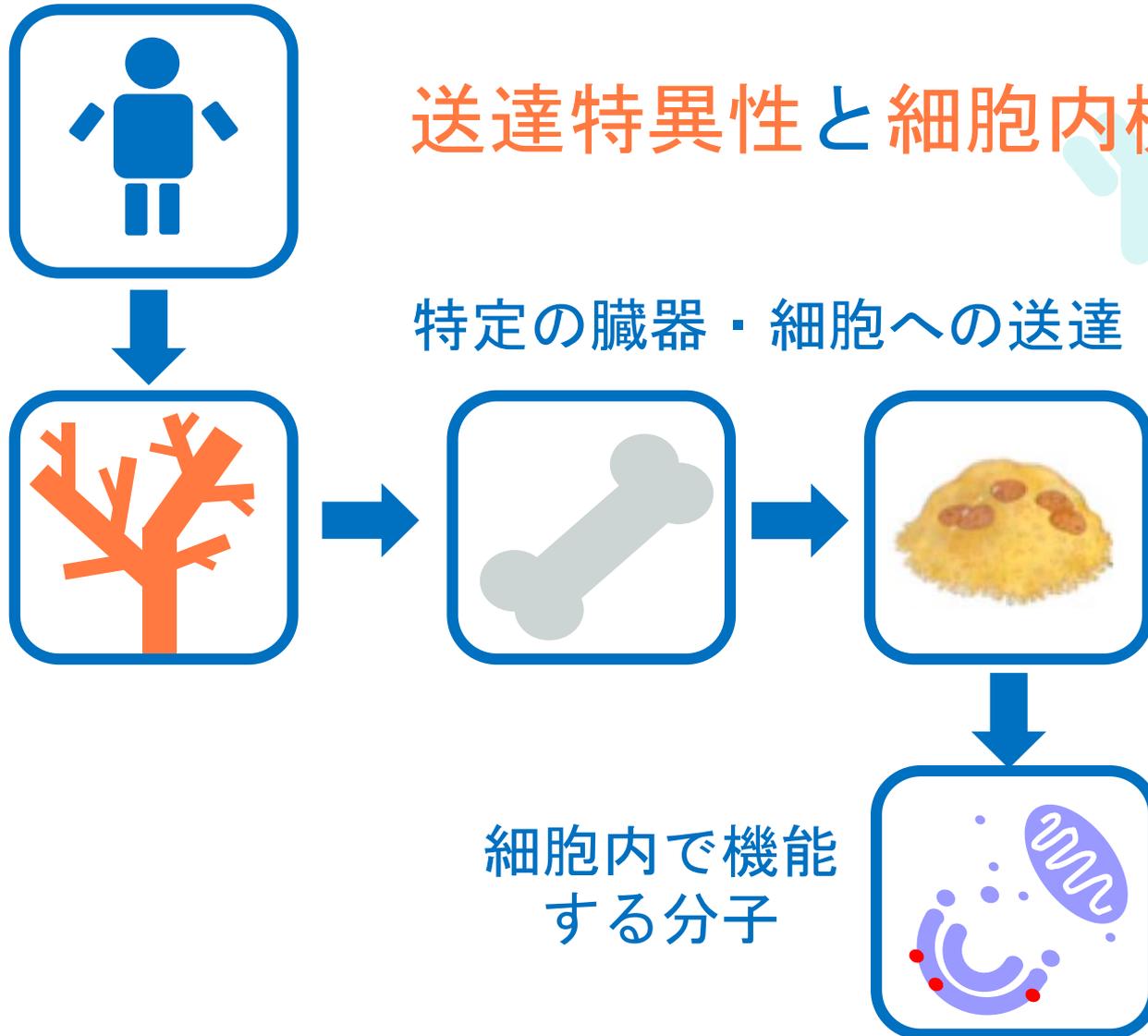


特異的臓器/細胞送達と機能発現を パッケージングする技術開発

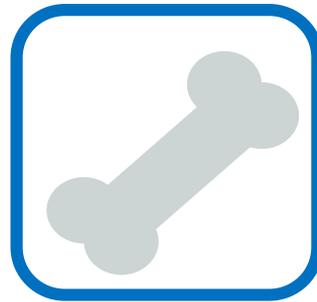
研究の背景

送達特異性と細胞内機能性



研究の目的

多価型ペプチドライブラリー法を用いて、
送達特異性と細胞内機能性をそれぞれ担うペプチドを最適な組み合わせで同定し、さらに1分子中にパッケージングする技術を開発する。



骨量制御

本日の話

- 1) 多価型ペプチドライブラリー法を用いた破骨細胞分化抑制ペプチドの同定
- 2) 同定したペプチドに最適化した骨送達モチーフの同定とパッケージング
- 3) 本技術のプラットフォーム化と将来展望

