

巨大ベシクルとバキュロウイルスの融合制御

Controlled fusion of giant unilamellar vesicles and budded baculoviruses

兵庫県立大¹, NTT 物性基礎研・BMC², 三重大³

井上 友莉香¹, 大嶋 梓², 湊元 幹太³, 山口 真澄², 部家 彰¹, 住友 弘二¹

Univ. of Hyogo¹, NTT Basic Res. Labs., BMC², Mie Univ.³

Yurika Inoue¹, Azusa Oshima², Kanta Tsumoto³, Masumi Yamaguchi²,

Akira Heya¹, Koji Sumitomo¹

E-mail: sumitomo@eng.u-hyogo.ac.jp

巨大ベシクル(GUV)は、膜融合やタンパク質合成など細胞再構成系のプラットフォームとして幅広く研究されている。一方、バキュロウイルスの出芽ウイルス(BV)は弱酸性条件下で活性化し融合を促進する膜タンパク質 GP64 を持つエンベロープウイルスであり、人工脂質膜への膜タンパク質組み込みなどに応用されている。例えば、pH 4.0~5.5 の溶液中で酸性リン脂質を持つ GUV に融合することが報告されている¹。本研究では、GUV の形成方法によって BV との融合に違いを見出したので報告する。

DOPC : DOPS : cholesterol = 75 : 20 : 5 の脂質組成で Electroformation 法と界面通過法を用いて GUV を作製し、BV (AcMNPV)との膜融合を試みた。GUV と BV はそれぞれ蛍光色素 NBD-DOPE, Alexa Fluor 546 NHS Ester で標識した。pH 4.5 の酢酸緩衝液下で GUV と BV を混合し、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。Electroformation 法で作製した GUV では、GUV の膜表面に BV が付着していることが確認できた(Fig. 1 上段)が、融合は見られなかった。一方、界面通過法で作製した GUV では、同様の融合条件でも GUV の膜の周上に均一に Alexa Fluor 546 の蛍光が分布していた(Fig. 1 下段)。BV は界面通過法で作製した GUV の方が融合しやすいことが確認された。界面通過法作製時に膜間に混入する有機溶媒(hexadecane)が GUV と BV の膜融合に影響したと考える。今後は GUV の膜特性と BV 融合の関連性について検討し、その制御機構を確立する。

1) Koki Kamiya *et al.*, *BBA Biomembranes* **1798**, 1625 (2010).

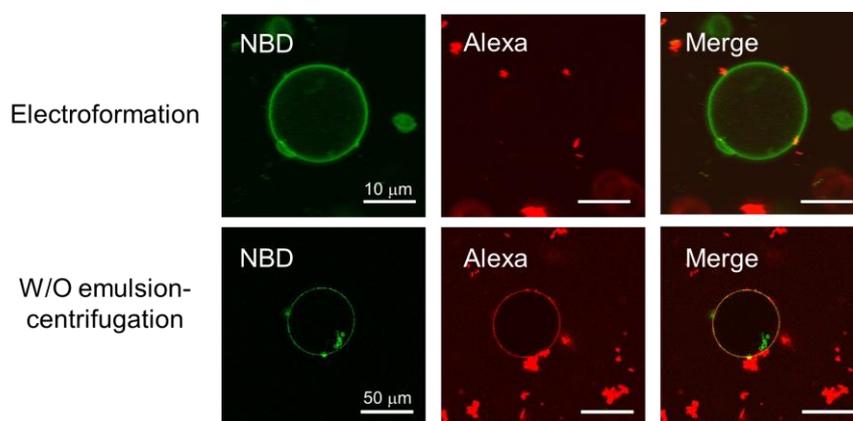


Fig. 1 Confocal microscopy images of GUVs mixed with BVs. GUV formed by electroformation method is compared with that formed by W/O emulsion centrifugation method. Fluorescent labels for GUVs and BVs are NBD (green) and Alexa Fluor 546 (red), respectively.