

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：24403

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23790129

研究課題名(和文)ミトコンドリア集積性アルギニンペプチドの機能評価と活性分子送達への応用

研究課題名(英文)Development of mitochondria-targeted cell-penetrating peptide for intracellular delivery

研究代表者

中瀬 生彦(Nakase, Ikuhiko)

大阪府立大学・21世紀科学研究機構・講師

研究者番号：40432322

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、エネルギー産生や細胞の生死に関わるミトコンドリアに着目し、ミトコンドリア標的能を有する膜透過性ペプチドの創製を試みた。脂質膜においてヘリックス構造をとる両親媒性の人工抗菌ペプチド、KLAペプチドを基に、ミトコンドリア標的ペプチドをデザインし、それぞれの細胞内移行量や局在性を検討した。KLAペプチドの全てのリジンを変えたRLAペプチドは、約40倍もの高い細胞内移行効率を示し、高いミトコンドリア集積性を示すことを確認した。また、RLAペプチドを結合したBcl-xLタンパク質由来BH4配列は、高いミトコンドリア集積性及び抗アポトーシス活性を示すことを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In this research, we demonstrated that the simple substitution of D-lysine with D-arginine in an artificial amphipathic helical peptide, KLA, which was originally designed as an antimicrobial peptide, considerably improved the membrane permeability of the peptide (RLA), and increased its mitochondrial accumulation without causing significant cytotoxicity. FITC-labeled RLA was efficiently taken up by HeLa cells ~40-fold higher than that of the KLA analyzed by flow cytometry. We also evaluated the mitochondrial delivery of a Bcl-xL BH4 domain peptide using RLA peptide. When the HeLa cells were treated with FITC-labeled RLA-BH4, marked colocalization of the fluorescent signals from cells was observed with mitochondrial structures. Additionally, pretreatment of RLA-BH4 resulted in effective suppression of apoptosis induced by etoposide. Thus, organelle-targeting is important for delivery of bioactive molecules, and the RLA peptide should provide a novel mitochondrial targeting method.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・創薬化学

キーワード：膜透過性ペプチド ミトコンドリア 薬物送達 アルギニン

1. 研究開始当初の背景

近年、細胞内へ高効率に移行する 10 残基程度の短鎖ペプチドが見出されており、中でもヒト免疫不全ウイルス(HIV)-1 Tat タンパク質由来のペプチドや、オリゴアルギニンペプチド等の細胞内移行性が特に優れたアルギニンペプチドを細胞内導入キャリアーとして用いることで、様々な分子の細胞内導入に成功している。タンパク質やペプチド、核酸や各種ポリマーといった、それ自身では細胞内へ移行困難なカーゴ分子とキャリアーペプチドを繋げることでカーゴ分子の細胞内移行量を上昇させ、それらのサイトゾル及び核内への送達が可能となっている。アルギニンペプチドの細胞内移行は、ペプチドによるマクロピノサイトーシスの効率的誘導が重要であることが示されているが、ペプチドの細胞膜通過については、そのマクロピノサイトーシス過程のどこで生じているのか未だ詳細な機序は不明である。

アルギニンペプチドは、上記の様に様々な分子の細胞内送達に使われている。しかし、既知のアルギニンペプチドの付加により目的カーゴの細胞内移行量が増大するが、細胞内で送達される場所はサイトゾル及び核内に拡散する場合はほとんどで、カーゴが本来送達されるべき細胞内の特定オルガネラへの送達効率が悪い場合が多い。目的カーゴ分子がその生理活性を最大に出すためには、その分子の働くべき細胞内での場所を考慮しなければならない。細胞内でキャリアーペプチドと目的カーゴを切り離す配列を挿入することも可能であるが、物性が不安定な場合や、細胞内へ移行する前の時点で切断を受けやすい場合が多く、目的カーゴ分子の細胞内移行効率が悪くなる。改善方法として、キャリアーペプチド自体が形質膜を通過後に特異的にオルガネラに集積する性質をもたせることができると、目的カーゴ分子の活性上昇が大いに期待され、キャリアーとしての有用性が高まることが考えられる。