骨量維持機構

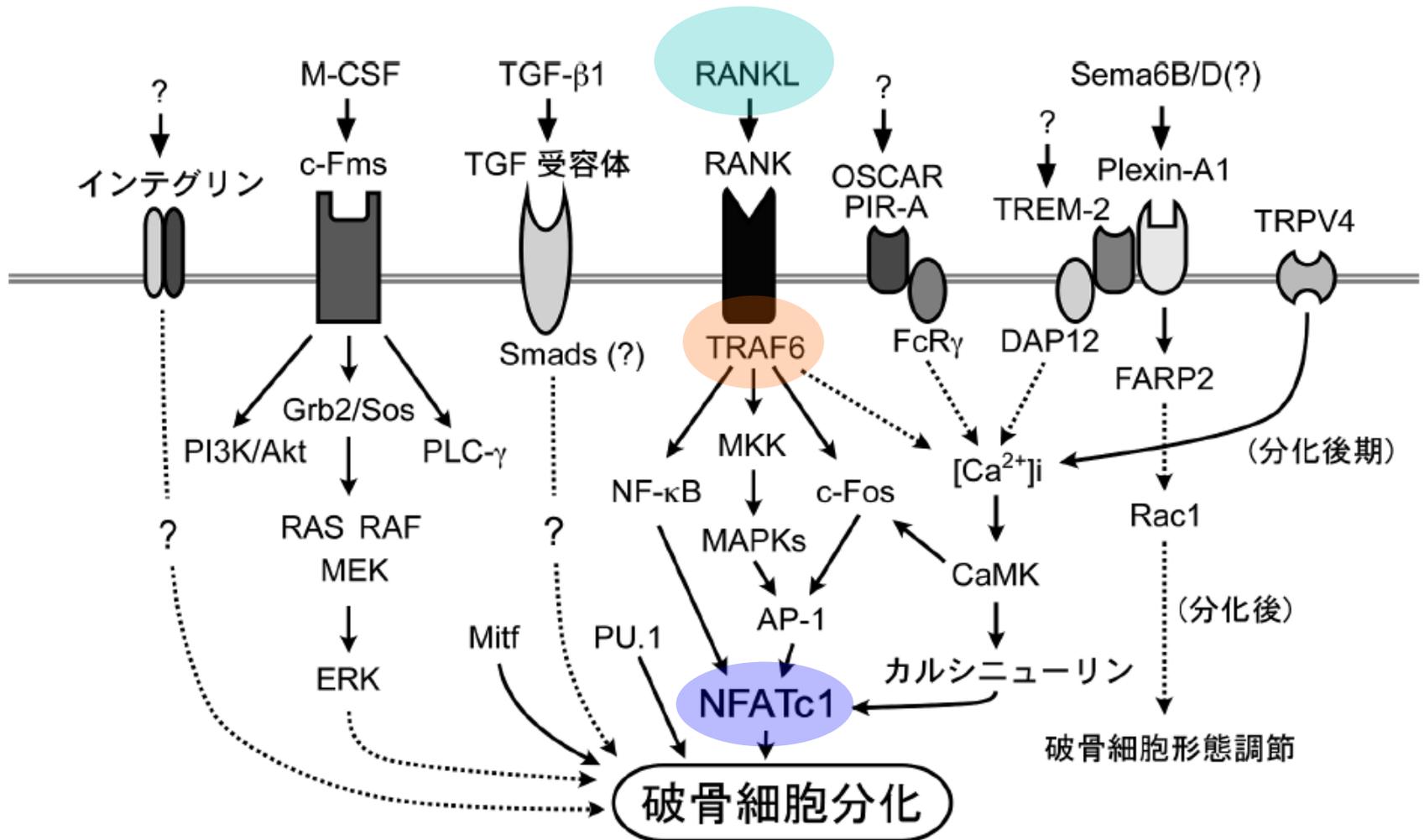


骨形成

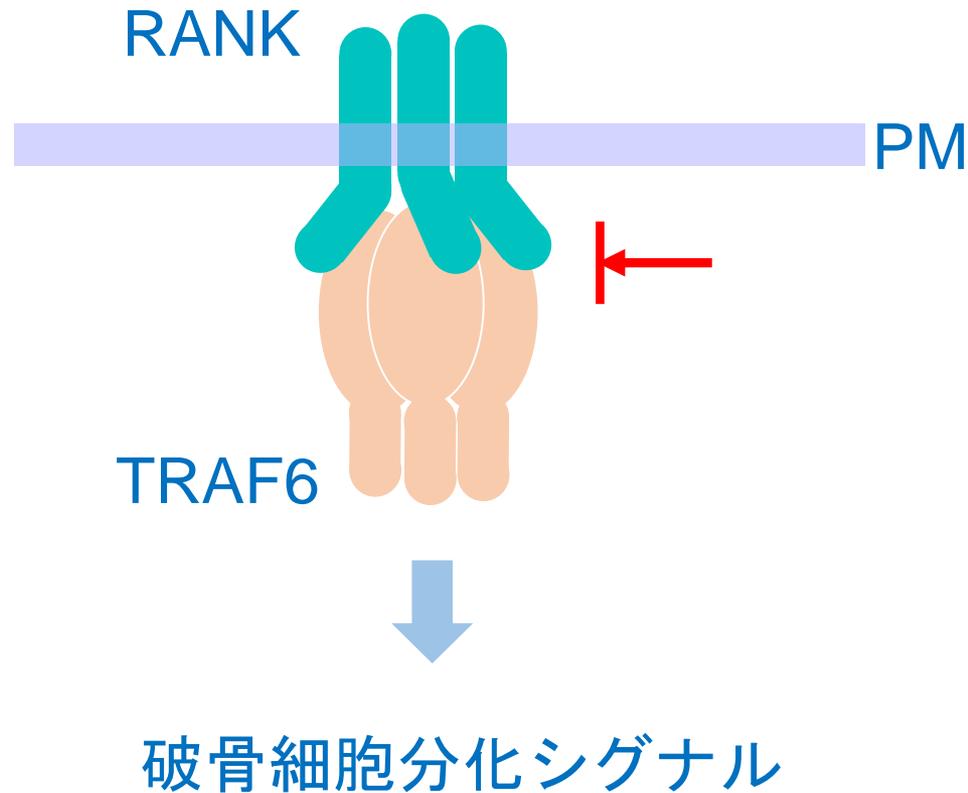
骨吸収

関節リウマチ・骨粗鬆症

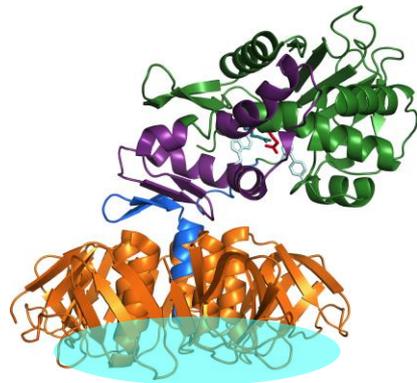
破骨細胞分化誘導に関わるシグナル経路



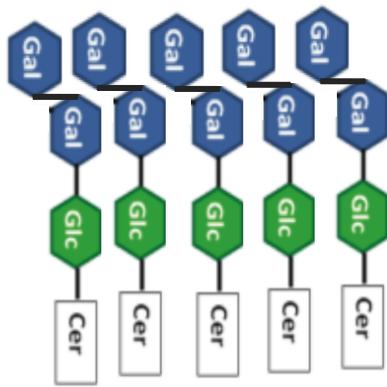
RANKとTRAF6はクラスター効果に基づく
強い相互作用をしている



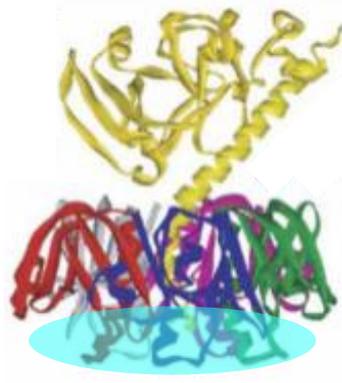
クラスター効果を発揮して機能する各種病原因子



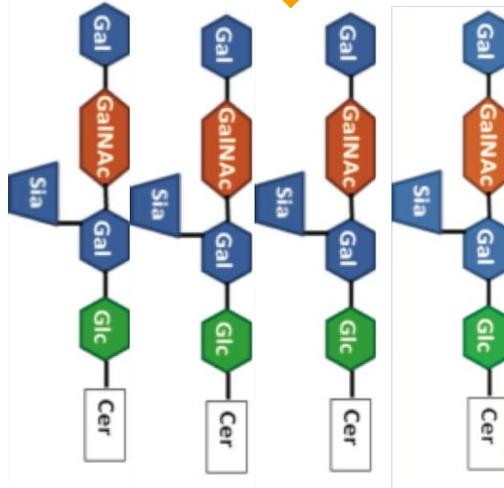
Stx



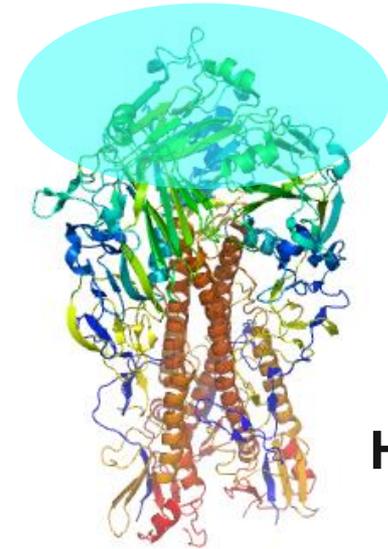
Gb3



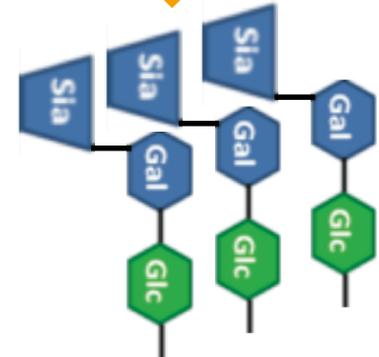
CT



GM1

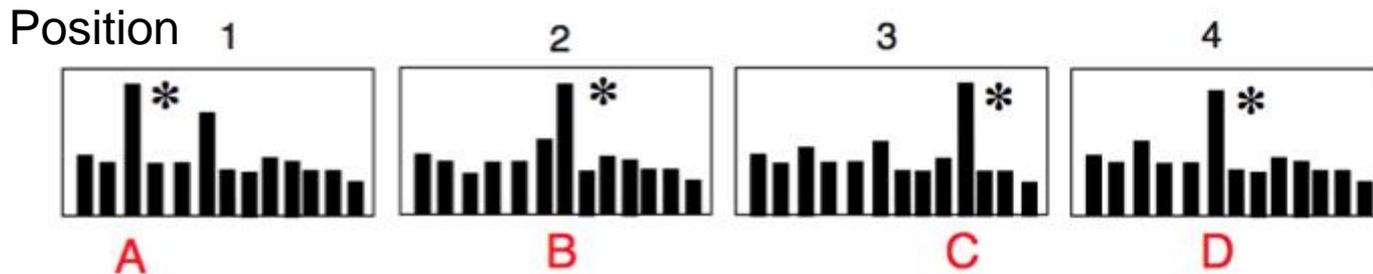
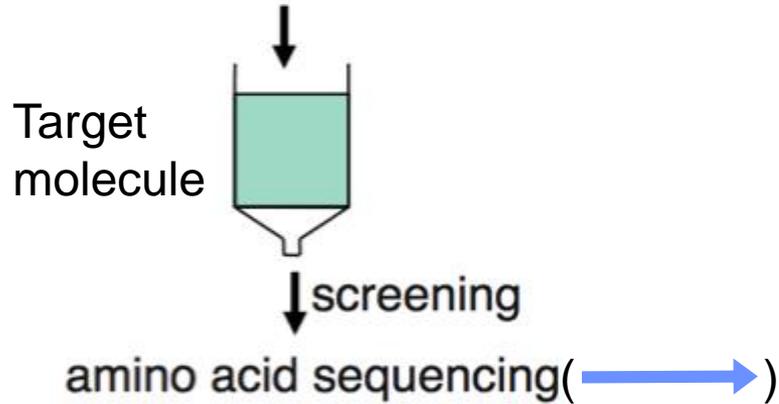
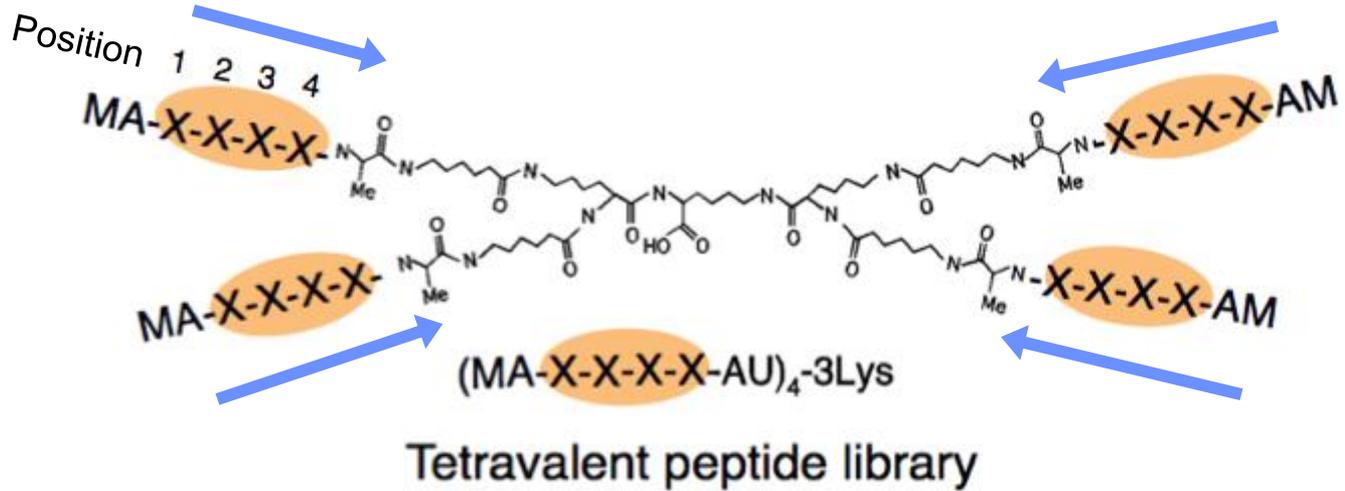


