

# Synthesis of Membrane Permeable and Nuclear Transfer Signaling Peptides for Boron Neutron Capture Therapy

栢下 昂大

Takahiro KAYASHITA

物質化学専攻修士課程 2023 年度修了

## 1. はじめに

2023 年 9 月 8 日から 10 日に東京理科大学野田キャンパスにて開催された第 17 回バイオ関連シンポジウムに参加しました。以下に学会で発表した研究内容についてまとめます。

## 2. 研究内容

### 2.1 研究概要

近年、様々ながん治療法が確立され、応用されていますが、がんの種類に応じた治療法の開発が急務となっています。現在、浸潤性のがんに対する治療法として、ホウ素中性子捕捉療法 (BNCT) が注目されています。この方法は、ホウ素に熱中性子を照射した際に起こる核分裂反応のエネルギー (図 1) を利用して、腫瘍細胞を破壊するものです。しかし、ホウ素を効率的に細胞内に送り込む方法が求められています。

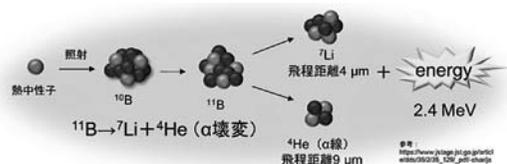


図 1 ホウ素核分裂反応

本研究では、生体内へのホウ素デリバリー剤を開発するために、様々な機能的配列をもつペプチドとホウ素源である窒化ホウ素 (BN) との複合体を構築した (図 2)。

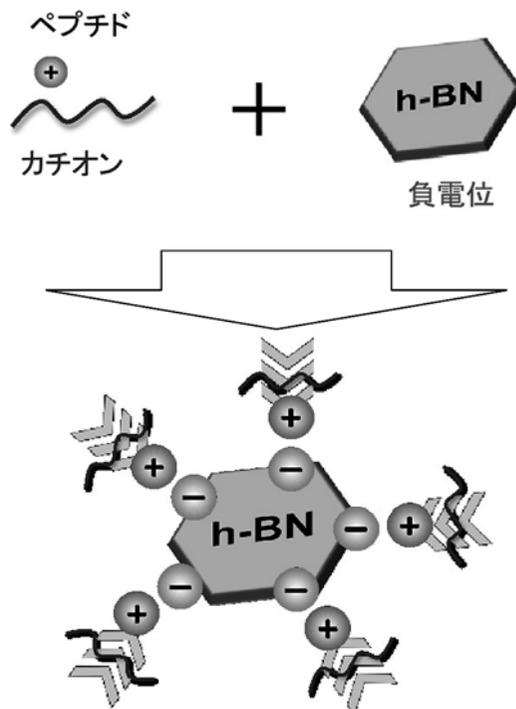


図 2 静電相互作用による複合体のイメージ

### 2.2 ペプチド設計

まず、SV40T 抗原由来の核局在シグナル配列 (NLS), 膜透過性オクタアルギニン (R8), HIV-TAT 由来の膜透過性配列 (TAT) を自己組織化ペプチド Cap-p (Ac-AIACA2NafKIA-NH<sub>2</sub>) 1) の N 末端に連結したペプチド (47-60) を設計しました (図 3)。

R8-p (RRRRRRRRR-GG-AIACA2NafKIA-NH<sub>2</sub>)

NLS-p (Ac-PKKKRKV-GGG-AIACA2NafKIA-NH<sub>2</sub>)

TAT-p (Ac-YGRKKRRQRRRPPQ-GGG-AIACA2NafKIA-NH<sub>2</sub>)

図 3 各ペプチドの配列

これらのペプチドは固相 Fmoc 合成法で合成され、HPLC で精製され、MALDI-TOF-MS で同定された。

本発表では、このペプチドと BN 複合体の特性について報告します。

### 2.3 複合体評価

まず、窒化ホウ素の表面電荷が負であることを調べるとともにペプチドとの複合化の表面電荷を調べました。

方法としては、ペプチドを 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10, 20, 40 $\mu$ M, BN/H<sub>2</sub>O (1.0g/L) を混合させ、終濃度 [Peptide=1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 10, 20 $\mu$ M], [BN/H<sub>2</sub>O (0.5g/L)] に調整し、 $\zeta$  電位測定を行いました (図 4)。

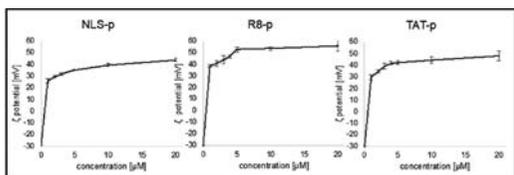


図 4 表面電荷測定の結果

つぎに、遠心分離にて複合化物を沈殿させたのちに上澄みを除去し、赤外分光法 (IR) によって得られた吸収スペクトルより BN の表面にペプチドがあるかどうかを確認しました (図 5)。

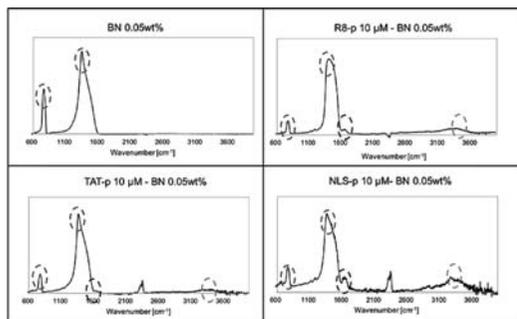


図 5 IR スペクトル測定結果

また、HeLa cell (ヒト子宮頸がん由来の細胞) に対する細胞毒性を測定しました (図 6)。

方法としては、96well プレートを用いて細胞を一定数培養し、CCK-8 キットを使用して細胞生存率を計算しました。

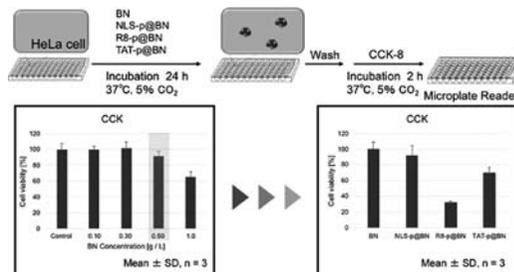


図 6 細胞毒性

### 2.4 考察

図 4 より 3 種類の複合体の表面電荷の上昇が確認できました。また、濃度上昇によって正へシフトしたので、ペプチドが複合化されてと考えられます。

図 5 より 3 種類の複合体が BN 単体では確認できなかったピークが確認でき、ペプチドの複合化を確認することができました。

### 3. まとめ

本研究にて 3 種類のペプチド (NLS-p, R8-p, TAT-p) と BN の複合体の表面電荷と IR スペクトル測定を行いました。そこから複合体の評価、細胞に対する毒性の評価をすることができました。

### 4. おわりに

今回、学会で発表を行うのは初めての機会でしたが、他大学の先生方に自分の研究に関する助言を頂くという貴重な経験をさせて頂きました。また、学会発表を行うという目標を持った上で取り組む実験は、苦労した点多かったですが非常に有意義なものでした。これからも日々の実験に全力で取り組んで行きたいと考えています。

今回の発表を行うにあたって、懇切丁寧なご指導を頂いた富崎欣也教授、コロナ渦で多くの学会が中止になる中で対面という形で学会発表を行う機会を設けてくださったバイオ関連シンポジウムの運営の方々にこの場を借りて厚く御礼申し上げます。