

第 17 回バイオ関連化学シンポジウム

神 田 ららほ
Raraho KANDA

物質化学専攻修士課程 2 年

1. はじめに

私は 2023 年 9 月 8 日から 10 日にかけ、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」に参加した。この学会で私は、「Synthesis of a His-tagged and a cell recognition site collagen model peptide」というタイトルでポスター発表を行った。

2. 研究背景

骨が欠損した場合の主な治療法としてインプラントや人工骨の利用がある。チタンは耐腐食性および生体適合性が高く、実用化されているが、チタン表面への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。また、人工骨の主成分であるヒドロキシアパタイト (HA) は高い骨親和性と吸着力をもっているが、無機物ゆえに硬く脆いため骨の組織になじみにくい。それらの対応策として、チタンに対しては初期細胞接着量を増大させるなどが取り組まれているが、完全な問題解決には至っていない。また、ヒドロキシアパタイトとコラーゲンを複合化するなど骨再生能力の向上を図る研究が行われている。例えば天然コラーゲを用いる場合、陸生生物由来の人獣共通感染症のリスクや水生生物由来の変性温度の低さといった課題がある。そこで、それらを改善するために感染症のリスクが少なく変性温度にすぐれ機能制御が容易な化学合成されたコラーゲンモデルペプチド (CMP) の利用が効果的と考える。

本研究では、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および銅イオンと His タグによる CMP 同士の連結および抗菌効果の付与を目

指し His タグの二種の配列を典型的なコラーゲン配列に組み込んだ CMP-9 を合成および二次構造評価を行った。

3. 実験操作

まず、液相合成法によりジペプチド (Fmoc-Gly-Pro-OH) (図 1) 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) (図 2) 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-9 (Ac-His-His-His-Ape(5)-(Gly-Pro-Hyp)₄-Gly-Phe-Hyp-Gly-Glu-Arg-(Gly-Pro-Hyp)₄-NH₂) (図 3) を合成し、逆相 HPLC により精製、MALDI-TOF-MS にて同定した。得られたペプチドを 0.1M Tris-HCl (pH = 7.5) に 100 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 (図 4) により二次構造を評価した。その後、波長を 225nm に固定し、水溶液温度を 0.5K/min で変化させ、CMP-9 のトリプルヘリックス構造の熱変性温度の測定を行った (図 5)。

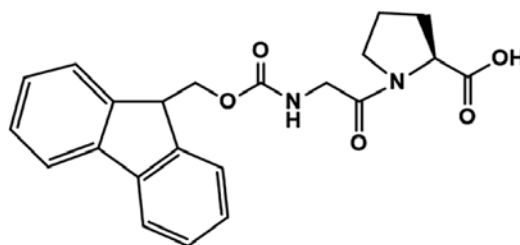


図 1 ジペプチドの構造

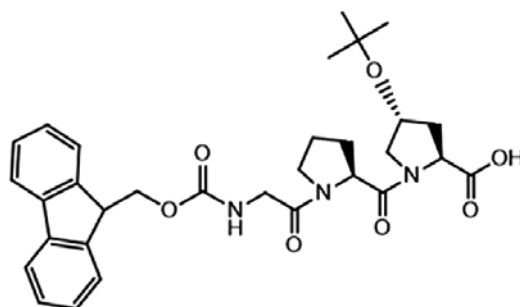


図 2 トリペプチドの構造

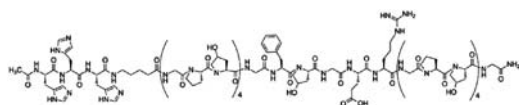


図3 CMP-9の構造

4. 結果

図4に示したCDスペクトルの結果より、200nm付近に負のピーク、225nm付近に正のピークが確認された。このことから、合成したコラーゲンモデルペプチドはトリプルヘリックス構造を形成したと考えられる。また、図5より、ペプチド溶液の温度が上昇するとトリプルヘリックス構造がランダム構造に変化し、冷却により再びトリプルヘリックスを形成し、熱変成温度が52℃であることがわかった。今後は銅イオン添加による効果を調べ、TiにCMPを修飾後、抗菌活性や初期接着を評価する予定である。

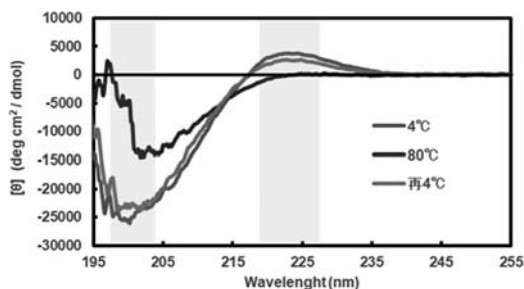


図4 CMP-9のCDスペクトルの測定結果

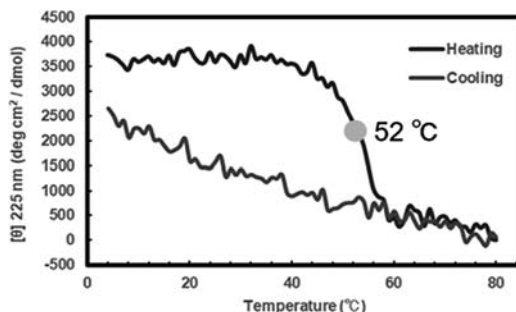


図5 0.1M Tris-HCl 溶液中のCMP-9の熱変性

5. 学会を通じて

今回は2回目の学会発表で、適度な緊張感を持ちながらもリラックスして臨めた。対面発表というのもあり、コミュニケーションが取りやすく、対面開催ならではの学会の楽しみを感じることができた。同じ分野を研究している先生方や学生の方と意見交換を行うにとどまらず、日々の実験の課題や悩みを共有する経験はやはり対面開催の学会に参加することで得られた貴重な経験であると感じた。

また今回の学会では外国の方から質問を頂く機会があり、言語に苦しみながらも自分の意見が伝わったときは達成感と喜びを感じた。

最後に今回の発表を行うにあたりまして、丁寧な指導を頂きました富崎欣也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化学シンポジウムの運営の方々にこの場を借りてして厚く御礼申し上げます。