HA

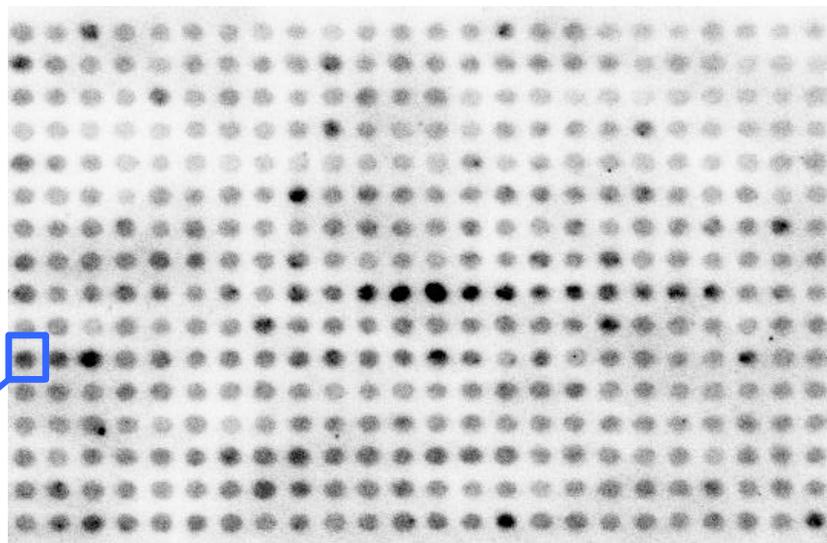
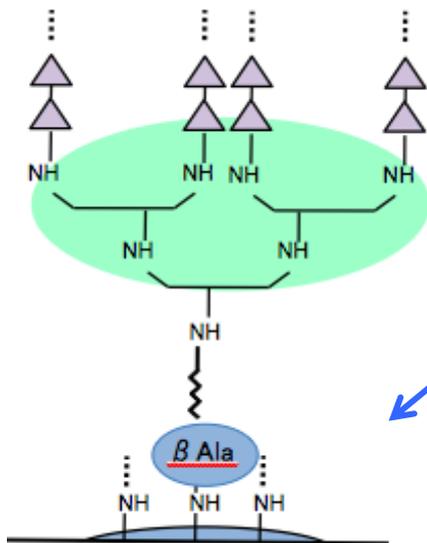
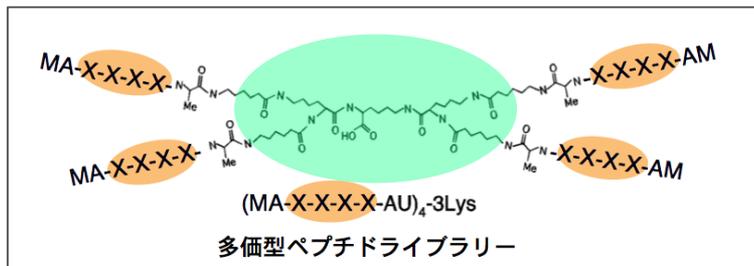


Sia-lac

多価型ペプチドライブラリー法

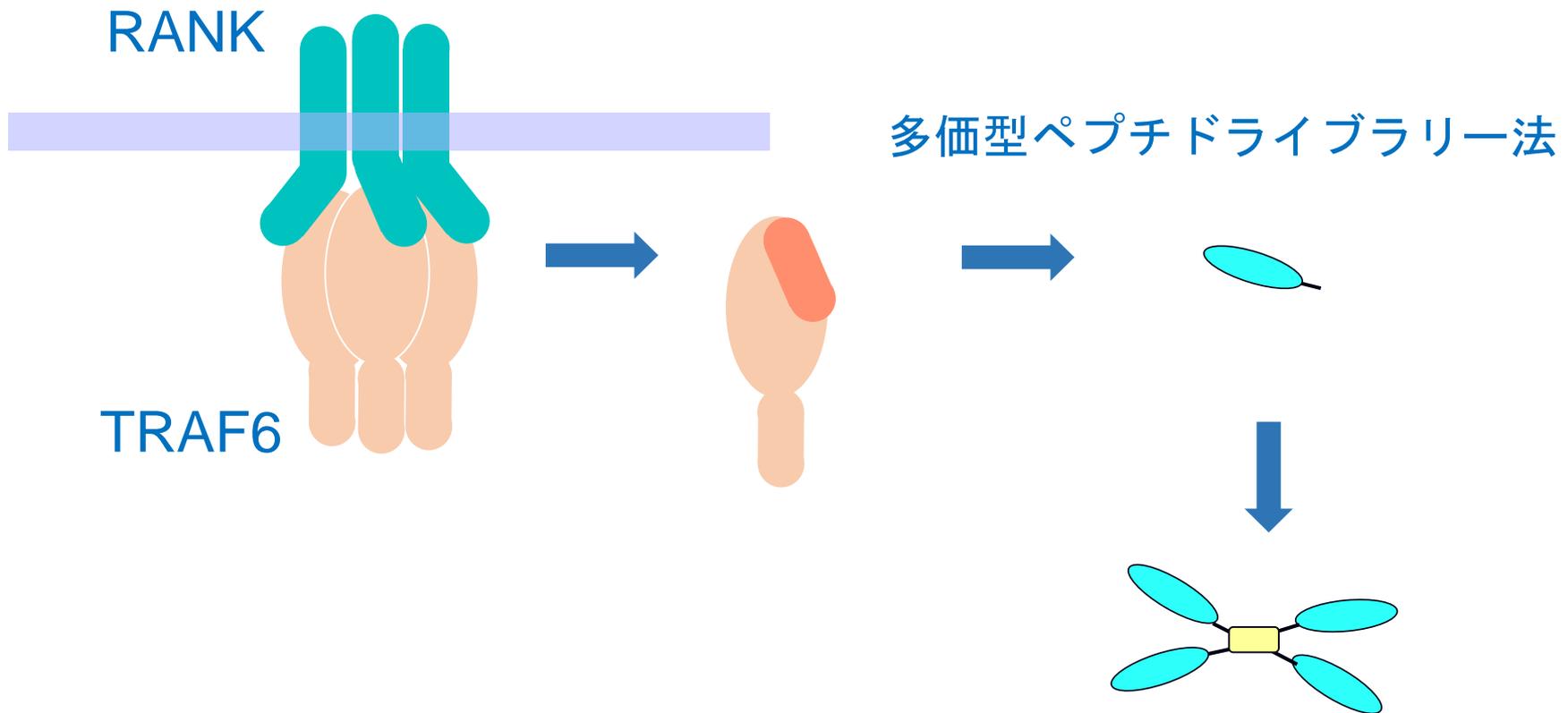


多価型ペプチドシートスクリーニング法は、 取得モチーフのfine-tuningを可能にする。



セルロース膜

TRAF6のRANK結合部位特異的阻害ペプチドの同定



4価型TRAF6阻害ペプチド

1次ライブラリー XXXXXXXX

2次 XXDXXXX

系統 I

系統 II

3次 XXDXXXE

XXDLXEF

4次 XXDXXDF

KXDLEEF

Ia

Ib

5次 XSDXDF

XXDXTDF

KHDLEEF

6次 XSDFXDF

Ic XDDXDF

Id XXDDTDF

Ie XRDXDF

KHDDEEF
KHDEEEF

7次

WDDXTDF

I f RXDDTDF

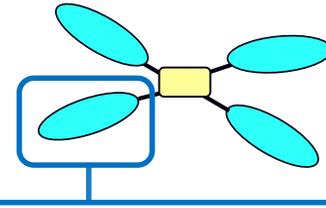
I g XFDDTDF

RRDXTDF

WHDDEEF HRDDEEF RHDDEEF

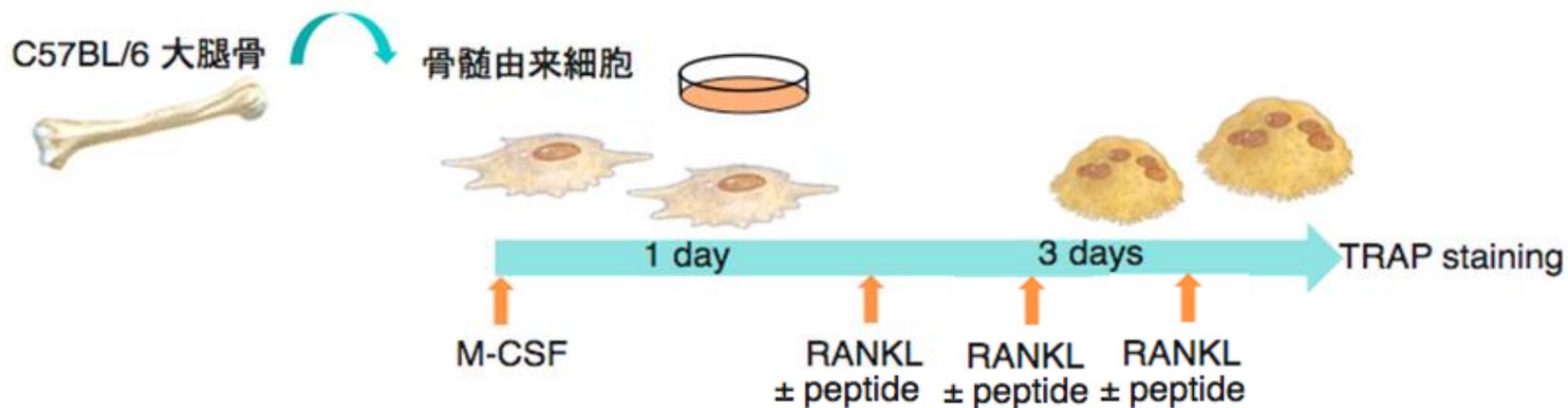
<u>W</u> DD <u>E</u> TDF	<u>D</u> FDDTDF	RRD <u>P</u> TDF	RRD <u>H</u> TDF
		RRD <u>K</u> TDF	RRD <u>R</u> TDF
		RRD <u>T</u> TDF	RRD <u>Q</u> TDF

4価型TRAF6阻害ペプチドの同定



系統 I	CR4-RRH-tet	MA- <u>RRD</u> <u>H</u> TDF-A-RRRR-Ahx
	CR4-RRR-tet	MA- <u>RRD</u> <u>R</u> TDF-A-RRRR-Ahx
	CR4-RRQ-tet	MA- <u>RRD</u> <u>Q</u> TDF-A-RRRR-Ahx
	CR4-RRP-tet	MA- <u>RRD</u> <u>P</u> TDF-A-RRRR-Ahx
	CR4-RRK-tet	MA- <u>RRD</u> <u>K</u> TDF-A-RRRR-Ahx
	CR4-RRT-tet	MA- <u>RRD</u> <u>I</u> TDF-A-RRRR-Ahx
	CR4-WDE-tet	MA- <u>WDE</u> <u>E</u> TDF-A-RRRR-Ahx
	CR4-DFD-tet	MA- <u>DFD</u> <u>D</u> TDF-A-RRRR-Ahx
系統 II	CR4-WHD-tet	MA- <u>WHD</u> <u>D</u> EEF-A-RRRR-Ahx
	CR4-HRD-tet	MA- <u>HRD</u> <u>D</u> EEF-A-RRRR-Ahx
	CR4-RHD-tet	MA- <u>RHD</u> <u>D</u> EEF-A-RRRR-Ahx