2. 研究の目的

本研究課題では、細胞に送達するのみならず、細胞内においてオルガネラを標的可能な膜透過性ペプチドの創製を行うことが本研究の目的である。特に、標的オルガネラとして、ミトコンドリアに対して高効率な局在を示すペプチドの創出研究を行った。ミトコンドリアは、細胞のエネルギー産生工場として、また細胞の生死を制御する重要なタンパク質の貯蔵庫でもある。ミトコンドリアを舞台にして細胞死を制御する Bcl-2 ファミリータンパク質や、ミトコンドリア病に関わる疾患治療標的酵素をはじめとした、生物学的にも非常に興味深い様々な分子がミトコンドリアには多数存在する。このミトコンドリアへの特異的な薬物送達技術の開発は有用性が高いことが考えられ、本研究課題では細胞外から形質膜を通過しミトコンドリアへ特異

的且つ効率的に集積可能なペプチドを創製し、その細胞内移行性及び、薬物運搬体としての機能性を詳細に解析し、生理活性をもつカーゴ分子を本ペプチドでミトコンドリアに効率的に送達させる技術を確立することを目的とする。

3. 研究の方法

全てのペプチドは Fmoc 固相法で合成し、レジンからの脱保護、及び、HPLC での精製後、MALDI-TOFMS による測定で、各ペプチドの分子量を確認した。また、細胞内移行性を調べる為に、N 末端に FITC で蛍光標識したペプチドも同様に合成した。細胞内における移行性を確認するために、共焦点顕微鏡 (オリンパス FV300、FV1000)、及び、フローサイトメーター (BD Biosciences FACScalibur) を用いて、細胞内局在性と移行量を検出した。また、細胞毒性に関しては WST-1 アッセイを用い、吸光度測定によって細胞生存率の測定を行った。

4. 研究成果

申請者は、抗菌活性を有する人工ペプチドをアルギニンリッチな配列に改変することで、ペプチド自体の形質膜通過能が格段に上昇し、しかもサイトゾル移行後にミトコンドリアに著しく集積する性質をもつ D 体のアミノ酸からなるペプチドを見出した。人工的に作られた KLA ペプチド (アミノ酸配列: $D(KLAKLAK)_2$ -amide) は 14 残基の D 体のアミノ酸で構成されており、膜中でヘリックス構造を呈する両親媒性のペプチドである。このペプチドは、Ellerby らによって、癌細胞を標的するために RGD ペプチドを結合した KLA を調製し、本ペプチドが細胞膜を通過してミトコンドリアに達し、アポトーシスによる細胞死を誘導することを明らかにした。ミトコンドリア膜は約 -200 mV であることから、カチオン性のペプチドがミトコンドリアへ達しやすいことを考え、KLA ペプチドを基盤にしたミトコンドリア送達ペプチドの創製が可能か検討を行った。また他の研究グループは、KLA ペプチドのロイシン部分を他の疎水性アミノ酸に置換することで、細胞へのアポトーシス誘導能が高まることを既に示しており、本研究ではミトコンドリアへの集積性を維持しながらアポトーシスが誘導されない配列を見出すことを試みた。

細胞内移行において、我々はペプチド配列中のアルギニン残基が、細胞膜における糖鎖や、負電荷を有する脂質を介した細胞膜への集積に重要な役割を有しており、そのペプチドの細胞膜への効率的な集積の結果、細胞内へ積極的に取り込まれることを示している。また他の研究グループにおいても、膜透過性ペプチドのひとつである antennapedia homeodomain 由来の penetratin ペプチドにおいて、配列中のリジン残基をアルギニン残基に置換することで、penetratin の細胞内移行性

が促進することを報告している。そこで我々は、KLA ペプチド配列のリジン残基をアルギニン残基に置換した RLA ペプチド (アミノ酸配列: $D(RLARLAR)_2$ -amide) を新たに合成し、その細胞内移行性について検討を行った。

