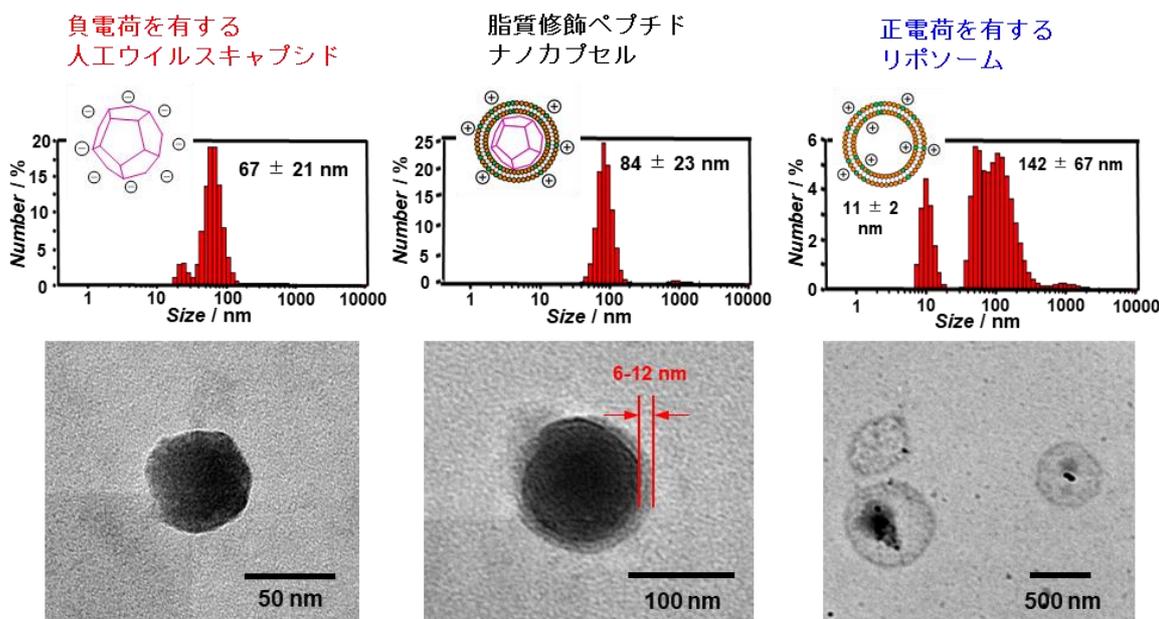


図3. 負電荷を有する人工ウイルスキャプシド(左)、脂質修飾ペプチドナノカプセル(中央)、正電荷を有するリポソームの粒径分布および透過型電子顕微鏡像。

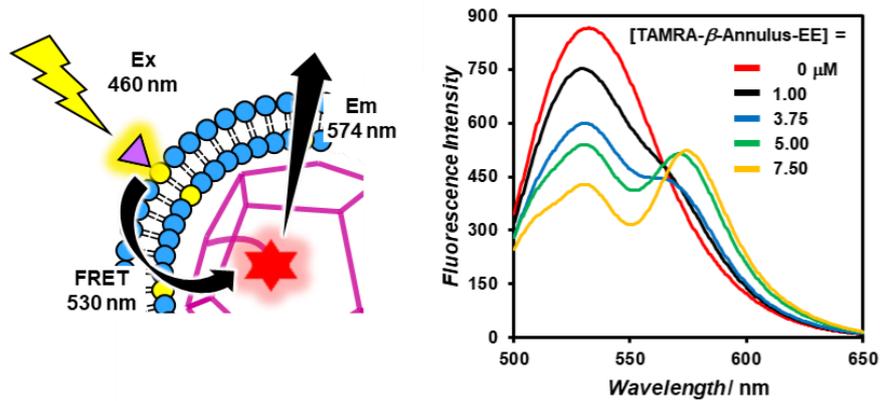


図4. 脂質修飾ペプチドナノカプセル上での蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) 測定。ペプチド集合体に脂質が被覆された構造であることがわかる。

