

## 微小炎症関連タンパク質に対する人工抗体の創製

○松尾瑠星<sup>1</sup>・Jing-Jing Jiang<sup>2</sup>・藤野公茂<sup>1</sup>・林剛介<sup>1</sup>・村上正晃<sup>2</sup>・村上裕<sup>1,3</sup>(<sup>1</sup>名大院工、<sup>2</sup>北大院医、<sup>3</sup>名大ナノライフ)

**Development of monobodies against target proteins related with micro-inflammation.** (Graduate School of Engineering, Nagoya University<sup>1</sup>, Graduate School of Medicine, Hokkaido University<sup>2</sup>, Institute of Nano-Life-Systems, Institutes of Innovation for Future Society, Nagoya University<sup>3</sup>) Matsuo, Ryusei<sup>1</sup>; Fujino, Tomoshige<sup>1</sup>; Jing-Jing, Jiang<sup>2</sup>; Murakami, Masaaki<sup>2</sup>; Hayashi, Gosuke<sup>1</sup>; Murakami, Hiroshi<sup>1,3</sup>

IL-6 アンプは、多発性硬化症のような免疫病、動脈硬化を起点とした脳血管障害や心血管障害、アルツハイマー病のような認知症などの炎症性疾患を増強する機構である。このような炎症性疾患は血管周辺の微小炎症が拡大することによって発症する。そこで個体内で IL-6 アンプを特定し微小炎症を検出・治癒できれば、疾患の早期治療が可能になると考えられている。

本研究では TRAP 提示法による人工抗体の選択を行い、IL-6 アンプ関連タンパク質である IL-6R、CTLA-4、PD-1、を標的としたモノボディ人工抗体の創製を行った。ここでは、実用目的としてヒトの標的タンパクを、研究目的としてマウスの標的タンパクを用いた。人工抗体の創製後、バイオレイヤー干渉法により解離定数の測定を行った結果、数 nM レベルの解離定数を持つ人工抗体が得られた。さらに、実際に細胞に発現した標的タンパク質に結合するか確認するために、標的タンパク質を発現した 293T 細胞上への結合能をフローサイトメトリーにより測定した。その結果、全ての標的に関して結合能を持つモノボディが得られていたことが分かった。最後に標的に対しモノボディとリガンドを競合させることによりモノボディの阻害活性を測定した。その結果、細胞上に発現した標的に結合能を示したモノボディクローンのうち 3 種で阻害活性を持つものが得られたことが分かった。モノボディは抗体医薬品として用いられている IgG 抗体の 1/10 程度の大きさであり、組織浸潤性が高く、疾患の治療や様々なプローブへの応用が期待される。

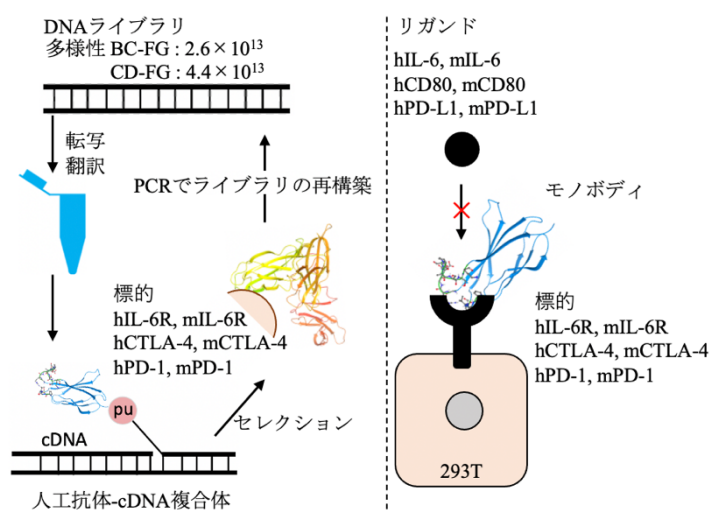


図 ヒトとマウスの IL-6R、CTLA-4、PD-1 に対するモノボディの TRAP 提示法による選択と阻害活性測定

1. Ogura, H. et al., *Immunity*. 2008, 29, 628-636.
2. Ishizawa, T. et al., *J Am Chem Soc.* 2013, 135 (14), 5433-40.
3. Kondo, T. et al., *Sci Adv.* 2020, 6 (42), eabd3916.