

③-1-2 有効な高機能医薬抗体作製システムの開発

(JBA 有明分室((財)癌研究会))

系統的な高特異性抗体創製技術を開発する本プロジェクトにおいて、医療産業上有用で、かつ、個別化医療実現のための次世代診断・治療に応用し得る医療抗体を創製するためには、高機能抗体の標的となる候補分子やその複合体を、効果的かつ高効率で同定することが重要である。我々は本事業において、12 種のがんに対して、先進的遺伝子発現プロファイリングを行い、開発したデータマイニング技術を用いて、これらのプロファイリングデータを解析することにより、85 種の医薬抗体新規標的分子の同定に成功した。

また、同定される標的候補分子は種を越えて広く保存されているものが多いと推測され、このようなタンパク質に対する抗体作製は免疫寛容が起こり易いため困難な場合が多い。そこで、種を越えて広く保存されている標的候補分子については高効率な高機能抗体産生を誘導するために、マウス発生工学を用いた有効な抗体作製技術の開発を目指しており、迅速かつ高効率のノックアウトマウス開発システムの確立と、これを用いての新規標的分子免疫用マウスの作製を行った。さらに高機能医薬抗体を効率よく開発するためには、創製される抗体の生物医学的検証を行い、その医療抗体としての有用性を評価することも重要な課題であり、こういった重要課題を解決するための技術開発も行った。

以上、本事業は順調に進展し、これまでに全ての課題に関して当初の目標を上回る成果が得られた。

1) 先進的発現プロファイリングによる標的の探索

12 種のがん(乳がん、大腸がん、大腸がん肝転移、食道がん、軟骨肉腫、ユーイング肉腫、膵がん、肺がん、子宮体がん、卵巣がん、MFH、トリプルネガティブ乳がん)に関して先進的発現プロファイリングによる標的分子探索を行い、新規医薬抗体標的分子 85 分子を同定し、優位性の高い 9 分子を抗体作製分子に決定し、本プロジェクトで抗体作製を行っている東京大学先端科学技術研究センターとカイオム社に情報を提供した。

エクソンアレイを用いた先進的発現プロファイリングにより、医薬抗体標的分子候補を探索するため、既に 100 例を超える数の発現解析を行なった。臨床腫瘍検体の収集は 16 種のがんに対して行い、このうち 11 種のがんについては、それぞれ 100 症例を超える数の検体の収集を終え、収集された総検体数は 8948 例にのぼる。

エクソンアレイ解析の本来の目的である「がん特異的な遺伝子転写産物の同定」を行うためのプログラム開発・改良に加え、エクソンアレイを包括的発現解析に用いるためのプログラムの開発・改良を行った。これらのプログラムによる解析と実験による検証により、がんの特異的な構造を有するキメラ遺伝子 6 遺伝子(膵がん細胞株および臨床検体に発現している 2 遺伝子、乳がん細胞株 2 遺伝子、乳がん臨床検体 1 遺伝子、骨肉種

臨床検体 1 遺伝子)およびエクソンスキップを有する遺伝子 9 遺伝子(膀胱がん細胞株)の同定に成功した。

A)先進的発現プロファイリングを用いた標的分子候補の探索

高機能抗体の標的となる候補分子を同定する目的で、従来蓄積してきた各種ヒトがんサンプルに対して長鎖オリゴカスタムアレイ(以下カスタムアレイと略す)、Affymetrix U133 Plus2.0 アレイ(以下 U133P2 アレイと略す)並びに GeneChip Human Exon 1.0 ST array(以下エクソンアレイと略す)による遺伝子発現解析を行い、これを既に蓄積されている癌研がんゲノムデータベース中の発現プロファイルデータと併せて解析することにより抗体医薬標的分子候補の抽出システムを構築し、これを用いて候補分子の同定を行った。エクソンアレイを用いた解析については、我々が開発したプログラムを用い、エクソンアレイデータより遺伝子発現量を算出したデータを用いた。このプログラムの詳細については下記 1)-B)-d)章で述べる。

a)アレイの重なるの検討

癌研究会ゲノムセンターではカスタムアレイを用いて遺伝子発現解析を行っている。このカスタムアレイは、2 種類の蛍光色素を用いることにより、由来の異なる 2 種類のサンプルにおける遺伝子発現量比を測定することが可能である。また 1 種類の蛍光色素のみを用い定量解析アルゴリズムにて解析することにより各遺伝子の発現量の定量を行うことが可能である(シングルカラー解析)。このカスタムアレイでは約 1 万 7 千種類の遺伝子の発現量を解析することが可能である。

