

ケーススタディ

タンパク質治療薬の評価を よりスマートに： 迅速で信頼性の高い医薬品開発

創薬プロセスは年々洗練されてきています。しかし、多くの技術進歩にもかかわらず、基本的なアプローチは大きく変わっていません。そのため、「新規の医薬品開発への取り組み方を根本的に変える時が来ているのではないか」という意見もあります。

化学が専門の Brandon Ruotolo 教授が率いるミシガン大学のチームもそのように感じており、自分たちはその新しい取り組みにふさわしいツールを手に入れていると考えています。そのツールとは、新しい Agilent 6560C イオンモビリティ LC/Q-TOF です。Ruotolo 教授とそのチームは、アジレントの科学者と共同で製品機能を拡張し、より詳細なタンパク質の特性解析を可能にしました。これにより、バイオ医薬品におけるタンパク質ベースの治療薬開発プロセスに革命的な変化が起きる可能性があります。

その前にまず、創薬が今日どのような状況にあるかを見てみましょう

医薬品化合物の開発にかかる費用は平均して数十億ドル、期間は 10 年です。多くの場合、ある 1 つの治療法を見つけて認可を得るために、数十万の候補物質がスクリーニングされます。Ruotolo 教授は創薬プロセスについて、非常に複雑な取り組みであり、「月面着陸のようなものですが、これを目隠しして行っているようなもの」と表現します。

実際、革新的な医薬品化合物の多くは偶然に発見されたものですが、洗練されたパイプラインを利用して開発された化合物も多くあります。このようなパイプラインでは、理解の進んだ技術とツールが使用されており、多くの場合、酵素阻害剤として大まかに分類できる低分子医薬品の開発につながっています。歴史的に、多くの人が思い浮かべる薬は、このような種類の医薬品です。



Brandon Ruotolo, PhD

Professor of chemistry
ミシガン大学
米国

しかし、将来の薬の多くのターゲットは、私たちが慣れ親しんでいる古典的な低分子酵素阻害剤ではないと考えられます。今日発見される病気はより複雑であり、タンパク質間の相互作用や特定の方法でアンフォールドするタンパク質などの薬学メカニズムに依存すると考えられます。このような課題に取り組むには、新しい技術と新しいアイデアが必要です。創薬パイプラインを進化させる必要があり、それこそまさに、Ruotolo 教授とチームがやろうとしていることです。

衝突誘起アンフォールディングの導入 — 治療用タンパク質を評価するスマートな方法

衝突誘起アンフォールディング (CIU: Collision induced unfolding) は、治療用タンパク質またはターゲットの安定性を評価するための迅速な方法です。タンパク質および製薬パイプラインにおけるタンパク質の役割を解明するとき、必ずと言っていいほど、その安定性が関わってきます。通常、タンパク質ベースの治療薬は、有効性と安全性を確保するために可能な限り安定していなければなりません。

CIU の主な利点は、大量の精製タンパク質を生成することなく、安定性に関する情報を入手できることです。CIU を使用すると、混合物内で安定性を評価でき、従来の技術とは桁違いの高速化が可能になります。何千ものタンパク質ベースの新薬候補物質を簡単にスクリーニングして、情報を豊富に含んだデータを提供し、医薬品パイプラインを改善・促進することができます。

Ruotolo 教授が最初に CIU の可能性に気づいたのは、約 7 年前です。しかし、いくつかの明確な制限が存在しました。機器内でアンフォールディングできる質量範囲が非常に狭く、対象となるのは低分子量のタンパク質と核酸などでした。Ruotolo 教授は、この質量範囲を大幅に拡大して CIU を次のレベルに押し上げたいと考えました。

共同研究はタンパク質の特性解析を進めたいという双方の意向から始まりました

アジレントの科学者たちも、CIU でインタクトタンパク質やタンパク質複合体を測定できる可能性に気づきましたが、この分野で技術を育てるにはその道の専門家が必要でした。そこでアジレントは、高分子量タンパク質の MS ベースのアッセイを改善するために Ruotolo 教授に相談することにしました。「学術研究を深く評価し、それが機器の製造と設計の概念にもたらす可能性について真剣に考えている企業は、めったにありません。アジレントはその点で私たちにとって素晴らしいパートナーです」と Ruotolo 教授は述べています。

過去 5 年にわたる共同研究では、6560 プラットフォームにおける CIU の質量範囲の拡大に重点が置かれました。研究チームは、機器のイオン光学系の前面の設計を新たに行い、イオンへより急激なポテンシャルエネルギー面を与えるようにしました。また、より重いガスである SF₆ を機器の前面に導入しました。これにより、ガスがイオンへ衝突するたびに大きな衝撃を与え、活性化領域の全域にわたってさらに大きなエネルギーをイオンに与える機会を増やすことが可能となりました。

この組み合わせにより、アンフォールディングしたい質量範囲全体をカバーできるようになりました。最初の発表の 1 つは、インタクト 800 kDa タンパク質複合体のアンフォールディングに関するものでした。「この大きさのものをアンフォールディングすることができれば、このシステムは、どんなサンプルであってもほぼすべての生体分子をアンフォールディングするのに十分に対応できます」と Ruotolo 教授は説明しました。

