

研究成果最適展開支援プログラム (A-STEP) FS ステージ (シーズ顕在化) 事後評価報告書

プロジェクトリーダー (企業責任者) : 協和発酵キリン (株)

研究責任者 : 京都大学 小林 拓也

研究開発課題名 : オレキシン2受容体の活性型構造の解明を目的とした立体構造認識抗体の創出

1. 研究開発の目的

最近G蛋白質共役型受容体(GPCR)の立体構造解析が可能になり、立体構造をベースにした薬剤の合理的デザインが現実的になってきた。しかし、これまでに結晶構造解析されたGPCRは、いずれも先に高親和性の薬剤が取得されていたものであり、創薬への応用はまさにこれからである。我々は、ナルコレプシーの治療薬として期待されるオレキシン2受容体(OX2R)アゴニストを効率的に取得するために、まだ薬剤がない段階で、OX2Rの活性型構造(アゴニストが結合する構造)の解析にチャレンジする。本研究(1年間)では、OX2Rの活性型構造の解明に必要な最初の重要なステップとして、①本来の構造を維持した状態でのOX2Rの大量生産と高純度精製、および②結晶構造解析に有用なOX2Rの立体構造を認識する抗体の取得を目指した。

2. 研究開発の概要

①成果

OX2Rの高発現系と高純度精製系を開発し、結晶化リガンドとして使用可能な立体構造認識抗体を作製することを目指した。出芽酵母を用いて高発現可能なOX2R変異体を造成し、メタノール資化酵母を用いて大量生産した。その結果、OX2Rの大量生産(10 mg/L以上)に成功した。次いで精製したOX2Rをリポソームに再構築し、抗原としてマウスに免疫した。200種類以上のハイブリドーマを作製し、リポソームELISAで陽性、かつ変性ドットブロット法で陰性の抗体を選別した。その結果、OX2Rの立体構造を認識して結合する抗体を10種類以上取得できた。OX2Rの生産量、立体構造認識抗体取得数、いずれも当初の設定目標を越えることができた。(全研究開発実施期間 1年間)

②今後の展開

本研究により、OX2Rの不活性型構造の解析に必要な材料は整った。今後、不活性型構造を解き、活性型構造のシミュレーションを行いたい。活性型構造を安定化する立体構造認識抗体の取得には至らなかったが、今回確立した技術を活かし、新たな工夫を加えて、活性型構造を安定化する立体構造認識抗体を取得したい。次いで、本抗体を利用して、OX2Rの活性型構造を直接解きたい。上記二つのアプローチにより、構造に指南された高親和性アゴニストのデザインを可能にしたい。

3. 総合所見

一定の成果が得られており、イノベーション創出が期待される。

製品化に向けて更に検討を重ねるための基礎データは得られており、その意義は大きい。しかしながら、高親和性アゴニストのデザイン・開発に到るには更なる研究が必要である。