FITC で蛍光標識したペプチドを用いて、ヒト子宮頸癌由来の HeLa 細胞にてペプチドの細胞内移行を調べた結果、5 μ M のペプチド濃度で 30 分の条件で細胞に取り込ませた結果、フローサイトメーターによる検討において、KLA ペプチドと比較して RLA ペプチドが 40 倍以上も高効率に細胞内へ取り込まれることが明らかとなった。この RLA ペプチドについて、その膜への親和性、及び、ペプチドの二次構造への影響に関して円二色性分散計を用いて計測した結果では、phosphatidylcholine と phosphatidylserine (4:1) の脂質含有条件において、ヘリックス含有量の指標になる 222 nm の molar ellipticity を調べた結果、11834 deg cm^2 $dmol^{-1}$ と高いことが示され、KLA ペプチド (7880 deg cm^2 $dmol^{-1}$) と比較的に近いことから、KLA ペプチド配列のリジン残基をアルギニン残基に置換しても、脂質膜中におけるヘリックス構造形成が保持されることがここで示された。

次に、RLA ペプチドの細胞内移行におけるヘリックス構造の重要性について検討を行うにあたり、RLA ペプチド配列にグリシン残基を入れた RLAGG ペプチド (アミノ酸配列: $D(RLARLAR)$ -GG- $D(RLARLAR)$ -amide) を調製した。この RLAGG ペプチドは、配列中に新たに挿入したグリシン残基によって、ヘリックス含有量が RLA ペプチドと比較して 60% 程度低下することが示されている。そこで、同様に FITC で蛍光標識した RLAGG ペプチドの細胞内移行性について HeLa 細胞にて検討した結果では、RLA ペプチドと比較して細胞内移行性は低く、KLA ペプチドと同程度であったことから、本ペプチドにおけるヘリックス構造の重要性が示された。また RLA ペプチド配列のアルギニン残基を 1 残基リジンに置換することで、その細胞内移行量が 90% 程度低下することも示されたことから、アルギニン残基とヘリックス構造の双方がペプチドの細胞内移行に重要であることが明らかとなった。

細胞毒性に関しては、WST-1 アッセイにて検討を行ったが、上記の HeLa 細胞での実験において、20 μ M のペプチド濃度まで上昇させても、24 時間のペプチド処理において、RLA ペプチドによる細胞毒性がほとんどみられなかった。

共焦点顕微鏡を用いた蛍光標識したペプチドの細胞内移行観察において、上記同様の HeLa 細胞を用いた実験では、ペプチド濃度 5 μ M で 30 分、37°C で細胞内に取り込ませると、RLA ペプチドがミトコンドリアに高効率に集積することが観察された。FITC で蛍光標識した RLA ペプチドは、ミトコンドリア染色試薬である MitoTracker と共局在することが

確認され、既存の膜透過性ペプチドであるオクタアルギニン (R8) ペプチドの場合 (エンドソーム状の細胞内局在) とは異なる細胞内挙動を示すことが明らかとなった。KLA ペプチドの場合は、ペプチド濃度を 20 μ M まで上げると、ミトコンドリアへ局在することが観察された。また、R8 ペプチドと KLA ペプチドをつなげたペプチド (R8-KLA) (アミノ酸配列: R8-GG- $D(KLAKLAK)_2$ -amide) を合成し、同様の実験を行った結果では、著しい細胞毒性を生じることが明らかとなった。さらに、RLA ペプチドの経時的な細胞内移行観察を行った結果、ペプチド処理後、6 分程度といった短時間で、ペプチドが形質膜を通過し、ミトコンドリアに集積し始めている様子が観察されている。

RLA ペプチドの細胞内移行におけるエンドサイトーシスの依存性に関する検討では、エンドサイトーシスが抑制される低温条件 (4°C) におけるペプチドの細胞内取り込みについて検討を行った結果、著しくペプチドの細胞内移行効率、及び、ミトコンドリアへの集積効率が低下したことから、本ペプチドの細胞内移行において、エンドサイトーシスの経路が大きく関与していることが示唆された。

