

テーマ

ペプチドナノカプセルを活用した人工ワクチンの開発

研究者

鳥取大学 大学院工学研究科・教授 松浦和則

概要

我々は、天然ウイルス由来のペプチドの自己集合により、ウイルスのようなナノカプセルを構築することに世界で初めて成功している。本研究では、新たな人工ワクチンの開発を指向して、自己集合性のペプチドナノカプセルの表面に免疫活性化分子を構造制御して提示する方法を開拓している。

研究内容

ウイルス由来ペプチドの自己集合による合成ウイルス殻の構築

β-Annulus Peptide from TBSV
 INHVGGTGGAIMAPVAVTRQLVGS

自己集合 → 合成ウイルス殻 (30-50 nm)

分子設計できる化学者の強み

ζ-電位のpH依存性から、C末端が表面に、N末端が内部に配向 → 表面および内部を選択的に化学修飾可能

合成ウイルス殻への分子内包

GFP@合成ウイルス, DNAナノ粒子@合成ウイルス, ZnOナノ粒子@合成ウイルス

Polymer J. (2013), Nanomaterials (2014)

「着せ替え」合成ウイルス殻

人工的デザイン → Dress-up Viral Capsid (Polymer J. (2015))

Protein, DNA, Antigen, Nanoparticles ...

本래のウイルスキャプシド(骨格上をタンパク質が充満)

Yahooニュース、西日本新聞、日本海新聞、日本経済新聞、産経新聞、山陰中央新報他に掲載

応用の可能性: ドラッグキャリアー、ナノフラスコ、人工ワクチン等

ペプチドナノカプセルを活用した人工ワクチンの開発

これまでのワクチン: 生ワクチン(弱毒化したウイルス)

経鼻噴霧型インフルエンザワクチン
副作用が懸念され、使用には年齢制限など厳格な縛り

経口生ポリオワクチン
副作用が懸念され、不活化ワクチンへ移行(2012年より)

ブレークスルーとなるコンセプト: 人工ウイルス殻を利用したワクチン開発

β-Annulusペプチド + 抗原の内包 + 自己集合 → 免疫活性化能を有するペプチドナノカプセル(人工ワクチン)

✓ 抗原の粘膜吸収性・免疫担当細胞への送達
 ✓ アジュバントによる防御免疫の高誘導

核酸系アジュバントCpGまたは免疫細胞増進性ペプチド

ウイルスCpG DNAによる免疫誘導

自然免疫: Dendritic cells, T cells, B cells, NK cell, CTL

獲得免疫: Th1, Th2, Th17, Treg, CTL

各種免疫細胞の活性化・分化誘導に有用

CpGモチーフ: 哺乳類は塩基子のプロモーター領域に多く見られるシラン塩基の位置がメチル化修飾(メチル、ウイリス、メチル化修飾されていない)

哺乳類のC塩基部位

本研究の目的

CpG-ODN (K type) (ATCGACTCTCGAGCGTCTTC) + maleimide + INHVGGTGGAIMAPVAVTRQLVCS (β-Annulus-Cys peptide) → CpG-β-Annulus

Self-assembly → 細胞内導入での免疫活性化を期待

CpG-β-Annulusの合成

Conjugate 合成スキーム

240 eq CpG ODN (= phosphorothioated)
 Sulfo-GMBS in 0.1M NaHCO₃ aq., 25 °C, 2 h
 透析 20 h, Cutoff Mw=1000
 4.7 eq INHVGGTGGAIMAPVAVTRQLVCS (β-Annulus-Cys peptide) in CH₃CN/10 mM phosphate buffer (pH 6.6), 40 °C, 24 h
 収率 27%

逆相-HPLC

移動相: 0.1M 干酸アンモニウム / アセトニトリル / グラジエント: 干酸アンモニウム 90% → 50% (55 min)

CpG-NH₂ 18.4min
 CpG-maleimide 19.6min
 CpG-conjugate 29.7min

MALDI-TOF-MS

matrix: 3-HPA
 m/z = 9061
 理論値 m/z = 9061

CpG-β-Annulusの自己集合挙動

[Conjugate] = 25 μM in 10 mM phosphate buffer (pH 7.1) at 25 °C

DLS

46 ± 8 nm
 78 ± 17 nm
 390 ± 132 nm

TEM

2% Na₂(PW₁₂O₄₀)(H₂O)₁₀ aq. 染色
 47.8-143.2 nm

ζ-電位測定

[Conjugate] = 12 μM in 10 mM phosphate buffer (pH 7.1) at 25 °C

β-Annulus-Cys-CpG conjugate: -15.4 ± 15.6 mV
 β-Annulus-Cys peptide: 0.002 ± 7.0 mV

CpG oligo DNAが表面に修飾された人工ウイルスキャプシドが形成

CpG-β-Annulus 評価試験

謝辞: 吉岡 靖雄 准教授(大阪大学微生物研究所)

ELISA In vitro 評価

サイトカイン: IL-6, IFN-γ

450nmに吸収

FACS In vivo 評価

マウス耳に免疫後、7日目に回収したリンパ節をFACSによって測定

細胞障害性T細胞

人工ウイルスキャプシドにCpGを結合するとアジュバント効果が増強

応用分野

人工ワクチン、免疫賦活剤(アジュバント)、薬物デリバリー(DDS)材料

連絡先

鳥取大学工学研究科 教授 松浦 和則
 E-mail: ma2ra-k@chem.tottori-u.ac.jp, TEL: 0857-31-5262