

令和元年12月17日
愛媛大学

ヒトに作用する抗体の特異性をゲノムワイドに評価できる新しい技術を開発 -約20,000種類のヒトタンパク質から目的抗体が作用するタンパク質を明らかに- (記者会見の実施)

このたび、愛媛大学プロテオサイエンスセンター 澤崎 達也 教授および株式会社セルフリーサイエンス 森下 了 研究開発部長らの研究グループは、特定のヒトタンパク質に対する抗体の最良の検証技術として、約20,000種類のヒトタンパク質から目的抗体と結合するタンパク質を同定する新しい技術の開発に成功しました。

本技術はセルフリーサイエンス社が開発したタンパク質アレイ技術を使用するもので、CF-PA²Vtechと名付けられ、市販抗PD-1抗体等の検証を行ったところ、標的以外に交叉する複数のヒトタンパク質を新たに発見し、それらは類似のエピトープを持つことが初めて確認されました。

この研究成果に関する論文は、2019年12月18日付けでScientific Reports誌に掲載予定です。

つきましては、下記のとおり記者会見を実施いたしますので、是非取材くださいますようお願いいたします。

記

日時：令和元年12月20日(金) 9時30分～10時30分(受付9時00分～)

場所：愛媛大学学術支援センター応用タンパク質研究部門棟4F会議室 ※別紙参照

会見者：愛媛大学プロテオサイエンスセンター長 坪井 敬文(つぼい たかふみ)
愛媛大学プロテオサイエンスセンター・教授 澤崎 達也(さわさき たつや)
株式会社セルフリーサイエンス・研究開発部長 森下 了(もりした りょう)

駐車場：有

(車で取材に来られる場合は、正門警備員室で会社名等をご記入のうえ、来客用駐車場を利用してください)

※研究の概要等は、別添資料をご参照ください。

※記者会見終了後、研究室見学を予定しています。

※送付資料6枚(本紙を含む)

本件に関する問い合わせ先
プロテオサイエンスセンター
教授 澤崎 達也
TEL：089-927-8530
Mail：sawasaki@ehime-u.ac.jp

ヒトに作用する抗体の特異性をゲノムワイドに評価できる新しい技術を開発

－ 約 20,000 種類のヒトタンパク質から目的抗体が作用するタンパク質を明らかに －

・概要

株式会社セルフリーサイエンス 森下 了 研究開発部長、および愛媛大学プロテオサイエンスセンター 澤崎 達也 教授らの研究グループは、特定のヒトタンパク質に対する抗体の最良の検証技術として、約 20,000 種類のヒトタンパク質から目的抗体と結合するタンパク質を同定する新しい技術の開発に成功しました。本技術はセルフリーサイエンス社が開発したタンパク質アレイ技術を使用し、**CF-PA²Vtech** と名付けられました。市販抗 PD-1 抗体等の検証を行ったところ、標的以外に交叉する複数のヒトタンパク質を新たに発見し、それらは類似のエピトープを持つことが初めて確認されました。論文は、2019 年 12 月 18 日以降に Scientific Reports 誌に掲載される予定です。

1. 背景

抗体分子には、1) 高特異性、2) 高親和性、3) 多種多様な分子の認識、という 3 つの主要な特徴があり、これらの特徴を利用して抗体は幅広いバイオテクノロジー用途で、タンパク質、ペプチド、核酸、低分子化合物などの特定の分子を検出するために使用されています。特に抗体医薬などモノクローナル抗体 (mAb) は特定の標的分子のみを認識することが期待されるため、特異性は最も重要ですが、その検証 (標的以外にも反応するか否か) は容易ではありません。

特定のヒトタンパク質に対する抗体の最良の検証技術には、すべてのヒトタンパク質を使用する方法が必要です。ただし、細胞または組織からすべてのヒトタンパク質を収集することは非常に困難なため、一般的な抗体の検証は、選択されたごく限られた細胞または組織からの数種類の抽出物を使用した限定的なデータに基づいています。したがってゲノムワイドにヒトの全タンパク質を揃えることができ、それらを使用した抗体検証の簡単な方法が開発できれば、研究者や医師に有用な情報を提供することが出来るようになります。

