

生命を科学する 明日の医療を切り拓く

2018 Vol.36 No.11

実験医学

7

Experimental Medicine

特集

次世代抗体医薬の衝撃

新たな標的・新たな機序によりいま再び盛り上がる抗体創薬

企画／津本浩平

- 概論—現代の創薬における抗体医薬の位置づけ ▶津本浩平
- バイスペシフィック抗体の技術開発と医薬品の創製 ▶井川智之
- ここまできた次世代抗体薬物複合体 (ADC) の創製と開発
 - ▶中田 隆, 阿部有生, 我妻利紀
- 免疫寛容を標的とした抗体医薬によるがん免疫療法
 - ▶岡崎 拓, 岡崎一美
- 糖タンパク質を標的とした革新的がん特異的抗体の開発
 - ▶加藤幸成, 金子美華
- 小型抗体の作製技術 ▶有森貴夫, 高木淳一
- 親和性ペプチドを用いた部位特異的修飾法による抗体の高機能化技術 ▶伊東祐二, 金山洋介, 林 良雄
- コンピュータ技術による抗体分子設計 ▶黒田大祐, 津本浩平
- 標的に抗体が結合できる部位はいくつあるか?
 - ▶永田諭志, 伊勢知子, 鎌田春彦

連載

2018年 Japan Prize 記念インタビュー

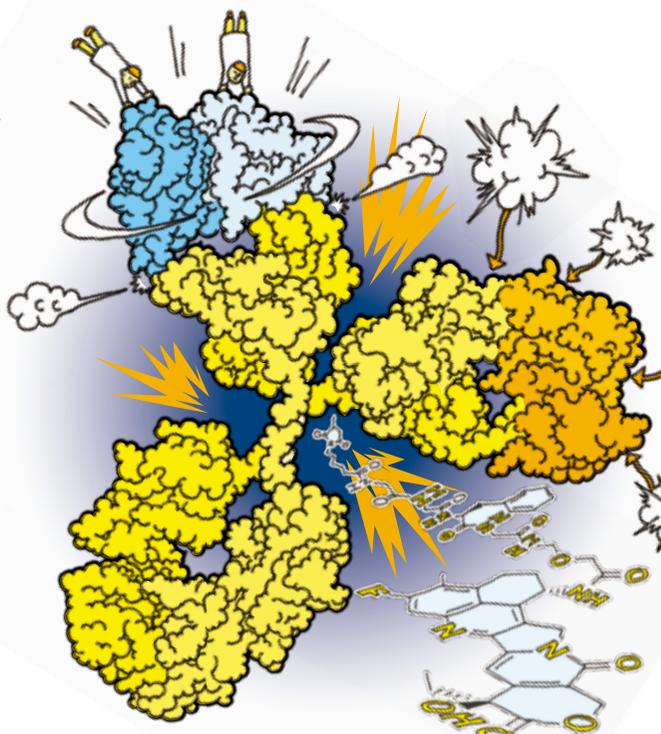
T細胞・B細胞の発見秘話

Jacques Miller, Max D. Cooper

Trend Review

名古屋鑑定書?それは研究者にも何か関係がありますか?
鹿児島 浩

羊土社



標的に抗体が結合できる部位は いくつあるか？

効率よく新しい機能抗体を探索するための エピトープ均質化抗体パネル

永田諭志, 伊勢知子, 鎌田春彦

あるタンパク質抗原を認識する抗体は多種多様である。では、1つの標的に提示されている抗体の結合部位（エピトープ）の数はいくつなのだろうか？異なる抗体は、それぞれのエピトープに結合し異なる機能を示す。最も有用な抗体を見つけるために、1つの標的に対し膨大な数の抗体が際限なく作製され、エピトープ同定が特性解析に利用されている。しかし、もっと確実に、有限の抗体数で抗原のエピトープを網羅し、効率よく新しい機能抗体を探索できないか？本稿では、「エピトープ均質化抗体パネル」の構築と、次世代のエピトープベースの抗体医薬の開発を目指すわれわれの取り組みについて解説する。

キーワード 機能抗体, エピトープ, エピトープ均質化抗体パネル

はじめに

「抗体の機能は、標的分子への抗体の結合により誘導される」このシンプルな事実は、多くの抗体について、抗原との詳細な結合様式を解析する研究を生み出してきた¹⁾²⁾。しかしながら、多くの抗体が医薬品として利用されている現代にあっても、抗原抗体相互作用の膨大な多様性に圧倒され、いまだに普遍的な結合原理を見出すに至っていない。現在でも、同じ抗原分子Aに対する多数の抗体は、まとめて抗A抗体としてあたかも1つの物質のように表現されており、これが、さまざまな誤解を招いている。例をあげると、同じ膜レセプターAに対する抗体でも、天然リガンドと同じようにレセプターを活性化するアゴニスト抗体や、それとは逆に天然リガンドの結合を阻害し、活性化も誘導しないアンタゴニスト抗体がある。ではこれらの同一抗原に対する抗体は、どのような結合モードの違いによっ

