

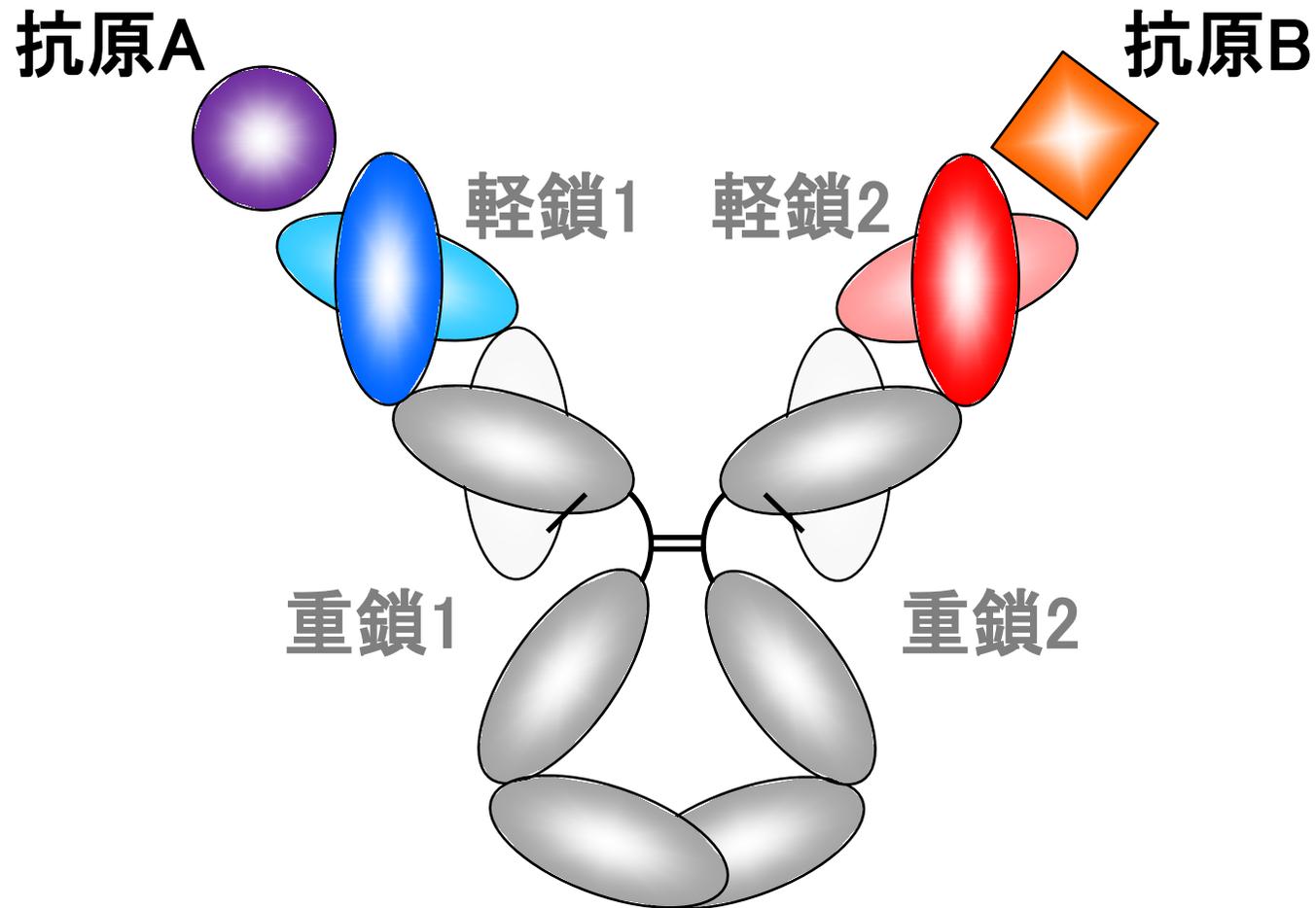
IgG型二重特異性抗体の 新規デザイン

大阪市立大学大学院
工学研究科化学生物系専攻
准教授 中西 猛

令和2年11月10日

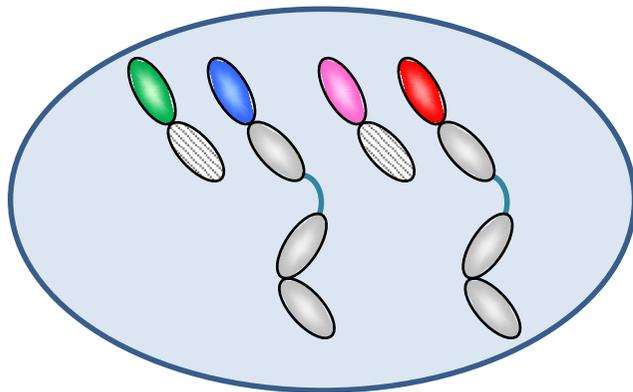


二重特異性抗体

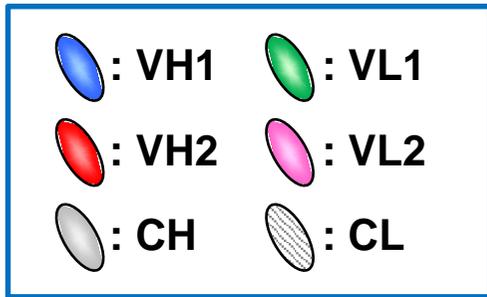
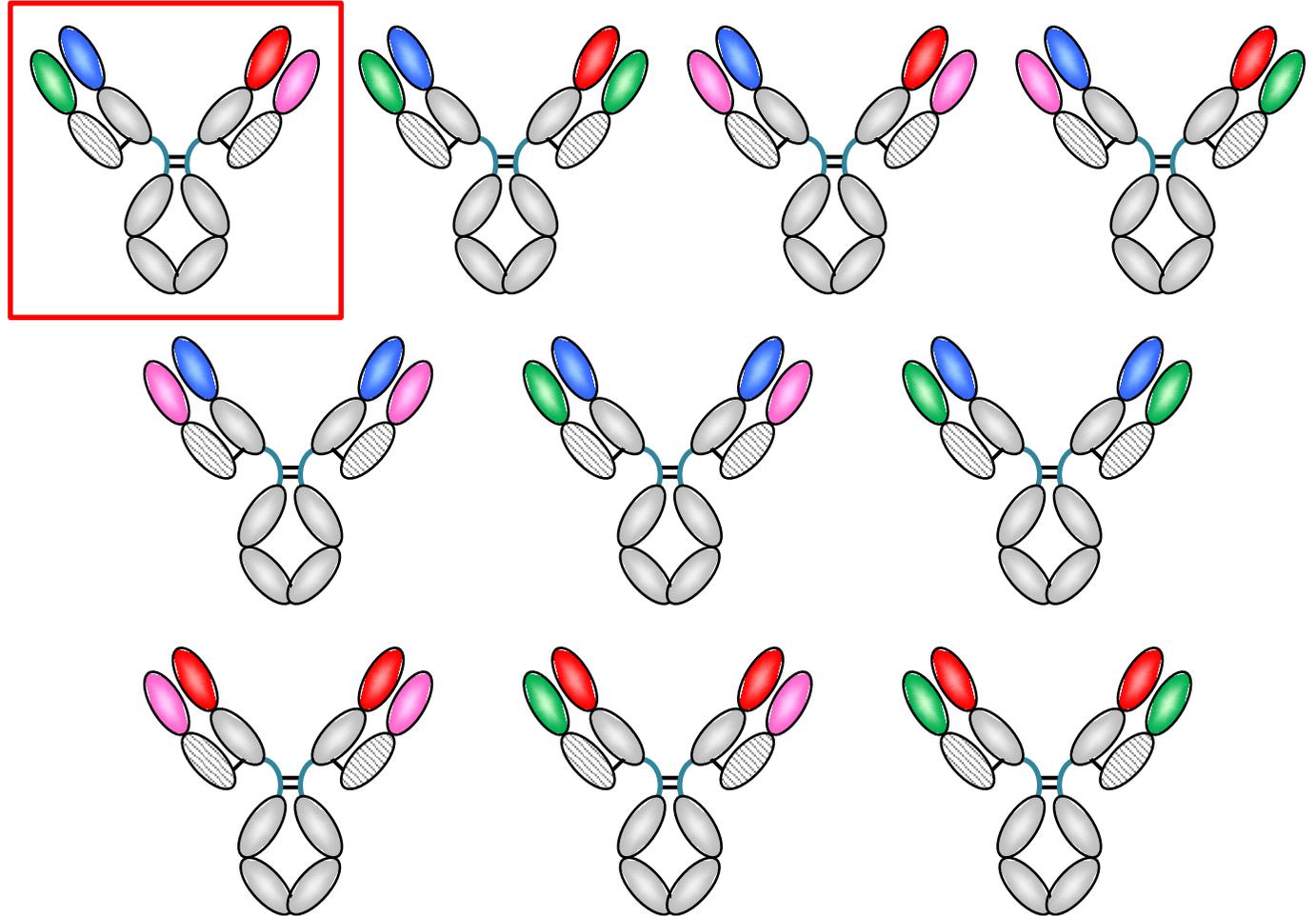


