

第59回ペプチド討論会 に参加して

田中 駿

Shun TANAKA

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、「Modification of Titanium Surface with Collagen Model Peptides for Enhanced Titanium-Cell Adhesion」をテーマにポスター発表を行った。

2. 発表内容

2.1 研究背景

近年、世界的な高齢化によりインプラント療法の需要が増加している。しかし、未処理のチタンでは、初期細胞接着量が少ないことによる細菌感染のリスクが課題として挙げられる。本研究では、チタンと特異的に結合するチタン表面認識配列(HKH)^[1]と、細胞表面のインテグリンと特異的に結合する細胞接着配列(GFOGER)^[2]の二種の配列を典型的なコラーゲン配列に組み込んだコラーゲンペプチドCMP-8 (Ac-His-Lys-His-Ape(5)-(Gly-Pro-Hyp)4-Gly-Phe-Hyp-Gly-Glu-Arg-(Gly-Pro-Hyp)4-Gly-NH₂)を設計・合成し、チタン表面修飾を試みた。

2.2 実験方法

まず、液相合成法によりジペプチド(Fmoc-Gly-Pro-OH)を合成し、次いで、固相合成法によりトリペプチド(Fmoc-Gly-Pro-Hyp(tBu)-OH)を合成した。得られたトリペプチドをビルディングブロックとして固相合成法によりCMP-8を合成し、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により精製、マトリックス支援レーザー脱離イオン化法(MALDI-TOF-MS)にて同定した。得られたペプチドを20

mM リン酸緩衝液(pH=7.5)に200 μ Mの濃度で溶かし、4 $^{\circ}$ Cで24時間集合化させ、CDスペクトル測定により二次構造評価を行った。その後、CMP-8溶液をチタン薄膜上に添加した。24時間後、基板を回収し原子間力顕微鏡(AFM)とX線光電子分光法(XPS)測定を行った。

2.3 結果と考察

CDスペクトル測定の結果、CMP-8は4 $^{\circ}$ Cで225nmに正の極大、200nmに負の極大が確認され、トリプルヘリックス構造を形成していることが確認された。その後、温度を80 $^{\circ}$ Cに上昇させることでランダム構造へと転移し、再度4 $^{\circ}$ Cまで冷却することでトリプルヘリックス構造へと可逆的に構造が巻き戻ることが確認された。

AFM測定の結果、CMP-8を加えていない基板では表面に凹凸は確認されなかった(図1左)。しかし、CMP-8を加えた基板では表面に凹凸が確認され、平均表面粗さが大幅に上昇した(図1右)。

XPS測定の結果、CMP-8を加えることでN1sが上昇し、Ti2pは減少した(図2)。XPS測定により求めた表面元素比率も同様の結果となり、CMP-8を加えることで炭素と窒素の比率が上昇し、チタンが減少した。

以上の結果から、CMP-8によるチタンの表面修飾に成功したことが確認された。

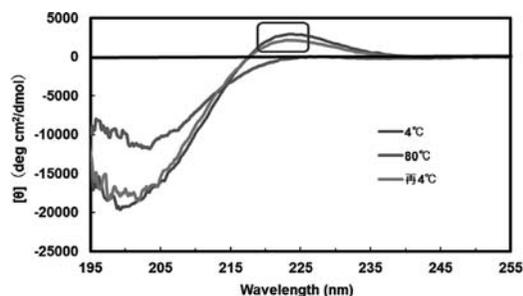


図1 CMP-8の二次構造評価

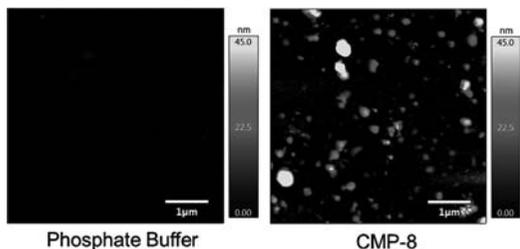


図2 AFMの結果

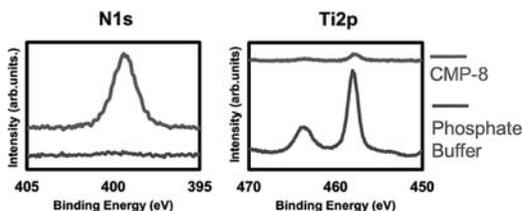


図3 XPSの結果

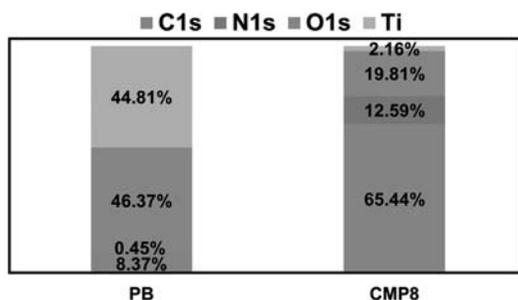


図4 表面元素比率

2.4 まとめ

今回、チタン基板とCMP-8の結合を確認した。今後は、細胞とCMP-8の接着を確認したい。

3. 発表にあたって

今回で6回目の学会発表であったが、はじめて対面での発表であった。そこで、オンライン発表よりポスター作成に力を入れ、会場でも見えやすくすることを心掛けた。そして、少しでも多くの方に自分の研究成果を伝え、意見交換を行うことで実りのある発表になるよう注力した。

4. おわりに

今回は、初の対面での発表ということもあり、ポスター作成や発表には苦労した。しかし、会場では多くの方が発表を聞いてくださり、その中で自分になかった考えに触れることができた。また、ほかの学生のポスターや企業のブースなどがあり、新たな知識を得ることができ、実りのある会にすることができた。この経験を活かし、修士論文発表に取り組みたい。

最後に今回の発表を行うにあたって、懇切丁寧なご指導を頂いた富崎欣也教授、チタン薄膜の作成にご協力頂いた青井芳史教授、コロナ禍の影響で多くの学会がオンライン開催となる中、対面での学会という形で発表を行う機会を設けてくださったペプチド討論会の運営の方々にこの場を借りて厚く御礼申し上げます。

参考文献

- [1] Kooh, X. et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, *131* (31), pp 10992-10997.
- [2] Khew S. T. and Tong Y. W. *Biomacromolecules* 2007, *8*, 3153-3161