

次世代治療・診断実現のための創薬基盤技術開発事業  
(国際競争力のある次世代抗体医薬品製造技術開発)  
研究開発中間進捗／成果概要報告書 (公開版)

令和5年8月17日

1. 公募研究開発課題名：革新的な次世代抗体医薬品製造基盤技術の開発
2. 研究開発課題名：サメ VNAR 作製プラットフォームを基盤とした次世代抗体医薬品の開発技術高度化
3. 代表機関名：国立大学法人愛媛大学
4. 研究開発代表者名：竹田 浩之
5. 所属・役職：プロテオサイエンスセンター・准教授
6. 全研究開発期間：令和3年7月1日 ～ 令和8年3月31日 (予定)

【研究開発概要】

VNAR は最小の抗体分子であり、改変自由度の高さ、高い可塑性、低コスト生産、長い CDR3 による抗原認識などの特徴を持つ。本課題では研究代表者らが開発した VNAR 作製プラットフォームおよびその成果を基盤として、次世代抗体医薬品の開発に資する革新的な技術開発に取り組む。

開発項目 1) VNAR 作製技術の高度化：抗膜タンパク質 VNAR 取得技術の確立、ナイーブライブラリの構築・検証、高機能 VNAR の選抜技術の開発。

開発項目 2) 高圧リフォールディングによる低コスト製造技術の高度化：低分子抗体やトキシンなど次世代抗体開発に資するタンパク質生産。

開発項目 3) コンジュゲーション技術の開発：祖先型設計法によりペプチド連結酵素を高機能化、コンジュゲート抗体の開発。

開発項目 4) VNAR の更なる低分子化：ミニチュア抗体の開発。開発項目 5) VNAR の免疫原性評価：VNAR の動物投与試験の実施。

【研究開発中間進捗／研究成果概要】

開発項目 1)：タンパク質抗原免疫と細胞免疫を比較し、タンパク質抗原免疫の優位性を確認した。抗膜タンパク質 VNAR を複数取得した。抗 CD16 VNAR クローン A10 は  $K_D=0.5$  nM の極めて高い親和性を示した。また、抗 EGFR VNAR クローン A20 は  $K_D=1.3$  nM の高い親和性と EGF-EGFR 間の結合阻害活性を持つことを確認した。また、 $3.6 \times 10^{10}$  サイズの VNAR ライブラリを構築し、Venus やタンパク質複合体に対する抗体の取得に成功した。

開発項目 2)：高圧リフォールディングを用いた VNAR 生産効率を従来よりも 6 倍高めることに成功した。イムノトキシンの構築に利用可能な毒素タンパク質の大量調製系を構築した。

開発項目 3)： $Ca^{2+}$ 非要求性の Sortase E をもとに、iAnglerNet 法と祖先型設計法を用いて新規酵素をデザインし、従来の SaSrtA や SavSrtE と比べて遥かに高いペプチド合成効率と酵素効率を持つ AcSE5 の開発に成功した。AcSE5 は各種アルキルアミンを求核剤として利用し、タンパク質と低分子化合物を連結する活性も持つことを見出した。

開発項目 4)：抗 Venus VNAR と Venus タンパク質の複合体構造を活用し、抗原認識能を維持する世界最小抗体を設計した。加えて in silico 進化プログラム”PeptiCraft”を用いて親和性向上変異体を設計し、VNAR の親和性を維持したまま約 2.6 kDa に小型化することに世界で初めて成功した。

開発項目 5)：VNAR のマーモセット投与試験を実施した。単量体 VNAR を投与した 1 個体で高い抗 VNAR 抗体価とリンパ節肥大を確認した。一方、VNAR-hFc、ミニチュア化 VNAR 抗体を投与した群

では抗 VNAR 抗体価の上昇やリンパ節の肥大は観察されなかった。