

第17回バイオ関連化学シンポジウムに参加して

ペプチド濃度を 5-50 μ M とし、HeLa 細胞及び COS-7 細胞の細胞毒性を評価した。

岸 根 克 弥

Katsuya KISHINE

物質化学専攻修士課程 2023 年度修了

1. はじめに

2023 年 9 月 8 日から 10 日までの間、東京理科大学野田キャンパスで開催された第 17 回バイオ関連化学シンポジウムに参加し、ポスター発表を行った。この学会で私は、「ミトコンドリア局在シグナルペプチド誘導体の細胞毒性評価」というタイトルでポスター発表を行った。

2. 実験内容

2.1 研究背景

ミトコンドリアは細胞のオルガネラの一つであり、ATP 合成とアポトーシスに関与している。

近年、ミトコンドリアを標的としたドラッグデリバリーシステムの開発は注目を集めている。

2.2 先行研究

薬物キャリアペプチド (Cap-p) の N 末端にミトコンドリア移行シグナル (MTS) を結合した新規キャリアペプチド (MTS-p) と Cap-p の混合比を変化させたところ、アフリカミドリザル腎臓由来 COS-7 細胞に比べてヒト子宮頸がん由来 HeLa 細胞への優位な毒性が確認された。

2.3 本研究

MTS に結合する Cap-p に着目し、MTS-p の Cap-p 部分に含まれる β シート構造の安定化に寄与するアミノ酸であるイソロイシン (I) を全て α -ヘリックス構造を安定化するアミノ酸であるアラニン (A) に変更した MTS-pA を新規設計、合成した (図 1)。ペプチド二次構造の評価のため、100 μ M の濃度で CD スペクトルの測定を行った。また、ペ

2.4 実験結果

CD スペクトル測定の結果、Cap-p 及び MTS-p は生体膜模倣環境において 222nm の残基楕円率は約 -20000 deg cm²/dmol であった。一方、MTS-pA は同条件において残基楕円率は約 -25000 deg cm²/dmol であった。よって、MTS-pA は Cap-p 及び MTS-p と比べて高いヘリックス含有率を示すことがわかった。細胞毒性評価の結果、Cap-p は 5-50 μ M 濃度範囲において顕著な細胞毒性を示さなかった (図 2)。MTS-p は低濃度 (10-20 μ M) において HeLa 細胞に対して優位な細胞毒性を示した (図 3)。一方、MTS-pA は 5-20 μ M において COS-7 細胞に比べて HeLa 細胞に対する顕著な細胞毒性を示した (図 4)。このことは MTS-pA が MTS-p と比べて安定したヘリックス構造の形成を示したことが原因と考えられる。

2.5 まとめ

イソロイシンよりアラニンはヘリックスを巻きやすくさせるアミノ酸であるため MTS-pA はヘリックス性が増加し、MTS-p 及び MTS-pA は低濃度において HeLa 細胞に対する優位な細胞毒性を示した。

今後は MTS-pA より安定したヘリックス性及び疎水性を指向して、アラニンをロイシン及びフェニルアラニンにそれぞれ置換したペプチドを合成し、細胞毒性について評価する。

2.6 図表

Cap-p	Ac-I-I-A-K-A-2Naf-K-I-A-NH ₂
MTS-p	Ac-M-L-R-A-A-L-S-T-A-R-R-G-P-R-L-S-R-L-L-G-G-G-A-I-A-K-A-2Naf-K-I-A-NH ₂
MTS-pA	Ac-M-L-R-A-A-L-S-T-A-R-R-G-P-R-L-S-R-L-L-G-G-G-A-A-K-A-2Naf-K-A-A-NH ₂
MTS-Naf	Ac-M-L-R-A-A-L-S-T-A-R-R-G-P-R-L-S-R-L-L-G-G-G-2Naf-NH ₂

図 1 ペプチドの配列

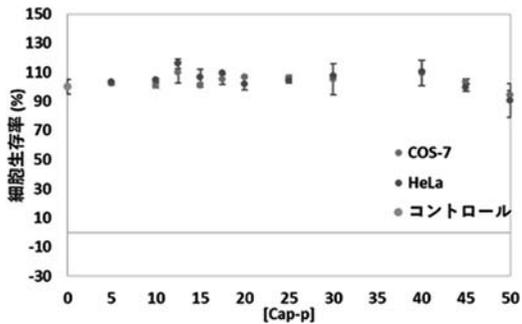


図2 Cap-p の細胞毒性評価

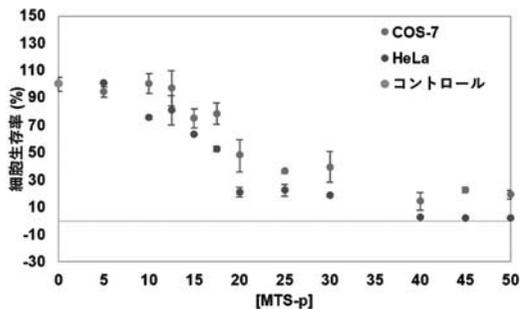


図3 MTS-p の細胞毒性評価

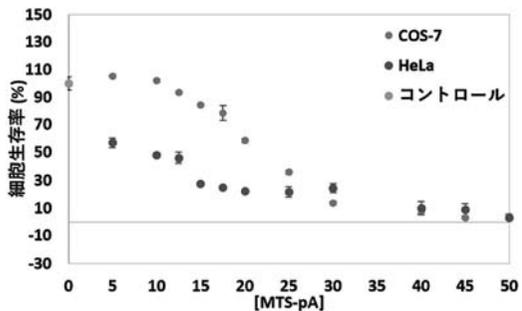


図4 MTS-pA の細胞毒性評価

3. 学会を通じて

今回、修士2年になって初めての発表でしたので、気を引き締めて取り組みました。ポスター発表では、他大学の方々から助言をいただき大変参考になりました。また、講演を聞いて自分の研究の幅が広がり、有意義な時間を過ごせました。学会で学んだことを糧に、今後も日々の実験に取り組んでいきたいです。

最後に、今回の発表を行うに当たりご指導いただいた富崎欣也教授、細胞実験にご助力頂きました山崎正幸教授と対面での学会発表の機会を設けてくださいましたバイオ関連シンポジウムの運営の方々にご利用して厚く御礼申し上げます。