破骨細胞分化に対する阻害効果



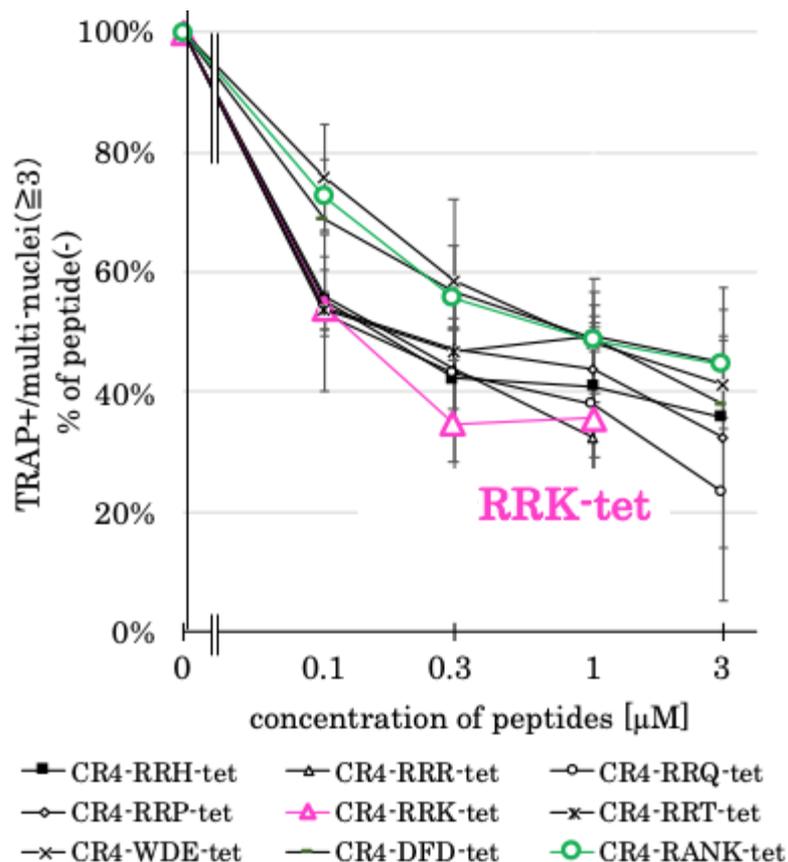
RANKL(-)



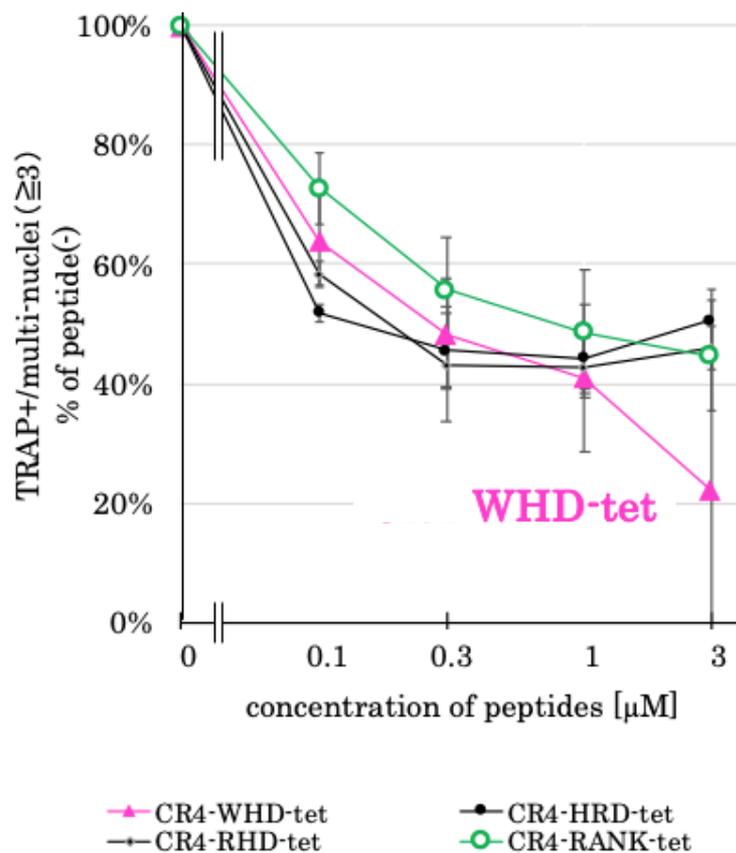
RANKL(+)

破骨細胞分化に対する阻害効果

系統 I



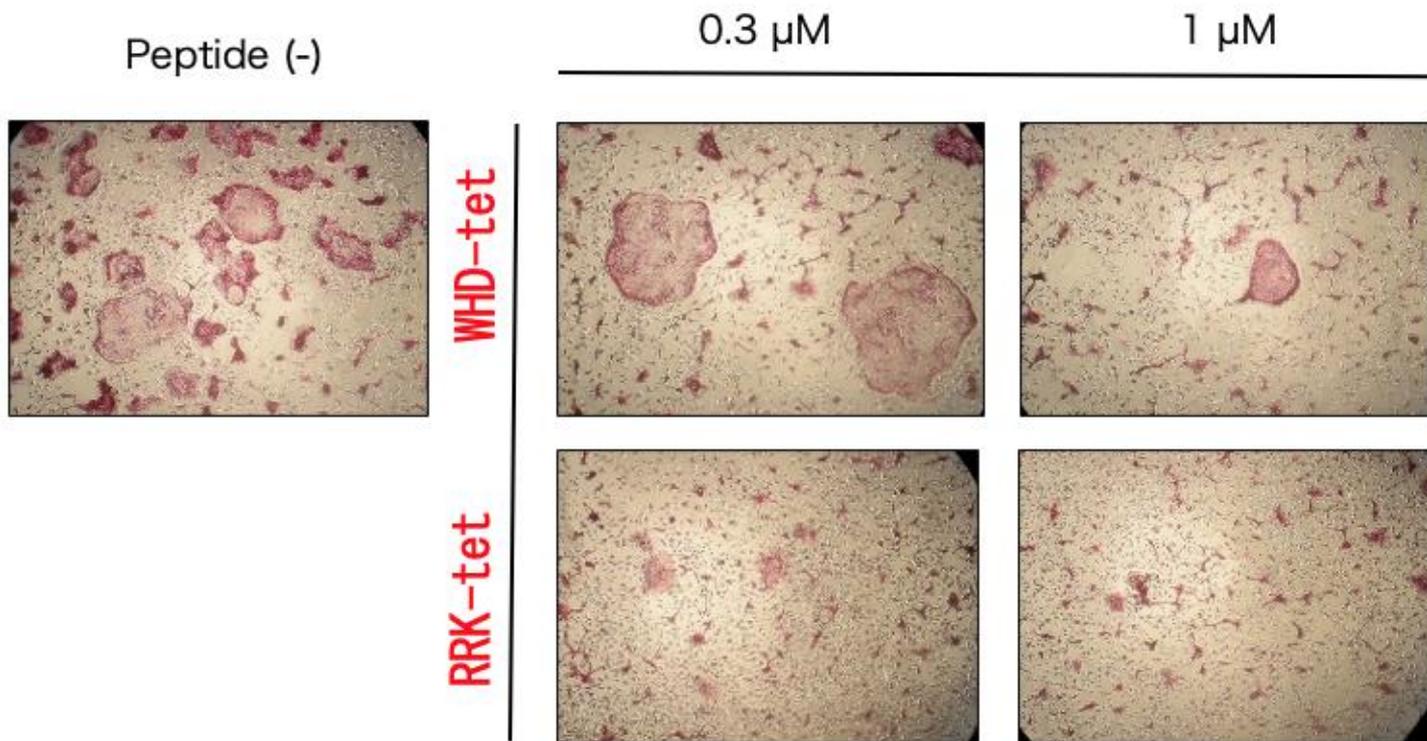
系統 II



破骨細胞分化に対する阻害効果

RRK-tet : MA-RRDKTDF-A-RRRR-U-

WHD-tet : MA-WHDDEEF-A-RRRR-U-



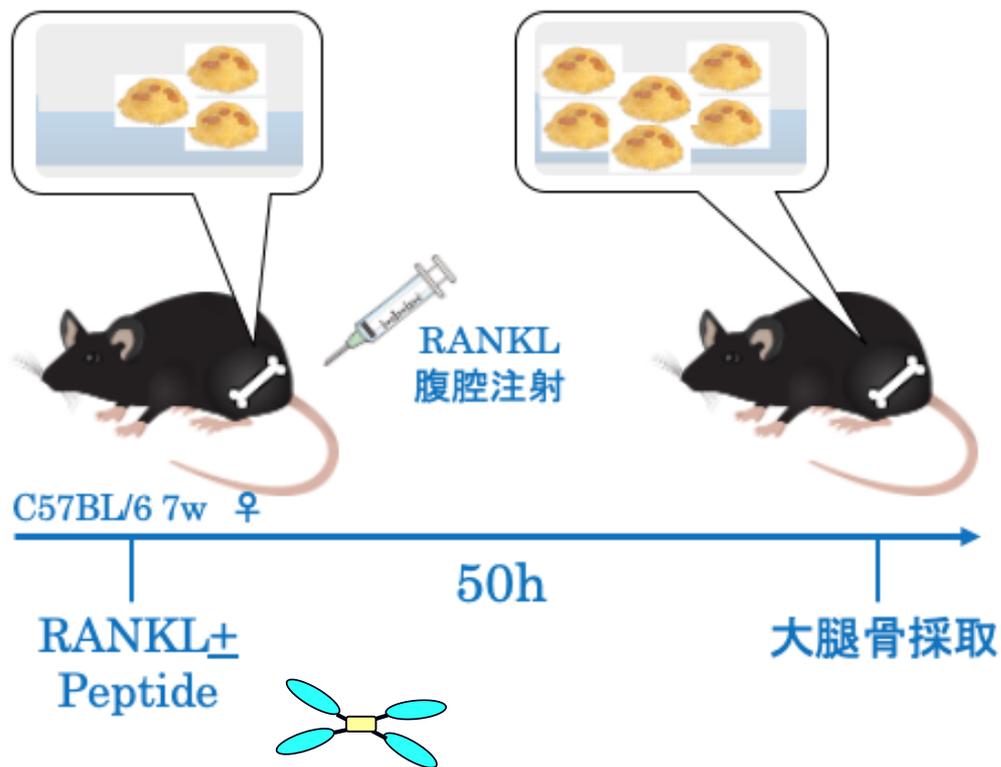
本日の話

- 1) 多価型ペプチドライブラリー法を用いた破骨細胞分化抑制ペプチドの同定
- 2) 同定したペプチドに最適化した骨送達モチーフの同定とパッケージング
- 3) 本技術のプラットフォーム化と将来展望

