

日本化学会第 95 春季年会
に参加して

合 田 樹 生
Itsuki GŌDA

物質化学専攻修士課程 2年

1. はじめに

私は 2015 年 3 月 26 日 (木) から 29 日 (日) 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、『細胞認識部位を有するコラーゲンモデルペプチドの構造評価とヒドロキシアパタイトへの修飾』をテーマに口頭発表を行った。

2. 研究背景

細胞接着とは、細胞同士が接着、あるいは細胞が細胞外マトリックス (ECM) と接着することである。ECM には、コラーゲンやプロテオグリカン、フィブロネクチンなどが挙げられる。コラーゲンは、生体内に多く存在しており、歯や骨、皮下組織などの形成に大きな役割をもつ。しかし、生体材料としての応用には、人獣共通感染症のリスクや熱変性温度の低さ、機能制御が困難であるといった問題点が挙げられており、化学合成されたコラーゲンモデルペプチド (CMP) を用いることで、従来のコラーゲン利用の問題点を改善できると考えられる。特に、CMP を ECM として利用することにより、超高齢化社会をむかえるにあたり高性能人工骨の開発につながるのではないかと考える。そこで、本研究では、人工骨 (主にヒドロキシアパタイト: HA) と骨芽細胞を効率よく複合化するための ECM として I 型コラーゲン由来の細胞認識部位 (GFOGER)、および N 末端に HA との親和性をもつリン酸化セリンを配置したコラーゲンモデルペプチドの合成し、構造評価と HA 粒子表面への修飾を試みた。

CMP-1 : Ac-S(OPO(OH)₂)-Ape(5)-(GPO)₄-GFOGER-(GPO)₄-G-NH₂
 CMP-2 : Ac-S(OPO(OH)₂)-Ape(5)-(GPO)₁₀-G-NH₂
 Ape(5) = 5-Aminopentanoic acid O = Hydroxyproline

Figure 1 ペプチド配列

3. 実験方法

固相合成法により CMP を合成し、逆相 HPLC により精製、MALDI-TOF-MS で同定した。精製ペプチドを緩衝液中 200 μM の濃度で 4°C, 24 h 自己集合化を行い、CD スペクトルによる二次構造評価を試みた。[CMP] = 200 μM, [HA] = 0.1 g/L という条件 [2] で、HA 表面へ CMP の結合実験を行った。

4. 結果と考察

CD スペクトル測定の結果、CMP-1 は 4°C において 200 nm 付近で負、225 nm 付近では正のピークが確認された (Fig. 2)。これにより、CMP-1 は典型的な三重鎖ヘリックス構造をとっていると考えられる。また、ペプチド水溶液温度を上昇させると、温度依存的に三重鎖ヘリックスからランダム構造へと

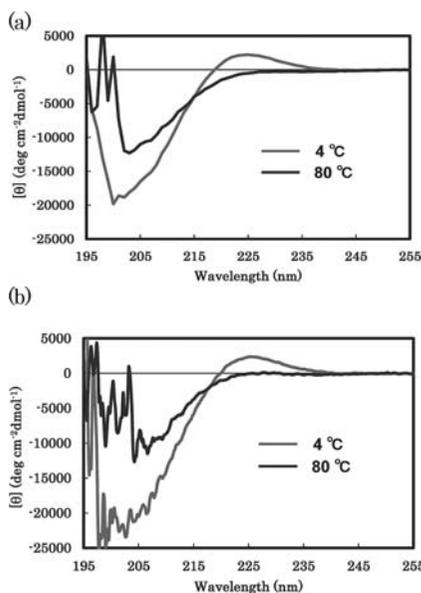


Figure 2

- (a) CD spectrum of CMP-1
 (b) CD spectrum of CMP-2

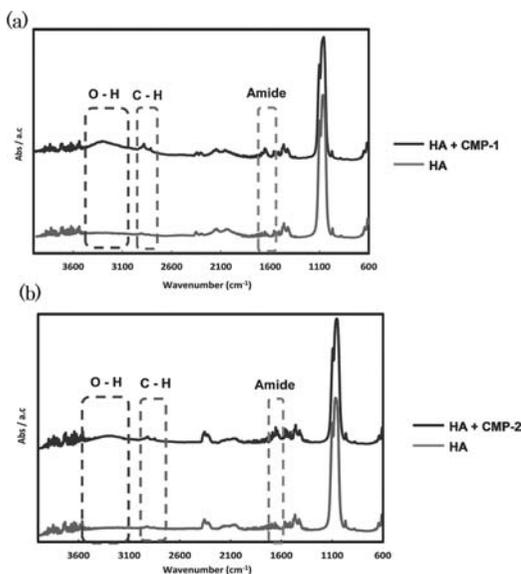


Figure 3

- (a) ATR-FT-IR spectrum of HA+CMP-1
 (b) ATR-FT-IR spectrum of HA+CMP-2

構造転移し、熱変性温度は45℃であった。CMP-2についてもCMP-1と同様の挙動であった。HAに対するCMPの結合量を逆相HPLCのピーク面積の減少率によって定量化したところ、CMP-1およびCMP-2ともにそれぞれ14および19%の減少率であった。HA表面に対してCMPが結合しているこ

とがわかった。

5. まとめ

CDスペクトル測定の結果、CMP-1は4℃において200 nm付近で負、225 nm付近では正のピークが確認された (Fig. 2)。これにより、CMP-1は典型的な三重鎖ヘリックス構造をとっていると考えられる。また、ペプチド水溶液温度を上昇させると、温度依存的に三重鎖ヘリックスからランダム構造へと構造転移し、熱変性温度は45℃であった。CMP-2についてもCMP-1と同様の挙動であった。HAに対するCMPの結合量を逆相HPLCのピーク面積の減少率によって定量化したところ、CMP-1およびCMP-2ともにそれぞれ6%および8%の減少率であった。HA表面に対してCMPが結合していることがわかった。

6. おわりに

今回の学会において、初めての口頭発表でした。学内以外での発表であったため少しばかり緊張したが、自分の思うように発表できたと思う。このような形式の発表をあまりないことなので大変すばらしい経験ができた。