

DNAアプタマーによりバイオ医薬 分析を汎用化・高性能化する

静岡県立大学 薬学部 薬学科

教授 轟木 堅一郎

2025年10月28日

従来技術とその問題点

バイオアナリシス（生体試料分析）

- LBA（ELISA、ECL、Gyrolab等）
重要試薬（抗体）の品質、管理、ロット間差による影響大
- LC-MS/MS、LC-HRMS
実施場所が限定、煩雑な前処理、精度管理維持、スループット

プロセスアナリシス（製造工程管理、品質保証）

- HPLC（HIC、IEX等）、ELISA（結合能評価）
即時性やスループット（HPLC）、重要試薬（ELISA）

従来の抗体医薬バイオアナリシスの概要とPros & Cons

リガンド結合法 (LBA)

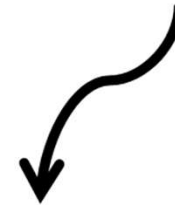
- 前臨床段階での薬物動態試験はほぼコレ
- キット化されていれば多くの機関で実施可能



- 開発に時間がかかる
- 良質かつ均一な抗体の作製
- 交差反応, マトリックス効果
- 同質の抗体を長期にわたり確保する必要性

トリプシン消化-LC-MS/MS

- 近年, その開発が盛んに
- MRM検出により, 高感度な分析が可能



- 高感度なLC-MS/MSが必要
- 長時間のトリプシン消化処理
- 消化後の脱塩・精製が必要
- 精度管理の重要性

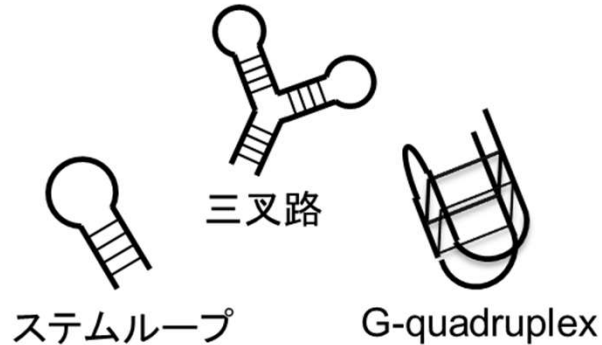
特に抗体ベースの分析法においては、重要視薬である
抗抗体の性能、均質性、保存安定性、長期安定受給が重要

新技術の特徴・従来技術との比較

- 抗体医薬や抗体薬物複合体と特異的かつ高い親和性で結合する
DNAアプタマーを開発した。
- 抗抗体と比べDNAアプタマーは安価に化学合成でき、均質かつ安定なものをどこでも長期間にわたって入手可能である。
- 重要試薬のロット間差や管理、保存状態の違い、実施機関の違い
によらないバイオ・プロセス分析が汎用機器で実施可能となる。

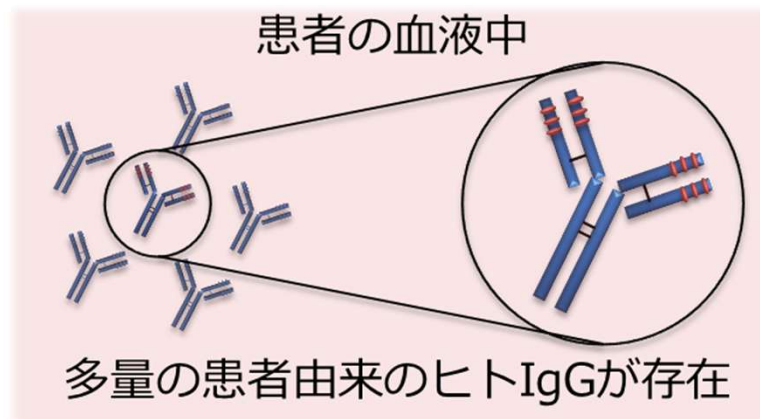
我々の解決策：DNAアプタマーを分子認識素子とする分析法

DNAアプタマー：標的に選択的に結合する核酸リガンド



- ✓ 核酸のため化学合成・修飾が容易
- ✓ *in vitro*でセレクション可能
- ✓ 熱に強いいため常温保存可能
- ✓ 親和性の改良が容易
- ✓ 配列さえ分かれば世界中で均質なものを入手可能

抗体医薬分析におけるアプタマーの利用：患者血液中IgGと抗体医薬品を識別可能

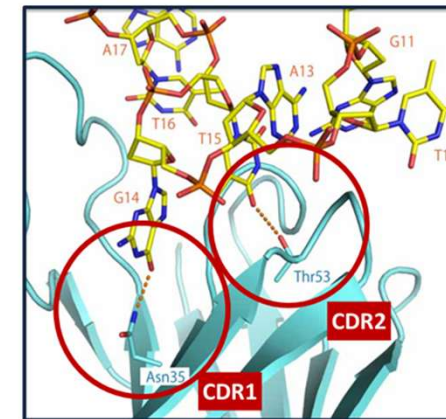
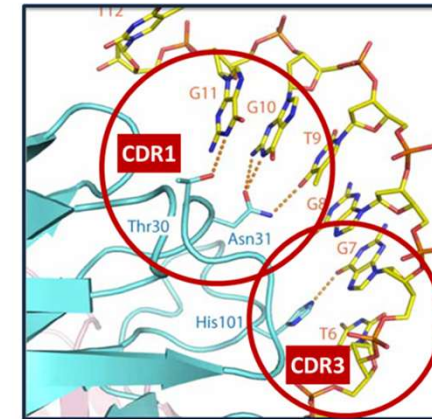
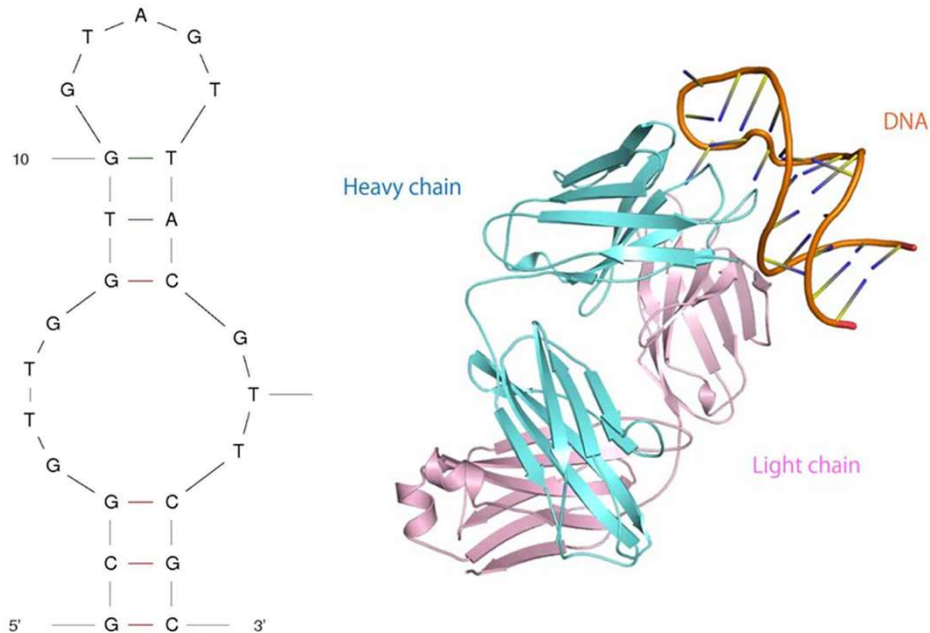