て、異なる機能を示すのであろうか？

1 エピトープは小さい

これまで長年にわたり蓄積された研究で、400以上の抗体-抗原複合物の共結晶が解析されている³⁾⁴⁾。もはや当然の事実となっており気づきにくいだが、それらの解析で判明した最も驚くべき事実は、「抗原の抗体との接触表面はかなり小さい」ことではないだろうか。抗体側も抗原側も接触アミノ酸残基は約20程度なので⁵⁾、だいたい100~400個のアミノ酸からなる一般のタンパク質抗原のほんの一部である。したがって、抗A抗体と表現される複数の抗体であっても各抗体の抗原上の結合部位（エピトープ）は抗体ごとに大きく違う。今までにさまざまな抗体についてエピトープ位置の解析（エピトープマッピング）が行われ、抗体機能の差をエピトープの違いで説明できた例が数多くある。

How many epitopes should be expected on a target molecule? : Epitope-equalized antibody panel
Satoshi Nagata/Tomoko Ise/Haruhiko Kamada : Center for Drug Design Research, National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition/Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University (国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所 創薬デザイン研究センター・抗体スクリーニングプロジェクト/大阪大学薬学研究所連携大学院医薬基盤科学講座)

2 エピトープの境界

しかし、抗体で認識されるエピトープとよばれる構造は、本当に抗原の同一の部位を意味するのだろうか？よく考えてみるとエピトープの境界線ははっきりしない。例えば、抗原への結合を互いに競合阻害する抗体群は、同じエピトープを認識するという考え方がある。抗体にも物質としての「かさ」があるので、この方法では、近い部位に結合する複数の抗体は、互いに相手の結合を阻害し、同じエピトープとして分類されるであろう。しかし、それぞれの抗体の抗原結合部位は、ユニークなアミノ酸配列で構成されているので、厳密には、エピトープ位置は抗体ごとに、異なっていることは自明であるとも言える。実験でも、一見同じような反応性を示す抗体の結合を、抗原のアミノ酸1残基単位のアラニンスキャニング変異導入法などで詳細に検討すると、各抗体の反応性は異なってくる。このような例では「同じ」エピトープが、実験を進めて「異なる」エピトープになったわけである。

また、エピトープの境界線を不明瞭にしている原因は他にもある。前述の抗原への変異導入法について、もう少し考えを進めてみよう。この方法はエピトープ同定の標準法として、いろいろな変法が考案されているが、原理は単純である。変異を入れた抗原に抗体が反応しなくなれば、その変異アミノ酸残基の近傍がエピトープであろうと推測できる。しかし、この方法では、変異部位から少しだけ遠くなれば、変異の回りの構造を歪める影響が小さくなり、抗体への結合に与える影響も小さくなる。結果としては、抗体の強い結合が弱い結合になるだけで、少しは結合してしまう。つまり厳密には、抗体ごとに反応性は異なるのだが、この結合親和性の目減りの程度を、相対的にエピトープ構造が「こわれた程度」として抗体をグルーピングすると、はじめである程度まとまったエピトープグループの部位が見えてくる⁶⁾。この場合は「異なる」エピトープが、実験の解釈により、「同じ」エピトープになったわけである。

3 形を変えるエピトープ

以上の考察のように、エピトープは境界線がぼんや

りしたものだとわかったが、エピトープの同定には別の問題もある。違う視点から抗体が抗原へ結合する過程を考えてみたい。タンパク質抗原は水溶液中で単独で存在する場合、表面の残基が周りの水分子と相互作用している。この抗原に抗体が近づいていくと、その部分に存在する水分子を押しおき、水との相互作用を失った抗原分子の構造は多かれ少なかれ歪む⁷⁾。そこに抗体が結合するわけである。このようにエピトープの構造はもともと動的なものであるため、最終的な抗原抗体複合物の解析で、エピトープ構造が同定されても、厳密な意味では、単独の抗原分子にはそのエピトープ構造が、存在しないかもしれない。例えば、最近がん治療のための免疫チェックポイント阻害薬として注目を集めている抗PD-1抗体に、ペムブロリズマブ(キイトルーダ[®])がある。この抗体の結合により、抗原PD-1に小さなコンフォメーション変化を引き起こすので、エピトープとして同定される構造の一部は、単独のPD-1ではフレキシブルで無秩序な配置をとっている⁸⁾。このように動的な視点では抗体の結合がエピトープをつくり出すとも考えられる。

4 抗体機能分類に役立つ エピトープグルーピングの解像度

前述の考察のようにエピトープは、かなり曖昧な概念であることがわかった。実際、エピトープマッピングの手法は非常に多岐にわたる⁹⁾¹⁰⁾。それらを概観してまず気づくのは、各方法で同定されるエピトープの大きさと正確さに、さまざまなレベルがあることである。例えば、抗原抗体複合物の構造解析を原理とする方法では、X線結晶構造解析のような原子レベルの詳細な相互作用を解析するものから、核磁気共鳴(NMR)法、抗体結合による置換速度の遅延を利用した重水素置換法、さらに大まかにエピトープ位置を観察するクライオ電子顕微鏡法¹¹⁾まで、いろいろな解像度のレベルがある。また抗体の結合機能を利用したマッピングには、前述のアミノ酸1残基単位での抗原変異体に対する結合性評価や、もっと大まかなドメイン構造や欠失変異体に対する反応性評価もある。やはり、実際上もエピトープはかなりぼんやりと捉えられてい