2種類の抗体を組み合わせて
2つの異なる抗原特異性を賦与した抗体

IgG型二重特異性抗体製造における課題



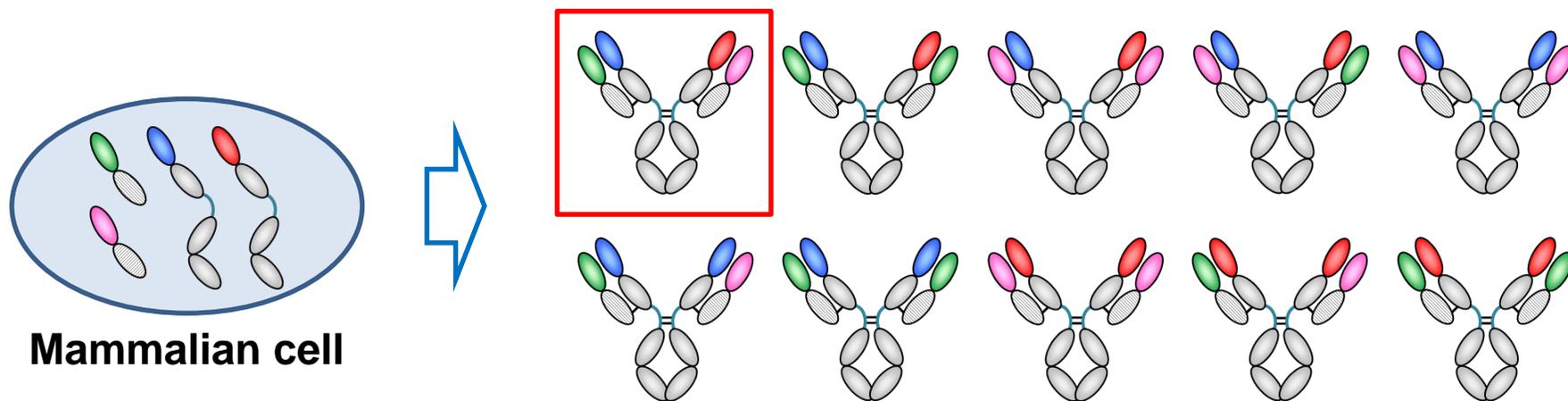
Mammalian cell



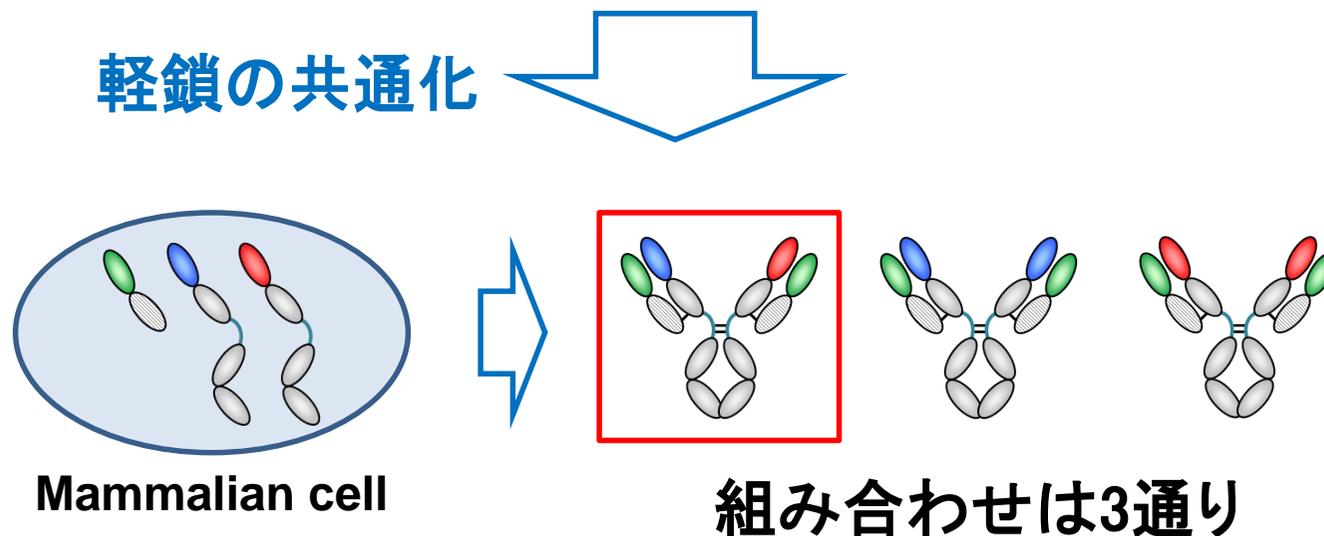
組み合わせは10通り存在し、二重特異性抗体の収率は12.5%

⇒ 収率を向上させるとともに高純度に精製する技術が必要

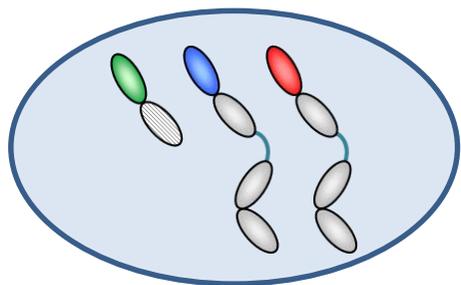
IgG型二重特異性抗体における軽鎖の共通化



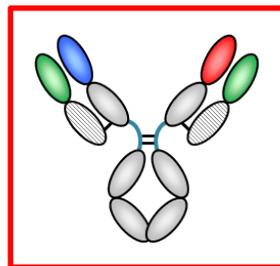
軽鎖の共通化



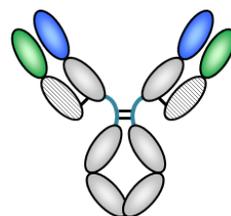
IgG型二重特異性抗体の収率をさらに向上させる技術



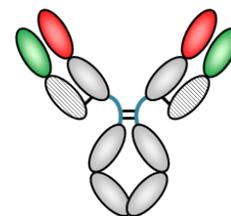
Mammalian cell



50%

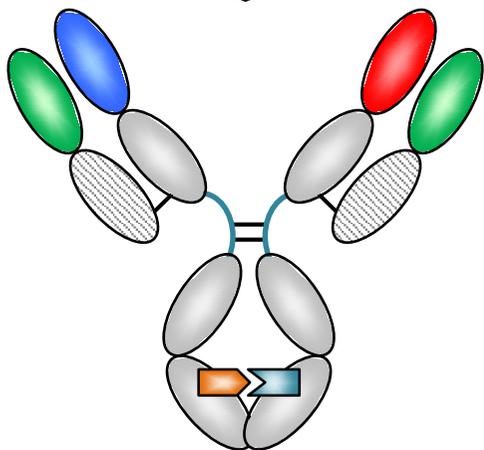
