

光に応答してコンフォメーション変化するポリペプチドの設計と細胞培養基材への応用

(¹ 関西大化学生命工・² 関西大 ORDIST) O高尾夢芽¹・河村暁文^{1,2}・宮田隆志^{1,2}

【緒言】

細胞は、周囲の化学的性質および物理的性質を認識し、伸展や増殖、分化などの挙動を変化させる。近年、細胞挙動を足場材料の物理的性質によって制御するメカノバイオロジーが注目されている。われわれは、これまでに光照射に伴う材料表面の弾性率変化により、細胞の接着位置や配列の制御に成功している^{1,2)}。一方、ポリペプチドは、ペプチド鎖内での水素結合などの相互作用により、 α -ヘリックスなどの二次構造を形成する。さらに、ポリペプチドは、温度や pH などの外部刺激によってコンフォメーション変化し、主鎖の剛直性を変化させる。しかし、光に応答して水中でコンフォメーション変化するポリペプチドは報告されていない。そこで本研究では、pH 応答性ポリペプチドの側鎖に光異性化分子を導入し、光に応答して水中でコンフォメーション変化する光応答性ポリペプチドの合成を試みた (Fig. 1)。この光応答性ポリペプチドは、光照射に伴ったコンフォメーション変化による剛直性の制御が期待できるため、光照射に応じた基板の硬さの変化によって細胞挙動を自在に制御できる新規な細胞培養基材への応用が期待される。

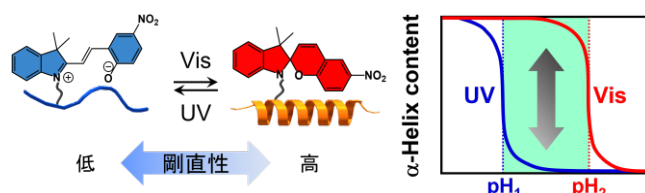


Fig. 1. Illustration of photoresponsive polypeptides that undergo a conformational change from α -helix to random coil in response to light exposure.

【実験】

光異性化分子である 1-(2-hydroxyethyl)-3,3-dimethylindolino-6'-nitrobenzopyrrolospiran を poly(L-glutamic acid) (PGA) に修飾し、スピロピラン修飾 PGA (SP-PGA) を合成した。次に、SP-PGA フィルムを調製して各 pH の緩衝液に浸漬し、光照射前後におけるフィルムの円二色性 (CD) 測定を行うことにより、SP-PGA のコンフォメーションに及ぼす pH や光照射の影響を検討した。さらに、フォトマスクを通した光照射によってパターンニングを施した SP-PGA フィルムにマウス線維芽細胞 (L929) を播種し、細胞の増殖挙動や接着挙動を評価した。

【結果・考察】

Fig. 2 には、スピロピラン導入率 20 mol% の SP-PGA フィルムを pH 6.5 または pH 7.0 の緩衝液に浸漬させた後に、UV を照射した際の光照射前後での CD 測定結果を示した。図より、pH 6.5 において UV 照射前は 215 nm~230 nm 付近に α -ヘリックス由来の負のコットン効果を示しているが、UV 照射後は 200 nm 以下にランダムコイル由来の負のコットン効果が認められる。また、pH 7.0 でも UV 照射によって僅かながら同様の変化が観察できる。

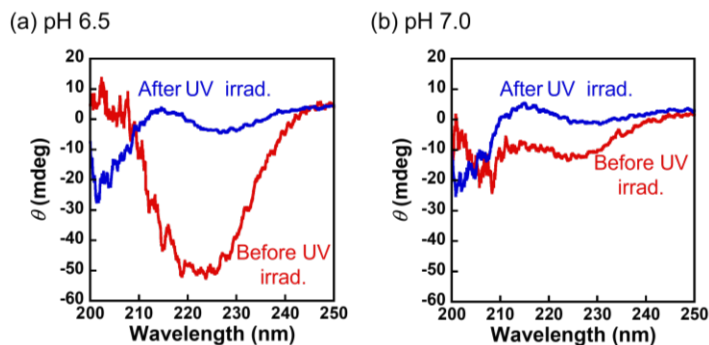


Fig. 2. Circular dichroism spectra of a SP-PGA film with a spiropyran content of 20 mol% in a buffer solution at (a) pH 6.5 and (b) pH 7.0 before and after the UV (365 nm) exposure.

これらの結果は、光照射によるスピロピランの異性化が PGA のコンフォメーションに影響することを示唆している。したがって、SP-PGA フィルムは UV 照射により α -ヘリックスからランダムコイルへとコンフォメーション変化することが明らかとなった。さらに、フォトマスクを通した UV 照射によりパターン形成した SP-PGA フィルム上で細胞培養すると、細胞パターンを形成することもわかった。

1) T. Noguchi, N. Akioka, Y. Kojima, A. Kawamura, T. Miyata, *Adv. Mater. Interfaces*, **9**, 2101965 (2022).

2) T. Noguchi, M. Higashino, N. Kodama, A. Kawamura, T. Miyata, *Responsive Mater.*, **1**, e20230007 (2023).