るようである。では、機能抗体を検索するうえで、想定すべきエピトープは、どのくらいの曖昧さのレベルで考えると「程よい」のであろうか？

抗体の機能として想定できるものはいろいろあるが、ここでは前述のレセプターAに対する「アゴニスト抗体」と「アンタゴニスト抗体」について考えてみたい。結論を先に述べると、抗体の抗原への結合活性を基準にエピトープを同定するのがよいと考えている。これは、抗体のすべての機能が抗原への結合により誘導されるからである。その方法だが、先にリストしたエピトープマッピングの方法とは一線を画するが、古くから用いられているエピトープの分類手法として、ある抗体の抗原への結合が、続けての別の抗体の結合を阻害するか否かを調べる競合結合試験法がある。この方法で解析されたエピトープ分類は、かなりおおまかであるが、抗体のアゴニスト、アンタゴニストの機能に相関することが多い。複数の抗体が同じエピトープグループを認識するときには、同じ機能を示すことが多く、逆に異なるエピトープグループを認識する抗体は違う機作で働くことを意味しているわけである。この実用性から、抗体相互の競合結合をハイスループットで測定し、その結果を基準にして抗体をグルーピングする手法が、ビンニング (binning) とよばれ、近年のエピトープ分類に汎用されている¹²⁾¹³⁾。抗体のビンニングは未変異の抗原全体を用いることで、タンパク質抗原の天然のコンフォメーションに対する結合を評価できるという利点がある。また、抗体の結合によるコンフォメーション変化が、別の抗体の結合に与える影響を調べることで、揺らぎのあるエピトープも考慮できる。しかし、一方で致命的な欠陥もある。この方法ではエピトープの相対的な位置関係のみしかわからない。つまり、エピトープを抗原構造上の特定の位置に「マッピング」できない。抗体のビンニングで最も実際的な問題となるのは、1つの標的Aに対してすでに多数の抗体が取得されているにもかかわらず、標的A上のエピトープの総数がわからないために、新たな抗体医薬の獲得をめざす新規参加者は、標的上の新しいエピトープ (新しい機能抗体) を求めて、際限なく膨大な数の抗体をとり続けてしまうことである。

5 エピトープ分布は均一でまだら模様？

われわれは、機能抗体を効率よく探索するために、抗原上に提示されている多くのエピトープを、最小限の抗体数で網羅する抗体パネルを作製したいと考えた。そのような抗体群を「エピトープ均質化抗体パネル」と名付けている。前述のエピトープの解像度の考察から、抗体機能を反映するサイズで、抗体相互の競合結合に基づき、エピトープを同定したい。しかし、抗体相互の競合結合の結果から、エピトープの均質性を判断することは原理的に可能であろうか？

この問題を考えるために、標的上のエピトープの分布をイメージしてみよう。過去の抗原抗体複合物の解析で、特異的な結合モードが見出されていないことから、標的表面上のすべての場所が抗原結合部位になり得るという考え方が¹⁾。古くにはポリクローナル抗体の反応性の解析も、このような考えをサポートしてきた¹⁴⁾。この場合は、仮に標的抗原を白いボールに見立て、その上のエピトープ部位を黒で色づけすると、十分に均質化すると、ちょうどグレーのボールのように、切れ目なく偏りなくエピトープが存在するであろう。しかしながら、実際に存在するモノクローナル抗体と抗原の複合物を多数解析すると、エピトープ部分とエピトープ以外の抗原表面には、統計的に検出できるわずかな違いがある²⁾³⁾¹⁵⁾。どのような性質に差がみられるのかは複雑なので、詳細は参考文献に譲るが、実際の抗体エピトープは、抗原表面の限られた小さい範囲ではかたよっている。つまり、エピトープ (=各抗体) の構成頻度を均質化すれば、エピトープの黒い部位は、白いボール上の標的抗原上に斑点状にばらばらに、しかし均質に存在し、サッカーボールのように見えるであろう。

このような均質化の状態は、エピトープがクラスター状に存在することと両立するので、抗体相互の競合結合のパターンとしての特徴も見出せる。実際に、標的の構造上に多数の仮想エピトープを構築するシミュレーションで、非常に多数の仮想抗体を想定し、それらの結合する場所が標的に均質に分布した場合でも、抗体相互の競合結合の特徴は保持される。この特徴を判別し、それを最小限の抗体数で達成するプロトコールを

