

23PO-am006

両親媒性環状ペプチドの細胞膜透過機構解明に向けたペプチドの合成

○錦織 花梨¹, 長谷川 功紀¹, 原矢 佑樹², 扇田 隆司¹, 加藤 くみ子², 赤路 健一¹, 斎藤 博幸¹ (¹京都薬大, ²国立衛研・薬品部)

【目的】近年、両親媒性環状ペプチドがエンドサイトーシスされた後、エンドソーム脂質膜と強く相互作用することが示唆されている。また細胞内移行効率についても Tat や Penetratin より高いことが報告されている。しかし、これら両親媒性環状ペプチドの細胞膜透過機構の物理化学的知見はいまだ得られていない。そこで本研究は、その解明を目的とし 8 種のペプチドを設計し、その合成に着手したので報告する。

【方法】ペプチドとして、直鎖ポリアルギニン linerR7Q、環状ポリアルギニン cyclicR7Q、およびそれらの蛍光標識体 linerR7QK(FITC)、cyclicR7QK(FITC)、また直鎖両親媒性ペプチド linerL3R4Q、環状両親媒性ペプチド cyclicL3R4Q、およびそれらの蛍光標識体 linerL3R4QK(FITC)、cyclicL3R4QK(FITC)を設計した。ペプチド鎖は Fmoc 固相合成法により伸長した。環化は Glu(Alloc)を用い、Pd 触媒により樹脂上で Alloc を選択的除去後、N 末端と反応させた。また Lys(Mtt)を用い、1%トリフルオロ酢酸処理により樹脂上の Mtt を選択的除去後、Lys 側鎖アミノ基へ FITC 修飾を行った。得られた粗ペプチドを逆相 HPLC により精製し、ESI-MS により質量分析し目的物の同定を行った。

【結果・考察】直鎖ペプチドは収率よく得ることができた。また反応条件にまだ検討の必要はあるが、樹脂上でペプチドの環化、および FITC 導入に成功し、それぞれ目的物を得ることに成功した。また 4 種のカラムを用い精製条件を検討した結果、5C18-PAQ カラムで分離能高く精製できることを見出した。今後、得られたこれらペプチドを用いて細胞膜透過機構の解明を行う。