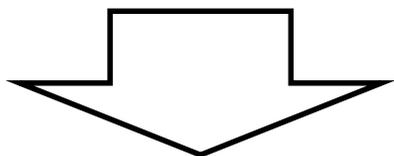


25%



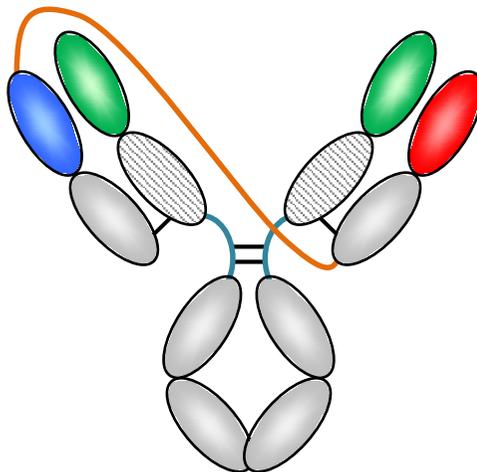
25%

従来のアプローチ: 重鎖のヘテロ会合



ヘテロ会合抗体の収率 (~95%)
⇒ 僅かながらホモ会合抗体が存在

本技術のアプローチ: 重鎖可変領域の連結



2種類のポリペプチド鎖から構成



重鎖のヘテロ会合は不必要

2種類のポリペプチド鎖から成るIgG型二重特異性抗体 Trimeric bispecific Monoclonal antibody Common Light Chain (TribesMab CLC)

✓ 3本のポリペプチド鎖から成る

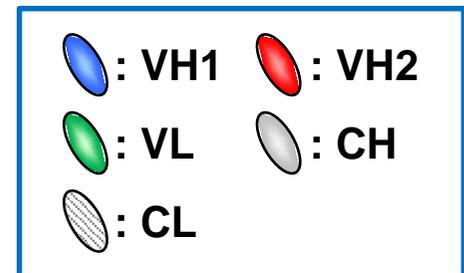
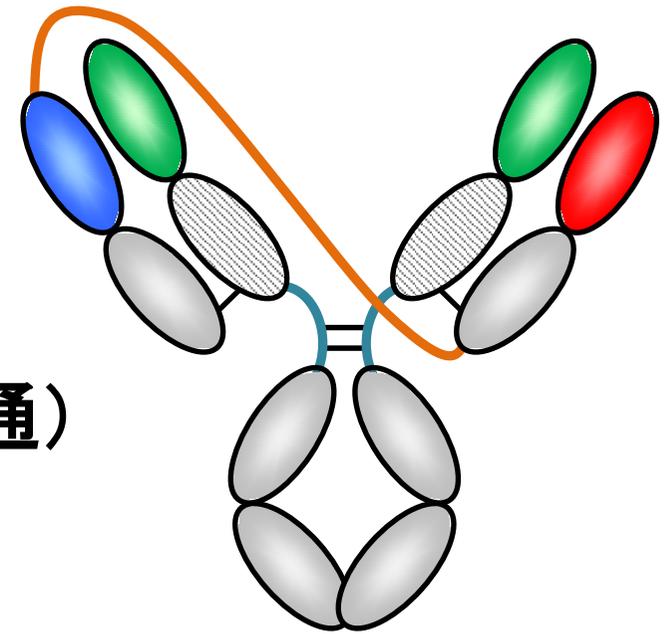
IgG型二重特異性抗体

✓ 2種類のポリペプチド鎖から構成(軽鎖共通)

✓ IgGと類似の分子量(150 kDa)

✓ Fcのエフェクター機能(ADCC, CDC)

✓ IgGと類似の特性(優れた血中滞留性)



