

生分解性超分子を用いた医療用マイクロマシン技術に関する基礎的研究

北陸先端科学技術大学院大学 材料科学研究科 助手 大谷 亨

1. はじめに

近年のナノスケール科学・ナノテクノロジーにおける期待は世界的に大きくなる傾向が強く、ナノ・マイクロレベルでの分子形態を制御した医療用マイクロマシンの設計においても戦略的な研究アプローチが必要になってくる。本研究では、多数の シクロデキストリン(α -CD) がポリエチレングリコール(PEG) を貫通したポリロタキサン(α -CD) の超分子構造とその円筒状の形態に着目し、このポリロタキサン特有の構造が分子認識機能に与える影響を検討した。

2. ポリロタキサンの超分子構造による酵素認識性

ポリロタキサン末端に導入するオリゴペプチド基として、細胞外酵素であるアミノペプチダーゼM(AP-M) により分解可能なペプチド配列(フェニルアラニルグリルグリニン(FGG) を導入したポリロタキサンを合成した。AP-M分解における α -CD貫通効果をin vitro実験から検討したところ、ポリロタキサンの分解は完全に進行したが、 α -CDの貫通していない FGG導入PEGは約30%しか分解されなかった。このことは、FGGとPEGとが化学結合すると分子量が増大してAP-MとFGG N末端との相互作用が抑制されるが、 α -CDの貫通により相互作用が再度増大したことを示している(図1)。また K_m 値は、 α -CDが貫通していない FGG導入PEGの約1/22であったことから、ポリロタキサン構造により基質の認識性が向上したことを見出した。

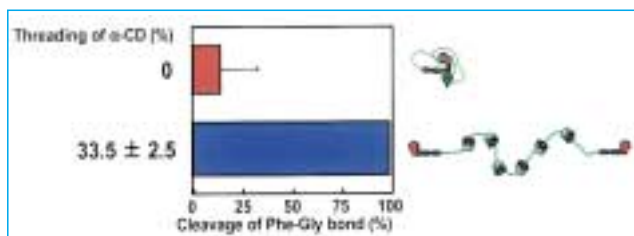


図1 PEG末端に導入したトリペプチド酵素分解における α -CD貫通効果

3. ビオチンを導入したポリロタキサンのストレプトアビジンによる認識

ポリロタキサン1分子中には約300~400個の水酸基が円筒状構造に沿って存在しているので、これを利用して水溶性リガンド多数導入すれば、ポリロタキサンの円筒状構造に沿ってリガンドが配向することが期待される。そこで、ビオチンをポリロタキサンに導入し、表面プラズモン共鳴(SPR) 解析装置を用いて予めセンサー表面に被覆されたストレプトアビジン(SA) との相互作用を解析した。被覆したSAの表面密度は、被覆時のSA結合曲線から 2.5×10^5 nmol / mm²と見積られた。これは、合成したポリロタキサン-ビオチン結合体を円筒状と仮定したときの理論的な長さを想定すると、図2のように多価的に相互作用し得るものと考えられる。ポリロタキサン-ビオチン結合体溶液をこのセンサー表面に添加したときの結合曲線から、ポリロタキサンに導入したビオチンが、SAに認識されていることを確認した。これから、ポリロタキサンの円筒状構造にリガンドを導入した分子設計は、レセプターに特異的に認識されるプローブとして利用できることを証明した。

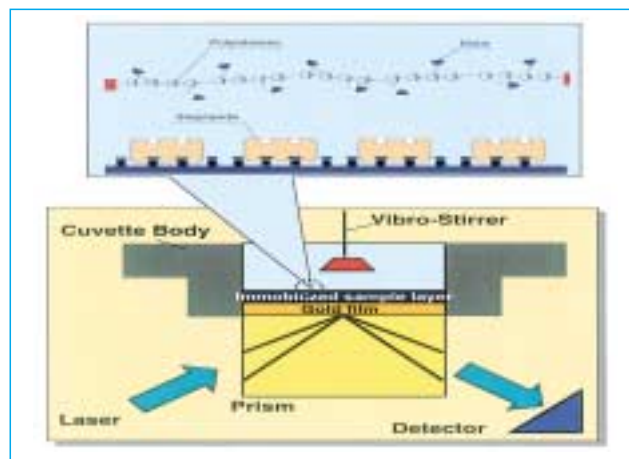


図2 表面プラズモン共鳴解析装置(IAsys, Affinity Sensors社) センサー内でポリロタキサン-ビオチン結合体とストレプトアビジンの多価的相互作用イメージ

4. ジペプチドを導入したポリロタキサンのペプチドトランスポーター(PepT1) 阻害機能

金沢大学薬学部・辻 彰教授、玉井郁巳助教授らのグループと共同で、小腸上皮細胞刷子縁膜上に発現するペプチドトランスポーター(PepT1) による認識・細胞内輸送される基質(バリリジン; Val-Lys) をポリロタキサン中の多数の水酸基に導入し、PepT1に特異的に認識されるジペプチド誘導体(グリルサルコニン; GlySar) の輸送(取り込み) 阻害におけるポリロタキサン円筒状構造の効果をin vitro実験から検討した。ポリロタキサン1分子中にVal-Lysが約46分子導入された結合体であることを確認した。PepT1が安定に発現したHela細胞培養液に結合体を添加するとGlySarの取り込みは減少した。さらに、Val-Lysの濃度に換算して同じ濃度のVal-Lys導入デキストランもしくはVal-Lys導入 α -CDでは、Val-Lys導入ポリロタキサンより取り込み阻害が弱かった。このことは、ポリロタキサンの円筒状構造がVal-LysとPepT1の相互作用に効果的であることを示唆しており、ポリロタキサン中のVal-LysがPepT1と多価相互作用した効果と考えられる(図3)。

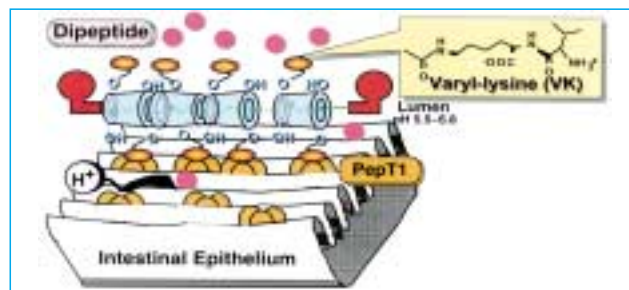


図3 ポリロタキサン-VK結合体とペプチドトランスポーターPepT1との多価的相互作用によるペプチド輸送阻害の模式図

5. まとめ

以上から、ポリロタキサンの超分子構造と円筒状の形態が、1 酵素 基質複合体形成とレセプター認識を制御する機能に有用であることを示した。