さらに、RLA ペプチドのミトコンドリアへの集積持続性に関する検討も行った。蛍光標識した RLA ペプチドを上記同様に、5 μ M のペプチド濃度で 30 分の条件で HeLa 細胞に取り込ませた後、細胞洗浄で移行していないペプチドを除去した後、24 時間培養し、ペプチドのミトコンドリア集積性について調べた結果、このような長時間培養の後においても RLA ペプチドが極めて高い割合でミトコンドリアに持続的に集積している様子が確認された。本結果から、RLA ペプチドが持続的なミトコンドリアへの高い集積性を有することが明らかにされた。一方で R8 ペプチドの場合は、同様な実験条件において、ミトコンドリアへはほとんど集まらないことが示されている。

次に RLA ペプチドの細胞内送達性について、BH4 ペプチドを用いて検討を行った。Bcl-x_L 由来の BH4 ペプチドは、ミトコンドリアに存在する voltage-dependent anion channel (VDAC) を制御することで、ミトコンドリアからチトクロム c の放出を防ぎ、最終的にはアポトーシスを抑制することが知られている。そこで本研究では、RLA ペプチドを用いた BH4 ペプチドのミトコンドリア送達について検討を行った。

RLA と BH4 ペプチドを繋げたペプチド (RLA-BH4) (アミノ酸配列: $D(RLARLAR)_2$ -GG-SNRELVVDFLSYKLSQK-GYS-amide) を合成し、FITC で蛍光標識したペプチドを用いた細胞内移行性に関する検討を行った。HeLa 細胞にて、5 μ M のペプチド濃度で 1 時間の条件で細胞に取り込ませた結果、RLA-BH4 は効率的に形質膜を通過し、

ミトコンドリアに集積することが共焦点顕微鏡で観察された。一方で、R8 と BH4 ペプチドを繋げたペプチド (R8-BH4) (アミノ酸配列: RRRRRRRR-GG-SNRELVVDFLSYKLSQKGYs-amide) の場合は、エンドソーム様の蛍光シグナルのみ観察され、ミトコンドリアへはほとんど集積していないことが確認された。しかし、フローサイトメーターを用いた実験では、R8-BH4 ペプチドが RLA-BH4 ペプチドと比較して、同実験条件で 1.6 倍程度も細胞内移行効率が高いことも示された。次に、アポトーシスを誘導するエトポシド処理による RLA-BH4 ペプチドの活性への影響について検討を行った。エトポシドは DNA topoisomerase II を阻害することで、最終的にミトコンドリアからチトクロム c を放出させ、アポトーシスによる細胞死が誘導されることが知られている。本実験では、RLA-BH4 を 5 μ M のペプチド濃度で 1 時間 HeLa 細胞に取り込ませた後、200 μ M のエトポシドを細胞に投与し、15 時間後の細胞死の誘導性に関する検討を行った。結果として、ペプチド処理をしていないコントロールの場合は、細胞の変形が確認され、50%以上の細胞が細胞死を起こしていることが認められた。一方で RLA-BH4 ペプチドを先に処理した細胞では、エトポシドを投与しても、18%程度の細胞のみが死細胞となることが明らかになり、有意に RLA-BH4 ペプチドが細胞死を抑制することが示された。一方で、R8-BH4 ペプチドの場合は、上記のように細胞内移行量が RLA-BH4 ペプチドの場合よりも高いものの、結果としてエトポシドの投与によって、コントロールの場合と同様に 50%以上の細胞が細胞死を起こしていることが明らかとなった。また、RLA ペプチドと BH4 ペプチドを繋げずに投与した場合においても、コントロール同様に有意な細胞死の抑制は見られなかった。

このように、本研究課題によってミトコンドリアに送達できる新しい膜透過性ペプチド RLA の創製に成功した。また、本研究結果によって、どんなにキャリアー分子を用いて活性物質の細胞内への送達量を高めても、活性を発揮する為に必要な細胞内での場所に到達しない限りは活性を誘導できないことが示唆され、細胞内における局在のコントロールの重要性を示すに至った。本研究成果は、ミトコンドリアへの送達システムとしてのみならず、今後の薬物送達システムの構築研究において、特異的なオルガネラ送達における考慮すべき重要な基礎的知見として大きく貢献すると強く考える。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 12 件)