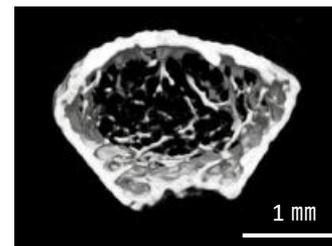
マウス骨破壊誘導モデルにおける治療効果

RRK-tet : MA-RRDKTDF-A-RRRR-U-

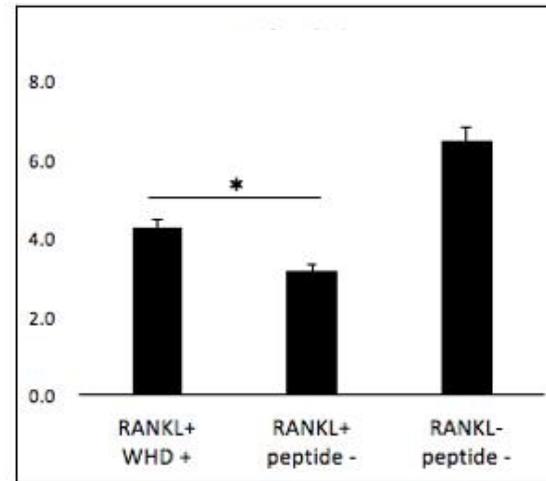
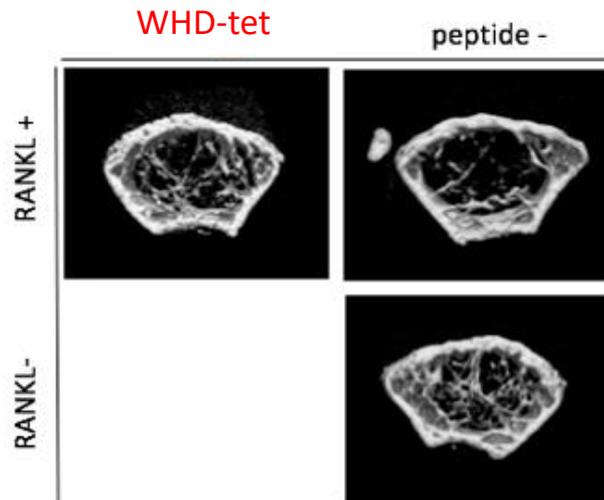
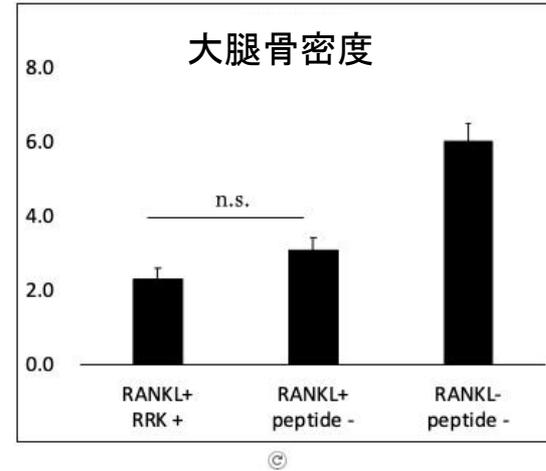
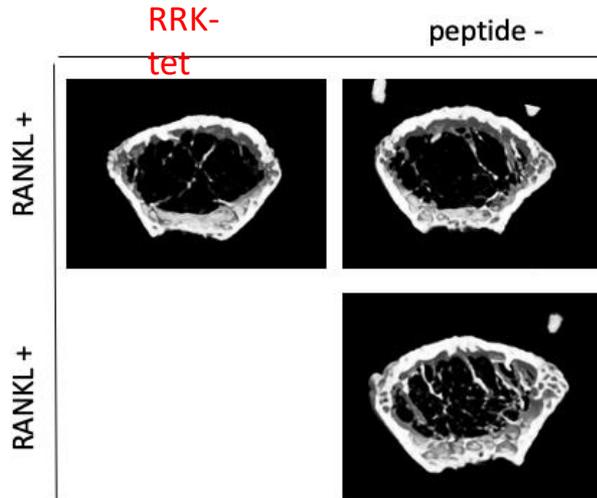
WHD-tet : MA-WHDDEEF-A-RRRR-U-



マイクロフォーカス
X線CT



マウス骨破壊誘導モデルにおける治療効果



(WHD+/RANKL+ n=6, peptide-/RANKL+ n=5, peptide-/RANKL- n=6, mean ± SE | * : p<0.05)

酸性アミノ酸クラスターは骨親和性を示す

RRK-tet : MA-RRDKTDF-A-RRRR-U- X 4
WHD-tet : MA-WHDDEEF-A-RRRR-U-

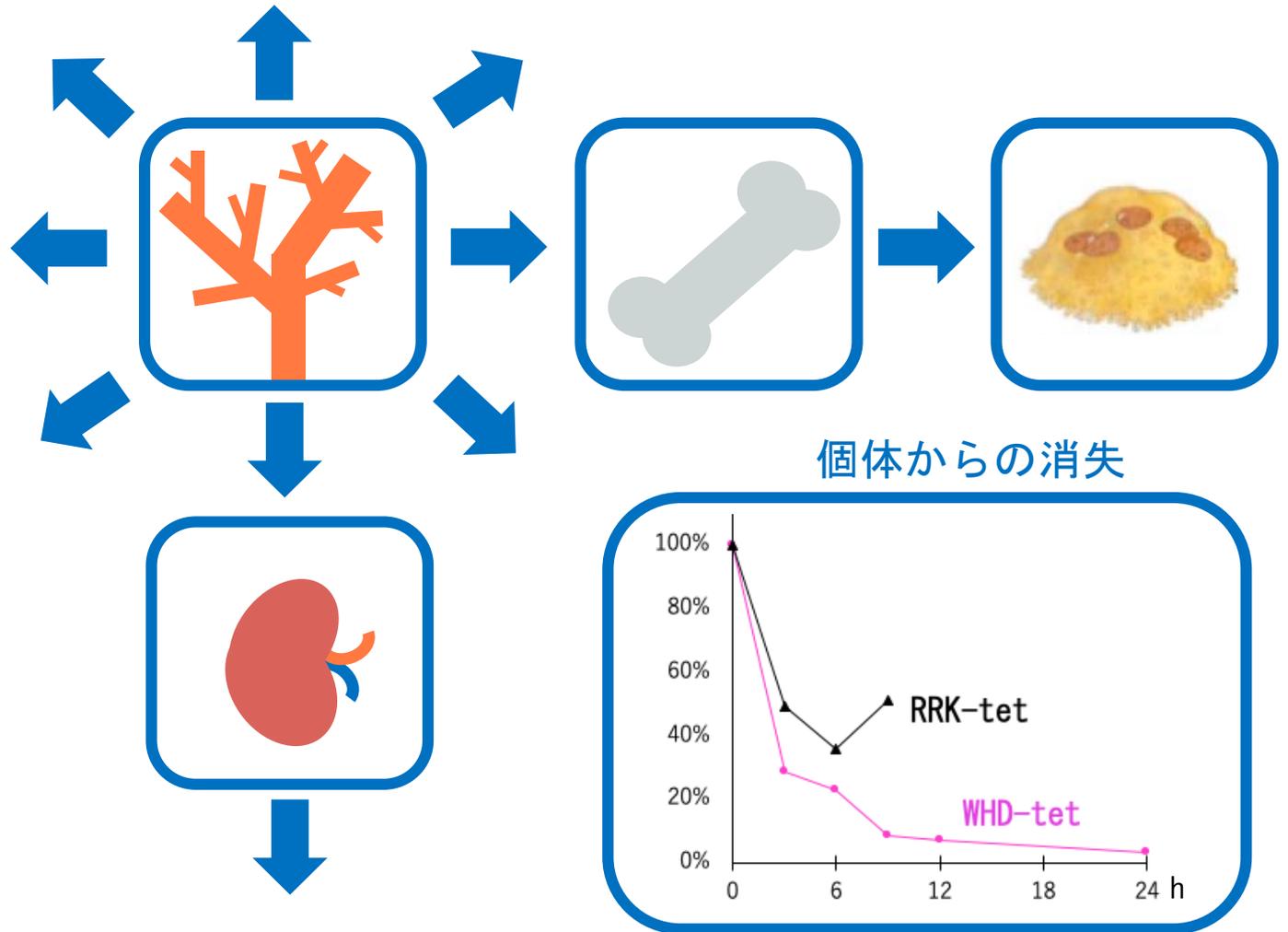
Bone sialoprotein

MKTALILLSILGMACAFSMKNLHRRVKIEDSEENG VFKYRPRYYLYKHAYFYPHLKRF PVQGS SD
SSEENGDDSSEEEEEEET SNEG ENNEESNEDEDESEA ENTTL SATTLGYGEDATPGTGYTGLAAI
QLPKKAGDITNKATKEKESDEEEEEEEEGNENESEAEVDENEQGINGTSTNSTEAENGNGSSGE
DNGEEGEEESVTGANAEGTTE TGGQKGT SKTTTSPNGGF EPTTPPQVYRTTSPPF GKTTTVEYE
GEYEYTGANDYDNGYEIYSENGE PRGDNYRAYEDEYSYFKGQGYDGYDGQNYHHQ

