

ペプチド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) ○井上 健¹・北松 瑞生¹・山下 和真¹・宮澤 正顕²・博多 義之²

Conjugation of a functional peptide with a cell-penetrating peptide via "peptide fastener" and evaluation of the intracellular activity (¹*Faculty of Science and Engineering, Kindai University*, ²*Faculty of Medicine, Kindai University*) ○Ken Inoue,¹ Mizuki Kitamatsu,¹ Kazuma Yamashita,¹ Masaaki Miyazawa,² Yoshiyuki Hakata²

In this study, a cell-penetrating peptide (CPP) and an autophagy-inducing peptide (AIP) were hybridized via a heterodimeric leucine zipper (E3 and K3), in order to control the autophagy induction in cells. To evaluate the intracellular delivery and the autophagy activity, we newly prepared a conjugate of K3 with AIP and a conjugate of E3 with CPP. After incubating these conjugates to HeLa cells, the intracellular delivery was observed with CLMS (Fig. 1). As the result, the delivery by the hybrid of AIP-K3 with E3-CPP was observed. In addition, LC3-II was detected in HeLa cells incubated with the hybrid (Fig. 2). From these results, it was found that AIP is delivered into cells and exerted the autophagy activity.

Keywords : Peptide; Cell-penetrating Peptide; Autophagy-Inducing Peptide; Heterodimeric Leucine Zipper; Hybrid

本研究では、細胞内でオートファジーの誘導を制御するために細胞膜透過ペプチド (CPP) とオートファジー誘導ペプチド (AIP) を分子ファスナーであるヘテロ二量体化ロイシンジッパー (E3 と K3) で連結させ、その細胞内導入の評価およびオートファジー活性の評価を行った。このために我々は新規に K3 と AIP のコンジュゲートと E3 と CPP のコンジュゲートをペプチド固相合成法により調製した。これらのコンジュゲートを HeLa 細胞に加え、インキュベートした後、それらの細胞内導入を共焦点レーザー顕微鏡で観察した (Fig. 1)。その結果 AIP-K3 と E3-CPP のハイブリッドによる細胞内導入が確認できた。また、オートファジー誘導の評価では、そのハイブリッドをインキュベートした HeLa 細胞にだけ LC3-II が検出された (Fig. 2)。これらの結果より AIP が細胞内に運搬され、かつその活性を示すことがわかった。

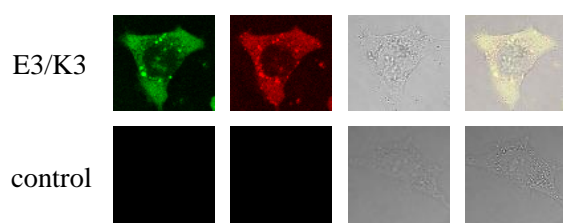


Fig. 1. AIP-K3/E3-CPP (10 μ M) で 1 時間インキュベートした HeLa 細胞を共焦点レーザー顕微鏡の画像。

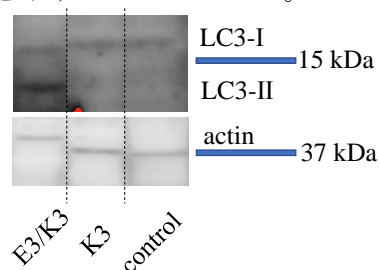


Fig. 2. AIP-K3/E3-CPP と AIP-K3 (25 μ M) LC3-II検出結果。