一方、Affymetrix 社製のマイクロアレイは世界的に用いられており、各種がん組織での遺伝子発現データが蓄積されつつある。この状況を考慮すれば、カスタムアレイのみ搭載されている遺伝子は、抗体医薬標的分子候補として未だ注目を集めていないものが含まれている可能性がある。従ってカスタムアレイのみ搭載されている遺伝子は以後行う抗体医薬候補遺伝子の探索においては、最優先されるべき遺伝子と考えられる。

そこで最初にカスタムアレイと U133P2 アレイに搭載されている遺伝子を比較し、カスタムアレイにのみ搭載されている遺伝子の同定を行った。方法は各々のアレイのプロープ毎にそのプロープに用いられている塩基配列を Unigene のデータベースと比較することにより、各プロープがどの Unigene ID の遺伝子であるかを決定した。この Unigene ID をもとに、各々のアレイに載っている遺伝子の比較を行った。その結果、図 100 に示すように、我々が用いているカスタムアレイには 17,746 種の遺伝子、Affymetrix U133P2 アレイには 23,934 種の遺伝子が搭載されており、そのうちの 2,109 個に関してはカスタムアレイにのみ搭載されていることが判明した。

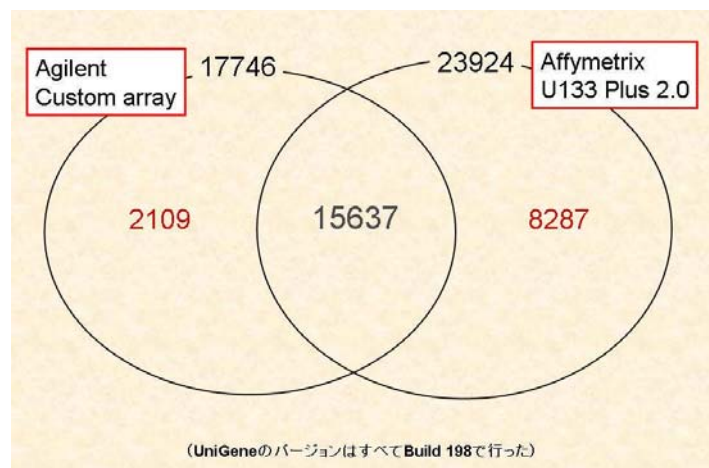


図 100 各アレイの対象遺伝子数

b)がん特異的に発現している遺伝子の抽出

従来蓄積してきた各種ヒトがんサンプルに対してカスタムアレイ、U133P2アレイ並びにエクソンアレイによる遺伝子発現解析を行い、これを既に蓄積されている癌研がんゲノムデータベース中の発現プロファイルデータと併せ、抗体標的分子候補の抽出システムの構築を行った。今回、抗体標的分子候補の抽出に用いた各がん種の解析症例数は以下の通りである。

表 8 各がん種の解析症例数

がん種名	解析症例数	アレイ
乳がん	225	カスタムアレイ
大腸がん	191	カスタムアレイ
大腸がん肝転移	22	カスタムアレイ
食道がん	52	カスタムアレイ
肺がん	49	カスタムアレイ
軟骨肉腫	62	カスタムアレイ
ユーイング肉腫	38	カスタムアレイ
膵がん	48	U133P2
子宮体がん	31	U133P2
卵巣がん	20	U133P2
悪性繊維性組織球腫(MFH)	59	U133P2
乳がんトリプルネガティブ症例	35	エクソンアレイ

