

## 第 59 回ペプチド討論会

竹村直記

Naoki TAKEMURA

物質化学専攻修士課程 2022 年度修了

### 1. はじめに

私は、2022 年 10 月 26 日から 28 日にかけて、トークネットホール仙台にて開催された「第 59 回ペプチド討論会」に参加し、「Structural Stability and Calcium Ion Responsibility of Collagen Model Peptides with and without a Carboxy Group」をテーマにポスター発表を行った。

### 2. 研究背景

ヒドロキシアパタイト (HA) は人工骨の材料として利用されているが、移植後自家骨置換に長時間を要することが知られている。そこで、コラーゲンなどの有機物と HA を複合化させることにより自家骨置換の期間短縮を図る方法が注目されている。しかし、天然のコラーゲン利用では感染症のリスク低減など解決すべき課題は多い。そこで、化学合成されたコラーゲンモデルペプチド (CMP) を用いることで天然のコラーゲンの問題点を改善する方法に注目した。本研究では、カルシウムイオンに応答して集合体を形成し、HA 形成を促進することを期待して配列の中央部にアスパラギン酸を配置したコラーゲン分子及びカルシウムイオンによる影響を考察するためカルボキシ基をもたない対照ペプチドの合成を行った。そして、それら新規ペプチドの二次構造及びカルシウムイオン応答性の評価を行った。

### 3. 実験方法

固相合成法により CMP-6 及び CMP-7 を合成し、逆相 HPLC により目的ペプチドの精製 MALDI-TOF-MS で同定した。精製ペプチドを緩衝液中 100  $\mu$ M の濃度、4 $^{\circ}$ C、24h 自己集合化を行い、CD スペクトルによって二次構造評価を行った。また、塩化

カルシウム溶液を任意の濃度で加え、カルシウムイオン応答性を評価した。

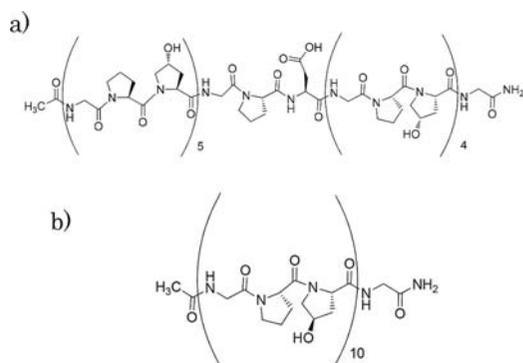


図 1 a) CMP-6, b) CMP-7 のペプチド配列

### 4. 結果と考察

CD スペクトル測定結果より 4 $^{\circ}$ C 条件下では 200 nm 付近に負のピーク、225nm 付近に正のピークが確認されることにより 2 種類の CMP はトリプルヘリックス構造をとっていると考えられる。80 $^{\circ}$ C まで温度を加熱すると正のピークが消滅していることよりトリプルヘリックス構造はほどけたと考えられる。また CMP-7 は冷却時のスペクトル変化より、トリプルヘリックスへの巻き戻り速度が CMP-6 よりも速いことが分かった。熱変性温度は CMP-6 では 56 $^{\circ}$ C であり、CMP-7 では 66 $^{\circ}$ C であった。さらに、カルシウムイオン存在下において CMP-6 はトリプルヘリックスの特異的ピークである 225nm における残基楕円率において有意な変化があり対照ペプチドである CMP-7 では変化が小さかった。このことから、カルシウムイオンの存在はカルボキシ基に作用し CMP の構造を若干変化させることが分かった。また、熱変性温度に関してはカルシウムイオンの影響は大きくないことが分かった。

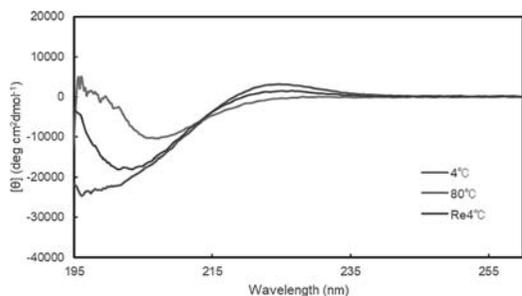


図2 CMP-6のCDスペクトル

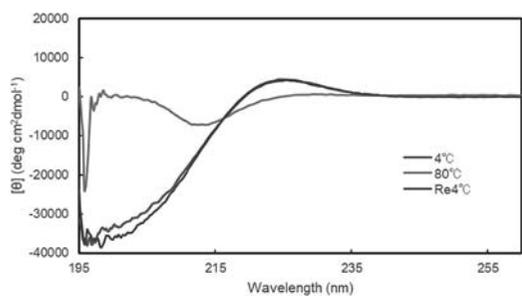


図3 CMP-7のCDスペクトル

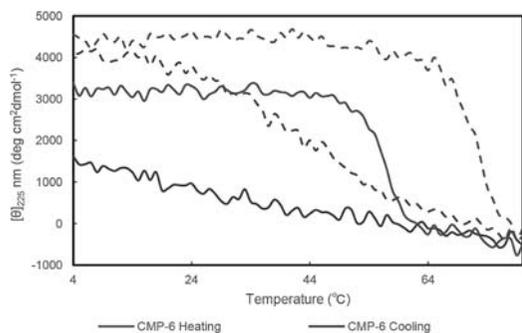


図4  $[Ca^{2+}] = 0\mu M$  時の熱変性温度

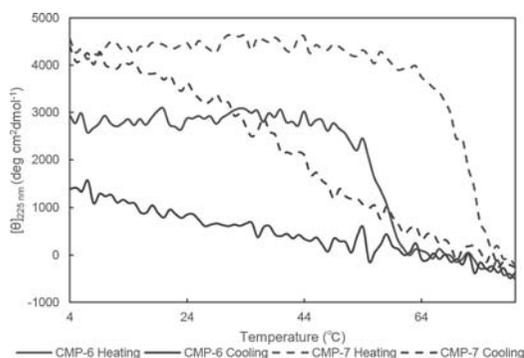


図5  $[Ca^{2+}] = 100\mu M$  時の熱変性温度

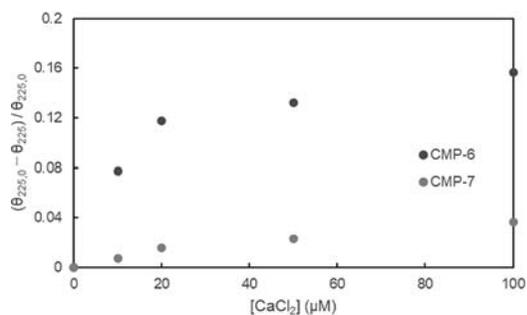


図6 各カルシウムイオン濃度における残基精円率の変化量

## 5. まとめ

今回、新たに設計・合成したペプチドを用いることでアスパラギン酸によるカルシウムイオン応答性をCMPに付与することが可能であることを確認した。また、熱変性温度も $56^{\circ}C$ と比較的高い値を確認し、生体に対しても問題なく使用することができると考えられる。これからの展望として、HAとの複合化を行い、リン酸カルシウムの晶析を確認していくと考えている。

## 6. おわりに

今回は初めての対面発表であり、オンラインでの発表との違いに緊張し慣れなかったが、対面ならではのコミュニケーションをとることができ研究を進める上で有意義な時間を過ごすことができた。最後に研究のご指導頂いた富崎先生ならびに研究生方に深くお礼申し上げます。