

ペプチド核酸ファスナーによる機能性ペプチドと細胞膜透過ペプチドの連結および細胞内活性評価

(近畿大理工¹・近畿大医²) ○石井康稀¹・北松瑞生¹・星野愛可里¹・山口祐史¹・宮澤正顯²・博多義之²

Conjugation of a functional peptide with a cell-penetrating peptide via “peptide nucleic acid fastener” and evaluation of the intracellular activity (¹*Faculty of Science and Engineering, Kindai University*, ²*Faculty of Medicine, Kindai University*) ○Koki Ishii,¹ Mizuki Kitamatsu,¹ Akari Hoshino,¹ Yushi Yamaguchi,¹ Masaaki Miyazawa,² Yoshiyuki Hakata²

Intracellular delivery of the autophagy-inducing peptide (AIP) with the cell-penetrating peptide (CPP) is important to control the cell activity. However, we are concerned that the positively charged CPP that directly conjugate with AIP nonspecifically interact with the negatively charged RNA after intracellular delivery, and thereby the activity of AIP is inhibited. In this study, to confer this problem, we attempted using peptide nucleic acid (PNA), which is a nucleic acid surrogate in which the main chain consists of amide bonds and the side chain contains nucleobases, as molecular fastener to conjugate AIP with CPP.

Keywords: Peptide; Cell-Penetrating Peptide; Autophagy-Inducing Peptide; Peptide Nucleic Acid; Hybrid

オートファジーを特異的に誘導する化合物を細胞内に導入できれば、神経変性疾患の原因である凝集タンパク質を分解することができ、有効な治療法の開発に繋がると期待されている。そのため、細胞内運搬ペプチド (CPP) を用いてオートファジー誘導ペプチド (AIP) を細胞内に導入することは重要である。しかし CPP と AIP を直接連結させた場合、細胞内導入後に CPP の持つ正の電荷が RNA などの持つ負の電荷と非特異的に相互作用し AIP の機能を阻害することが懸念される。そのため本研究では、主鎖骨格がアミド結合から成り、側鎖に核酸塩基を含む核酸類似化合物であるペプチド核酸 (PNA) を介しハイブリッドを形成させることでこの問題を解決した。

Fam が修飾されている CPP (Fam-PNAn-CPP, $n = 4, 6, 8, 10, 12$)、Tmr が修飾されている AIP (Tmr-PNAm-AIP, $m = 4, 6, 8, 10, 12$)、ヒト子宮頸がん由来の HeLa 細胞を用いて、細胞内導入を行った。各々のペプチド混合物を加えた蛍光顕微鏡画像からその導入量を調べた結果、Tmr12 (T12) を固定し Fam の PNA 鎖長 (F_n , $n = 4, 6, 8, 10, 12$) を変えたときは F8 とハイブリッドを形成したときが最も効率よく細胞内に導入された (Fig. 1)。

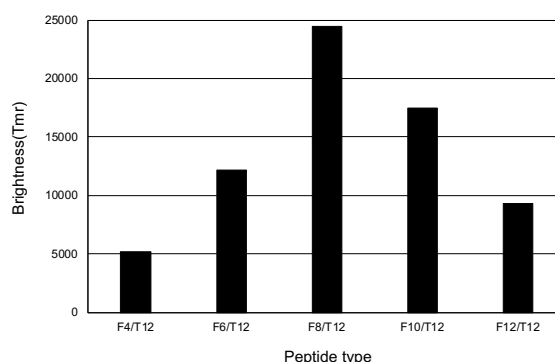


Fig. 1. 蛍光顕微鏡より T12 を固定した際の F_n の細胞内導入の定量的結果