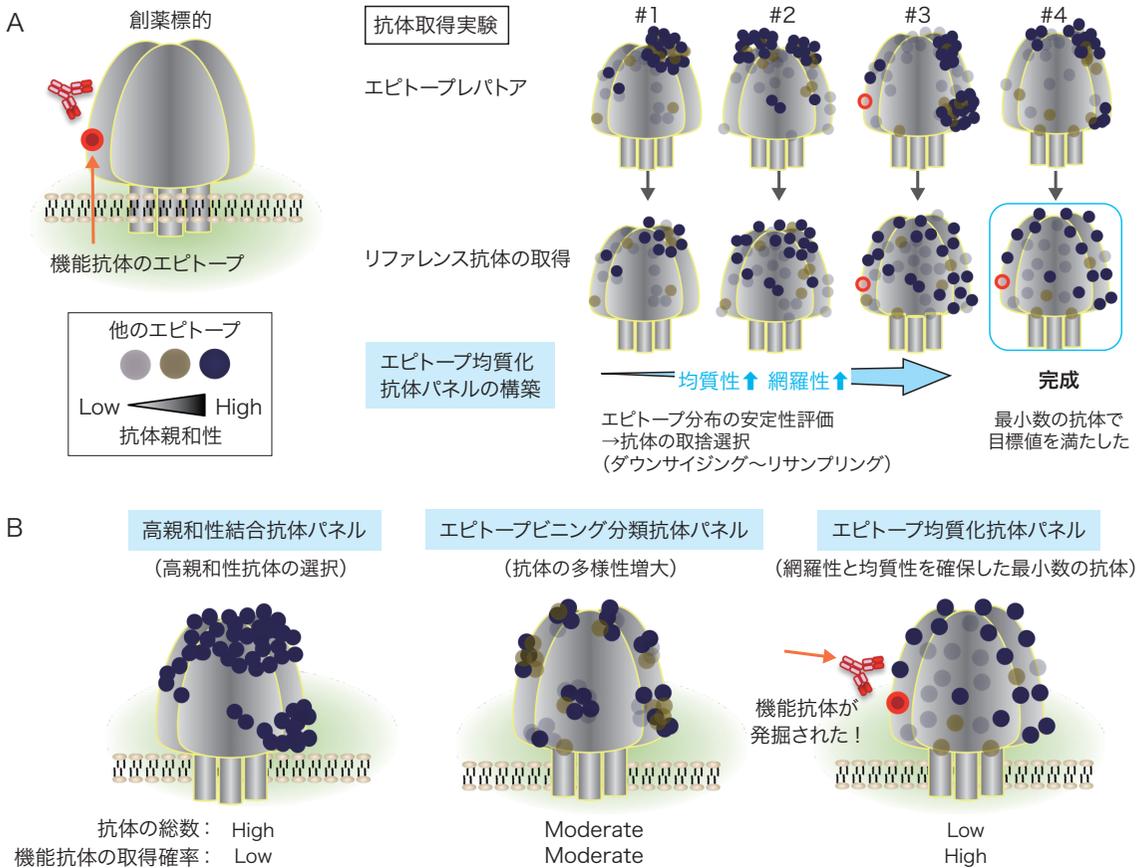


図1 エピトープ均質化抗体パネルの概要と有用性

エピトープ均質化抗体パネルは、新しい機能抗体の発見確率を上げる方法である。A) パネルの作製は多段階で行われる。各段階の抗体取得実験では、一回の実験の初期に、非常に多くの異なる特異抗体が検出される（例えば、免疫マウス1個体より、数十〜数百のモノクローナル抗体産生ハイブリドーマが得られる）。これらの特異抗体の全体としてのレパトアは、種々の要因でエピトープが偏っている。そのエピトープ分布を、図3で示す逐次結合アッセイとクラスター分析により解析し、エピトープの密度依存的に抗体集合のダウンサイジングを行い、抗体の総数を減らすとともに、リファレンスとなる抗体を選ぶ。それらのリファレンス抗体を次の実験で得られる新規抗体群に加えて、順次エピトープレパトアを解析する。全体のパネル作製はこのように、徐々にエピトープの均質性と網羅性を高めるようにチューニングされ、最終的にエピトープ数の目標値を最小数の抗体の数で達成した場合、最終的な抗体群が、完成したエピトープ均質化抗体パネルである。B) 各実験の初期に得られる多数の抗体は、結合親和性もまちまちなうえに、少量で未精製であり、複雑な抗体の機能アッセイにそのまま用いることが困難である。従って実際には種々の方法で機能抗体候補が選ばれ、より少数の抗体群（種々抗体パネル）が機能スクリーニングに供される。通常の親和性を指標として選ばれた高親和性結合抗体パネルやエピトープビニング分類抗体パネルに比べ、エピトープ均質化抗体パネルは標的の抗体結合部位を網羅的に検索できるため、機能抗体の発見につながる確率が高い。

確立したいわけである。

6 エピトープ均質化抗体パネル

エピトープ均質化抗体パネルの概要と有用性を図1にまとめた。具体的な実験手順としては、通常の抗体

作製実験を基本ユニットとして、それをくり返していくのだが、その都度、エピトープの密度依存的に抗体集合のダウンサイジングを行い、抗体の総数を減らすとともに、すでに得られている抗体から、リファレンス抗体をピックアップして、全体の抗体パネルでエピトープとして認識される標的上の領域を広げるように、