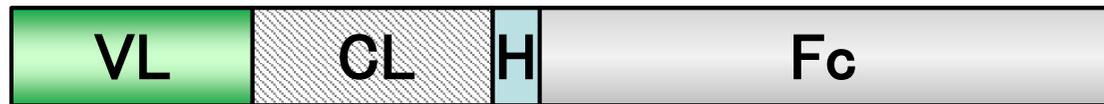
HER2/HER3 TribsMab CLC

MCLA-128の可変領域 [Geuijen *et al.*, *Cancer Cell* 33, 922–936 (2018)] を使用

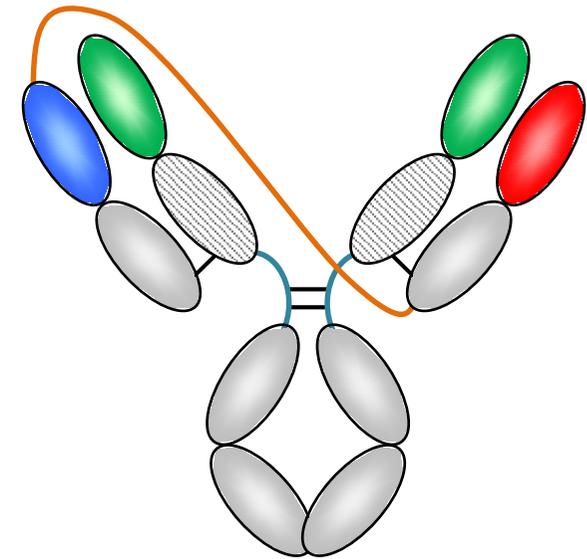
(A鎖) Fd1-Fd2



(B鎖) LC-Fc



H, hinge region; L, polypeptide linker



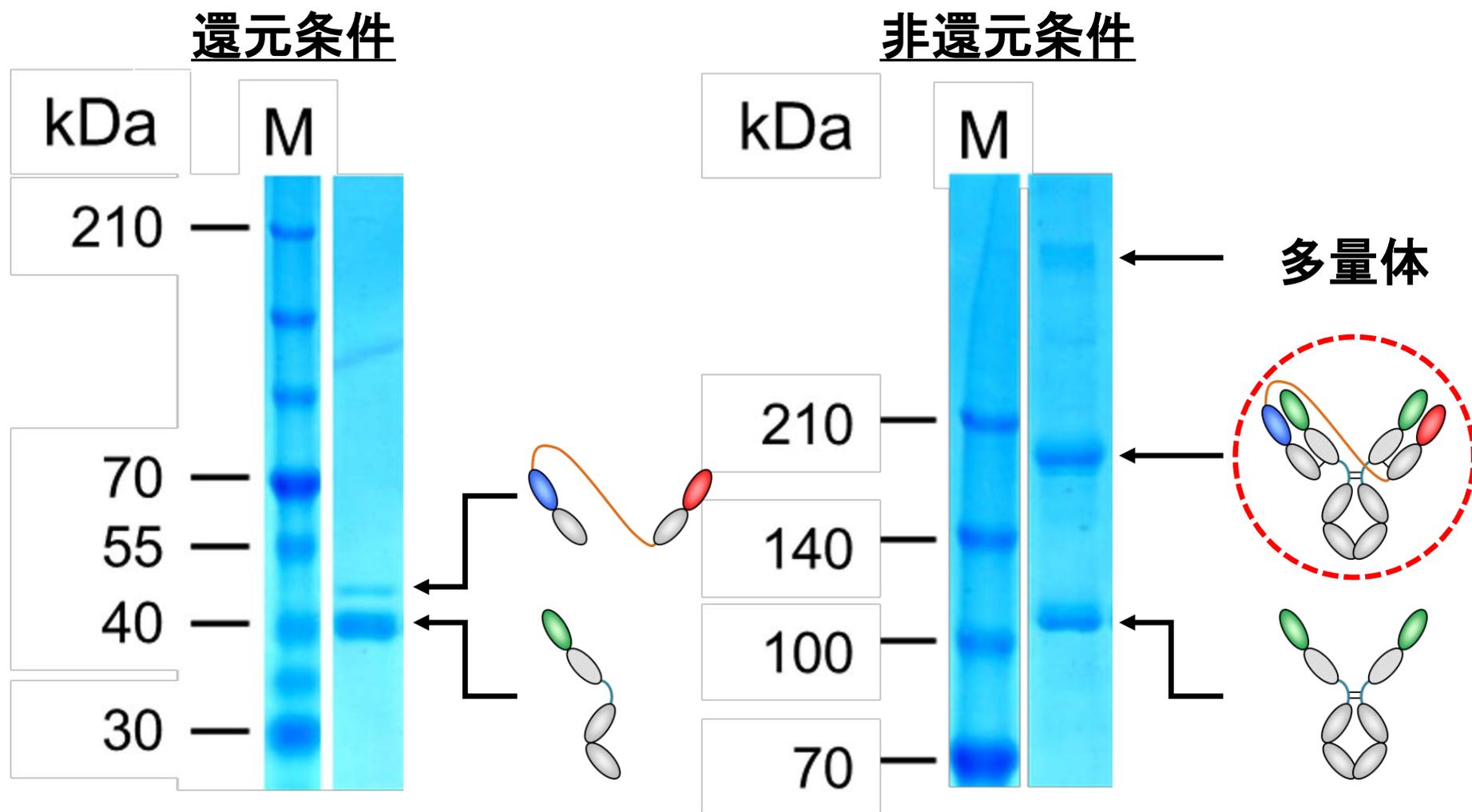
