

30-0253

塩基性デリバリーペプチドの細胞内取り込み経路の多面性

○二木 史朗^{1,2}, 中瀬 生彦¹, 武内 敏秀¹, 川畑 紀子¹, 杉浦 幸雄¹ (¹京大化研,²JST さきがけ)

【目的】近年、HIV-Tat ペプチドやオリゴアルギニンなどの塩基性ペプチドを用いた細胞内へのタンパク質・薬物の効率的送達法が注目されている。ここでは主にエンドサイトーシスの寄与という観点から、これらのペプチドの細胞内移行機序の異同に関して検討した。

【方法】蛍光ラベルした(Arg)_n (Rn; n=4,8,16)ならびに penetratin ペプチドを用いて、エンドサイトーシス阻害条件下での HeLa 細胞への取り込みを共焦点顕微鏡観察や FACS により検討した。

【結果および考察】R8 ならびに R16(各 10 μM)の細胞内取り込みはマクロピノサイトーシス阻害剤 EIPA 存在下に有意に阻害された。さらに、アクチン重合阻害剤 cytochalasin D 存在下にも阻害が見られ、これらの細胞内移行にマクロピノサイトーシスが関与していることが示唆された。また、細胞への取り込み量は R16 が R8 と比べて 7 倍程度大きいものに対し、両者をキャリアとしてアポトーシス誘導ペプチドを細胞導入した際の生理活性はほぼ同程度であると判断されたことから、R16 はエンドソーム膜に強固に結合する反面、細胞質へ移行しにくいことが示唆された。penetratin は 10 μM では EIPA の影響を受けず、50 μM では取り込み抑制効果が見られたことから、濃度依存的に取り込み経路が変わることが示唆された。一方、効率的には 37°C の場合に比べて劣るものの、低温条件下でも R8 の細胞内移行は認められ、エンドサイトーシス以外の取り込み経路の存在の可能性も示唆された。