

第 11 回バイオ関連化学 シンポジウム

山 本 拓 実
Takumi YAMAMOTO
物質化学専攻修士課程 1 年

1. はじめに

私は 2017 年 9 月 7 日から 9 日にかけ、東京大学弥生キャンパスで開催された「第 11 回バイオ関連化学シンポジウム」に参加し、『リン酸基および細胞認識部位を有するコラーゲンモデルペプチドの合成と性質』をテーマにポスター発表を行った。

2. 研究背景

コラーゲンは哺乳類で最も多量に存在するタンパク質であり、歯などの形成に参与する物質である。コラーゲンなどの細胞外マトリックスの重大な役割の一つは細胞接着であるが、生体材料として生物由来のコラーゲンを利用する場合、感染病やコラーゲンの変性温度など機能制御が困難であるといった問題点がある。これらの問題を改善するために、コラーゲンモデルペプチド (CMP) を化学合成することにより、感染病抑制や機能制御が容易になると考えられる。本研究では、骨や歯といった硬組織の主要構成成分であるヒドロキシアパタイト (HA) と細胞を複合化するために、I 型コラーゲン由来の細胞認識部位 (GFOGER) および、HA との親和性をもつリン酸化セリンを配置した CMPs を合成し、CD スペクトルを用いてコラーゲンの二次構造評価をするとともに、コラーゲンの二次構造の温度依存性についての測定を行った。さらに、HA との結合を試みた。

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 (Fig. 1) を緩衝液中 200 μ M の濃度で 4℃, 24

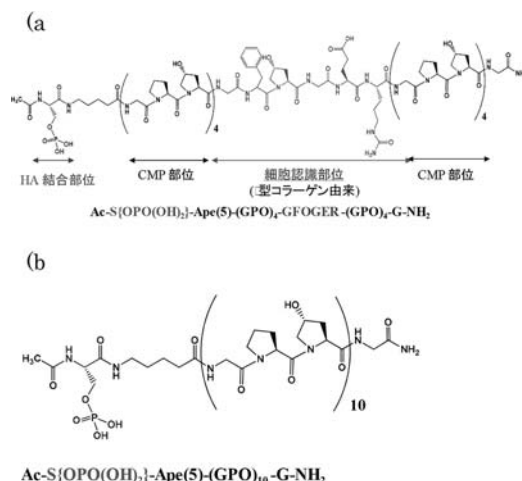


Figure 1 (a) CMP-1, (b) CMP-2 のペプチドの配列

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 μ M, [HA] = 0.1 g/L という条件で、HA 表面へ CMP の結合実験を行い、HPLC で定量を行い、ATR-FT-IR とゼータ電位で CMP と HA の結合評価を行った。

4. 結果と考察

CD スペクトルの結果 (Fig. 2) から 4℃ 条件下では 200 nm 付近に負のピーク、225 nm 付近に正のピークがあることより、2 種類ともトリプルヘリックス構造であると考えられる。80℃ 条件下では 2 種類とも 225 nm 付近の正のピークが消失し、200 nm 付近の負のピークが減少していることより、ランダム構造であることが確認できる。構造転移後、再び 4 条件下でインキュベートすると、ランダム構造から再びトリプルヘリックス構造へと転移した。CMP と HA の結合評価の ATR-FT-IR とゼータ電位を見ると MP 修飾している HA ではペプチド由来のアミノバンド領域、OH バンド領域にピークが確認できる (Fig. 3)。さらに、ペプチド由来だと考えられる C-H バンド領域にピークが確認された。HA だけでは、ペプチド由来のピークが確認されなかった。CMP 修飾している HA と HA、両方とも共通してリン酸基由来のピークが確認できる。ま

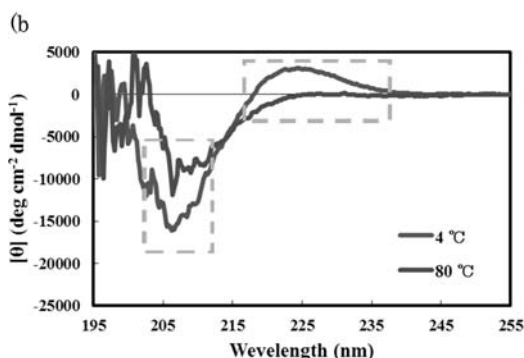
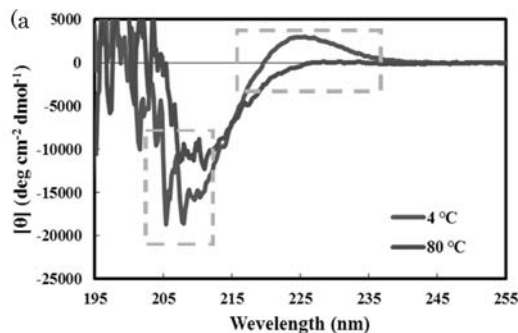


Figure 2 (a CMP-1 の CD スペクトル
(b CMP-2 の CD スペクトル

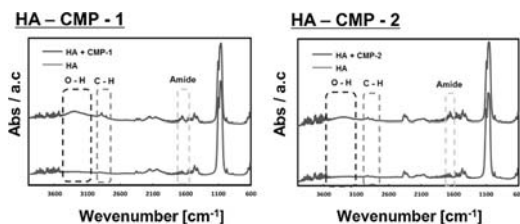


Figure 3 ATR-FT-IR のスペクトル

た, HA のみの表面ではほぼ電荷ないのに対して, CMP 修飾 HA では電荷が負に帯電した. このことから, HA 表面に CMP が結合していることが確認

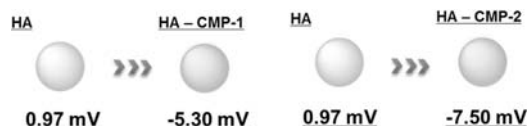


Figure 4 ゼータ電位

できた.

5. まとめ

これらの結果より, 様々な機能を有する CMP の合成が可能であると考えられる. この合成を用いて, さらなる機能を有する CMP の合成が可能になるのではないかと考えられる. そして, CD スペクトルより, トリプルヘリックス構造しているので安定であり, 熱変性温度は約 45℃ と約 44℃ と比較的高い値であり, 生体に対しても親和性が高いのではないかと考えられる. HA との修飾では, リン酸基が HA と親和性が高いことが改めて確認できた. 今後として, HA 粒子ではなく, 板状やマイクロシートのような HA 表面に修飾し, 細胞との融合化を検討していきたいと考えている.

6. おわりに

今回は初めての発表だったので自分の考えがうまく発表できなかった. これからも学会に積極的に参加して人前で自分の考えが述べられる力をつけたい. また, たくさんの方から, 研究に対する意見を頂きこれからより一層研究に精をだしていきたいと思う. 最後に研究のご指導頂いた富崎先生, 今井先生ならびに研究生方に深くお礼申し上げます.