TribsMab CLC

動物細胞により発現



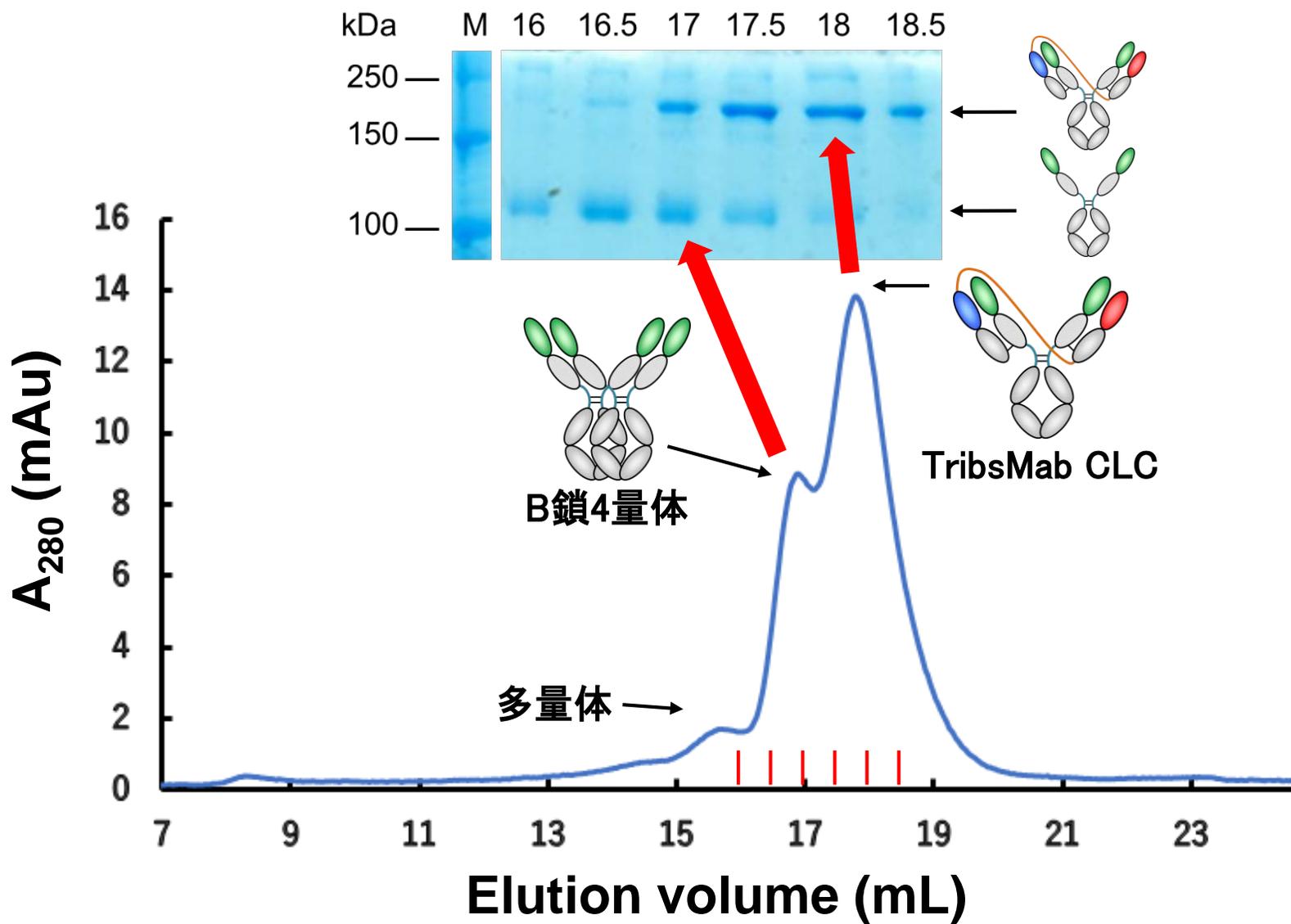
プロテインA担体を用いて精製

SDS-PAGEによる生成物の分析



目的のヘテロ3量体とともにホモ2量体も存在

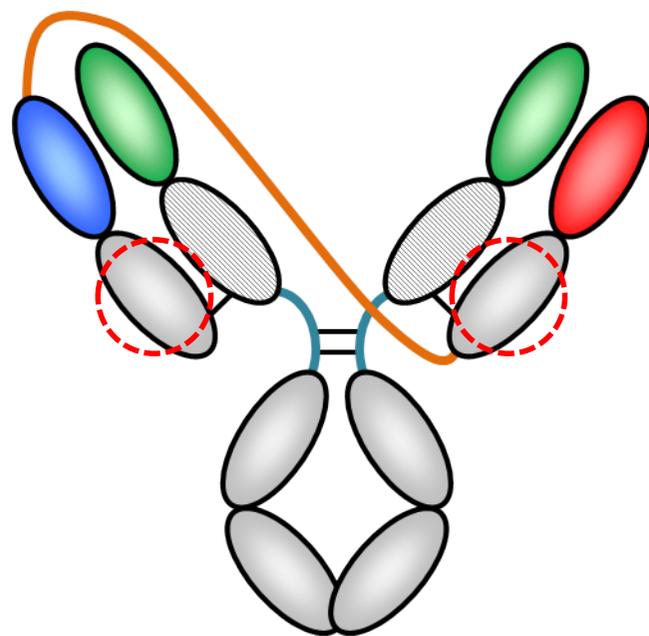
ゲルろ過による生成物の分析



主要な副生成物はB鎖4量体

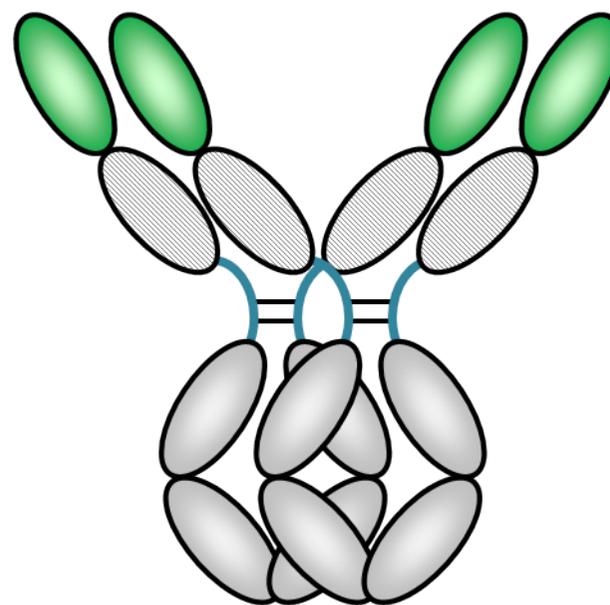
TribsMab CLC とB鎖4量体の分離