モノクローナル抗体の抗原結合部位（CDR）を認識する
抗イディオタイプアプタマーの獲得とバイオアナリシスへの利用

ベバシズマブに対する抗イディオタイプDNAアプタマー

ベバシズマブに対する解離定数

$$K_D = 130 \text{ nM}$$



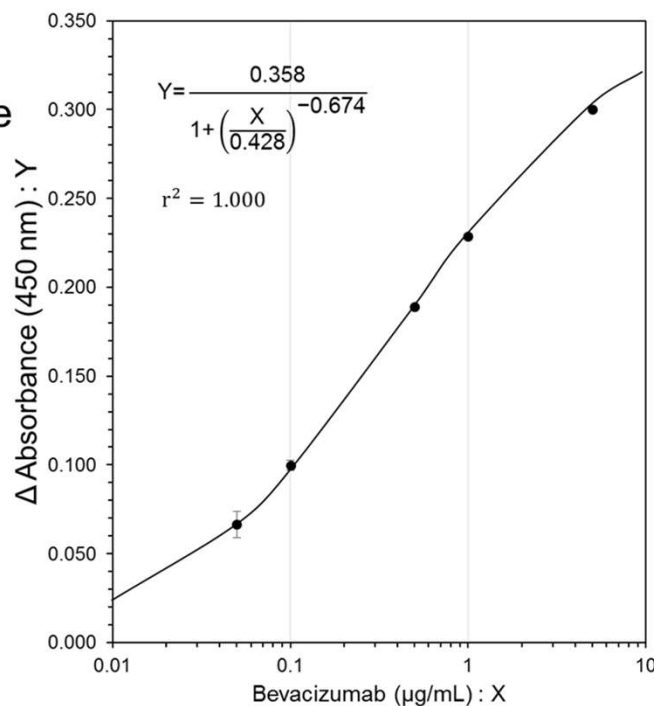
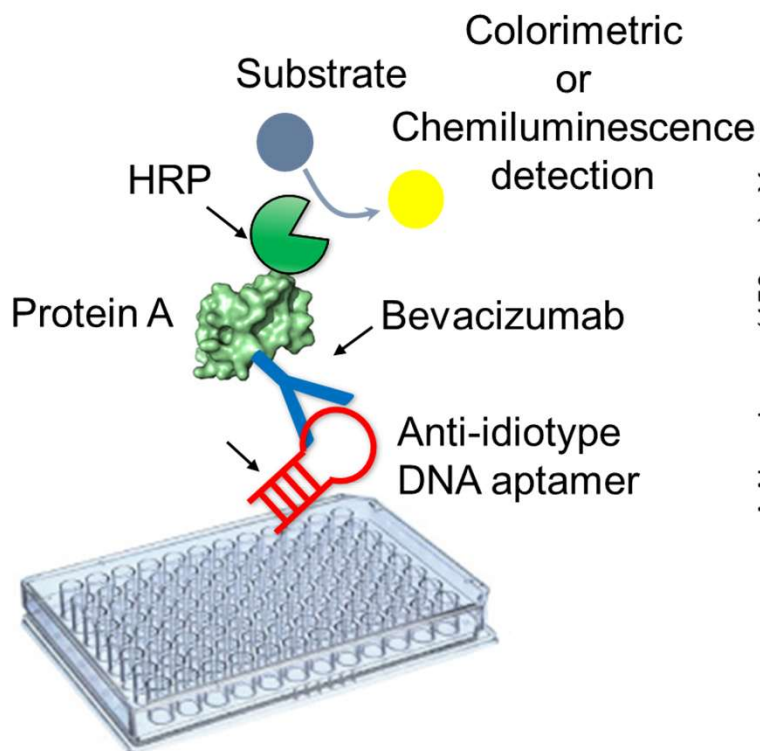
特許第6793917号

Saito et al., *Biosens. Bioelectron.* **203**, 114027 (2022)

アプタマーは重鎖の3箇所すべてのCDRと多点で相互作用
→ 本アプタマーの高い結合能と選択性を裏付けた

アプタマーを用いるLBA法 (ELAA) によるバイオアナリシス

開発したアプタマーを用い、Enzyme-linked Aptamer Assay (ELAA) 法を構築した。これは開発・製造・臨床現場で迅速かつ多検体分析を実現する。



吸光度検出

定量下限 ($\mu\text{g/mL}$)	定量上限 ($\mu\text{g/mL}$)	直線性
0.05	5.0	1.000

	添加濃度 ($\mu\text{g/mL}$)				
	0.05	0.1	0.5	1.0	5.0
精度 (%)	3.2	6.8	5.4	5.6	3.1
真度 (%)	-4.2	4.5	1.3	-0.3	-1.1

