

## 28Q-pm024

Caco-2 細胞におけるオリゴアルギニンペプチドの細胞膜透過機構に関する研究  
○榎本 幸子<sup>1</sup>, 岩崎 純子<sup>1</sup>, 川北 裕佳<sup>1</sup>, 林 麻美子<sup>1</sup>, 高山 健太郎<sup>2</sup>, 勝見 英正<sup>1</sup>,  
坂根 稔康<sup>1</sup>, 二木 史朗<sup>2</sup>, 山本 昌<sup>1</sup>(<sup>1</sup>京都薬大, <sup>2</sup>京大化研)

**【背景・目的】** 近年、HIV-1 由来 Tat タンパク質やオリゴアルギニンペプチドなどの高い細胞膜透過性を有する cell penetrating peptides (CPPs) 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が、CPPs の輸送機構については議論がなされている段階であり、未だ十分に解明されていない。そこで本研究では、消化管吸収性の低いモデル化合物として fluorescein isothiocyanate (FITC) を選択し、FITC に GABA をスペーサーとしてオリゴアルギニンペプチドで化学修飾することにより、小腸上皮モデル細胞である Caco-2 細胞を用いて、細胞内取り込みの改善を試みると共に、その細胞膜透過機構の解明について検討を行った。

**【実験方法】** モデル化合物: FITC-GABA-(L-Arg)<sub>7</sub>-NH<sub>2</sub> (L7)、FITC-GABA-(D-Arg)<sub>7</sub>-NH<sub>2</sub> (D7) を Fmoc 固相合成法にて、FITC-GABA-OH を液相にて合成した。取り込み実験: Caco-2 細胞をプレート上で 15 - 21 日間培養し、上記モデル化合物を添加した後、細胞内取り込み量を flow cytometry により測定した。輸送機構の解明: Caco-2 細胞を (1) heparin Na 共存下、(2) 低温条件下、(3) NaN<sub>3</sub>、(4) nystatin 共存下、上記モデル化合物を添加し、細胞内取り込み阻害効果を解析した。

**【結果・考察】** Caco-2 細胞における L7 及び D7 の取り込みは、control である FITC-GABA-OH に比べ有意に増加し、濃度依存性が確認された。また、輸送機構について検討を行った結果、heparin Na 共存下、低温条件下、NaN<sub>3</sub> 共存下のいずれにおいても取り込みが阻害されたことから、オリゴアルギニンペプチドは細胞膜と静電的に相互作用し、ATP 依存的エンドサイトーシスで取り込まれる可能性が示唆された。さらに、nystatin 共存下においてもその取り込みが阻害されたことから、取り込みの一部には脂質ラフトを介した輸送機構が関与していることが明らかとなった。