新しい 6560 イオンモビリティ LC/Q-TOF の誕生で、Ruotolo 教授の研究は一変しました

Ruotolo 教授とそのチームは、より大きな多タンパク質複合体を分析しながら、6560C のテストを続けました。彼らは CIU 測定に高い正確性と精度を求めましたが、6560C はそれに応えました。また、クロスプラットフォームの比較にも成功しました。これらの機能はすべて、CIU が製薬パイプラインのアッセイとして受け入れられ、バリデーションされる場合に極めて重要です。

CIU の実験は継続され、Ruotolo 教授は初期のデータをタンパク質構造の「指紋採取」と表現しています。教授は次のように語りました。「最初は、大半のデータを特定の構造的特徴に結び付けることができませんでした。実験中の内部温度変化により、タンパク質のサイズが大きくなることに気が付きました。」 Ruotolo 教授は続けて、「しかし今では、いくつかの構造情報を識別することができるようになりました」と述べています。

「加えたエネルギーの関数として、構造変化のパターンを記録します。次に、細胞ストレスを経た、またはリガンドに結合した別のサンプルと比較します。そして 2 つの間でデータがどのように変化するかを見ます。」「CIU データ解析では多くの場合、サンプル間の参照を頻繁に行います。標準タンパク質の測定では、未知のサンプルに対して確信を持って結果を得るために再現性が高くなければなりません。6560C が優れているのはこの点です。」

6560C は、さまざまな質量や構造状態をとるさまざまなタンパク質およびタンパク質複合体を調べるための強力なプラットフォームであることが証明されています。CIU アッセイは、ジスルフィド結合や、アンフォールディング、共有結合の変化に基づいて、バイオシミラーとタンパク質を極めて高い感度で区別します。異なる IgG サブクラス内でジスルフィド結合がどこにあるかを高い信頼度で区別できます。IgG は生物製剤タンパク質を構築する足場として使用されるため、これは医薬品開発に役立つと考えられます。

イノベーションは CIU の成功にとどまりません。さらに洞察に満ちたデータを求めて新しい技術を評価中です

「アンフォールドされたタンパク質の領域をよりよく理解するために、電子捕獲検出器 (ECD) を CIU と組み合わせるといったアイデアを試験的に導入中です」と Ruotolo 教授は述べています。CIU は、タンパク質またはタンパク質複合体をアンフォールドするために使用できます。次に ECD で、そのアンフォールドされた領域の共有結合を切断できます。フラグメントを記録してから、CIU でトランジションを構造的にアノテーションできます。この組み合わせにより、インタクトタンパク質複合体のシーケンスカバレッジも大幅に向上し、その組成について知る必要のある情報をすべて得られる可能性があります。「この技術をどのように発展させるか、そしてこの技術で何ができるか非常に楽しみです」と Ruotolo 教授は述べています。さらに「将来的には、タンパク質工学と生物製剤の開発にとって非常に強力な組み合わせになるとと思います」と語っています。

スループットの向上についても、Ruotolo 教授とそのチームは研究しています。情報が豊富な MS スクリーニング機能だけでなく、高速であることも望んでいます。彼らはその解決策として、Agilent RapidFire に期待しています。RapidFire は、高スループット MS の超高速サンプルクリーンアップ用の質量分析計に統合されたオートサンブラです。RapidFire はこれまで低分子分析に使用されてきましたが、Ruotolo 教授は高分子により適したものに改造したいと考えています。「サイズ排除カートリッジなどで、MS に導入する前にタンパク質を脱塩することで、迅速な手段となる可能性があります」(Ruotolo 教授)

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

DE89492781

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2021

Printed in Japan, November 22, 2021

5994-4272JAJP

再現性のあるハイスループットアッセイが、創薬パイプラインを真に促進する可能性があります

タンパク質の分子量、その構造や状態、標的と薬物間の結合状態の数、それらに関連するすべての安定性を、1 回の MS ベースのアッセイで知ることができれば、それは革新的です。「創薬プロセスの早い段階でこの情報を得ることができれば、開発中の化合物が標的に対してメカニズム的に何をしているのかについてより詳しく知ることができるでしょう」と Ruotolo 教授は言います。「その結果、より良い決定を下すことができます。プロセスの早い段階で効果の低い薬をあきらめることができます。あるいは、有効性を示唆する正確な情報があり、有望と思われる薬の開発を進めることができます。」

Ruotolo 教授は、「この技術を用いて、たくさんの重要な扉が開かれる」と考えています。教授はさらに次のように語ります。「これらのツールにより、よりスマートで高速な生物製剤のスクリーニングや、低分子医薬品の開発、多タンパク質複合体の構造解析が可能になります。これらのツールを組み合わせることで、新しい医薬品開発パイプラインを前進させることができます。」

既存の 6560 プラットフォームでも、すでに並外れた正確性と精度を提供していました。さらに、Agilent 6560C イオンモビリティ LC/Q-TOF にインソースアクティベーションを実装すれば、アプリケーションスペースが大幅に広がり、高分子量のタンパク質の CIU が実現できます。6560C と CIU は、バイオ医薬品を大きく進歩させ、タンパク質のより詳しい特性解析を実現し、創薬研究を真に変革する可能性を秘めています。