化学発光検出

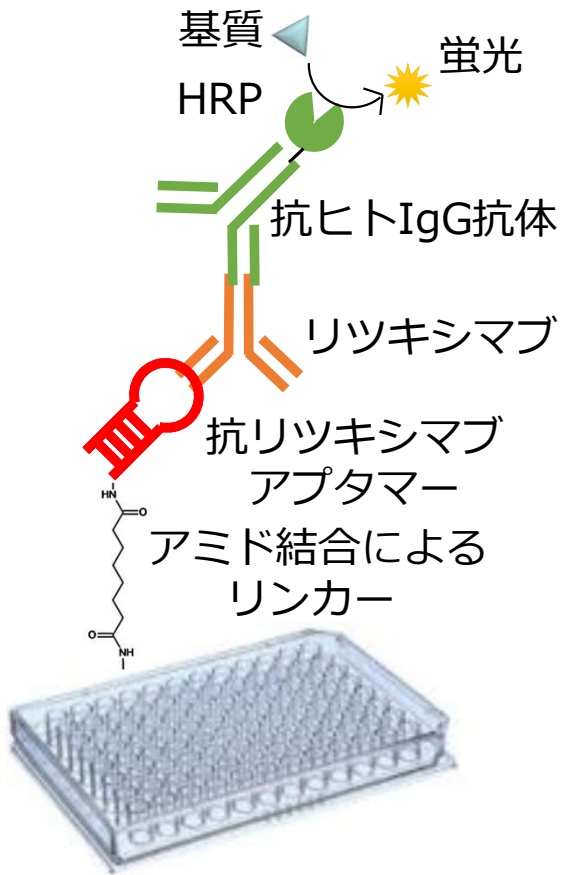
定量下限 ($\mu\text{g/mL}$)	定量上限 ($\mu\text{g/mL}$)	直線性
0.005	0.5	0.998

	添加濃度 ($\mu\text{g/mL}$)				
	0.05	0.1	0.5	1.0	5.0
精度 (%)	1.8	3.2	5.4	1.9	15.4
真度 (%)	10.7	1.4	-15.8	-7.4	14.3