抗体標的分子候補は後述する様に、カスタムアレイ発現データから 2 段階のデータマイニング、(I)標的分子の出現頻度と発現量による絞り込み、(II)標的分子の各種正常組織での発現をもとにした絞り込み、さらに 2 段階のテキストマイニング、(I)標的分子の膜局在推定による絞り込み、(II)標的分子の各種がん細胞および正常組織での発現や細胞内局在など文献情報をもとにした絞り込みの計 4 段階による絞り込みを行い、さらに培養細胞や組織標本を用いた各種実験による確認を経た後、抗体を作製する最終候補分子として選定した。

c)データマイニング(1) - 出現頻度と発現量による絞り込み

がん組織で特異的に発現している遺伝子のスクリーニングは 2 つの指標 a)発現が上昇している症例の割合、b)リファレンス(対象がん種に対する正常組織)に対する発現量比、を用いて行った。それぞれの指標の閾値は、出現頻度が 10%以上で発現量比が 3 倍以上の遺伝子を選定した。

d) テキストマイニング(1) – 膜局在推定による絞り込み

上記のスクリーニングにて選定された遺伝子の中で、膜に局在していると予測される遺伝子をテキストマイニングの手法を用いて絞り込んだ。選定された遺伝子の塩基配列からアミノ酸配列を予測し、その配列を 2 つの異なるアルゴリズム、SOSUI および Localizome を用いて解析することにより、膜への局在を推定した。これらのプログラムのいずれかで膜への局在が推定された遺伝子を 1 次候補として次のステップに供した。

e) データマイニング(2) – 各種正常組織での発現をもとにした絞り込み

標的分子の選択においてはその発現の特異性が重要であり、特に主要な臓器における発現レベルを確認するため、カスタムアレイを用い、シングルカラー解析法による定量的な正常組織発現プロファイルを取得しデータベースを構築した(正常組織 56 種類、図 101)。生命維持に関する重要性から、各正常臓器は Vital、Semi-Vital、Non-Vital、Brain or Fetal の 4 種類に分類し、Vital な臓器で一定レベル以上の発現がみられる遺伝子は候補から除外した。

