

# 27PA-am280S

## 新規両親媒性アルギニンペプチドの細胞膜透過性の評価

○田村 悠樹<sup>1</sup>, 灘井 亮<sup>1</sup>, 扇田 隆司<sup>1</sup>, 原矢 佑樹<sup>2</sup>, 西辻 和親<sup>3</sup>, 内村 健治<sup>4</sup>, 長谷川 功紀<sup>1</sup>, 加藤 くみ子<sup>2</sup>, 赤路 健一<sup>1</sup>, 斎藤 博幸<sup>1</sup> (<sup>1</sup>京都薬大, <sup>2</sup>国立衛研・薬品部, <sup>3</sup>徳島大院・医歯薬学研究部・医学系, <sup>4</sup>名大院医)

**[目的]** HIV 由来の Tat や Rev 等のアルギニンペプチドは正電荷を有するにも関わらず細胞膜を物理的に透過するが、その分子機構は不明である。我々はポリアルギニンや Rev を用いた検討から、アルギニンペプチドが  $\alpha$ -ヘリックス形成や負に帯電した硫酸化糖鎖等との結合により分子極性を低下させ、膜界面に分配して膜摂動を引き起こすことで細胞膜を透過するというモデルを提唱してきた [Takechi Y, *et al*, *Langmuir* (2011), *BBA* (2016)]。このモデルに基づけば、脂質膜に分配しやすいほどペプチドの膜透過性は向上すると考えられる。そこで本研究では、両親媒性ヘリックスを有する apoE の LDL 受容体/糖鎖結合ドメイン由来ペプチド A2-17 (疎水性モーメント  $\mu\text{H}=6.1$ ) を基に、リジン残基をアルギニン残基に置換した A2-17-KR ( $\mu\text{H}=5.7$ )、およびヘリックスの両親媒性を向上させた A2-17-KR-L14R/R15L ( $\mu\text{H}=7.6$ ) を新規に設計し、それらの細胞膜直接透過性を評価した。

**[方法]** ペプチドの脂質膜親和性は Trp 蛍光測定および円偏光二色性 (CD) 測定にて評価した。細胞膜透過性は蛍光標識ペプチドを CHO-K1 細胞に添加して 4°C、30 分間処理後、共焦点レーザー顕微鏡観察にて評価した。

**[結果・考察]** 設計したペプチドはいずれも両親媒性の低い Rev ( $\mu\text{H}=4.0$ ) よりも高い脂質膜親和性を示し、特に A2-17-KR-L14R/R15L は高い膜親和性を示した。また、A2-17-KR や A2-17-KR-L14R/R15L は、Rev では膜透過がほとんど認められない低濃度 (2  $\mu\text{M}$ ) においても高い膜透過性を示した。このとき、A2-17-KR は細胞質全体に分布していたが、A2-17-KR-L14R/R15L は脂質膜上に局在していた。以上の結果から、両親媒性の向上によりペプチドが脂質膜に集積することがわかり、両親媒性が細胞膜直接透過に寄与することが示唆された。