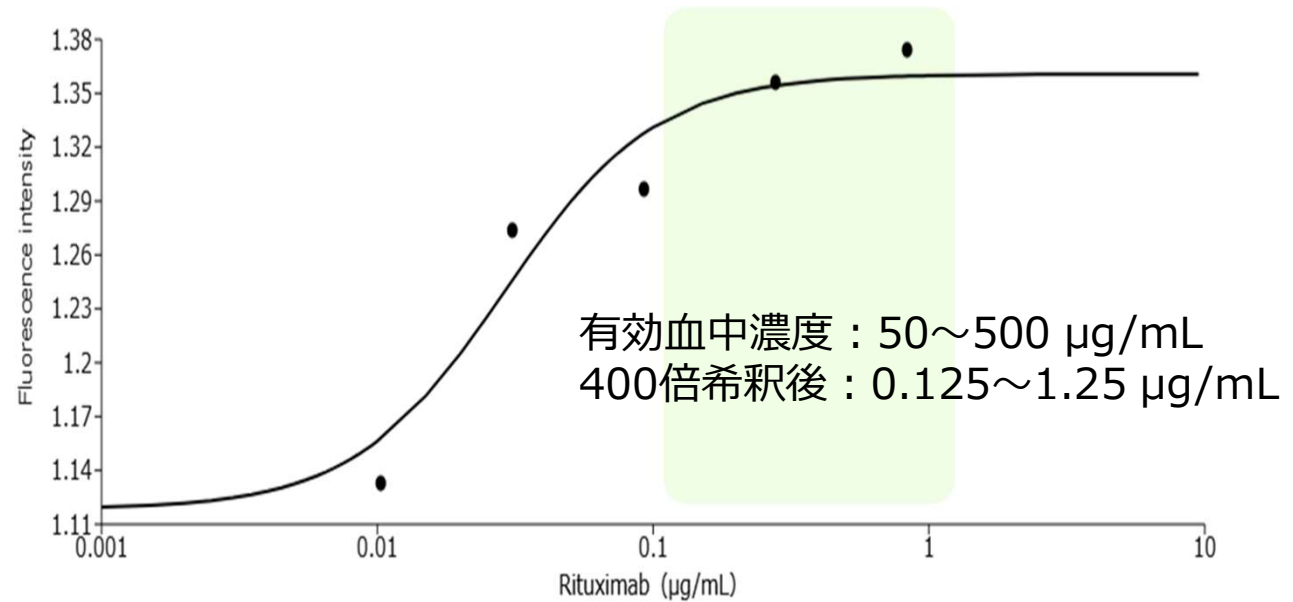
0.01 – 5 (50-500)*
※有効治療濃度

吸光度、化学発光検出のいずれにおいても、血漿中ベバシズマブを十分な感度、定量性、精度、真度で分析可能

改良型ELAA法によるリツキシマブのバイオアナリシス

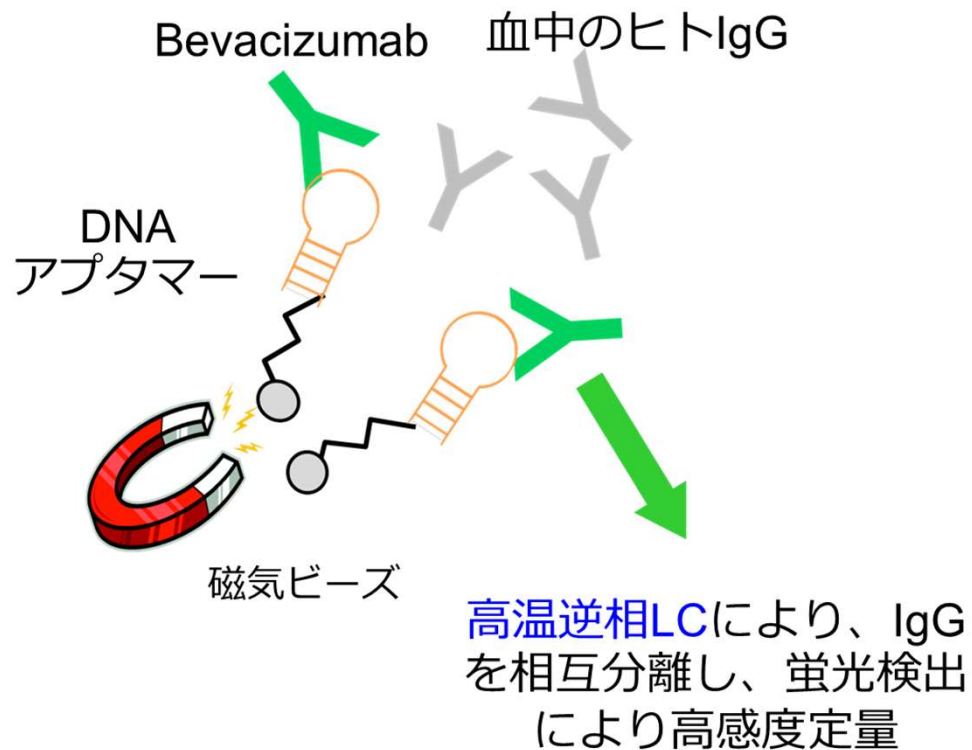


開発した抗リツキシマブアプタマー、抗ヒトIgG抗体-HRPによるヒト血清中リツキシマブ定量のためのサンドイッチLBAを開発した。

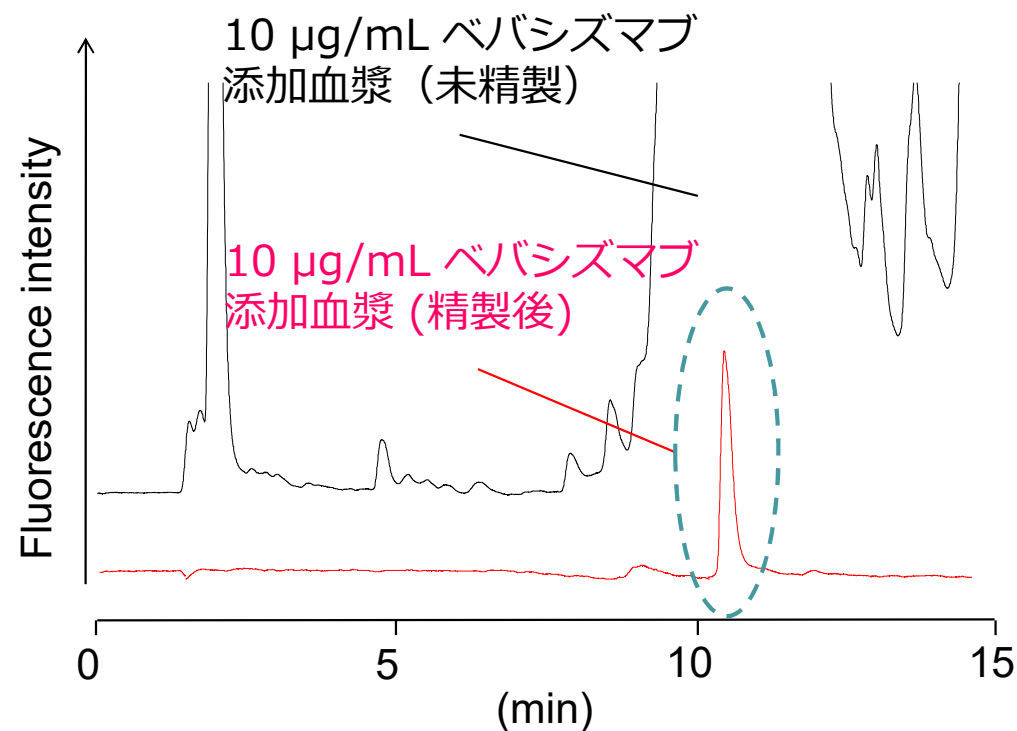


有効血中濃度範囲を含む低濃度域でのリツキシマブの定量が可能であった。

アプタマーアフィニティー精製ーHPLCによる バイオアナリシス



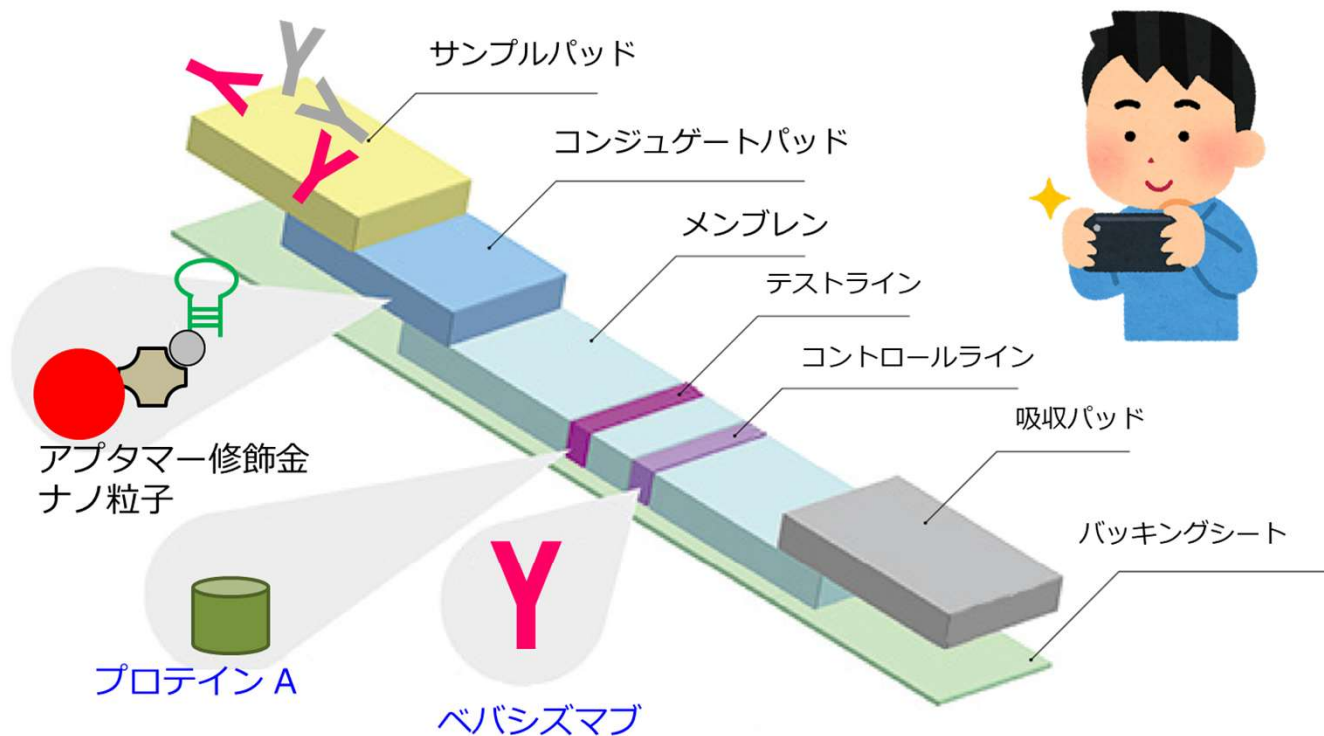
Yamada et al., *Molecules*, **24**, 857 (2019)



