

研究成果展開事業 研究成果最適展開支援プログラム
FS ステージ シーズ顕在化タイプ 事後評価報告書

研究開発課題名	: 水素重水素交換質量分析(H/DX-MS)による抗体のエピトープマッピング法の開発
プロジェクトリーダー	: (株)ユー・メディコ
所属機関	
研究責任者	: 内山進(大阪大学)

1. 研究開発の目的

抗体医薬は2011年度の医薬品売り上げトップ10の半数を占める。抗体が結合する抗原の特定部位はエピトープと呼ばれ、8残基程度のアミノ酸で構成される。現状抗体医薬の開発過程において、有効なエピトープ決定法は存在しないと認識されている。一方で、エピトープと活性には相関がある場合が多く、従って、開発早期のエピトープ決定が強く望まれている。H/DX-MS法は、研究責任者らが技術開発を行ってきた手法でタンパク質同士の相互作用部位の決定に有効である。医薬産業の発展に貢献すべく、専用のカラム開発を含めたH/DX-MSによるエピトープ決定法確立を目標とする。

2. 研究開発の概要

①成果

H/DX-MSに適したペプシン固定カラムの創出を目的とし、モノリス樹脂へのペプシンの固定化法の検討、固定化量の最適化を行った後、その樹脂を使用してカラムの作製を行った。その結果、従来品を上回る性能をもつペプシンカラムの作製に成功した。その一方で、迅速で確実なH/DX-MSによるエピトープ決定法の確立を目標とし、株式会社ユー・メディコでプロトコル化およびオートメーション化を行い、成功した。これらの成功により、製薬企業からのニーズに対して迅速に応えられる体制の構築が可能となった。

研究開発目標	達成度
①H/DX-MS用ペプシン固定化モノリスカラムの創出	①従来品を上回る性能をもつペプシンカラムの作製に成功した。
②抗体-抗原混合物のペプシンカラムによる切断条件の最適化	②プロトコル化およびオートメーション化を行い、成功した。
③各切断ペプチドのLC(液体クロマトグラフィー)-MSおよびMS/MS測定条件の最適化	③各条件等を最適化することで、蛋白質のほぼ全範囲をカバーするペプチドの検出に成功した。
④重水素置換のタイムコースの迅速かつ確実な解析方法の開発	④抗原-抗体混合物に対してH/DX-MSを行うことで、エピトープの決定に成功し、オートメーション測定にも成功した。

②今後の展開

非常に有用なペプシン固定化モノリス樹脂の開発、カラム化には成功しており、商品化に向けたよりよいカラムにするためのブラッシュアップを目指す。具体的にはパッキングを行う際の流速、カラムへのモノリス樹脂の充填率を変化させ、再現性の良い条件をHDX-MSシステムを使用することで見出す。その後、実際にエピトープマッピングに使用し、従来品との結果比較を行う。現在のところ、従来品より

も多くのペプチド数が得られており、より多くの情報をもたらすことは確実であると考えられる。

3. 総合所見

目標通りの成果が得られ、イノベーション創出が期待される。最終目標である、HDX-MS によるエピトープマッピングの標準プロトコルの確立とオートメーション化に成功している。社会的にもニーズ性の高い技術の開発研究であり、抗体医薬の開発研究などその波及効果は大きい。

以上