CH1ドメインを**含む**



TribsMab CLC

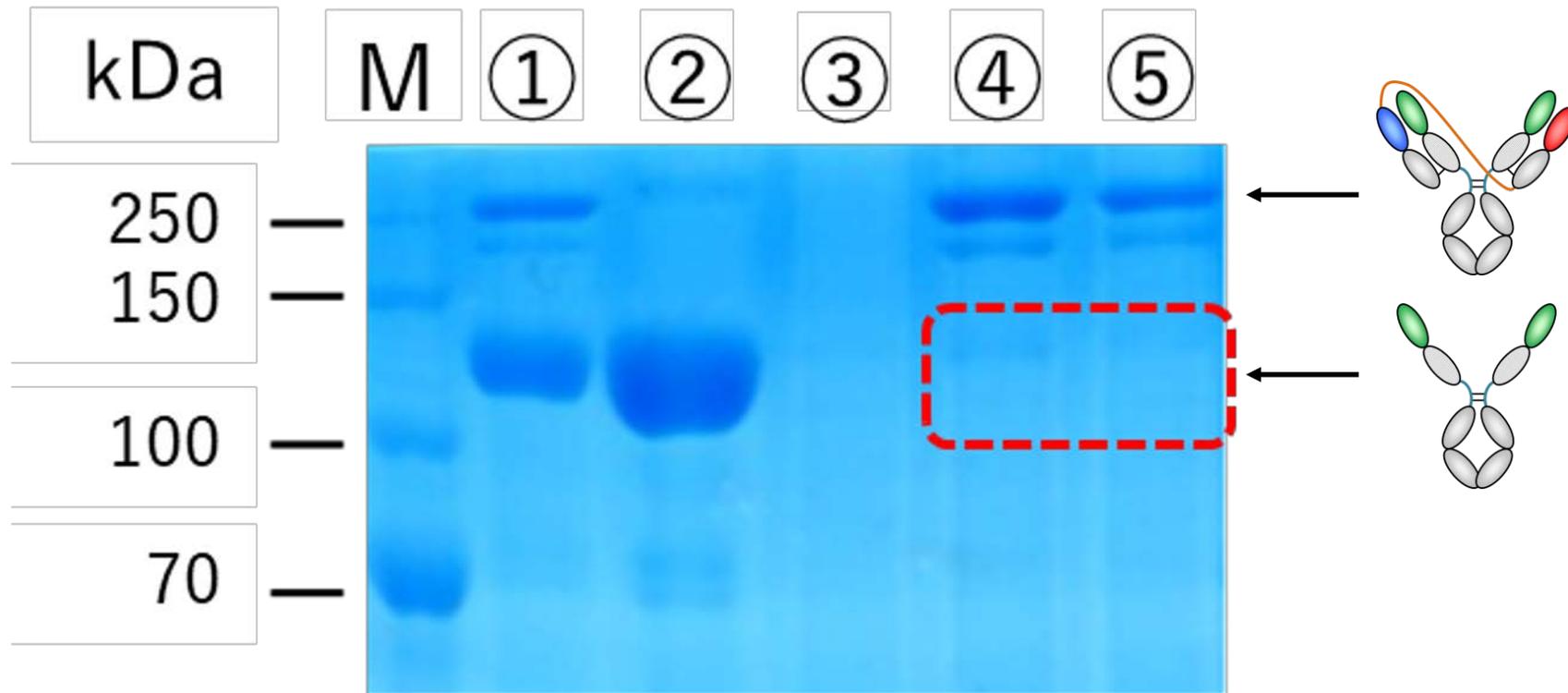
CH1ドメインを**含まない**



B鎖4量体

IgG-CH1特異的担体の利用

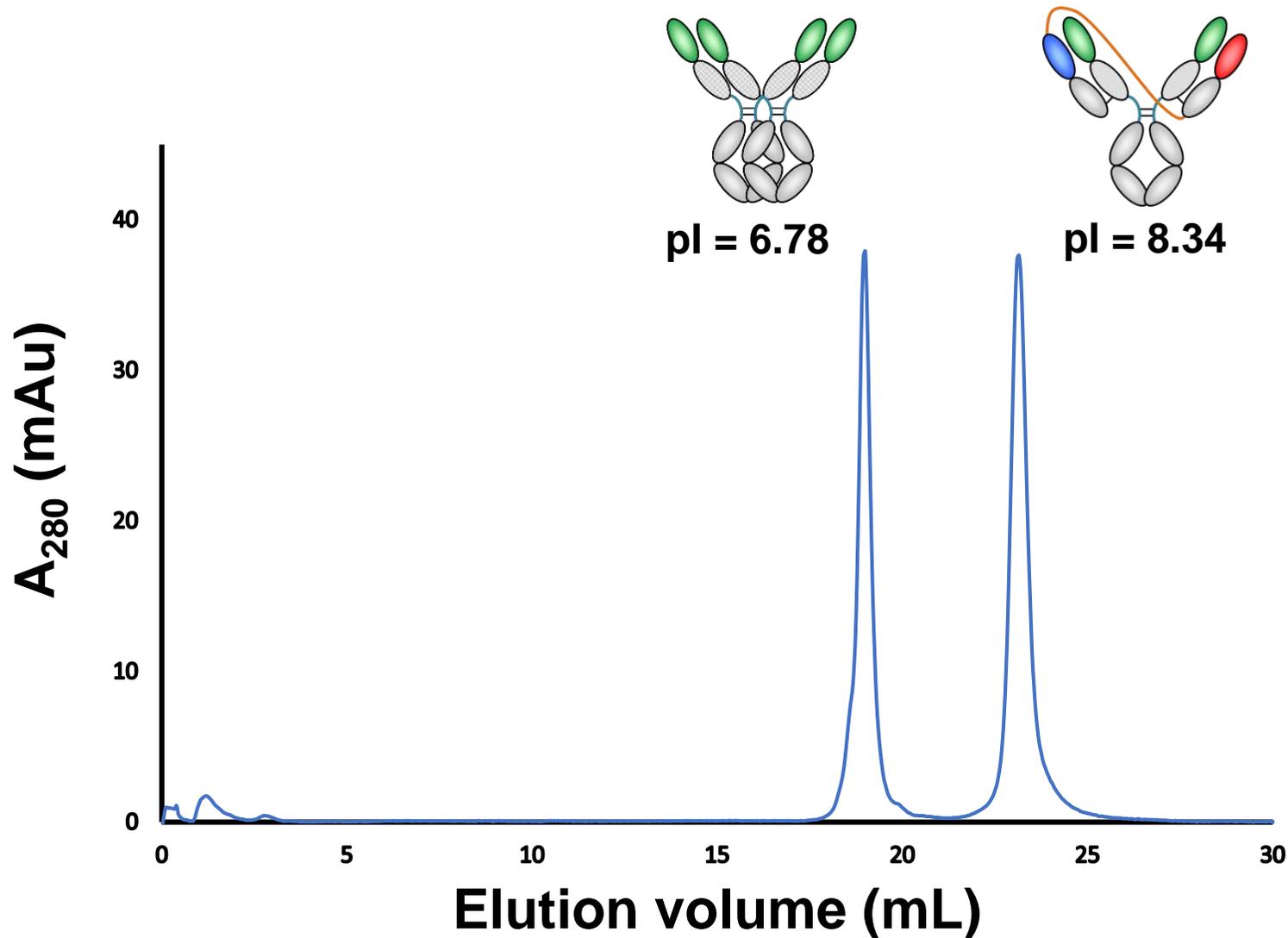
IgG-CH1特異的担体を用いた精製



M : マーカー ③ : 洗浄画分
 ① : 抗体溶液 ④ : 溶出画分 1
 ② : 素通り画分 ⑤ : 溶出画分 2

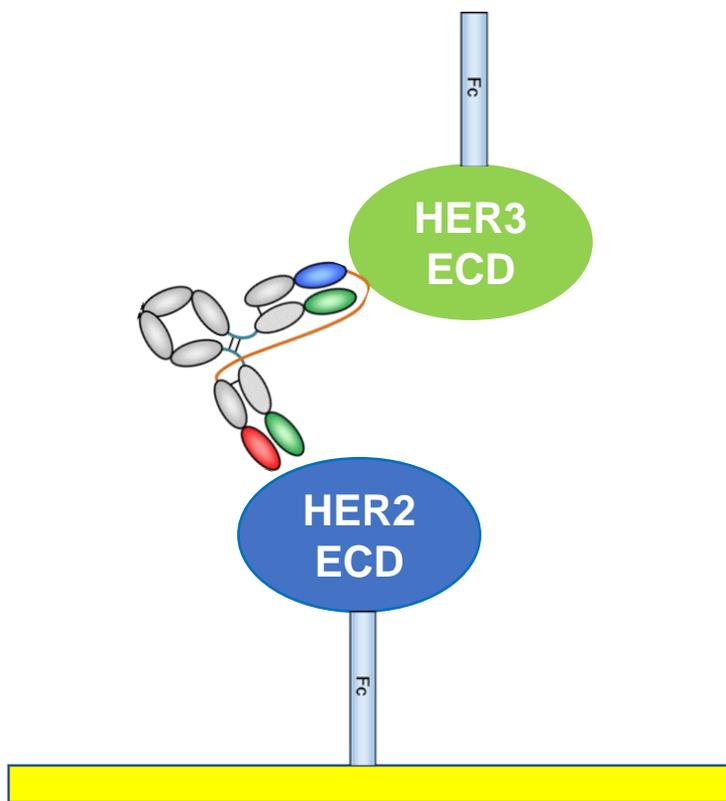
