

日本化学会第 95 春季年会 に参加して

岸 岡 紘 平

Kohei KISHIOKA

物質化学専攻修士課程 2年

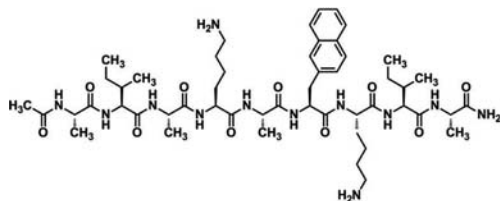


Figure 1 Chemical structure of synthesized peptide.

1. はじめに

私は 2015 年 3 月 26 日 (水) から 29 (土) にかけ、日本大学理工学部船橋キャンパス/薬学部で開催された「日本化学会第 95 春季年会」に参加し、『蛍光標識部位を含むペプチド集合体の細胞送達』をテーマにポスター発表を行った。

2. 研究背景

生体システムにとって異物である薬物は、体内で吸収・分解されたり、副作用を引き起こしたりする。そこで、薬の効果を増強し、副作用を軽減するため、薬物を必要な場所、必要な時間、必要な量だけ送達するドラッグデリバリーシステム (DDS) 技術が注目を浴びている。DDS は、放出制御・標的指向化・吸収促進といった薬物投与の最適化が求められており、リポソーム、ミセル、ウイルスベクターなどをキャリアとした DDS が研究されている。

本研究では、アミノ酸 9 残基からなるペプチド (Cap-p) の自己集合化能に着目し、非ウイルスベクターの核移行シグナルペプチド (NLS-p) をターゲティング素子とし、膜透過性を有するオクタアルギニンペプチド (R 8-p) および HIV-1 由来の TAT 配列ペプチド (TAT-p) とともに、蛍光色素カルボキシテトラメチルローダミン (TMR) を蛍光標識部位とするペプチド集合体をナノカプセルとして細胞核への選択的薬物送達を試みた。

3. 実験方法

使用したペプチドはアミノ酸 9 残基からなる両親媒性とし、負電荷を持つ薬剤を内包するのに有用な Lys を疎水面に配置した (Figure 1)。このペプチド

SV40腫瘍抗原由来の核移行シグナル

NLS-p : Biotin-G-G-P-K-K-K-R-K-V-G-G-A-I-A-K-A-2Naf-K-I-A-NH₂

オクタアルギニンによる膜透過性

RB-p : H-R-R-R-R-R-R-R-R-R-G-G-A-I-A-K-A-2Naf-K-I-A-NH₂

HIV-1Tat(47-60)由来の膜透過性

TAT-p : Ac-Y-G-R-K-K-R-R-Q-R-R-R-P-P-Q-G-G-A-I-A-K-A-2Naf-K-I-A-NH₂

蛍光色素TMRによる蛍光標識

TMR-p : TMR-G-G-A-I-A-K-A-2Naf-K-I-A-NH₂

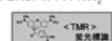


Figure 2 Chemical structure of synthesized peptides.

は超純水中で β シート構造を形成し、分子間に水素結合および疎水性相互作用が働き、自己集合化することでディスク構造をとることがわかっている。

このペプチドの機能化として、SV 40 腫瘍抗原由来の核移行シグナルペプチド (NLS-p)、膜透過性を有するオクタアルギニンペプチド (R 8-p) および HIV-1 (47-60) 由来の TAT 配列ペプチド (TAT-p)、蛍光色素のカルボキシテトラメチルローダミンペプチド (TMR-p) を配置した (Figure 2)。これらのペプチドを自己集合体させ、ナノカプセルとした。またこれを HeLa 細胞に添加し、細胞核への物質送達を顕微鏡観察で確認した。

4. 結果と考察

各ペプチド集合体の径は調製後 6 時間で約 10-20 nm の粒状となった (Figure 3)。

これらのペプチド集合体を HeLa 細胞に添加し、共焦点レーザー顕微鏡で観察したところ、ペプチドナノカプセルをキャリアとする場合において、NLS-p により TMR-p の核への送達が可能であることが確認された (Figure 4)。また、毒性試験を行った結果、毒性のない非ウイルス性ベクターを作製することができた (Figure 5)。

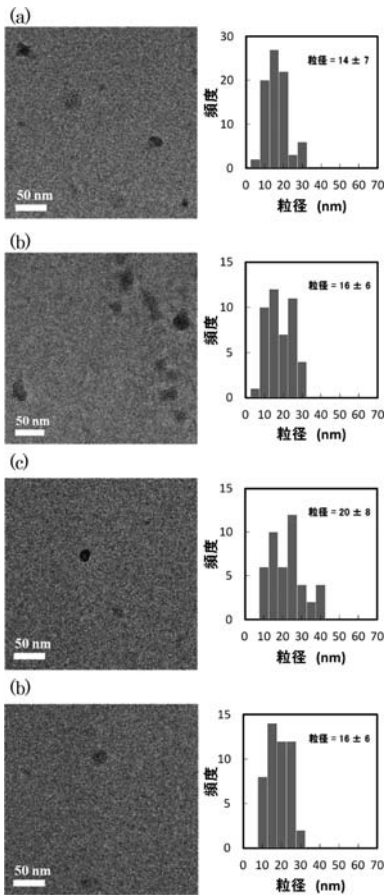


Figure 3 TEM image of peptides nanocapsules. (a) N, R, T-Cap (b) N-Cap (c) R-Cap (d) T-Cap.

5. まとめ

今回、ディスク状ペプチド集合体をナノカプセルとして Hela 細胞への導入に成功し、毒性のない非

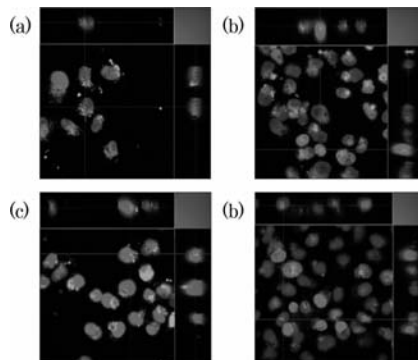


Figure 4 CLSM after nanocapsules transfection. (a) N, R, T-Cap (b) N-Cap (c) R-Cap (d) T-Cap.

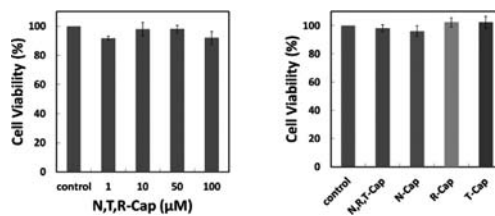


Figure 5 Toxicity test of nanocapsules.

ウイルス性ベクターを作製することができた。今後はさらなる機能評価とタンパク質や核酸といった薬剤の導入を試みる。

6. おわりに

今回でポスター発表は2度目ということで、落ち着いて発表することができたと思う。今後は発表で指摘された点、気付いた問題点について検討していきたいと思う。