2. 研究成果

愛媛大学発バイオベンチャー企業のセルフリーサイエンス社は、愛媛大学プロテオサイエンスセンターが独自に開発してきたコムギ無細胞系を改良し、1) 多検体合成に適した新たなタンパク質合成技術 (次頁  1a) を開発しヒトタンパク質 2 万種類の合成に成功し、2) 1,536 ウェルの磁気プレート上にタンパク質が構造を保持した状態で固定化できる技術 (次頁  1b) という 2 つの技術を開発しました。そこで本研究グループでは、上記 2 つの技術を組み合わせることにより、ヒトタンパク質に対する抗体検証を簡便に行える **CF-PA²Vtech** (**C**ell-free **P**rotein **A**rray based **A**ntibody **V**alidation **t**echnology、次頁  1c) の開発に成功しました。

一般に、タンパク質に結合する抗体は、いくつかのアミノ酸配列からなる特定の配列 (エピトープ) を認識します。エピトープは抗体の特徴や特異性を理解するために非常に重要であり、その同定には多大な時間と労力を要しますが、今回開発した **CF-PA²Vtech** を用いて市販の 2 つの抗 HA および抗 PD-1 抗体の検証を行ったところ、極めて簡便、迅速、低コストに各抗体と結合するタンパク質が明らかになりました ( 2)。結合したタンパク質のアミノ酸配列情報は予め分かっているため、得られた配列情報の比較から各抗体によって認識される特定のエピトープを

同定することができました。

3. 波及効果

2018年のノーベル医学生理学賞は、「負の免疫調節の阻害による癌治療の発見」のJames P. Allison先生と本庶佑先生に授与されました。この最近の賞で示されているように、特定のタンパク質に対して高い特異性と親和性を持っている抗体医薬品の重要性は年々高まっています。ただし、すべての抗体が一様に特別な能力を持っているわけではありません。その為、抗体の検証は、高機能性抗体を特定するための重要なステップです。特に抗体医薬品の場合、抗体の交叉反応性は非常に重要な問題であり、本技術の**CF-PA²Vtech**は約20,000種類のヒトタンパク質を使用して抗体を検証できるため、抗体開発、特に抗体医薬品の研究に本技術が有用であると期待されます。今後は、抗体以外のモダリティ分子（低分子化合物、中分子化合物、タンパク質、核酸、次世代型抗体、細胞等）への応用を検討していく予定です。