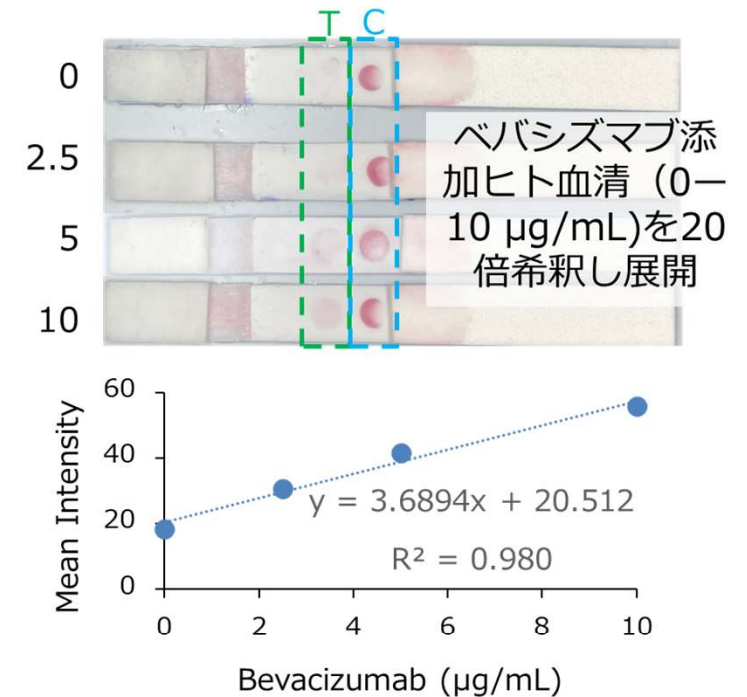
汎用HPLCを用い肺がん患者血漿中のbevacizumabを十分な感度、定量性で分析可能

臨床現場でのPOCTを企図した簡易定量法

トラフ濃度維持簡易判定のためのイムノクロマト様キットを開発した。



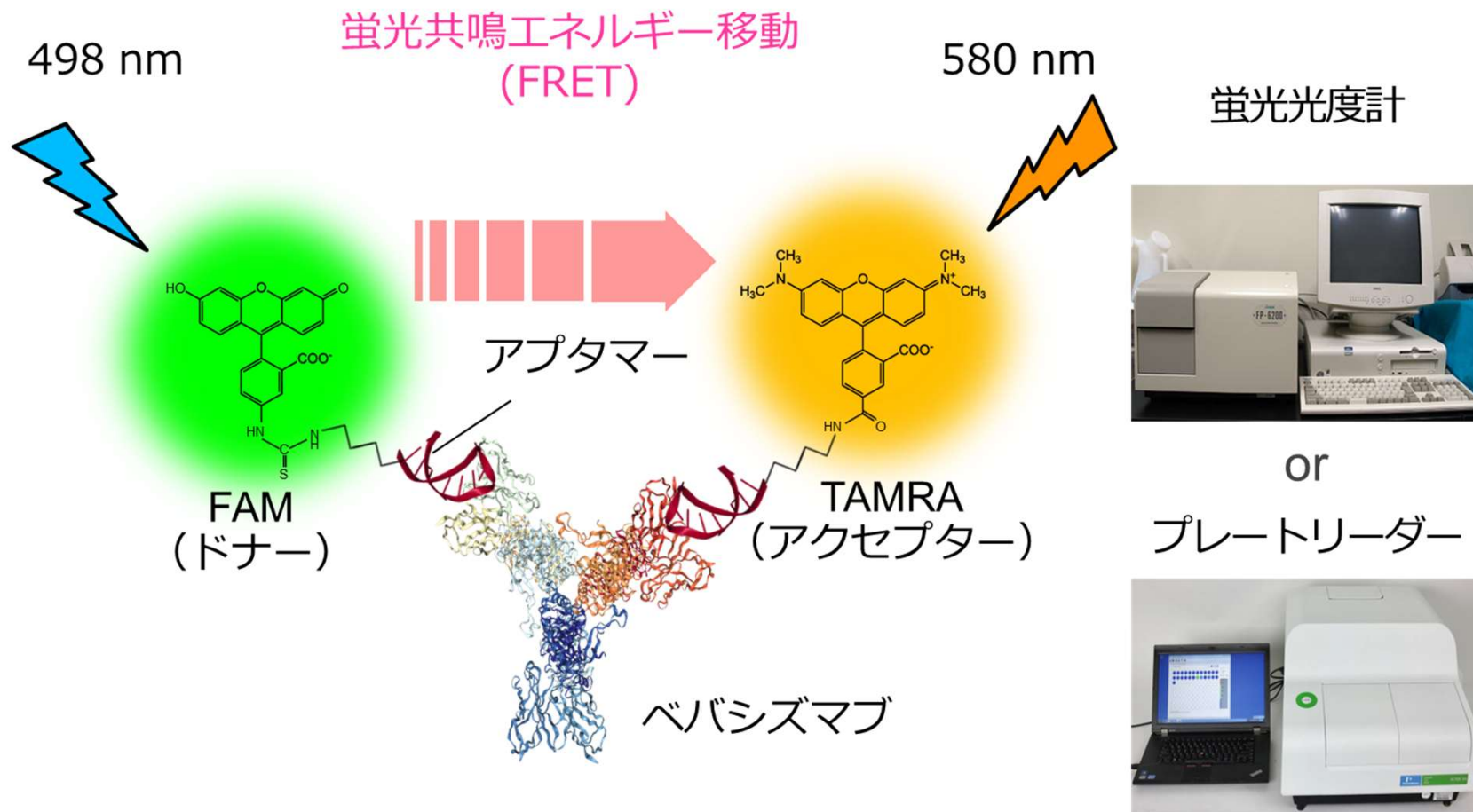
スマートフォンでの撮影と組み合わせることで、血中薬物濃度の半定量をオンサイトで可能とする。



Todoroki et al., *Chromatography*, **43**, 73 (2022)