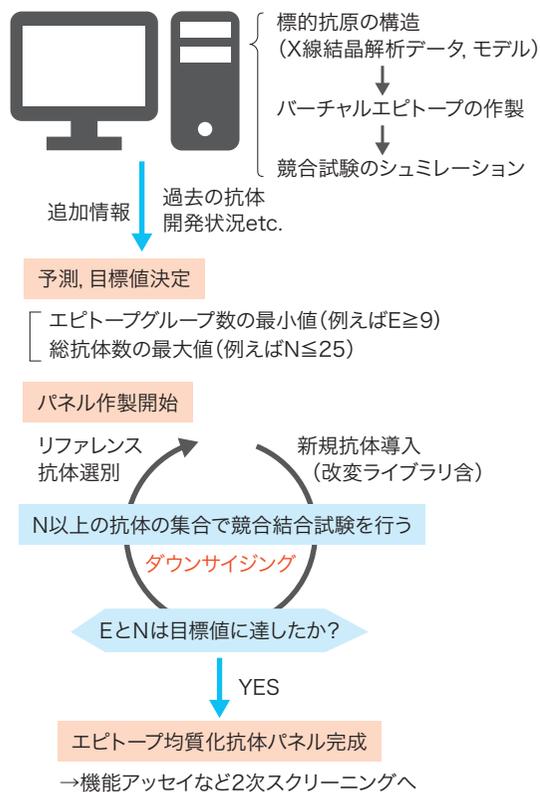


図2 エピトープ均質化抗体パネルの作製法

パネルを成熟させてゆく。最終的に選択された抗体群で、エピトープの均質性を保証できるエピトープ数と総抗体数の目標値が達成されたとき、その抗体群が、標的抗原に対する完成エピトープ均質化抗体パネルである。エピトープ均質化抗体パネルは、通常の高親和性結合を基準に選択された抗体群や、エピトープビニングによってエピトープ多様性を高めた抗体群と異なり、標的に存在する最大のエピトープ領域を網羅的にとりこぼさなく、最小の総抗体数で探索できるので、新しい機能を有する抗体の発見確率が高い。

エピトープ均質化抗体パネルの作製のフローを図2に示した。まず標的抗原の構造情報を集め、標的上のエピトープグループ数の最小値と、許容できる最大の総抗体数を決定する。標的の構造情報が、X線結晶構造解析のような詳細な三次構造で得られる場合には、構造上の表面に多数の仮想エピトープ (=個々の仮想抗体が結合する場所) を作製し、仮想競合結合試験を

行う。しかし、実際の治療抗体の標的は、結晶構造の取得が技術的に困難な細胞膜レセプタータンパク質などが多く、得られる構造情報は限られている。この場合は二次構造予測や、ドメイン構造解析でモデル化する。実際の抗体医薬開発をめざす場合には、これらの理論的なファクターに加えて、過去の他の抗体の開発情報や特許情報など、恣意的なファクターを加味し、最終エピトープ数と総抗体数の目標値を決定する。この決定値を満たすような抗体パネルを、競合結合試験で徐々に成熟させていくわけである。実際の手順としては、複数の抗体作製実験をくり返して、得られた抗体群を統合していくことになるが、この過程では低親和性の抗体も除外しない。各ステップで新規に導入する抗体群は、免疫動物の偶然の個体差を利用だけでも、通常は十分に多様であり、最終的に十分な均質性を有するパネル作製が可能なが多い。この免疫動物の各個体での特異抗体レパトアの偏りには、非常に多数の要因が考えられるが、基本的な背景は、免疫応答が偶然の変異、認識、増幅をくり返して、個別の多様性を最大化するように進化したシステムであることによる。もちろん、新規導入抗体群のエピトープレパトアを意図的に多様化するために、エピトープバイアスをかけることも可能である (詳細は省く)。

抗体パネルの作製過程で、各ステップでエピトープ均質化の程度を判断するために、競合結合試験 (逐次結合アッセイ) とクラスター分析を用いる。アッセイの概要を図3に示す。まずテストする抗体群 (この例では17抗体) に含まれる任意のペア (2抗体) を選択し、それらのエピトープの関係性を調べるために、順次、抗原に結合させ、最初の抗体が次の抗体の結合に与える影響を調べる。その影響の度合いを表にまとめると、例えば図3のヒートマップに示したようなマトリクスが得られる。つまりこのパターン全体が、テストした抗体群に特有であり、エピトープ相互相対位置を示している。そこで次に、このパターンからエピトープ数を客観的に求めるために、階層的クラスター分析を行う。ヒートマップの各セルの値を要素として、各抗体ベクトルのパターンの関連性を数値化すると、ヒートマップの上を示したような樹形図が得られる。この樹形図のどの高さに関値を設定するかでクラスター数