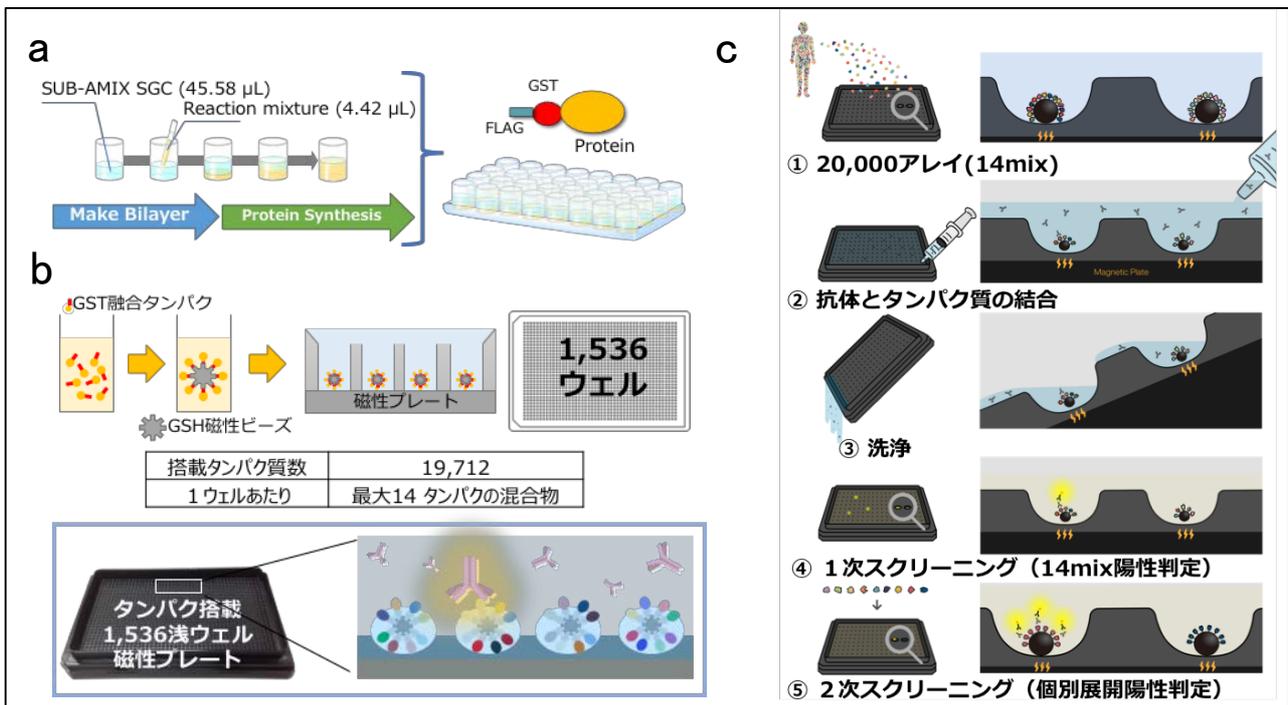


図 1. 本研究で開発した CF-PA²Vtech 概要

- a. 多検体合成に優れたタンパク合成様式、b. 20,000 種のヒトタンパク質搭載アレイ模式図
- c. 抗体性能検証試験の流れ

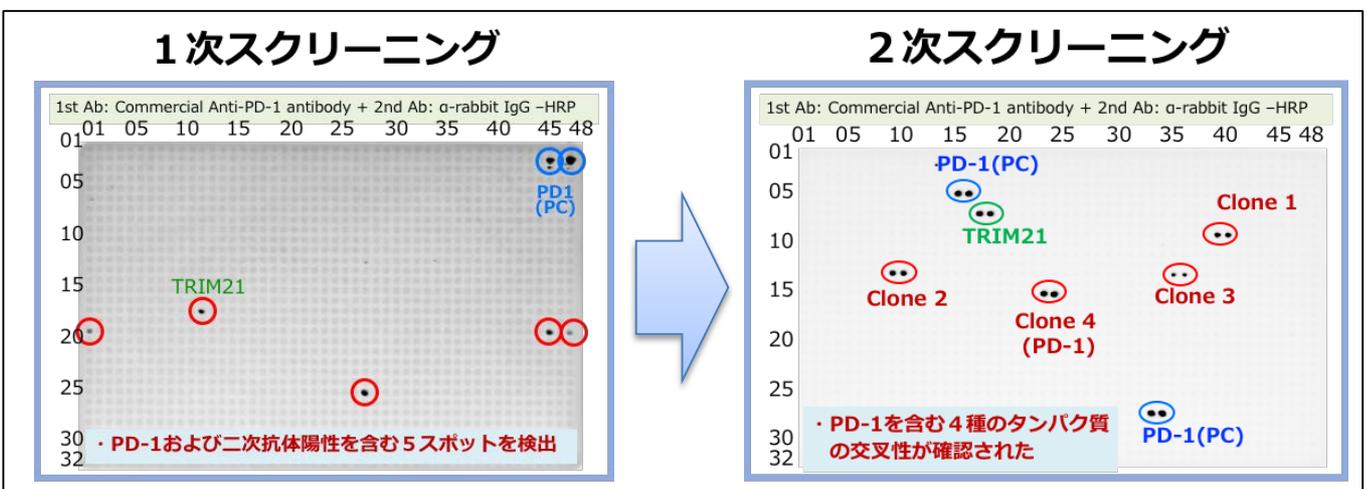


図 2.市販抗 PD-1(D4W2J)mAb の交叉性検証試験結果

4. 研究体制と支援について

本研究は、株式会社セルフサイエンス、愛媛大学プロテオサイエンスセンターとの共同研究として行われました。

また、本研究の実施にあたっては、日本医療研究開発機構（AMED）創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業（BINDS）「コムギ無細胞系による構造解析に適した複合体タンパク質生産・調製技術と低分子抗体作製技術の創出」、日本学術振興会（JSPS）科学研究費助成事業 新学術領域研究「数理解析に基づく生体シグナル伝達システムの統合的理解」、武田科学振興財団、公益財団法人木原記念横浜生命科学振興財団の支援を受けました。

<論文タイトルと著者>

タイトル: CF-PA²Vtech: a cell-free human protein array technology for antibody validation against human proteins

(和訳) CF-PA²Vtech: ヒトタンパク質に対する抗体検証を無細胞タンパク質アレイで行う技術

著者 : Ryo Morishita, Shusei Sugiyama, Miwako Denda, Soh Tokunaga, Kohki Kido, Ryouhei Shioya, Satoshi Ozawa, and Tatsuya Sawasaki

掲載誌 : Scientific Reports

DOI: 10.1038/s41598-019-55785-5

掲載日 : 2019年12月18日 19:00 (日本時間)