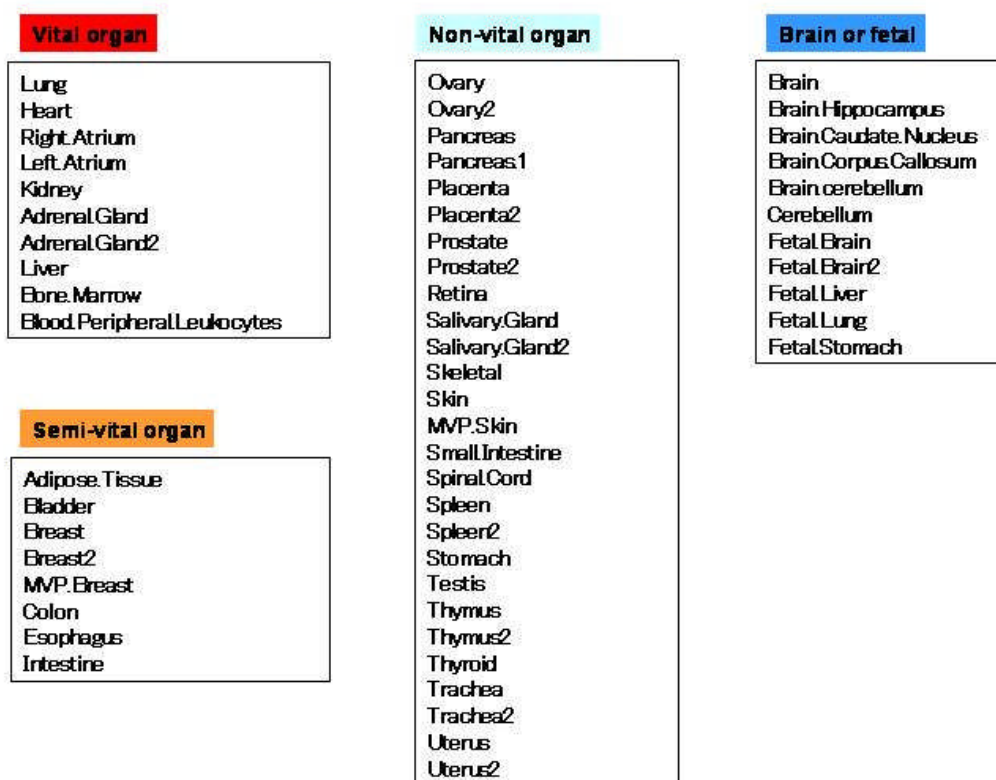


図 101 発現解析に使用した正常組織

f) テキストマイニング(2) – 文献情報をもとにした絞り込み

上記のステップで絞り込まれた遺伝子について、PubMed、Entrez Gene、OMIM など

の文献情報による絞り込みを行った。これらの情報から標的分子の細胞内局在、他のがん種や正常組織での発現量や発現パターンの確認を行い遺伝子の選定を行った。また機能未知の遺伝子については、UCSC(University of California Santa Cruz)の「Vertebrate Multiz Alignment & PhastCons Conservation」のデータを用い、28種の脊椎動物での Conservation score (保存スコア)を基に種特異性の検索、さらに、Blastプログラムを用いて、NCBIのデータベースとのホモロジー検索を基に遺伝子機能の推定を行い、2次候補を選定した。

g)実験 — 発現量や細胞内局在などの実験をもとにした絞り込み

上記に示した計4段階のデータマイニングおよびテキストマイニングにより選定された2次候補分子について、定量的RT-PCR、免疫染色、培養細胞における強制的遺伝子発現による細胞内局在の確認などの実験を行い遺伝子の絞り込みを行った。選定されたほとんどの標的分子候補については、定量的RT-PCRにより発現の定量を行い、RNAレベルでの発現の確認を行った。また、標的分子候補の中で、抗体が市販されているものについては、培養細胞およびヒトがんサンプルを用いた免疫染色による発現の確認を行った。図102は、乳がんの抗体医薬標的分子候補の一つである Cxxxxx1 の発現を、乳がん臨床例(DC013、DC008、DC022)を用いて免疫染色法で検討した結果である。抗 Cxxxxx1 ポリクローナル抗体による発現強度は、カスタムアレイ解析による Cxxxxx1 発現の強度 (Signal 値)とよく相関していた。

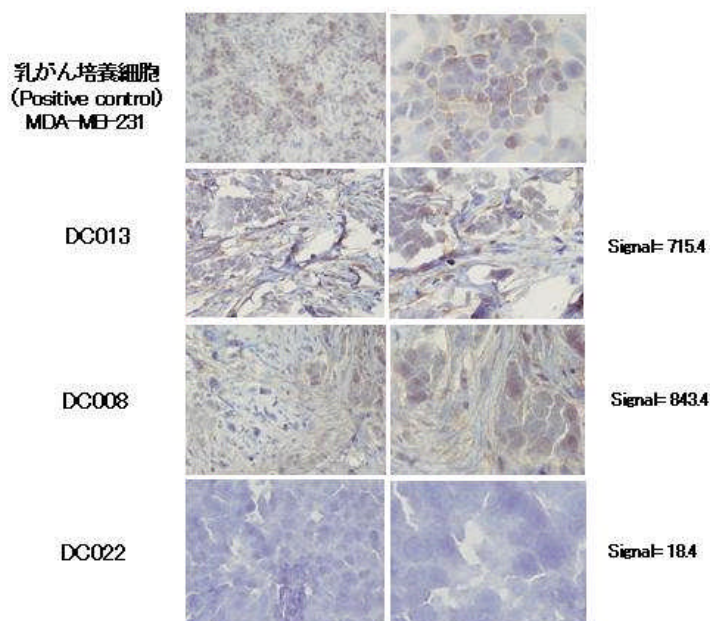


図 102 乳がん臨床例を用いた免疫染色による発現解析(抗 Cxxxxx1 ポリクローナル抗体)

図 103 は、乳がんの抗体医薬標的分子候補の一つである Txxxxx1 の細胞内局在の確認を培養細胞における強制的遺伝子発現により検討した結果である。乳がん培養細胞で強制的に発現させた Txxxxx1-EGFP の融合タンパク質は細胞膜に局在することが確認された。