① Silvia Pujals, Hiroki Miyamae, Sergii Afonin,

Tomo Murayama, Hisaaki Hirose, Ikuhiko Nakase, Kentaro Taniuchi, Masato Umeda, Kazutami Sakamoto, Anne S. Ulrich, Shiroh Futaki, Curvature engineering: positive membrane curvature induced by epsin N-terminal peptide boosts internalization of octaarginine, *ACS Chemical Biology* 8, 1894-1899 (2013), 査読有、doi: 10.1021/cb400298

② Asako Mitsueda, Yuri Shimatani, Masahiro Ito, Takashi Ohgita, Asako Yamada, Susumu Hama, Astrid Gröslund, Staffan Lindberg, Ulo Langel, Hideyoshi Harashima, Ikuhiko Nakase, Shiroh Futaki, Kentaro Kogure, Development of a novel nanoparticle by dual modification with the pluripotential cell-penetrating peptide PepFect6 for cellular uptake, endosomal escape and decondensation of an siRNA core complex, *Biopolymers (Peptide Science)* 100, 698-704 (2013), 査読有、doi: 10.1002/bip.22310

③ Sayaka Katayama, Ikuhiko Nakase, Yoshiaki Yano, Tomo Murayama, Yasushi Nakata, Yoshiaki Okada, Katsumi Matsuzaki, Shiroh Futaki, Effects of pyrenebutyrate on the translocation of arginine-rich cell-penetrating peptides through artificial membranes: Recruiting peptides to the membranes, dissipating liquid-ordered phases, and including curvature, *Biochimica et Biophysica Acta-Biomembranes* 1828, 2134-2142 (2013), 査読有、doi: 10.1016/j.bbmem.2013.05.016

④ Yoshimasa Kawaguchi, Gen Tanaka, Ikuhiko Nakase, Miki Imanishi, Junya Chiba, Yasumaru Hatanaka, Shiroh Futaki, Identification of cellular proteins interacting with octaarginine (R8) cell-penetrating peptide by photo-crosslinking, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 23, 3738-3740 (2013), 査読有、doi: 10.1016/j.bmcl.2013.05.008

⑤ Chisato M. Yamazaki, Ikuhiko Nakase, Hiroyuki Endo, Saya Kishimoto, Yoshihiro Mashiyama, Ryo Masuda, Shiroh Futaki, Takaki Koide, Collagen-like cell-penetrating peptides, *Angewandte Chemie International Edition* 52, 5497-5500 (2013), 査読有、doi: 10.1002/anie.201301266

⑥ Yoshihiro Kuroda, Nahoko Kato-Kogoe, Emi Tasaki, Eri Murata, Koyo Ueda, Mineo Abe, Kazuhide Miyamoto, Ikuhiko Nakase, Shiroh Futaki, Yumi Tohyama, Munetaka Hirose, Oligopeptides derived from autophosphorylation sites of EGF receptor suppress EGF-stimulated responses in human lung carcinoma A549 cells, *European Journal of Pharmacology* 698, 87-94 (2013), 査読有、doi: 10.1016/j.ejphar.2012.10.007

⑦ Ikuhiko Nakase, Shinya Okumura, Sayaka Katayama, Hisaaki Hirose, Silvia Pujals,