血清試料の適宜希釈により、ベバシズマブの半定量が可能。トラフ濃度維持評価への適用可能性を示した

抗体医薬製造現場でのPATを企図した簡易定量法

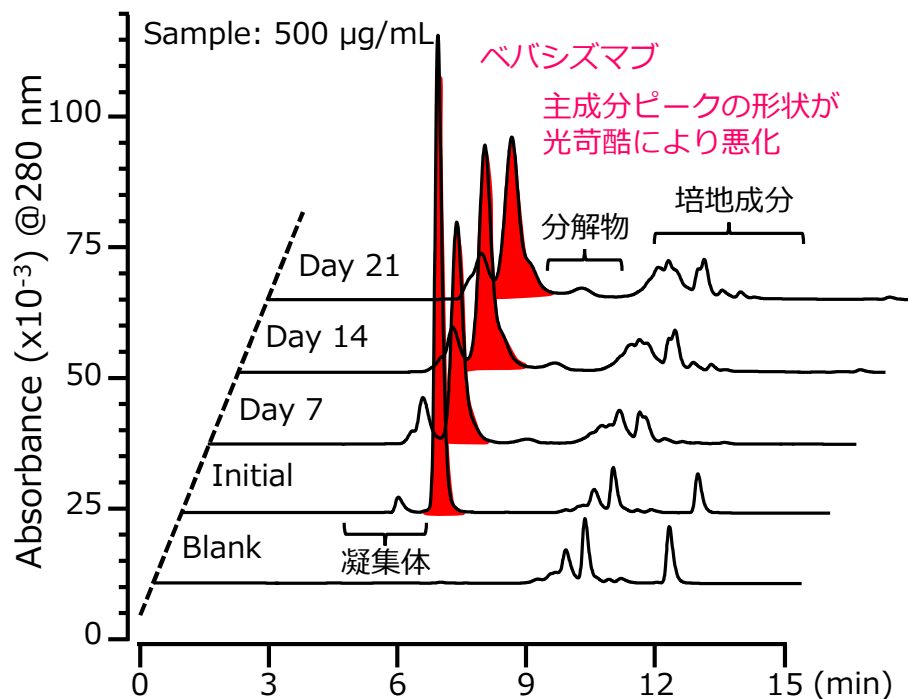


T. Yamada et al., *Talanta*, **277**, 126349 (2024)

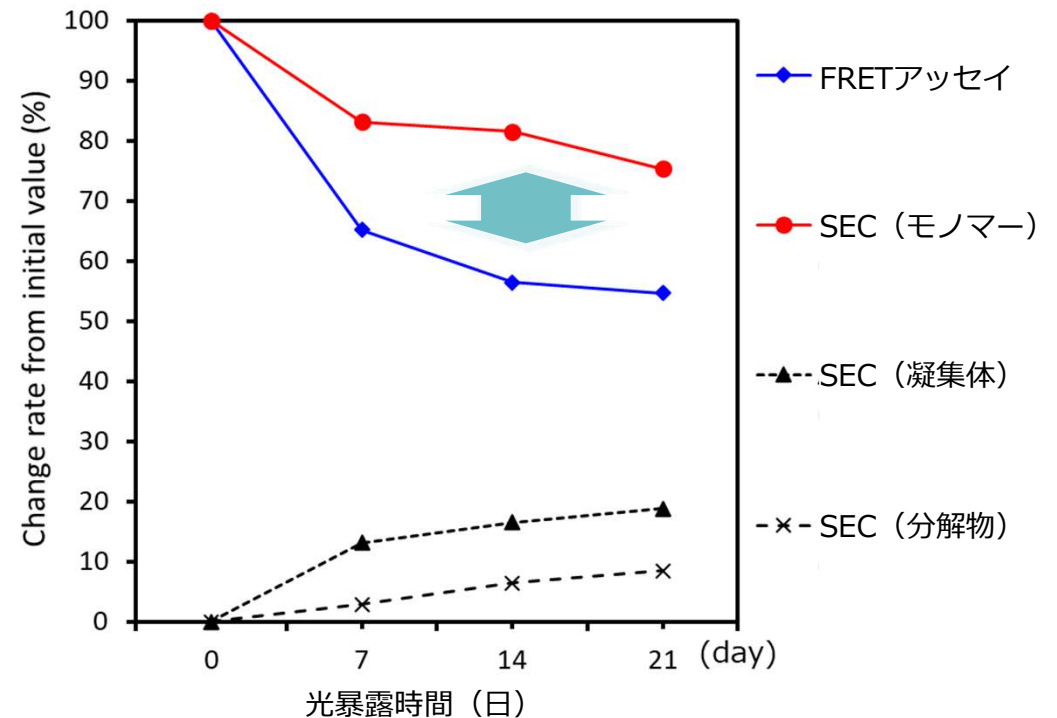
2種蛍光標識アプタマーとの混合操作のみで培地中抗体医薬を特異的に簡易定量可能

FRET法の光苛酷試験への適用とその優位性

光曝露サンプルのSECクロマトグラム



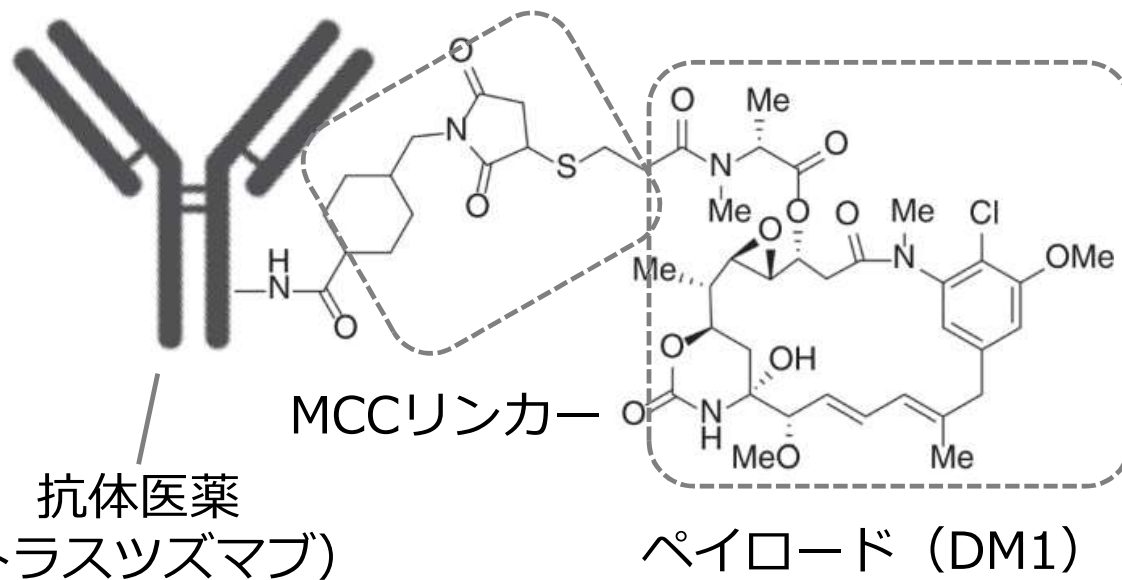