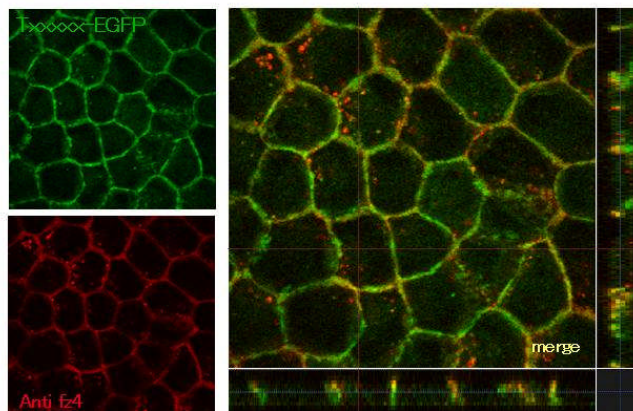


図 103 強制的遺伝子発現(EGFP 融合タンパク質)による細胞内局在の解析

このように、定量的 RT-PCR や免疫染色による標的分子候補の発現の確認・定量、さらに抗体もなく細胞内局在が明らかでない分子に対しては、培養細胞における強制的遺伝子発現による細胞内局在の確認を行い遺伝子の絞り込みを行った。

乳がんの抗体医薬標的分子の選定を例として、これまで述べてきたカスタムアレイ発現データからの抗体医薬標的分子候補選定システムの流れを図 104 に示す。カスタムアレイに搭載されている遺伝子 17746 種類から、それぞれ 1 段階目のデータマイニング(出現頻度と発現量での絞り込み)およびテキストマイニング(膜局在推定による絞り込み)により遺伝子の絞り込みを行い、111 遺伝子を 1 次候補として選定した。次に、2 段階目のデータマイニング(各正常組織での発現を基にした絞り込み)およびテキストマイニング(各種がん細胞および正常組織での発現、細胞内局在などの確認による絞り込み)により 2 次候補として 18 遺伝子を選定した。さらに、ヒト臨床サンプルにおける定量的 RT-PCR、免疫染色、培養細胞における強制的遺伝子発現による細胞内局在の確認などの実験を行い、8 遺伝子を抗体医薬標的分子候補として同定した。このように、今回構築したこのシステムを用い、上記の乳がんを含め 12 種のがん(乳がん、大腸がん、大腸がん肝転移、食道がん、肺がん、軟骨肉腫、ユーイング肉腫、膝がん、肺がん、子宮体がん、卵巣がん、MFH、トリプルネガティブ乳がん)に対する抗体医薬新規標的分子候補 85 分子を同定した(表 9-1~3)。また、表 9-1 に示すように、各がん種で同定された抗体医薬標的分子候補を、出現頻度、発現量、正常組織での発現の有無、膜蛋白質であることの信頼度、がん特異性など、蓄積した情報をもとに優先順位を判定し、優先順位別に 3 つのグループ(A~C)に分類した。最も優先順位の高い A ランクの候補分子中から、特許等を考慮して他と競

合がないと思われる 9 分子を抗体作製と決定した。乳がんまたは大腸がんに関する 3 分子(Axxxxx1、Fxxxxx1、Gxxxxx1：表 9-1 赤色で表示)については東京大学先端科学技術研究センターに遺伝子情報の提供を行った。6 分子(Fxxxxx1、Sxxxxx1、AxxxxC、Sxxxxx2、Pxxxx7、Gxxx4：表 9-1～3)3 緑色で表示)については遺伝子情報に加え当該分子のタンパク発現ベクターの構築を行いカイオム社に情報を提供した。