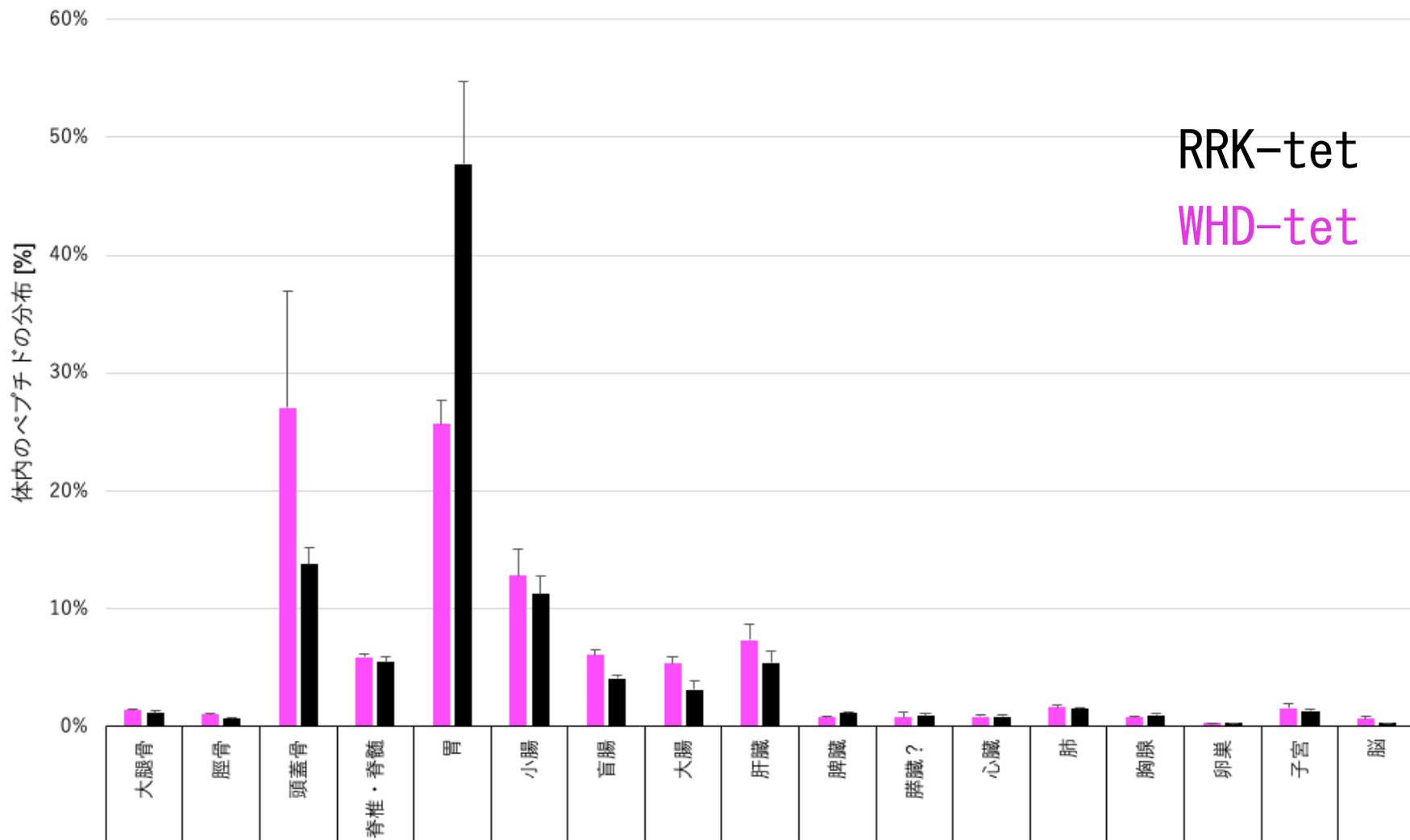
Osteopontin

MRIAVICFLLGITCAIPVKQADSGSS E EKQLYNKY PDAVATWLNP DPSQKQNL LAPQTLPSKSN
ESHDMDDMDEDDDDHVDSDSI DSNDSDDVDDTDDSHQS DESHHSDESDELVTDFPTDLPATE
VFTPVVPTVD TYDGRGDSVVYGLRSKSKKFRRPDIQYPDATDEDITSHMESEELNGAYKAIPVAQ
DLNAPSDWDSRGKDSYETSQ LDDQSAETHSHKQSRLYKRKANDESNEHSDVIDSQELSKVSR E FH
SHEFHSHEDMLVVDPKSKEEDKHLKFRISHELDSASSEVN

TRAF6阻害ペプチドの臓器分布

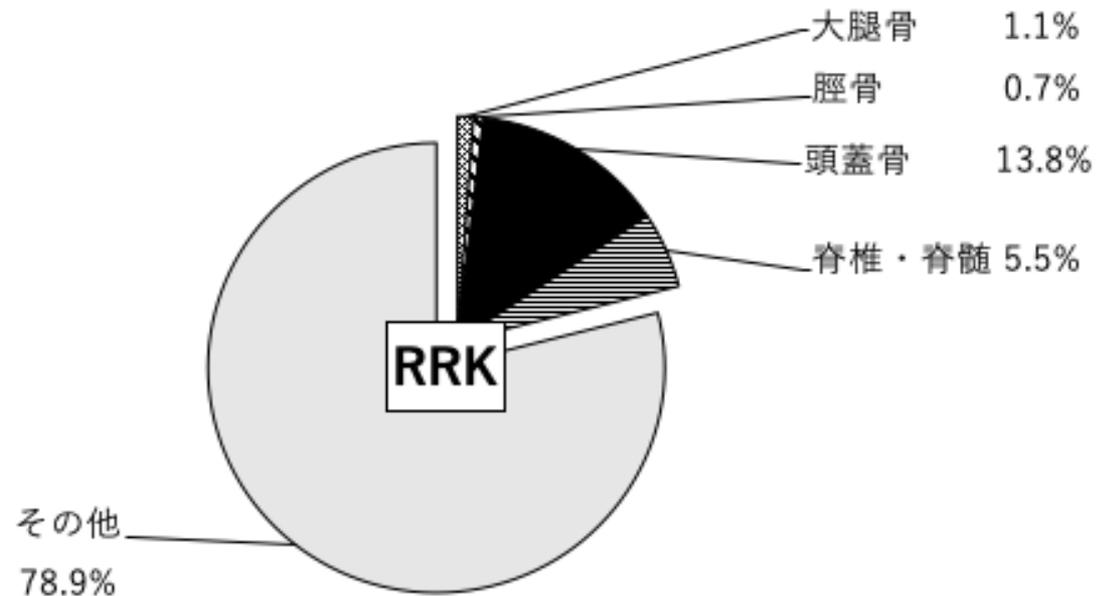
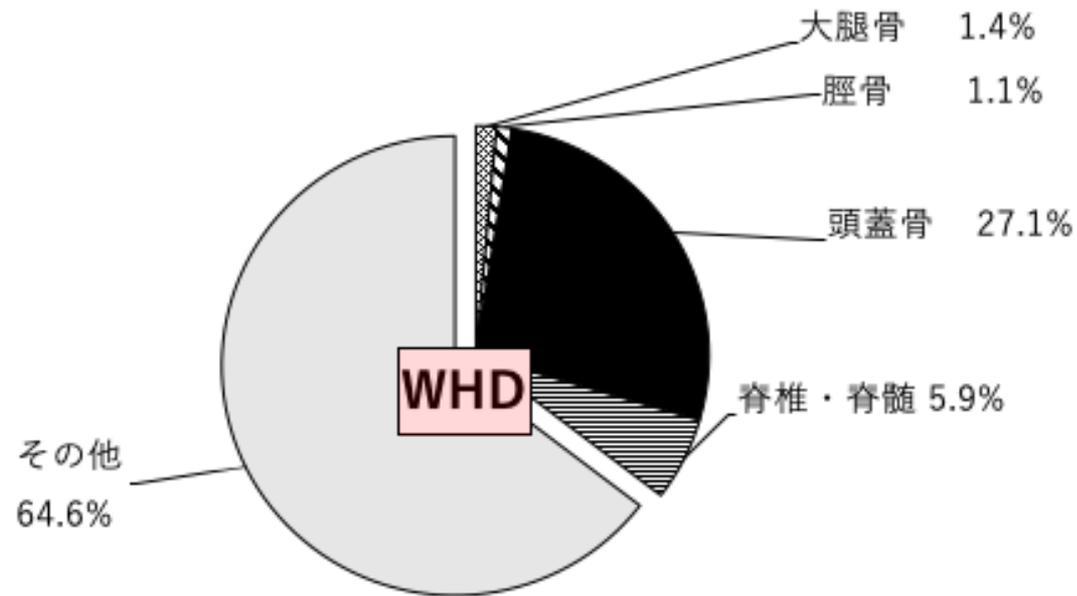


各TRAF6阻害ペプチドの臓器分布 は大きく異なる



(6h後)

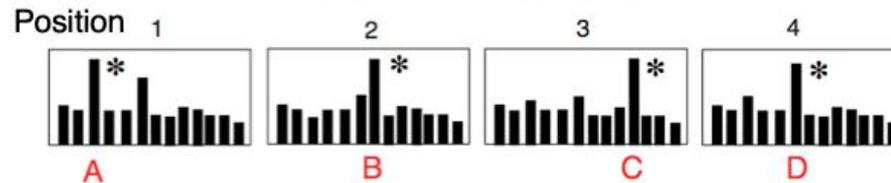
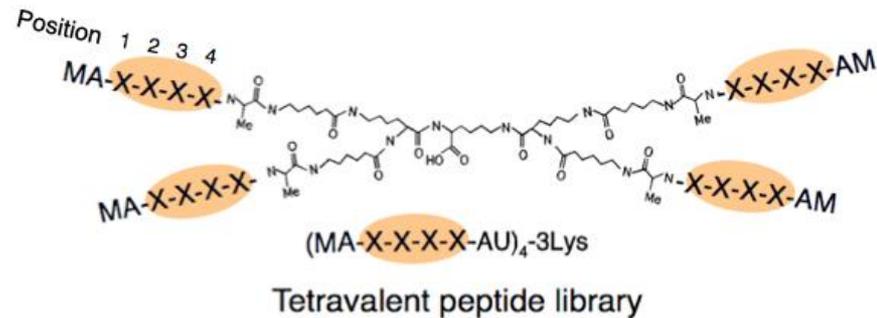
WHD-tetは骨組織に親和性が高い



