



- ① 一本鎖抗体 (scFv) の会合性を抑える新規リンカー技術
  - ② 抗体の熱安定性を向上させる変異体の計算機設計法
- 熊本大学 生命科学研究部(薬) ○小橋川 敬博(准教授)、森岡 弘志(教授)

### 研究の背景・目的

一本鎖抗体 (scFv) はタンデムscFvやIgG-scFvなどの二重特異性抗体の有用な部品である。しかし、scFvには2種類の凝集性があり、産業応用上の課題となっている。一つ目は、分子間のVHとVLが相互作用することで生じる会合性である。二つ目は、変性したscFvが凝集する変性凝集性である。本研究は、① scFvの会合凝集性を抑制する新規ペプチドリンカー および ② 熱安定性が向上した抗体変異体を計算機により迅速に設計する手法に関する。

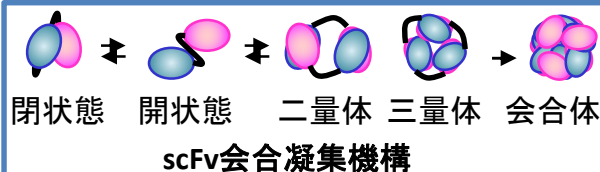
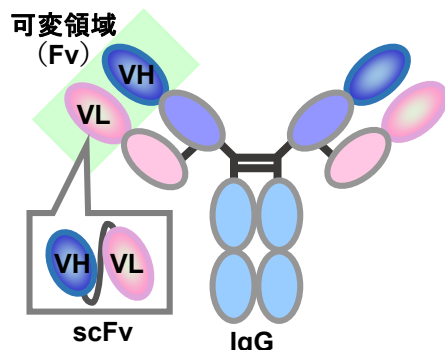
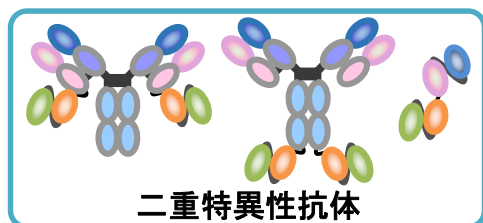
### 研究概要①

#### 一本鎖抗体 (scFv)

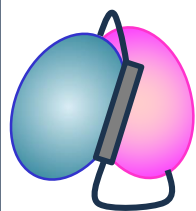
タンパク質工学的改変や細工が容易である

- ・二重特異性抗体、ADC、融合抗体など

scFvには特有の会合性があり、高度な次世代抗体の部品として利用する上で大きな課題である



#### リンカーの設計原理



フレームワーク領域のVH-VLドメインの界面領域に抗体間でアミノ酸残基の保存性が高い領域が存在



保存性が高い領域に結合するリンカーを設計することで、VH-VLドメイン間の相互作用を増強

⇒ scFvの会合性が抑制

- ・あらゆるscFvに適用可能な会合抑制法である
- ・次世代抗体医薬品の研究開発を大幅に促進・加速が期待される

### 研究概要②

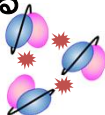
抗体医薬品にかかる様々な物理的ストレス

輸送時の温度変化  
・摩擦



高濃度調製による分子間相互作用

調製・使用時の摩擦



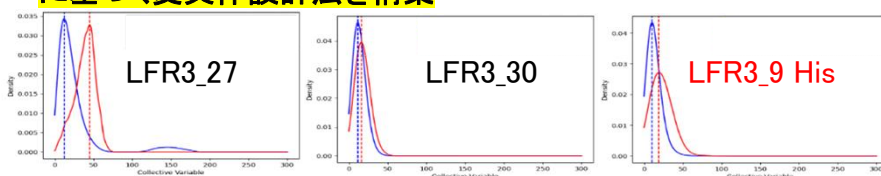
- ・抗体医薬品は熱や摩擦などの様々な物理的ストレスにより変性し、凝集体を形成する
- ・凝集体は抗原性を示すため、アレルギー反応や抗薬物抗体産生の原因となる

変性を抑制した、熱安定性の高い抗体の設計が求められている

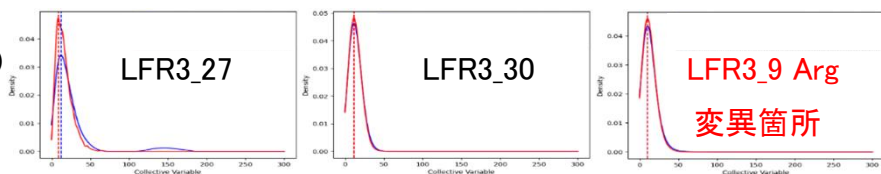
## 研究概要② 続き

計算化学的手法(分子動力学法)とデータサイエンス  
に基づく変異体設計法を構築

抗体A(野生型)  
( $T_m$  (°C): 61.2 +/- 0.5)



抗体A(安定化変異体)  
( $T_m$  (°C): 67.0 +/- 0.6)



医療抗体共通した動的  
構造特性を抽出

動的構造特性を比較  
外れた領域を特定

分子動力学計算による  
変異候補の評価

変異体調製  
物理化学的評価

一度準備すればあらゆる  
抗体に利用可能

3~5変異体で1週間程度

3~5変異体で  
2ヶ月程度

## 本研究のアピールポイント

## ① 新規リンカー技術のアピールポイント

- ・新規リンカーは通常のscFvの会合性を抑制することが可能であるため、融合抗体の作製が原理的に可能である。そのため、Fc融合やアルブミン融合を利用可能であり、体内動態の改善が原理的に可能である。また、Fcおよびアルブミンはアフィニティークロマトグラフィーによる生産法が確立されており、それらの技術の適用が可能となる。
- ・特許が切れた抗体や既存の抗体をもとに新規リンカーを導入したscFvを作製することが可能であり、その際は、新たに動物を免疫したり抗体のクローニングや配列決定を行う必要がない。
- ・一本鎖の低分子抗体であり、分子間のSS結合等をもたない単純な分子であるため、セルフリータンパク質合成系による作製が原理的に可能である。そのため、多数の抗体クローンを取ることが可能であり、迅速性が高い。

## ② 熱安定性が高い抗体の計算機設計法

- ・分子動力学計算は1抗体について100ns × 3回 = Total 300ns である。必要な計算リソースは比較的少ない。(GeForce RTX-4090搭載のラボPCで12時間程度)
- ・事前準備の際にはリソースを比較的多く使うが、事前準備により取得したパラメータは他の抗体でも共通して利用できるため、一度行えばよい。分子動力学計算の条件を統一すれば、事前準備したパラメータセットを提供することで、自社の抗体にすぐに適用できる。
- ・立体構造情報がない抗体への適用についても検討中である。

## 知的財産権・論文など

1. 特願2023-171543、ポリペプチドの会合体形成抑制方法、国立大学法人熊本大学
2. 特願2023-195471、抗体動的構造特性分析装置、抗体動的構造特性分析方法及びプログラム、国立大学法人熊本大学

## 研究分野・キーワード

構造生物学、計算化学、分子動力学、データサイエンス、抗体工学、タンパク質工学、医療抗体、リンカー、de novo デザイン、熱安定性、会合性、凝集性、物性、二重特異性抗体、抗体薬物複合体