

26P-am05S

アルギニンペプチドとピレンブチレートを利用した心筋細胞ミトコンドリアへの効果的な薬物送達

○片山 未来^{1,2}, 中瀬 朋夏³, 松井 千紘³, 服部 能英⁴, 高橋 幸一³, 切畑 光統⁴, 藤井 郁雄², 二木 史朗⁵, 中瀬 生彦¹ (¹ 阪府大ナノ, ² 阪府大理, ³ 武庫女大薬, ⁴ 阪府大 BNCT, ⁵ 京大化研)

【目的】近年、膜透過性アルギニンペプチドを利用して生理活性分子を効果的に細胞内へ導入する手法が幅広く用いられている¹⁾。我々は、細胞の外から細胞膜を透過し、ミトコンドリアへ集積する RLA ペプチド (アミノ酸配列: $D[RLARLAR]_2$) の開発に成功した²⁾。一方で、アルギニンペプチドと疎水性対イオンのピレンブチレート (PyB) が共存することで、ペプチドの細胞膜透過効率が顕著に促進することが示されている³⁾。本研究では、RLA ペプチドと PyB を用いて初代培養ラット心筋細胞ミトコンドリアへの薬物送達の応用に関する検討を行った。

【方法】全てのペプチドは Fmoc 固相法で合成し、N 末端への FITC 標識を行った。脱保護及び HPLC で精製後に得られたペプチドの分子量を MALDI-TOFMS を用いて測定した。ヒト子宮頸癌由来 HeLa 細胞 (株化細胞) 及び、ラット新生児心筋細胞 (初代培養細胞) において、FITC 標識ペプチドの細胞内移行に関してフローサイトメーター、及び、共焦点レーザー顕微鏡を用いて検討した。

【結果・考察】HeLa 細胞において、細胞前処理 (PyB : 50 μ M、5 分) によって FITC 標識 RLA ペプチド (1 μ M、5 分) の細胞内取込み、及び、ミトコンドリア集積が顕著に促進した。ラット新生児心筋細胞においても同様の実験を行った結果、PyB を用いることで FITC 標識 RLA ペプチドが効率的にミトコンドリアに集積し、リソソームマーカーと殆ど共局在しないことが明らかとなった。本手法において細胞毒性は殆ど無く、現在心筋保護薬剤等への応用に関して検討を続けている。

1) Nakase, I. *et al. Acc. Chem. Res.* **45**, 1132-1139 (2012), 2) Nakase, I. *et al. Chem. Commun.* **48**, 11097-11099 (2012), 3) Takeuchi, T. *et al. ACS Chem. Biol.* **1**, 299-303 (2006)