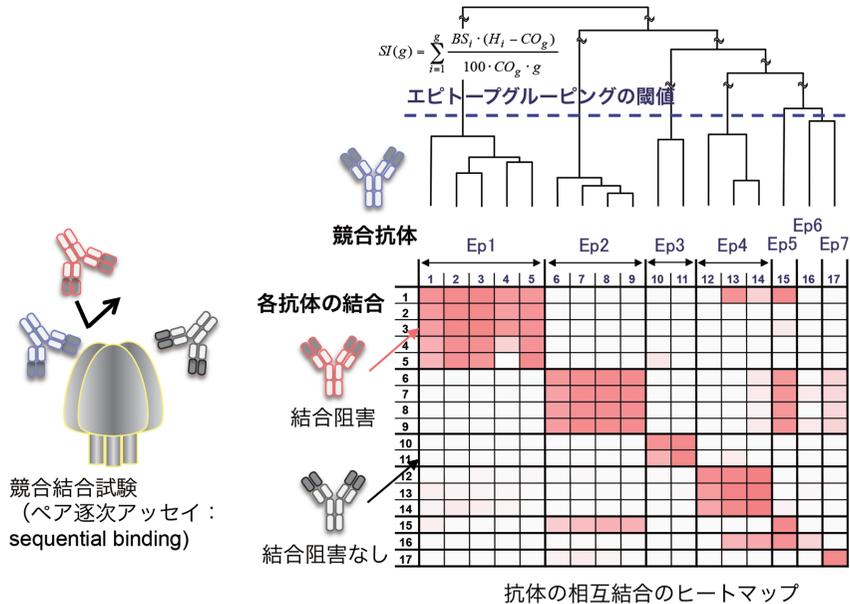


図3 2抗体相互競合結合試験（逐次結合アッセイ）

エピトープ均質化抗体パネルの作製過程では、抗体の相互競合結合試験とクラスター分析により、エピトープ分布を解析する。順次提供された抗体群について、任意の2抗体のすべてのペアの競合結合試験（逐次結合アッセイ, sequential binding assay）を行う（左図）。例えば抗体Aと抗体Bの組み合わせでは、抗原への抗体反応順序を変えた2通り（抗体A→抗体B、および、抗体B→抗体A）で試験し、その結果をマトリクス化する（右図下）。抗体反応性の検出は、抗原により種々の実験手法を用いることが可能だが、われわれは、典型的にはマルチプレックスビーズアッセイで行っている。マトリクスのクラスター分析で得られた樹形図（右図上）の形状を、安定化指数（stability index：われわれの独自パラメーター）によって解析し、エピトープグルーピングのための閾値を算出する。例として、17個の抗体についての解析例を示した。標的は約260アミノ酸からなる一回膜貫通型糖タンパク質レセプターである。樹形図から、算出された閾値を用いて、エピトープが7群と判断され、この判定された各エピトープグループはマトリクスの反応パターンと、ほぼ対応していることがわかる。この場合は完成パネルのエピトープの目標値は9と設定されているので、この抗体パネルはまだエピトープ均質化の基準に達しておらず、パネルの作製は続行する。これらの作製途中の抗体パネルから、相互競合結合パターンを利用して、密度依存的ダウンサイジングにより総抗体数を減らし、さらに他のさまざまな基準で選ばれたリファレンス抗体群のみを次の段階に残す。それらの抗体群に、別のライブラリ由来（改変ライブラリを含む）の抗体群を加え、あらたにエピトープ均質化抗体パネル候補となる特異抗体群を作製する。

(=エピトープ数)の値が決まってくる。この閾値を決める手段として、われわれは樹形図の安定性を評価する安定性指数（stability index）を考案し¹⁶⁾、その変法でクラスター数（=エピトープ数）を客観的に決定している。詳細は複雑なので省くが、エピトープ数が目標値に達しない場合は、同様のクラスター分析を用いて、エピトープ数を維持したまま、抗体の総数を減らすようにダウンサイジングを行い（=似たような抗体を間引き）、残った抗体をリファレンス抗体として、次の追加抗体に加える。エピトープ数が目標値に達した場合は、ダウンサイジングを行って、最大抗体総数の目標値以下で、競合結合試験のエピトープ数が目標

値以上の値を安定に与える抗体群を選択し、それを完成エピトープ均質化抗体パネルとする。

7 CD30に対するエピトープ均質化抗体パネルによる新規機能抗体の発見

エピトープ均質化抗体パネルが、実際に機能抗体の発見に有用であった例として、抗CD30抗体パネルの例を示す（図4）。CD30は、ホジキンリンパ腫や未分化大細胞リンパ腫などのがん細胞に高発現しており、他の正常組織での発現が限られることから、これらのがん治療のための抗体医薬のよい標的である。実際に