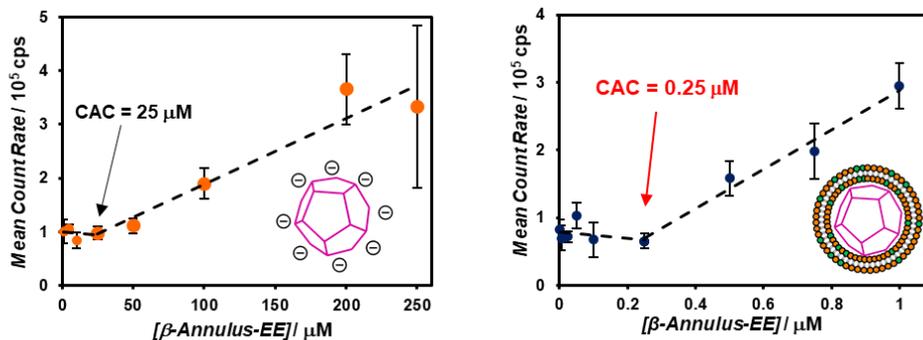


図5. 負電荷を有する人工ウイルスキャプシド (左) と脂質修飾ペプチドナノカプセル (右) の臨界会合濃度 (CAC) の比較。脂質修飾ペプチドナノカプセルの方が 100 倍安定であることがわかる。

【今後の展開】

本研究では、エンベロープ型ウイルスを模倣して、粒径が均一で安定な脂質被覆ペプチドナノカプセルを合成分子のみから創ることに成功しました。今後、様々な膜タンパク質 (例えば、インフルエンザウイルスのヘマグルチニン等) を脂質二分子膜に搭載することで、「ウイルスレプリカ」を合成し、**薬物送達材料・ウイルス感染研究のモデル材料・ウイルスに対するワクチン開発のための材料としての応用**を目指して研究を展開していきます。

【用語解説】

*1 リポソーム :

リン脂質が水中で自己集合して形成される数 10 nm ~ 数 μ m の袋状分子集合体で、細胞膜のように脂質同士が二分子向かい合った膜 (脂質二分子膜) 構造をとり、内水相を有している。脂質の有機溶媒溶液から調製される膜を超音波処理するか、水和させる方法でリポソームを調製することができる。

*2 蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) :

供与体蛍光色素 (ドナー) を励起した光エネルギーが、近接した受容体蛍光色素 (アクセプター) に電子共鳴によって移動し、アクセプターからの発光が観測される現象。FRET 効率は蛍光色素間距離の 6 乗に反比例するため、両分子間の距離を推定することができる。

*3 臨界会合濃度 (CAC) :

分子集合体が形成される限界の濃度のことで、この値が低いほど、その集合体は安定であると言える。分子集合体の光散乱強度の濃度依存性などから求めることができる。

【論文情報】

タイトル : Enveloped Artificial Viral Capsids Self-assembled from Anionic β -Annulus Peptide and Cationic Lipid Bilayer

著者名 : Hiroto Furukawa, Hiroshi Inaba, Fumihito Inoue, Yoshihiro Sasaki, Kazunari Akiyoshi, and Kazunori Matsuura*

掲載誌 : Chemical Communications

DOI : 10.1039/D0CC02622K

<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2020/cc/d0cc02622k/unauth#!divAbstract>

【お問い合わせ先】

◆取材に関すること

国立大学法人鳥取大学 総務企画部総務企画課広報企画室

TEL : 0857-31-5006 E-mail : toridai-kouhou@ml.adm.tottori-u.ac.jp

◆研究内容に関すること

鳥取大学 学術研究院工学系部門 (工学部化学バイオ系学科、グリーン・サステイナブル・ケミストリー研究センター) 教授 松浦和則

TEL : 0857-31-5262 E-mail : ma2ra-k@tottori-u.ac.jp