FRET（本法）とSEC（従来法）の比較



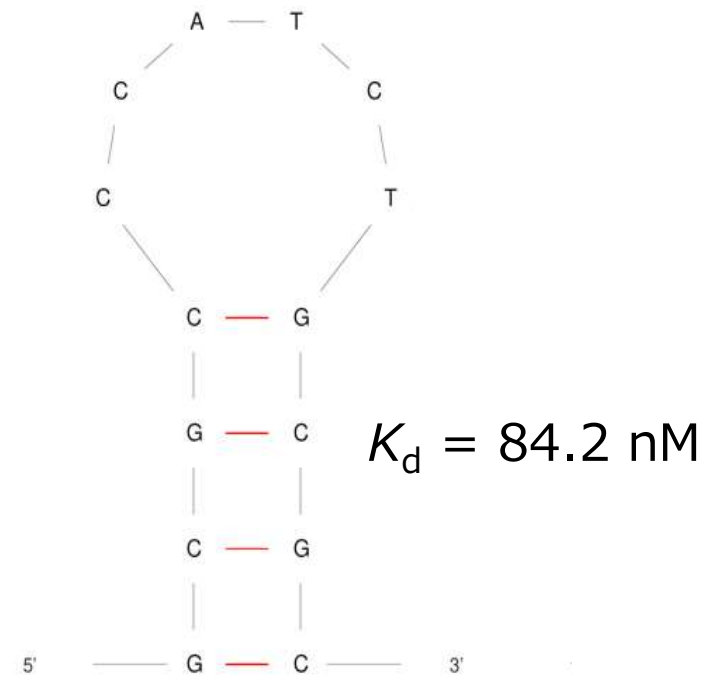
分子量変化を伴わない抗体医薬の含量低下（≡結合能低下）を検出することができ、抗体医薬の有効性に関連する品質特性の直接的に評価可能であることが示唆された。

ADCのペイロードに対するアプタマーの開発

トラスツズマブエムタンシン
(T-DM1)



抗DM1アプタマー¹⁾

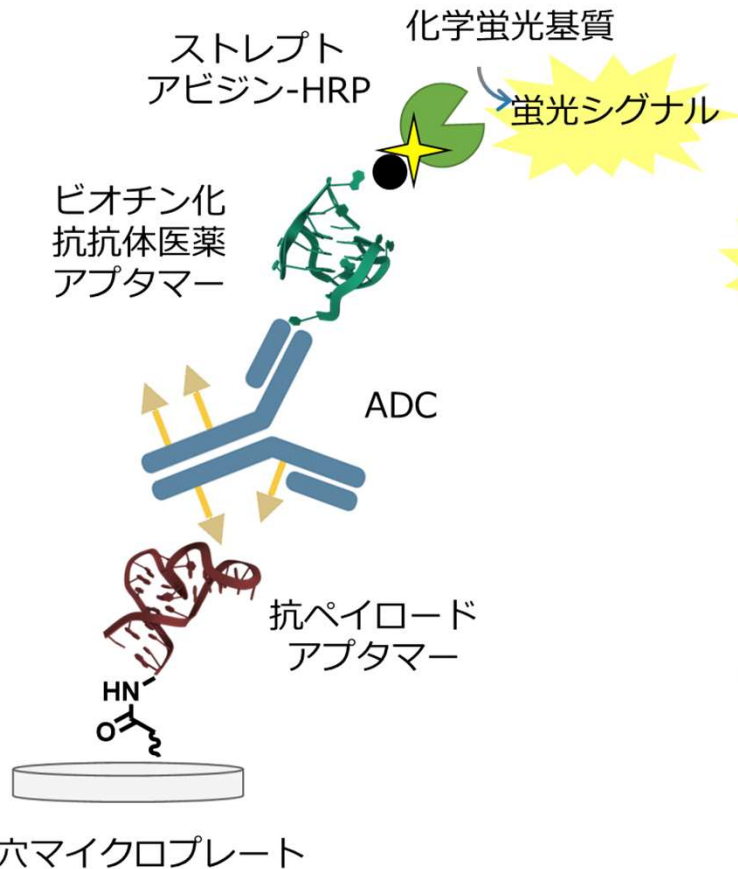


1) T. Yamada *et al.*, *Biosens. Bioelectron.*, **272**, 117108 (2025)