TribsMab CLCとB鎖4量体を分離可能

陽イオン交換クロマトグラフィーによるB鎖4量体の分離

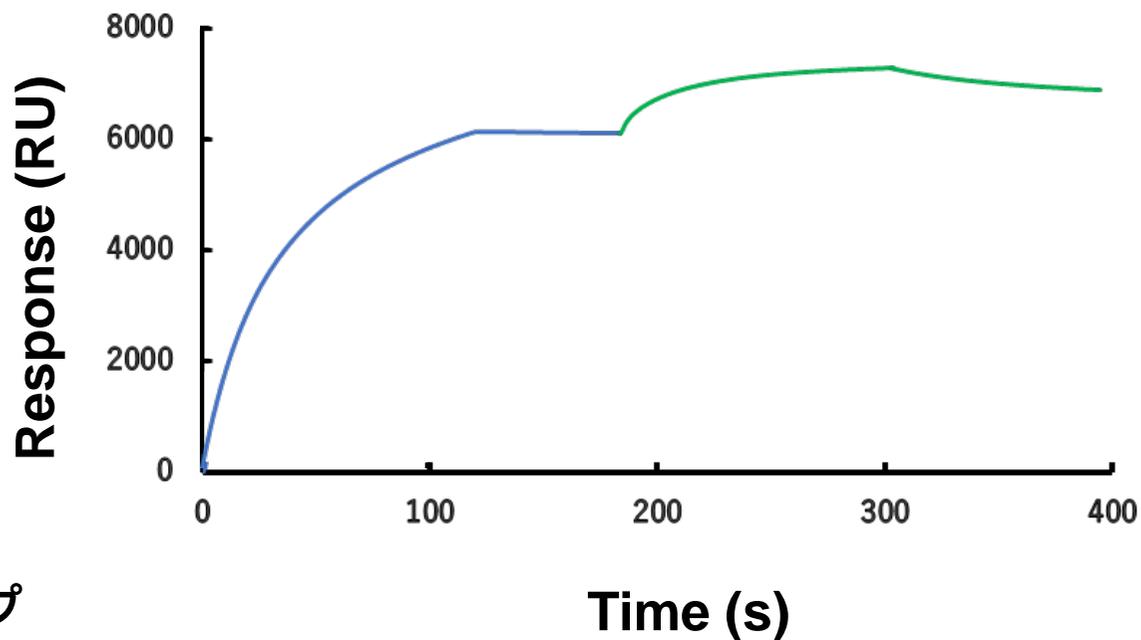


TribsMab CLCとB鎖4量体を分離可能

表面プラズモン共鳴法による二重特異性の評価



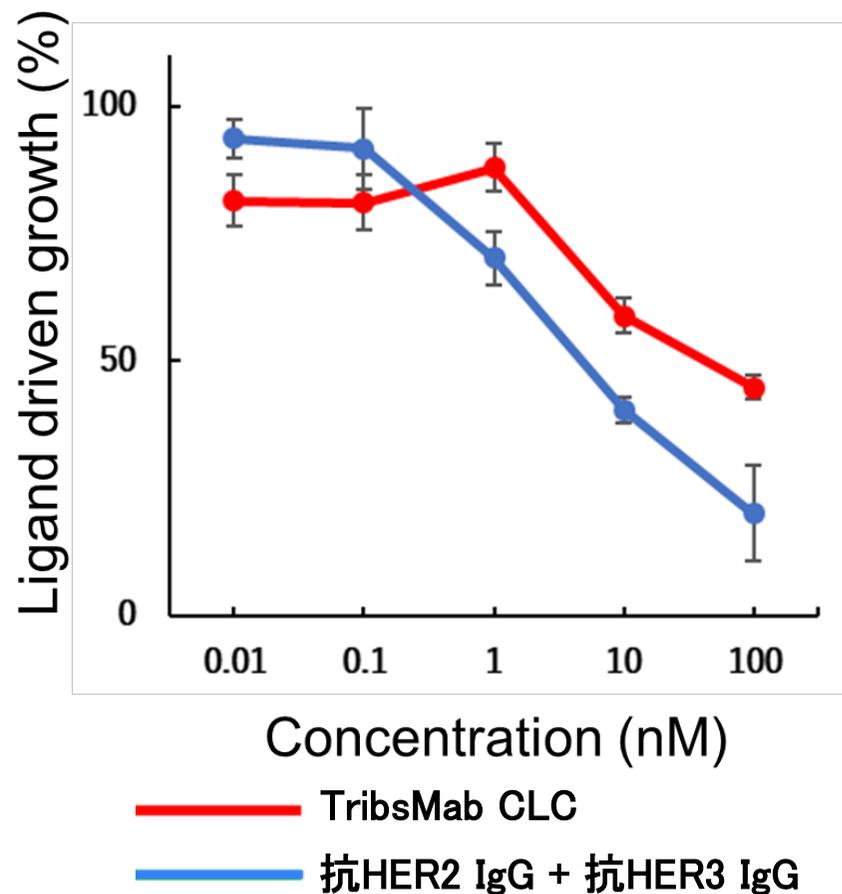
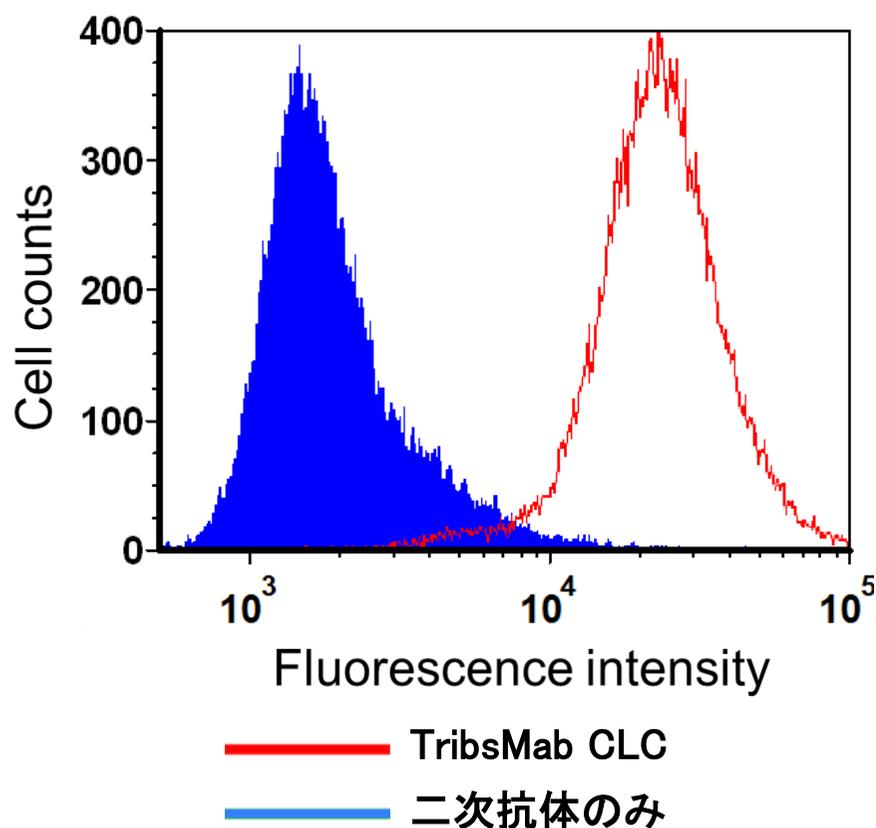
HER2-ECD-Fcを固定化したセンサーチップ