- Hirofumi Yamaguchi, Satoko Arakawa, Shigeomi Shimizu, Shiroh Futaki, Transformation of an antimicrobial peptide into a plasma membrane-permeable, mitochondria-targeted peptide via the substitution of lysine with arginine, *Chemical Communications* 48, 11097-11099 (2012), 査読有、doi: 10.1039/c2cc35872g
- ⑧ Gen Tanaka, Ikuhiko Nakase, Yasunori Fukuda, Ryo Masuda, Shinya Oishi, Kazuya Shimura, Yoshimasa Kawaguchi, Tomoka Takatani-Nakase, Ülo Langel, Astrid Gräslund, Katsuya Okawa, Masao Matsuoka, Nobutaka Fujii, Yasumaru Hatanaka and Shiroh Futaki, CXCR4 stimulates macropinocytosis: implications for cellular uptake of arginine-rich cell-penetrating peptides and HIV, *Chemistry & Biology* 19, 1437-1446 (2012), 査読有、doi: 10.1016/j.chembiol.2012.09.011
- ⑨ Kazutami Sakamoto, Kenichi Aburai, Taku Morishita, Kenichi Sakai, Hideki Sakai, Masahiko Abe, Ikuhiko Nakase, and Shiroh Futaki, Bioinspired mechanism for the translocation of peptide through the cell-membrane, *Chemistry Letters* 41, 1078-1080 (2012), 査読有、doi: 10.1246/cl.2012.1078
- ⑩ Kentaro Takayama, Hisaaki Hirose, Gen Tanaka, Silvia Pujals, Sayaka Katayama, Ikuhiko Nakase, Shiroh Futaki, Effect of the attachment of a penetration accelerating sequence and the influence of hydrophobicity on octaarginine-mediated intracellular delivery, *Molecular Pharmaceutics* 9, 1222-1230 (2012), 査読有、doi: 10.1021/mp200518n
- ⑪ Ikuhiko Nakase, Yusuke Konishi, Masashi Ueda, Hideo Saji, Shiroh Futaki, Accumulation of arginine-rich cell-penetrating peptides in tumors and the potential for anticancer drug delivery *in vivo*, *Journal of Controlled Release* 159, 181-188 (2012), 査読有、doi: 10.1016/j.jconrel.2012.01.016
- ⑫ Hisaaki Hirose, Toshihide Takeuchi, Hiroko Osakada, Silvia Pujals, Ikuhiko Nakase, Shouhei Kobayashi, Tokuko Haraguchi, Shiroh Futaki, Transient focal membrane deformation induced by arginine-rich peptides leads to their direct penetration into cells, *Molecular Therapy* 20, 984-993 (2012), 査読有、doi: 10.1038/mt.2011.313
- [学会発表] (計 54 件)
- ① 中瀬生彦、大崎勝弘、二木史朗、アルギニンペプチドの細胞内取り込みにおける syndecan-4 と PKC α の寄与、日本薬学会第 133 年会 (2013 年 3 月 30 日、神奈川)
- ② Ikuhiko Nakase, Yusuke Konishi, Masashi Ueda, Hideo Saji, Shiroh Futaki, Tumor accumulation of arginine-rich cell-penetrating peptides and delivery of anticancer drug *in vivo*, 2nd International Conference on Biomaterials Science in Tsuba (ICBS2013) (2013 年 3 月 19-22 日、茨城)
- ③ 中瀬生彦、膜透過性アルギニンペプチドを用いた効率的な細胞内導入、ペプチド研究所 若手セミナー (2013 年 3 月 8 日、大阪)
- ④ 中瀬生彦、アルギニンペプチドの効率的な細胞内移行: 機序と展開、第 34 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム (2012 年 11 月 16 日、京都)
- ⑤ 中瀬生彦、片山沙綾香、奥村真也、二木史朗、ミトコンドリアを標的とする膜透過ペプチドの創製と活性分子の細胞内送達、第 49 回ペプチド討論会 (2012 年 11 月 9 日、鹿児島)
- ⑥ 中瀬生彦、片山沙綾香、奥村真也、二木史朗、ミトコンドリアを標的とする細胞膜透過ペプチドベクターの創製、第 6 回バイオ関連化学シンポジウム (2012 年 9 月 6 日、北海道)
- ⑦ 中瀬生彦、細胞機能探索に有用なペプチドツール~細胞内導入と受容体創製~、サントリー生命科学財団 生物有機化学研究所シンポジウム (2012 年 8 月 27 日、京都)
- ⑧ 中瀬生彦、小西雄介、上田真史、佐治英郎、二木史朗、*In vivo* におけるアルギニンペプチドの腫瘍集積と抗癌剤送達への応用、第 28 回日本 DDS 学会学術集会 (2012 年 7 月 5 日、北海道)
- ⑨ 中瀬生彦、膜透過性ペプチドの効率的な細胞内移行、第 12 回日本蛋白質科学会年会 (2012 年 6 月 20 日、愛知)
- ⑩ Ikuhiko Nakase, Shiroh Futaki, Efficient internalization of arginine-rich cell-penetrating peptide through cell membranes, Satellite mini-workshop of IACIS 2012 (2012 年 5 月 12 日、千葉)
- ⑪ 中瀬生彦、小西雄介、上田真史、佐治英郎、二木史朗、*In vivo* における膜透過性ペプチドの腫瘍集積と抗癌剤送達、日本薬学会第 132 年会 (2012 年 3 月 29-31 日、北海道)
- ⑫ 中瀬生彦、片山沙綾香、奥村真也、二木史朗、ミトコンドリアを標的にする膜透過性ペプチドの創製と活性分子送達、日本薬学会第 132 年会 (2012 年 3 月 29-31 日、北海道)
- ⑬ Ikuhiko Nakase, Shiroh Futaki, Mechanisms to attain efficient cellular uptake of arginine-rich cell-penetrating peptides, Peptide therapeutics Conference 2012 (2012 年 2 月 12-16 日、スペイン)
- ⑭ Ikuhiko Nakase, Yusuke Konishi, Masashi Ueda, Hideo Saji, Shiroh Futaki, Tumor

