

ペプチドオリゴマーの擬似体液中における ミネラル化能

(東理大院総化) ○小野上綾乃・飯島一智

(慶大理工) 松原輝彦・佐藤智典・(東理大院総化) 橋詰峰雄

【緒言】 バイオミネラル化の原理を利用した有機-無機ハイブリッドの作製は、温和な条件下での生体適合性材料の作製において有用な手法である。本研究では、骨の主成分であるヒドロキシアパタイト (HAp; $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) に高い結合性を持つペプチド配列¹⁾を基に設計したペプチドおよびその樹状オリゴマーの擬似体液 (simulated body fluid, SBF)²⁾中におけるミネラル化能について評価し、ペプチドのオリゴマー化が析出物の形態、化学組成および成長速度へ与える影響を調査した。

【実験】 HAp 結合性ペプチド HAP¹⁾の配列を基に設計したペプチド (HABP-C; MLPHHGA) およびその樹状オリゴマー ((HABP-C)₂Lys, ((HABP-C)₂Lys)₂Lys) を Fmoc 固相法で合成した。これらペプチドをそれぞれ SBF (pH 7.4) に添加し、36.5 °C で所定の時間インキュベートした。反応後の溶液を透析、凍結乾燥して得られた生成物に超純水 50 μL 、エタノール 50 μL を加え、懸濁液を作製し基板に滴下した。生成物は走査型電子顕微鏡 (SEM)、エネルギー分散 X 線分光 (EDX)、フーリエ変換型赤外分光 (FT-IR) によって評価した。

【結果および考察】 ペプチド HABP-C および樹状二量体ペプチド (HABP-C)₂Lys をそれぞれ SBF へ添加することによって、HABP の場合と同様³⁾、数 μm から数百 μm の大きさの析出物が生成した (Fig.1)。種々の条件について検討した結果、SBF 中のペプチド濃度が析出物の形態とその制御に要する時間へ影響を与える事が明らかとなった。ペプチドを添加しない系においては同様の析出物は観察されず、SBF 中のペプチドが析出物の生成を誘起したと考えられた。EDX および FT-IR 測定より、析出物はペプチドとリン酸カルシウムの複合体であることがわかった。析出物の Ca/P 比は HAp の理論値 (1.67) よりも低い値となり、析出物中に Na や Mg の存在が確認された事から、析出物中のリン酸カルシウムが骨類似 HAp であると考えられた。発表では、樹状四量体ペプチド ((HABP-C)₂Lys)₂Lys のミネラル化能についても報告予定である。

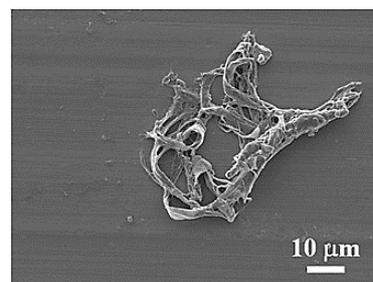


Fig.1 SEM image of the deposit induced by (HABP-C)₂Lys in SBF after incubation of 2 h.

References

- 1) M. Gungormus, H. Fong, I. W. Kim, J. S. Evans, C. Tamerler, M. Sarikaya, *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 966–973.
- 2) T. Kokubo, H. Kushitani, S. Sakka, T. Kitsugi, T. Yamamuro, *J. Biomed. Mater. Res.* **1990**, *24*, 721–734.
- 3) M. Hashizume, N. Kamaya, Y. Uchida, T. Matsubara, T. Sato. *Chem. Lett.* **2012**, *41*, 588–590.

Mineralization Ability of Peptide Oligomers in Simulated Body Fluids

O. ONOGAMI,¹ K. IJIMA,¹ T. MATSUBARA,² T. SATO,² M. HASHIZUME¹ (¹Tokyo Univ. of Sci., ²Keio Univ., jb112648@ed.tus.ac.jp)

In this study, we investigated effect of peptide oligomerization on biomimetic mineralization. The peptide sequences were based on a peptide having high binding affinity to hydroxyapatite. The peptides, HABP-C and its dendritic dimer, were synthesized using solid phase peptide synthesis procedures. They were then added to simulated body fluid (SBF) and incubated at 36.5 degrees C. SEM observation revealed formation of micrometer-sized deposits, whose morphology was affected by the peptide concentration in SBF. EDX and FT-IR spectra of the samples supported deposits contained peptide and calcium phosphate. We are currently investigating the mineralization ability of the peptide having higher degree of oligomerization.