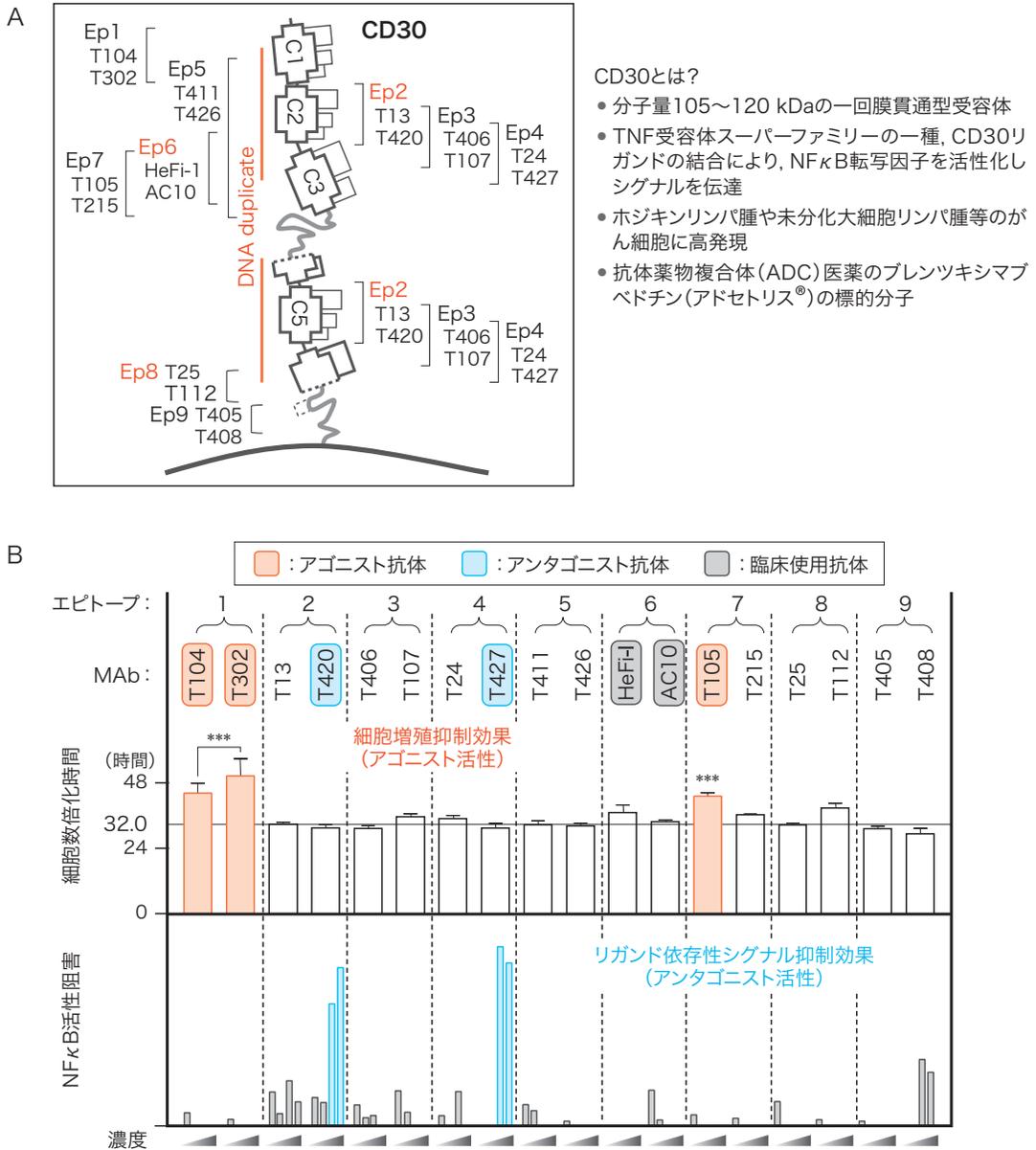


図4 エピトープ均質化抗体パネルによる新規機能抗体の発見例 (CD30 標的)

A) 作製した抗体パネルの標的上のエピトープ分布：ヒトCD30を標的としたエピトープ均質化抗体パネルを作製した（エピトープグループ9個，2抗体/エピトープ=18抗体）．各エピトープの位置をCD30のドメイン変異体を用いて解析し，CD30の構造模式図上に示した．9個のエピトープはCD30の全体に網羅的に分布することがわかる．B) 各抗体のアゴニスト活性（図上）とアンタゴニスト活性（図下）を示した．アゴニスト活性は，CD30陽性ホジキンリンパ腫由来細胞株L540を用いて，細胞増殖抑制効果として測定した．抗体無添加時の細胞数倍化時間（32時間）と比べて，各抗体1μg/mLの存在下で，3抗体に増殖の遅延が観察された（n=4，p<0.001）．アンタゴニスト活性は，CD30をトランスフェクトしたRamos-Blueレポーター細胞株を用いて測定した．CD30リガンド-Fc融合タンパク質（20 ng/mL）で刺激し，CD30の細胞内シグナルの下流であるNF-κB転写因子の活性化を分泌型アルカリホスファターゼの発現として検出した．ここに抗体の1，10，100，1000 ng/mLを加え，シグナルの阻害（アンタゴニズム）を測定した．2抗体に濃度依存性にアンタゴニスト効果が認められた．今回，新規に得られた強いアゴニスト抗体，およびアンタゴニスト抗体は，上市された抗体薬物複合体医薬のアドセトリス®に用いられているAC10抗体や，過去に臨床試験に用いられたHeFi-1抗体とは異なるエピトープグループを認識した．

抗CD30抗体のAC10クローンは、上市されている抗体薬物複合体医薬プレッツキシマブベドチン（アドセトリス[®]）に用いられている。このAC10抗体と、過去に臨床試験に用いられたHeFi-I抗体に、われわれが作製したオリジナルのCD30抗体を加え^{17)~19)}、エピトープ均質化抗体パネルを作製した。完成したエピトープ均質化抗体パネルには9個のエピトープに対して2抗体ずつの、計18の抗体が含まれる。AC10とHeFi-Iはいずれも同じエピトープ6に属していた。9つのエピトープ位置をCD30抗原の変異体を用いて同定したところ、予想通り、各エピトープに含まれる2抗体はいずれもCD30構造上の近傍領域を認識し、パネルを構成する9つのエピトープはCD30の全長にわたって均質に網羅的に存在していた。つまりエピトープが均質化されていた。次にパネルに含まれる18の抗体のアゴニスト活性とアンタゴニスト活性を測定した（**図4B**）。その結果、過去の開発抗体と異なったエピトープを認識する抗体群に、強いアゴニスト抗体とアンタゴニスト抗体が、それぞれ同定された。これらの機能抗体はエピトープ均質化抗体パネルを利用することで、少ない抗体数の検索で発見できたと考えられる。