accumulation of arginine-rich cell-penetrating peptides and anticancer drug delivery in vivo, 8th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium “Frontier of Medicinal Science” (2011年11月29日-12月2日、東京)

- ⑮ 二木史朗、田中弦、中瀬生彦、福田保則、畑中保丸、フォトクロスリンク法によるアルギニンペプチド受容体同定の試み、第37回反応と合成の進歩シンポジウム(2011年11月7-8日、徳島)
- ⑯ 中瀬生彦、Mechanisms of efficient cellular uptake of arginine-rich cell-penetrating peptides、第48回ペプチド討論会(2011年9月27-29日、北海道)
- ⑰ 中瀬生彦、小西雄介、上田真史、佐治英郎、二木史朗、膜透過性アルギニンペプチドのマウス体内動態及び腫瘍集積性、第48回ペプチド討論会(2011年9月27-29日、北海道)
- ⑱ 中瀬生彦、小西雄介、上田真史、佐治英郎、二木史朗 In vivoにおける膜透過性アルギニンペプチドの腫瘍集積、アンチセンス・遺伝子・デリバリーシンポジウム(2011年9月1~2日、大阪)
- ⑲ 中瀬生彦、膜透過性ペプチドの作用メカニズム、第29回物性物理化学研究会「膜のダイナミズムと薬物透過：基礎から予測・制御まで」(2011年5月20日、京都)
(その他35件)

[図書] (計5件)

- ① 細胞膜透過ペプチド、二木史朗、田中弦、中瀬生彦、「応用が広がる DDS-人体環境から農業・家電まで-」株式会社エヌ・ティイー・エス刊 135-139 (2013)
- ② 中瀬生彦、二木史朗、細胞膜透過ペプチドによるタンパク質細胞導入、試料分析講座「タンパク質分析」日本分析化学会編 219-231 (2012)
- ③ 中瀬生彦、田中弦、二木史朗、膜透過性アルギニンペプチドの設計と合成、遺伝子医学 MOOK「最新ペプチド合成技術とその創薬研究への応用」173-178 (2012)
- ④ 二木史朗、中瀬生彦、ペプチドベクターを用いた効率的細胞内導入法(第19章)、CMC出版「蛍光イメージング/MRIプローブの開発」173-179 (2011)
- ⑤ 二木史朗、中瀬生彦、オリゴアルギニン修飾を用いた薬物の細胞内取り込みの改善とその機構、遺伝子医学 MOOK 別冊「ペプチド・タンパク質性医薬品の新規 DDS 製剤の開発と応用」117-122 (2011)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.nanosq.21c.osakafu-u.ac.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中瀬 生彦 (NAKASE, Ikuhiko)

大阪府立大学・21世紀科学研究機構・ナノ科学・材料研究センター・特別講師

研究者番号：40432322