各機能モチーフに最適化した骨送達モチーフの同定

RRK-tet : MA-XXXX-RRDKTDF-A-RRRR-U-

WHD-tet : MA-XXXX-WHDDEEF-A-RRRR-U-



最適化した形での臓器送達能と機能発現 のパッケージング

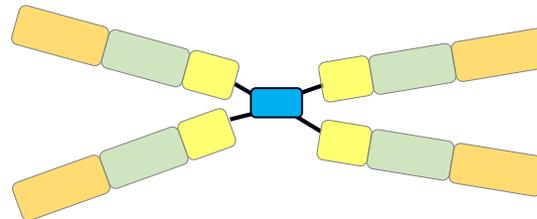
RRK-tet : MA-XXXX-RRDKTDF-A-RRRR-U-

WHD-tet : MA-XXXX-WHDDEEF-A-RRRR-U-

骨送達モチーフ

機能モチーフ

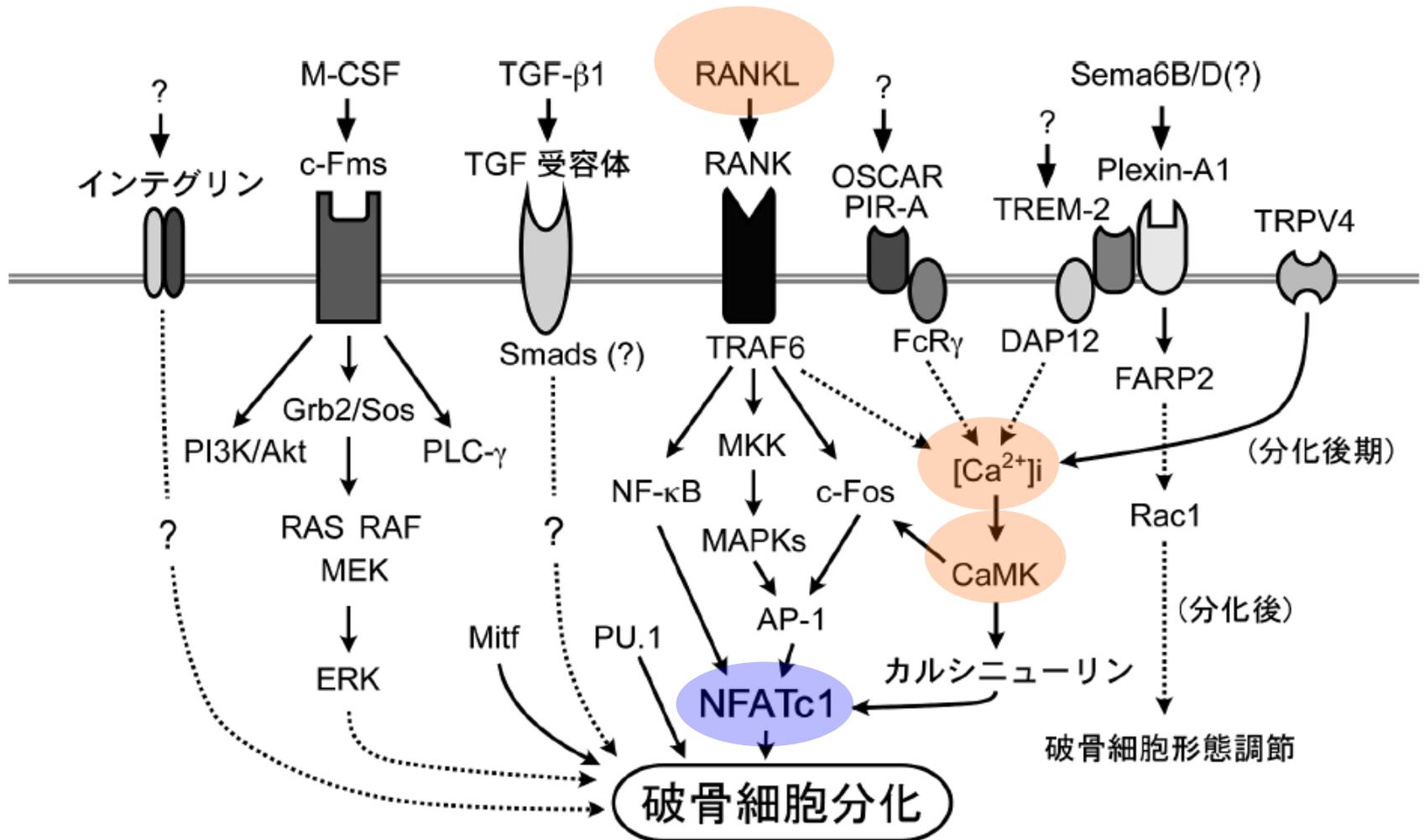
膜透過モチーフ



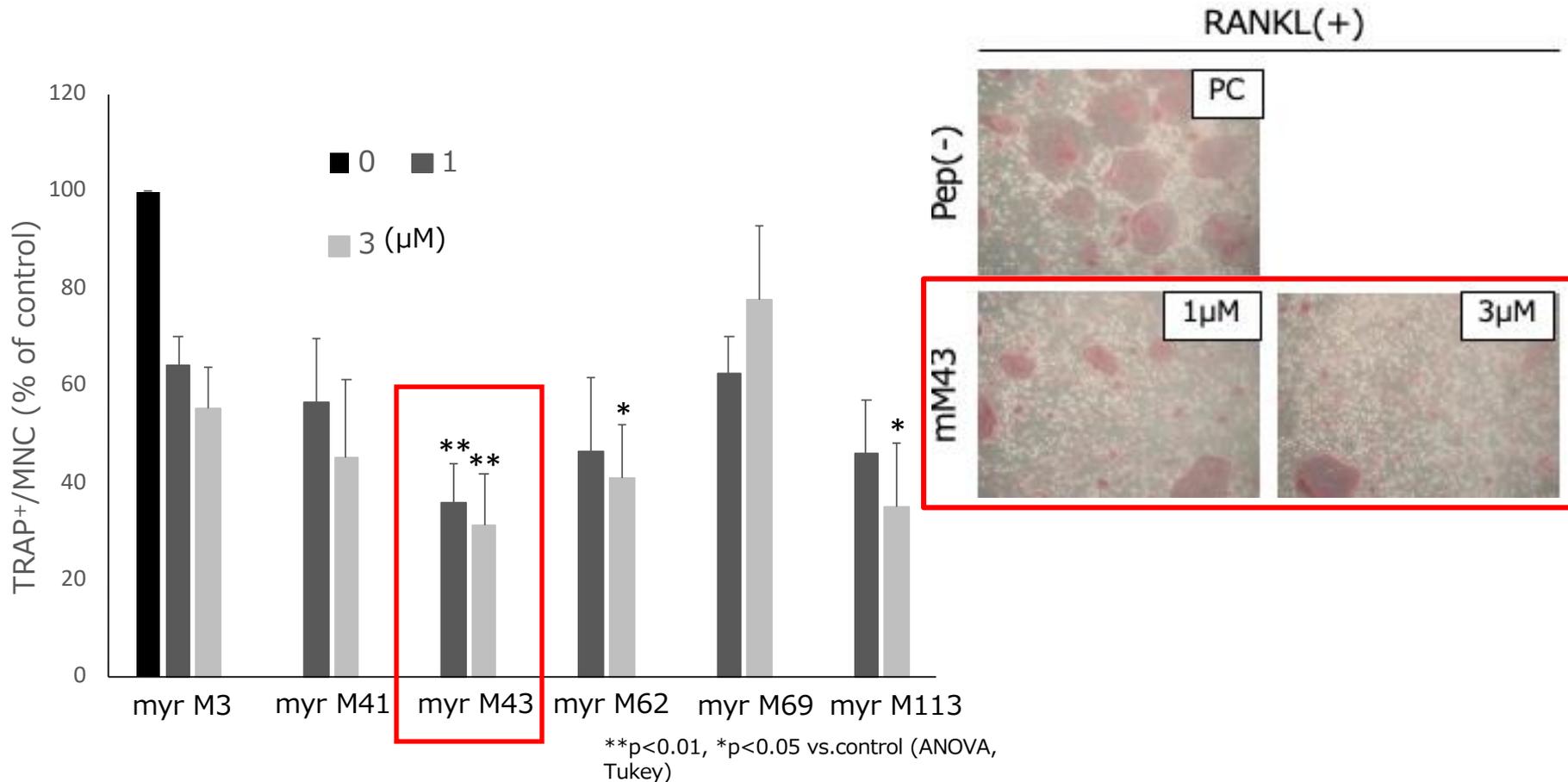
本日の話

- 1) 多価型ペプチドライブラリー法を用いた破骨細胞分化抑制ペプチドの同定
- 2) 同定したペプチドに最適化した骨送達モチーフの同定とパッケージング
- 3) **本技術のプラットフォーム化と将来展望**