本件に関する問い合わせ先

担当部署: プロテオサイエンスセンター

担当者名: 教授 澤崎 達也

TEL: 089-927-8530

Mail: sawasaki@ehime-u.ac.jp

用語説明

1) 抗体

抗体は、主に血液や体液中に存在しているタンパク質分子です。抗体は、体内に侵入してきた細菌やウイルスなどの異物(抗原)を認識して特異的に結合(抗原抗体反応)し、異物を体内から除去する働きを持っています。生体防御機構に重要な役割を持つ抗体の「特定の分子しか認識しない」性質を利用して、多様な分子を認識するバイオツールとして人為的に多くの抗体が作製され、ライフサイエンス研究全般や診断などに様々な場面で使用されています。また近年、乳がんや卵巣がんなどの治療薬(抗体医薬)としても非常に有効であることが分かり、今後の発展が期待されています。

2) 抗原(エピトープ)

免疫応答を引き起こさせる物質を抗原といいます。体内に侵入する細菌やウイルスなどの外来物質や、予防接種などで用いられる人工タンパク質などが一般的な抗原であり、免疫応答が起こった結果、抗体が産生されます。難治性な疾患として、自分の体を構成している成分が抗原となり、抗体を誘導する様な免疫応答が起きてしまうことで起こる自己免疫疾患が知られています。

エピトープは産生された抗体が認識する最小抗原部分を示す用語です。抗体はエピトープを認識することで多様な分子の中から特定の抗原に結合します。

3) 特異性

抗体の「特定の分子しか認識しない」性質を「特異性」といいます。抗体は1種類につき1つの抗原(エピトープ)を認識するとされていますが、中には意図せず複数の抗原(エピトープ)を認識してしまう抗体もあります。このような抗体は「特異性が低い」とされ、使用用途が限定される場合があります。

抗体が「特定の分子を認識するかどうか」を調べることは簡単ですが、「特定の分子以外を認識しないかどうか」を調べることはとても難しく、これまで簡便にそのような試験を行うことは出来ませんでした。

4) 抗体医薬

抗体医薬とは、抗体を利用した医薬品のことです。病気の原因物質に対する抗体を人為的に作り出して体内に入れ、抗原抗体反応により原因物質(抗原)を除去することで、病気の予防や治療をおこないます。一種類の抗体は、特定の抗原のみに作用するはずなので、その抗原をもっていない他の組織や細胞に作用することは少なく、副作用も少ないと考えられています。しかし投与する患者さんによって効き目が違うことも確認されており、その要因の一つに「抗体の特異性」が関与しているのではないかと考えられています。

5) ヒト20,000 種類タンパク質ライブラリー(ヒトプロテインアレイ)

ヒト全遺伝子の75%以上をタンパク質として人工的に合成したライブラリー。ヒトのタンパク質は細胞や組織で発現している種類や量が大きく異なり、ヒトの全タンパク質を収集して(ゲノムワイド)研究を行うことは不可能でした。

今回、コムギ無細胞タンパク質合成系を利用することで、20,000 種類のタンパク質を一定の範囲内の合成量で調製することが出来、抗体が結合する可能性のあるタンパク質をゲノムワイドに研究することが可能となりました。

6) コムギ無細胞タンパク質合成系

愛媛大学の遠藤弥重太特別栄誉教授らによって開発されたコムギ胚芽抽出液を用いた in vitro タンパク質合成システム。タンパク質合成阻害物質を除去したコムギ胚芽抽出液に、アミノ酸などの基質と目的 mRNA を加えるだけで、微生物から高等生物、さらに人工タンパク質に至るまで安定して高効率にタンパク質を合成する技術。

7) 磁気プレート式プロテインアレイ

上述のヒトプロテインアレイを磁気プレート上の各穴(ウェル)に並べた様式。基本フォーマットは、384 もしくは1,536 種類のタンパク質を1枚の磁気プレート上に固定させている。今回の試験では約 20,000 種類のタンパク質を1枚の磁気プレート上に集約させる為に、ウェル内には 10~14 種類のタンパク質が混合されている。今回の発表は、抗体が結合するタンパク質を探索する手法である。今後は、酵素の基質タンパク質や複合体タンパク質のパートナータンパク質などの探索に利用できると期待されている。

愛媛大学城北キャンパス (松山市文京町3番)

記者会見会場：
学術支援センター応用タンパク質研究部門4F会議室



アイコン凡例	
▲ 出入口	🍴 食堂・カフェ
P 駐車場	🛍️ ショップ
P ♿ 車いす駐車場	☎️ 公衆電話
🚲 駐輪場	📺 愛キャンステレビ
🏧 ATM	📄 電子掲示板
AED 自動体外式除細動器	🚬 喫煙コーナー