

2023 年度年次報告書
生命現象と機能性物質
2022 年度採択研究代表者

松長 遼

東京大学 大学院工学系研究科
助教

特異的分子認識場のデータ駆動型設計

研究成果の概要

2022 年度に確立したハイスループット分子間相互作用解析システム BreviA を用いて、抗体の種間交差性制御を目指した研究を実施した。具体的には、抗ヒト PD-1 抗体のトリパリマブをモデルとして、ヒト PD-1 に対する親和性を維持しつつ、マウス PD-1 に対する親和性を向上させることを目指した。トリパリマブの相補性決定領域(CDR)のすべての残基をアラニンもしくはチロシンに変異させた単変異体ライブラリを作製し、BreviA でヒト PD-1 およびマウス PD-1 との網羅的相互作用解析を行った。その結果、ヒト PD-1 やマウス PD-1 との相互作用に必須の残基が同定され、さらに L 鎖の 99-101 番残基の変異によりマウス PD-1 への親和性が向上することがわかった。そこで、L 鎖 99-101 番残基を他のアミノ酸(システインを除く 18 種類)に変えた単変異体ライブラリを作製し、再度 BreviA を行った。その結果、マウス PD-1 に対する親和性がさまざまな変異体で得られ、そのなかでも 2 つの変異体(L.V99G, L.P100H)では、ヒト PD-1 への親和性を維持しつつ、マウス PD-1 への親和性が約 100 倍向上した。以上の成果をもって、BreviA によるデータ駆動型抗体設計の有用性を示し、本成果を論文発表するとともにプレスリリースを行った。

さらに、BreviA の課題であった遺伝子解析方法の改良に取り組んだ。従来は、96 ウェルプレートで培養したプレビバチルス培養液からプラスミドを抽出し、サンガーシーケンスによって抗体の遺伝子配列解析を行ってきたが、高作業負荷かつ高コストのため、ハイスループット化の障害となっていた。そこで、ダイレクト PCR によりバーコード化した DNA 断片をナノポアシーケンサーで解析する手法を確立し、同時に 1152 サンプルの正確な遺伝子解析が可能となった。

【代表的な原著論文情報】

- 1) Matsunaga, R. Ujiie, K. Inagaki, M. Fernández Pérez, J. Yasuda, Y. Mimasu, S. Soga, S. Tsumoto, K. High-throughput analysis system of interaction kinetics for data-driven antibody design. *Sci. Rep.* **13**, 19417, (2023)