

第 17 回バイオ関連化学 シンポジウム

藤本 翔也

Shoya FUJIMOTO

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。この学会では、「Synthesis of gold nanorods modified with hepatocellular carcinoma-targeting peptides and evaluation of their photothermal conversion ability」というタイトルでポスター発表を行った。

2. 研究背景

金ナノ粒子は電気伝導性および光学的特性により様々な用途に向けて幅広く研究されている。その中でも細胞透過性の高い近赤外線を吸収し、熱に変換する光熱変換特性をもつ金ナノロッドを用いた DDS (ドラックデリバリーシステム) が近年注目されている。また、肝細胞ガンは高い再発・転移率からガン死亡の主要原因の一つとして知られている。効果的な治療法のひとつに化学療法剤が近年注目されている。しかし、近年用いられる化学療法剤は生体内の非特異的な生体分布のため腫瘍への薬剤の蓄積が不十分になり副作用を生じる。したがって、効果的な肝細胞ガンの標的薬物治療剤の開発が必要である。そこで、当研究室では肝細胞ガン標的配列ペプチドである SP94 ペプチドを用いて、肝細胞ガン上に存在するグルコース制御タンパク質である GRP78 と特異的に結合させることで薬剤を肝細胞ガンに優先的に集積させることを指向した。そこで当研究室では肝細胞ガン標的配列ペプチドである SP94 ペプチドを用いて、肝細胞ガン上に存在するグルコース制御タンパク質である GRP78 と特異的に結合させることで薬剤を肝細胞ガンに優先的に集

積させることを指向した。そこで本研究では、肝細胞ガンに金ナノロッドを送達・蓄積させることを指向し、肝細胞ガン標的ペプチド (RU188) と金ナノロッドの複合体の形成および評価を行った。また、金ナノロッド-ペプチド複合体の細胞毒性の評価を行った。

3. 実験操作

まず固相合成法を用いて金ナノロッドの表面修飾に用いる MTS ペプチドである (ChaDArg) 3 を合成した。そして CTAB (ヘキサデシルトリメチルアンモニウムブロミド) 法を用いて金ナノロッドを合成した。次いで、金ナノロッド表面の CTAB の分子膜を PEG (ポリエチレングリコール) で置換するため、得られた金ナノロッド溶液に PEG 溶液を加え、25℃ で 30 分反応させた。その後、遠心分離を行い未反応の PEG を除去したのちに金ナノロッドと PEG の複合体に MTS ペプチドの溶液を加え 25℃ で 24 時間反応させた。このようにして得られた MTS ペプチド修飾金ナノロッドを用いて吸収波長を UV-vis スペクトル測定により測定し、ゼータ電位測定を用いて表面電荷の測定した。また、近赤外光を 15 分間照射した際の、温度上昇をサーモカメラで確認した。細胞毒性評価では、ヒト肝細胞ガンとヒト子宮頸ガンに金ナノロッド-ペプチド複合体を 15, 7.5, 5.0μg/ml 入れた際の細胞毒性を確認した。

4. 結果

図 1 に各金ナノロッドの吸収波長を示す。CTAB の分子膜が形成している金ナノロッド、PEG で置換した金ナノロッド及び金ナノロッドとペプチドの複合体を吸収スペクトル測定した結果、金ナノロッドの表面環境の変化に由来する吸収スペクトルのレッドシフトを確認した。

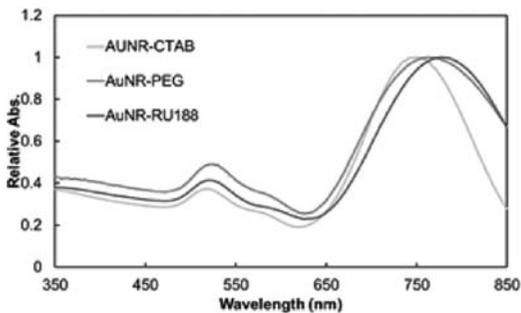


図1 吸収スペクトル測定

また、ゼータ電位測定によりペプチド表面修飾における正から中性付近への電位の変化を確認した。図2にIRスペクトル測定の結果を示す。金ナノロッドとPEGの複合体では見られなかった、1540cm⁻¹付近のペプチド由来のアミド N-H 変角振動、C-N伸縮振動と1650cm⁻¹付近のアミド C=O伸縮を確認した。

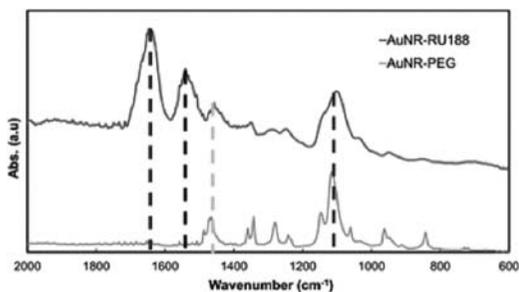


図2 IRスペクトル測定

図3に808nm近赤外光照射時の各金ナノロッドの光熱変換特性評価を示す。近赤外光15分間の照射で溶液の温度は最大55℃を示した。細胞毒性評価では、すべての濃度の金ナノロッド-ペプチド複合体で高い細胞生存率を確認した。

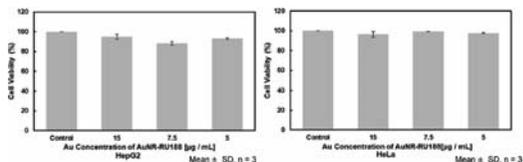


図3 細胞毒性評価

5. まとめ

金ナノロッドとRU188ペプチドの複合体評価を吸収スペクトル測定、ゼータ電位測定、IRスペクトル測定により行った。吸収スペクトル測定において最大吸収波長が赤方偏移し、金ナノロッド表面の環境変化を確認した。また、ゼータ電位測定によりペプチド表面修飾における正から中性付近への電位の変化を確認した。IRスペクトル測定では1540cm⁻¹付近のペプチド由来のアミド N-H 変角振動、C-N伸縮振動と1650cm⁻¹付近のアミド C=O伸縮を確認した。以上の結果より金ナノロッドにRU188ペプチドの表面修飾を確認した。また、近赤外光照射実験では、溶液の温度上昇が最大55℃まで上昇することを確認した。また、細胞毒性評価ではヒト肝細胞ガンとヒト子宮頸ガンともに高い生存率であった。

6. おわりに

今回の学会発表は2回目のポスター発表であり、発表での緊張は以前より少なく堂々とした発表を行うことができた。また、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る。

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にこの場をお借りして厚く御礼申し上げます。