破骨細胞分化誘導に関わるシグナル経路



CaMK4阻害ペプチド mM43は破骨細胞分化を強力に阻害する



本技術のプラットフォーム化

標的臓器／細胞

				破骨細胞制御	
送達 モチーフの 同定 ←	細胞環境	生体材料	骨 (ヒドロキシ アパタイト)		
		環境因子			
	細胞上	細胞分子			

細胞内標的分子

機能モチーフの 同定 ←	モノマー分子			CaMK4
	多価型分子		TRAF6	

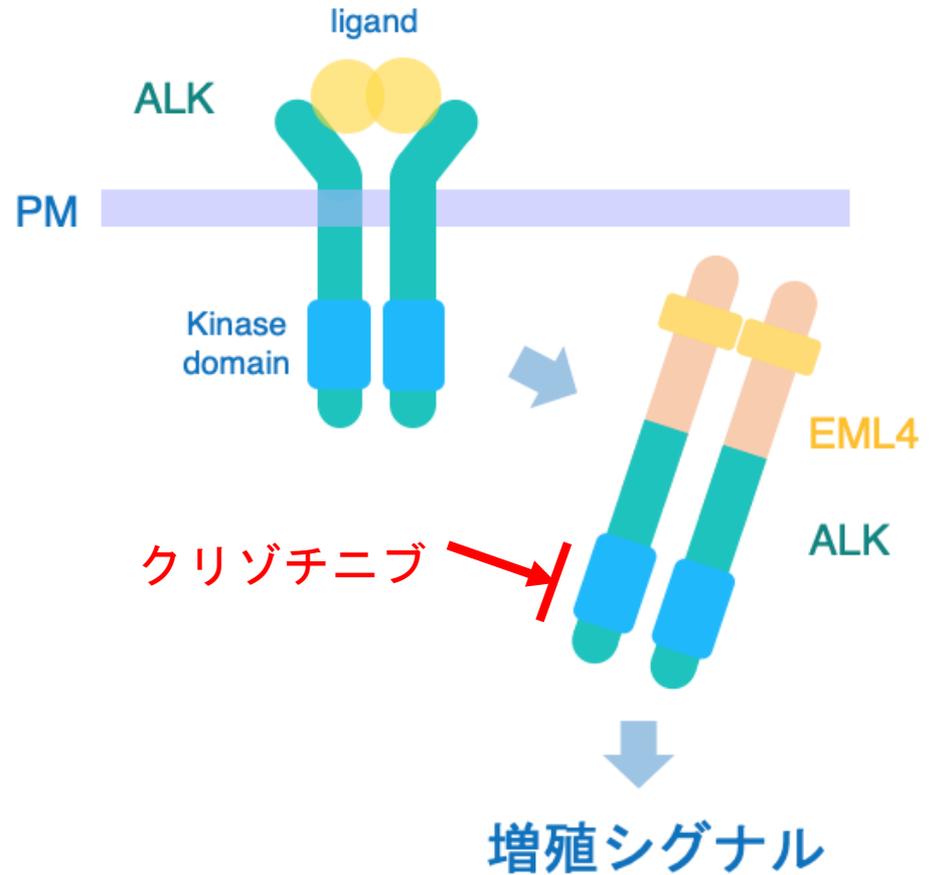
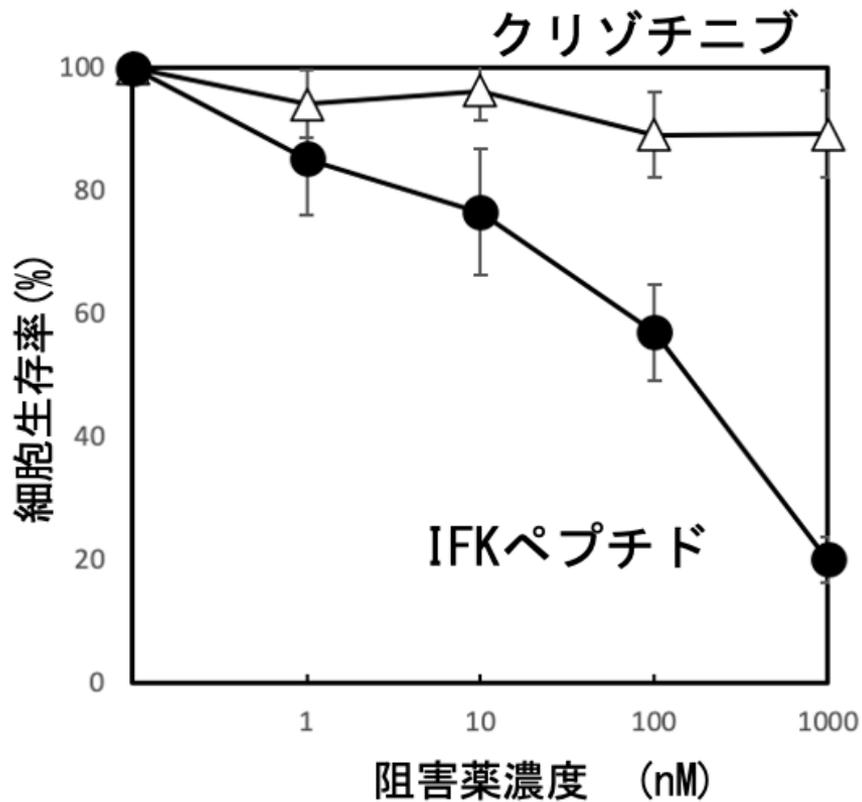
制御分子

分子 形態		monomer		○
		dimer		
		tetramer		○

多価型ペプチドライブラリー法の実績

対象分野	対象疾患	標的分子
感染症	腸管出血性大腸菌感染症	志賀毒素 (Stx) Subtype; Stx1a, 2a, 2c, 2d
	コレラ	コレラ毒素 (CT)
	インフルエンザ	ヘマグルチニン (HA)
炎症	敗血症・炎症性腸疾患	CaMKII
	骨粗鬆症・関節リウマチ	TRAF6, CaMKIV
疼痛	神経障害性疼痛	CaMKII
がん	慢性骨髄性白血病	Bcr-Abl
	非小細胞肺がん	EML4-ALK

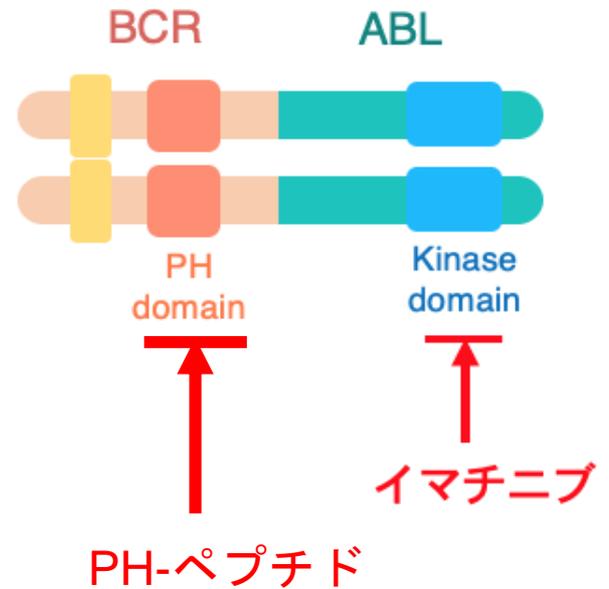
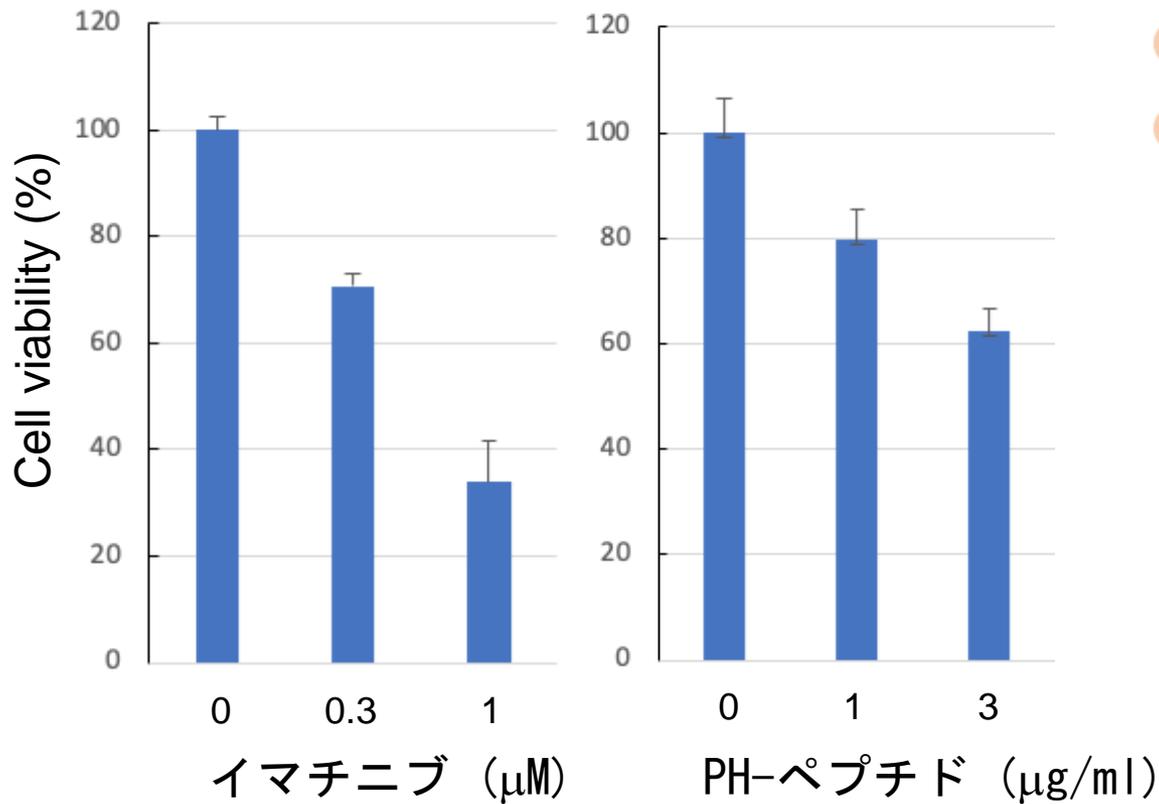
クリゾチニブ耐性EML4-ALK発現細胞の増殖を抑制するペプチドの同定



多価型ペプチドライブラリー法の実績

対象分野	対象疾患	標的分子
感染症	腸管出血性大腸菌感染症	志賀毒素 (Stx) Subtype; Stx1a, 2a, 2c, 2d
	コレラ	コレラ毒素 (CT)
	インフルエンザ	ヘマグルチニン (HA)
炎症	敗血症・炎症性腸疾患	CaMKII
	骨粗鬆症・関節リウマチ	TRAF6, CaMKIV
疼痛	神経障害性疼痛	CaMKII
がん	慢性骨髄性白血病	Bcr-Abl
	非小細胞肺がん	EML4-ALK

BCR-ABLのPHドメインを標的とした増殖阻害ペプチドの同定



本技術のプラットフォーム化

標的臓器／細胞

			破骨細胞制御		がん CML 肺癌		
送達 モチーフの 同定 ←	細胞環境	生体材料	骨 (ヒドロキシ アパタイト)				
		環境因子					
	細胞上	細胞分子				未定	未定

細胞内標的分子

機能モチーフの同定 ←	モノマー分子		CaMK4				
	多価型分子	TRAF6			Bcr-Abl	EML4-ALK	

制御分子

分子 形態		monomer		○			○
		dimer					
		tetramer		○			○



各種機能性分子の能力比較

	送達性	機能性		
		細胞外標的	細胞内標的 単量体 多量体	
抗体	○	○	×	×
低分子化合物	×	○	○	×
本ペプチド性化合物	○	○	○	○

多価型ペプチドライブラリー法により初めて可能となった

今後の産業用途と展望

各種疾患治療薬の他、高精度な疾患の診断・検出、細胞治療に必要な機能性細胞の分画・スクリーニング等、幅広い分野・産業への応用が可能となる。

お問い合わせ

同志社大学

研究開発推進機構リエゾンオフィス

産官学連携コーディネーター

大井 英之 Hideyuki OHI, PhD

〒610-0394 京田辺市多々羅都谷1-3

[mail: rs-oh24@mail.doshisha.ac.jp](mailto:rs-oh24@mail.doshisha.ac.jp)

TEL: 0774-65-6223