おわりに

このように「エピトープ均質化抗体パネル」は、単に多くの抗体を分類したのではなく、「標的抗原」に注目した「標的の抗体による機能改変の可能性を、漏れなくテストできる最低数の抗体プローブ群」なのである。パネル抗体であれば、数多くの未開拓エピトープを探索でき、CD30の例に示したように、新規標的だけでなく既知の標的上にも、新しい機能抗体の発見が期待できる。

本稿では、アゴニスト抗体、アンタゴニスト抗体の例を記載したが、期待する治療抗体の機能は多岐にわたる。しかし、ある分子を抗体医薬の標的に考えたとき、標的をくまなく検索する「エピトープ均質化」の考え方は、普遍的に重要であると考えられる。われわれは標的と目的に応じ、さまざまな解像度レベルで「エピトープ均質化」を達成できるように、技術拡張を進めている。また、エピトープ均質化抗体パネルは、新

規機能エピトープの発見を容易にするのと同時に、他の機能と相関しないエピトープとの区別を明らかにすることができる。より明瞭な機能エピトープの定義は、次世代のエピトープベースの新規抗体医薬の開発にも重要であると考えている。

謝辞

エピトープ均質化抗体パネルの計算技術の開発には、医薬基盤・健康・栄養研究所 創薬デザイン研究センター インシリコ創薬支援プロジェクトの水口賢司先生と村上洋一先生（現 東京情報大学）に多大なご協力をいただきました。感謝いたします。

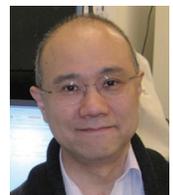
文献

- 1) Sela-Culang I, et al : Front Immunol, 4 : 302, 2013
- 2) Kringelum JV, et al : Mol Immunol, 53 : 24-34, 2013
- 3) Nguyen MN, et al : Bioinformatics, 33 : 2971-2976, 2017
- 4) Dunbar J, et al : Nucleic Acids Res, 42 : D1140-D1146, 2014
- 5) Stave JW & Lindpaintner K : J Immunol, 191 : 1428-1435, 2013
- 6) Onda M, et al : J Immunol, 177 : 8822-8834, 2006
- 7) Sela-Culang I, et al : J Immunol, 189 : 4890-4899, 2012
- 8) Lee JY, et al : Nat Commun, 7 : 13354, 2016
- 9) 「Epitope Mapping Protocols (Methods in Molecular Biology) 3rd ed. 2018 Edition」(Rockberg J & Nilvebrant J, eds), Humana Press, 2018
- 10) Abbott WM, et al : Immunology, 142 : 526-535, 2014
- 11) Bai XC, et al : Trends Biochem Sci, 40 : 49-57, 2015
- 12) Ditto NT & Brooks BD : Expert Opin Drug Discov, 11 : 925-937, 2016
- 13) Brooks BD : Curr Drug Discov Technol, 11 : 109-112, 2014
- 14) Laver WG, et al : Cell, 61 : 553-556, 1990
- 15) Rubinstein ND, et al : Mol Immunol, 45 : 3477-3489, 2008
- 16) Nagata S, et al : J Immunol Methods, 292 : 141-155, 2004
- 17) Nagata S, et al : Clin Cancer Res, 8 : 2345-2355, 2002
- 18) Nagata S, et al : J Immunol Methods, 280 : 59-72, 2003
- 19) Nagata S, et al : Proc Natl Acad Sci U S A, 102 : 7946-7951, 2005

Profile

筆頭著者プロフィール

永田諭志：1992年、東京理科大学大学院薬学研究所修士、博士（薬学）。東京大学大学院農学生命科学研究科講師を経て、'99年より米国NIH, Research Fellow, 2007年、米国Sanford Research, Associate Scientist, その後、'15年秋に帰国し現職（医薬基盤研究所創薬デザイン研究センター 抗体スクリーニングプロジェクト、サブリーダー、大阪大学薬学研究所 連携大学院、招へい教授）。研究テーマ：B細胞分化制御による抗体レパトアのマニピュレーション。



本 pdf は、著者である永田諭志先生ご自身によるサーバーへのアップロード、配布の目的にのみご利用いただけます。

以下の行為はご遠慮ください

- ・ 本 pdf の販売など、直接的な利益を得る目的での利用
- ・ 本 pdf の一部を抜粋、あるいは改変しての利用
- ・ 本 pdf の第三者による配布

書籍名：実験医学 Vol.36 No.11

使用頁：1867～1874 頁

著者名：永田諭志，伊勢知子，鎌田春彦

発行社：（株）羊土社

発行年：2018 年

© YODOSHA CO., LTD. 2018