TribsMab CLCは二重特異性を示した

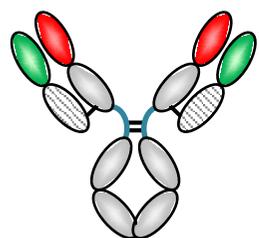
結合活性および増殖阻害活性の評価

ヒト乳がん細胞株(MCF-7)を用いて評価

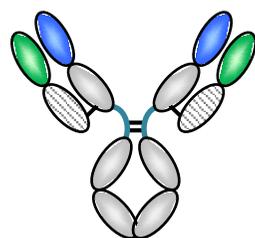


MCF-7に対する結合活性および増殖阻害活性を示した

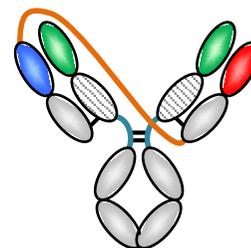
示差走査蛍光法による熱安定性の評価



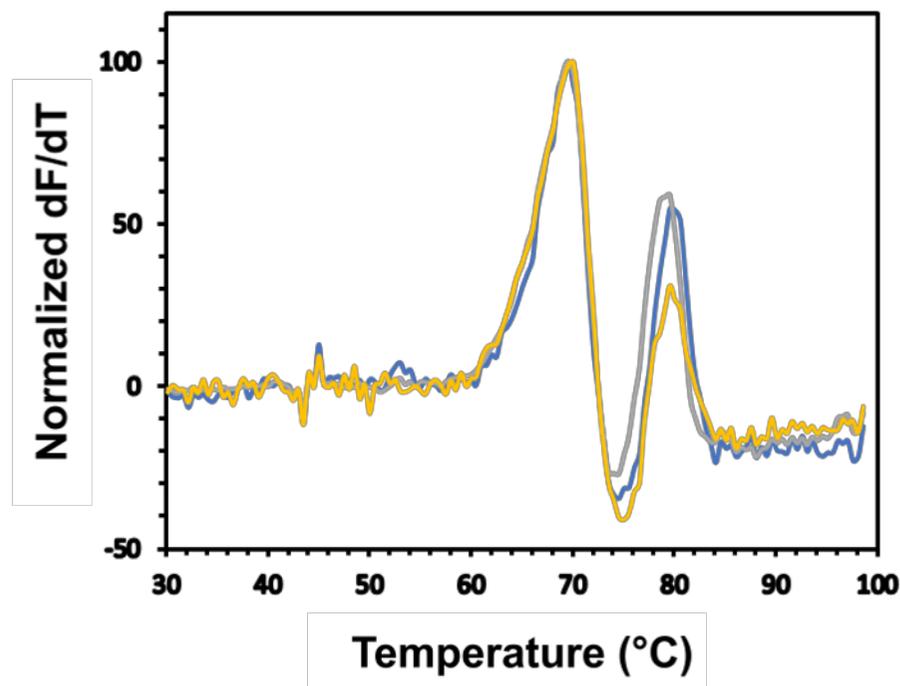
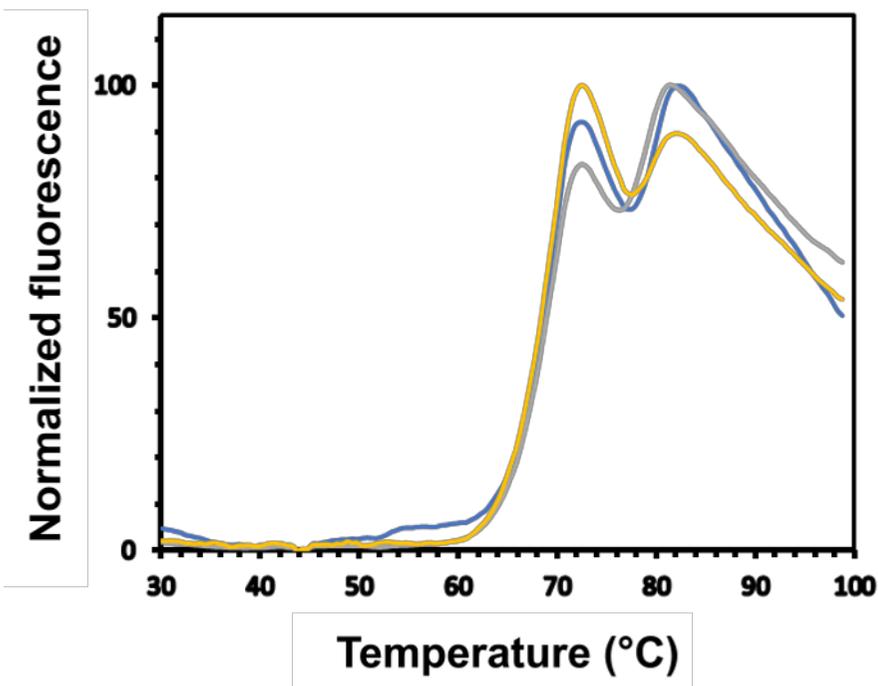
— 抗HER2 IgG



— 抗HER3 IgG



— TribsMab CLC



親抗体のIgGと同等の熱安定性を示した

想定される用途

- 治療用抗体の開発
- 診断用抗体の開発
- 研究試薬用抗体の開発

実用化に向けた課題

- 副生成物を減らすために発現条件の最適化が必要である。
- 上記以外にも構造の最適化によって、副生成物を減らすことができると考えている。
- 実験動物を用いた各種試験を実施する必要がある。

企業への期待

- **二重特異性抗体を利用した治療薬開発に興味のある企業との共同研究を希望する。**
- **二重特異性抗体医薬品の品質を高めるために本技術は有効であると考えている。**

本技術に関する知的財産権

- ・ 発明の名称 : 多重特異性抗体及びその製造方法
- ・ 出願番号 : 特願2020-063869
- ・ 出願人 : 公立大学法人大阪
- ・ 発明者 : 中西 猛, 北村昌也, 立花太郎

お問い合わせ先

大阪市立大学

URAセンター 関山 泰司

TEL 06 — 6605 — 3550

FAX 06 — 6605 — 2058

e-mail ura@ado.osaka-cu.ac.jp