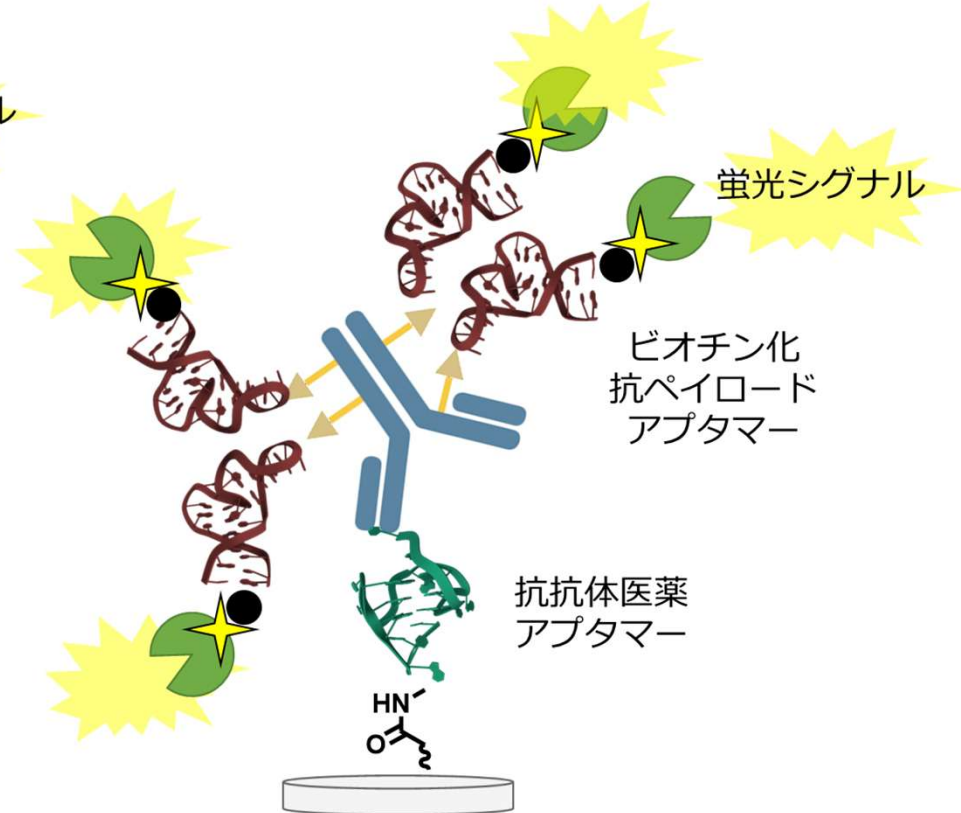
ADC定量および平均DAR算出のための高親和性抗ペイロードアプタマーを開発

ADCの定量および薬物抗体比（DAR）算出のためのLBA法

ADC定量のためのレイアウト



DAR算出のためのレイアウト



アプタマーのレイアウトを入れ替えることで、ADC定量と平均DAR算出を同一のプレートで測定可能となった。本法はIn vivoでのDAR変化の追跡にも有効であると考えられる

研究分野の概要と社会的位置づけ

本研究分野は、抗体医薬やADCの開発・製造・評価プロセスに必須のバイオ・プロセスアナリシスに関し、バイオ医薬の迅速な開発・適正な製造に必要な分析技術の課題解決を目指すものである。

- 高感度かつ簡便な分析プラットフォームを提供することで、抗体医薬およびADC開発の促進と安定製造を支援し、我が国の創薬力向上と国際競争力強化に貢献するという社会的価値をもたらす。
- 開発技術は抗体医薬やADCに限らず、バイスペシフィック抗体、ナノボディ、分解抗体複合体（DAC）などの次世代バイオ医薬品の開発にも貢献できると考えられる。

想定される用途

- バイオ医薬製造における簡易生産量モニタリングと結合能評価
- 新薬開発段階における抗体医薬やADCの血中薬物濃度分析、*in vivo* DARモニタリングによる有効性・毒性評価
- 臨床現場での治療効果判定のための血中薬物濃度分析
- バイスペシフィック抗体、ナノボディなどの抗体関連薬への開発にも貢献できると思われる。

実用化に向けた課題

- 構築済み分析法（ELAA、FRETなど）について、一部医薬品で分析バリデーションが未完了のため、迅速な完了が必要である。
- 企業ニーズに応じ、患者・動物血漿などの実マトリックスで実用的なバリデーションを行い、課題抽出と解決を図る必要がある。
- 大学発スタートアップ組成と技術のビジネス化に向け、対象医薬の拡大および企業との連携（共同研究・市販化）強化が不可欠。
- アプタマーの商用展開には、受託製造元との安定したパートナーシップを結び、商用ロットでの供給体制を確立する必要がある。

社会実装への道筋

時期	取り組む課題や明らかにしたい原理等	社会実装へ取り組みについて記載
基礎研究	<ul style="list-style-type: none"> ・ 6種抗体医薬、1種ペイロードに対するアプタマー獲得 ・ 高親和性アプタマーの獲得法と高親和性化のための配列改変 ・ 2種抗体医薬についてのELAA法およびFRET法の確立 ・ 1種ADCのLBA法による定量法およびDAR算出法の確立 	
現在	<ul style="list-style-type: none"> ・ 獲得アプタマーのin silico解析による高性能化 ・ 4種抗体医薬のELAA法およびFRET法構築に向けた分析バリデーション実施 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 大学発新産業創出基金事業 スタートアップ・エコシステム共創プログラム『GAPファンドステップ1』へ応募し、成果のビジネス化に向けた検討を始める。
2年後	<ul style="list-style-type: none"> ・ LBA法以外のフォーマットでの血中ADC定量およびDAR算出法の確立 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 『GAPファンドステップ2』へ応募し、企業に向けた概念実証と大学発スタートアップの組成を目指す。 ・ BioJapan、バイオ医薬EXPOでの出展を通じ、実装化に向けたパートナーを探す
3年後	<ul style="list-style-type: none"> ・ 抗薬物抗体の産生量と特性解析を可能とする分析法確立 	<ul style="list-style-type: none"> ・ 抗体医薬・ADCに対する分析キットおよびアプタマーの市販化
5年後	<ul style="list-style-type: none"> ・ 他種バイオ医薬に対するアプタマー獲得と関連分析法の確立 	<ul style="list-style-type: none"> ・ バイオ医薬品に対するアプタマー開発および分析法構築の受託サービスの実現

企業への期待

- 分析法共同開発のためのペイロードやADC、抗体医薬原薬・製剤の提供
- 企業の希望するフォーマットでの分析法の共同開発
- PAT実装化に向けた試料提供および技術協力
- ADA評価手法開発や、コンパニオン診断薬開発のための試料提供および技術協力
- アッセイキット等の商用化に向けた共同開発

企業への貢献、PRポイント

- 重要試薬の品質・ロット間差に左右されない、安価で均質なDNAアプタマーに基づく汎用分析法を提供し、バイオ医薬の開発・製造における分析を迅速化・適正化できます。
- ELAA法やFRET法に加え、臨床現場でのPOCT法やADCのDAR算出法など、企業の多様なニーズに合った分析法の共同開発とカスタマイズ提案が可能です。
- 企業との共同研究実績があり、高親和性アプタマーの探索・獲得から、実用化に向けた分析法の共同開発まで、技術指導と科学的裏付けを提供できます。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : アプタマー及び抗体検出方法
- 出願番号 : 特許第6793917号
- 出願人 : 静岡県公立大学法人、
国立大学法人東京農工大学
- 発明者 : 池袋一典、齊藤太郎、
轟木堅一郎、中野達基、豊岡利正

産学連携の経歴

- 2016年-2019年 第一三共TaNeDSプログラム採択
- 2019年-2024年 第一三共と共同研究実施
- 2024年- 新日本科学と共同研究実施

お問い合わせ先

静岡県立大学大学
教育研究推進部 地域・産学連携推進室

T E L : 0 5 4 - 2 6 4 - 5 1 2 4
e-mail : renkei@u-shizuoka-ken.ac.jp