

第9回バイオ関連化学 シンポジウムに参加して

合 田 樹 生

Itsuki GO-DA

物質化学専攻修士課程 2年

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

1. はじめに

私は2015年9月10日(木)から12日(土)にかけ、熊本大学工学部黒髪南キャンパスで開催された「第9回バイオ関連化学シンポジウム」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とヒドロキシアパタイトとの相互作用』をテーマにポスター発表を行った。

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。

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構造転移し、熱変性温度は 45°C 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。

5. まとめ

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構造転移し、熱変性温度は 45°C 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

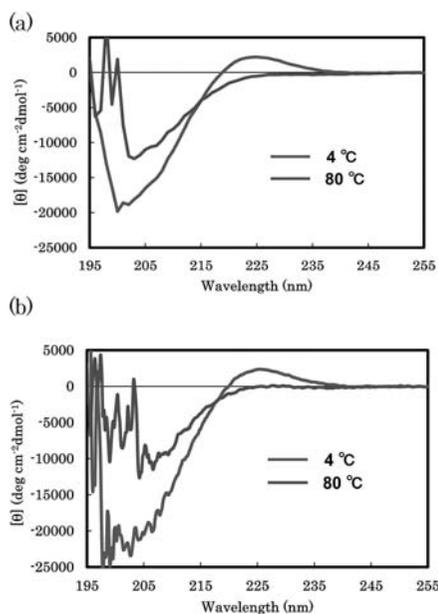


Figure 2 (a) CD spectrum of CMP-1
(b) CD spectrum of CMP-2

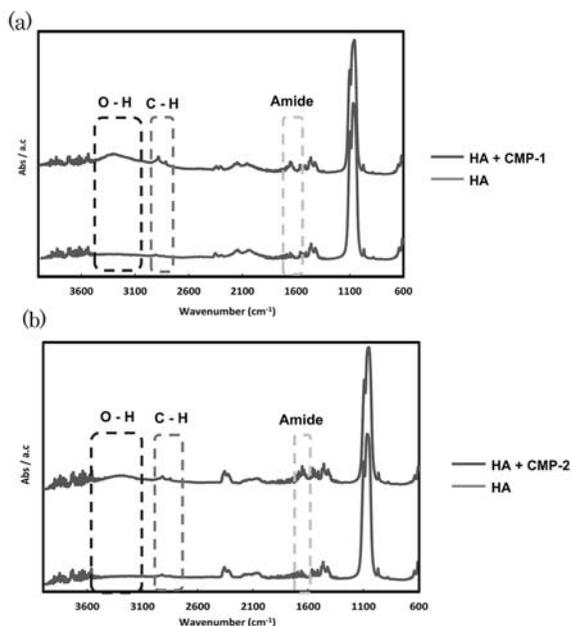


Figure 3 (a) ATR-FT-IR spectrum of HA + CMP-1
(b) ATR-FT-IR spectrum of HA + CMP-2

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。面積あたりの吸着量はそれぞれ 8.4×10^{-10} mol/cm²と 1.1×10^{-9} mol/cm²であり、IRおよびゼータ電位よりHA表面に対してCMPが良好に吸着していることがわかった。

6. おわりに

今回でポスター発表は3度目ということで、一昨年度と昨年度に比べてさらに落ち着いて発表することができたと思う。多くの方が自身の研究に興味を持ってくださり、2年半続けた研究がとても有意義であったと感じることができた。今後は発表の中での様々な指摘、あるいは気付いた問題点について結果を見なおし、改善していきたいと思う。