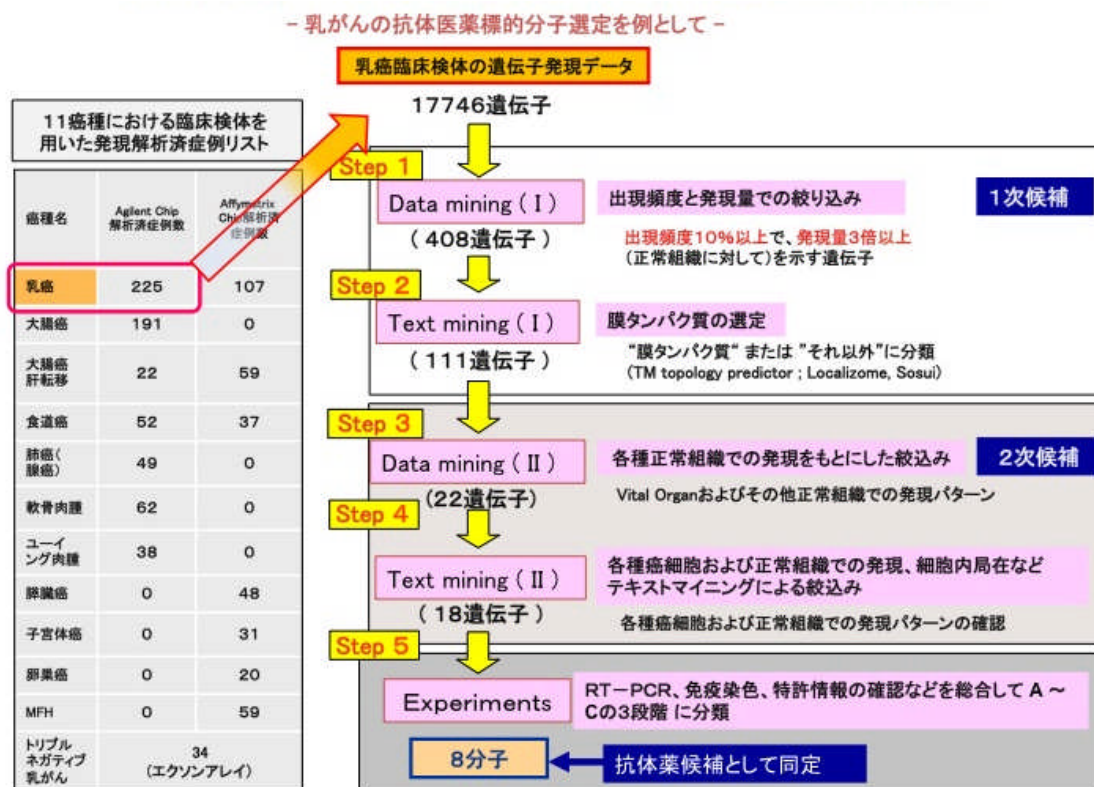


図 104 遺伝子発現データからの抗体医薬標的分子選定システムの確立

表 9-1 先進的遺伝子発現解析により同定された各がん種の抗体医薬新規標的分子のリスト

乳がん

	標的分子	膜貫通	他のがんで同定
Rank A	Fxxxxx2	7 回膜貫通	MFH (C)
	Axxxxx1	12 回膜貫通	
	Sxxxxx1	7 回膜貫通	
	Fxxxxx1	2 回膜貫通	MFH (A) 骨軟部 (A)
	AxxxxC	7 回膜貫通	
Rank B	Cxxxx1	1 回膜貫通	
	VxxxxM	2 回膜貫通	
	Lxxxx8	1 回膜貫通	大腸がん (B) 食道がん (B)

大腸がん

	標的分子	膜貫通	他のがんで同定
Rank A	Gxxxxx1	12 回膜貫通	肝転移 (A)
	Sxxxx2	7 回膜貫通	
Rank B	Lxxxx6	7 回膜貫通	
	SxxxxA3	12 回膜貫通	
	Lxxxx8	1 回膜貫通	乳がん (B) 食道がん (B)

表 9-2 先進的遺伝子発現解析により同定された各がん種の抗体医薬新規標的分子のリスト

大腸がん肝転移

	標的分子	膜貫通	他のがんで同定
Rank A	Sxxxx2	12 回膜貫通	大腸がん (A)
	Kxxxx8	8 回膜貫通	
Rank B	Txxxx4	5 回膜貫通	

食道がん

	標的分子	膜貫通	他のがんで同定
Rank A	GxxxxE	2 回膜貫通	
	UxxxxB	4 回膜貫通	
Rank B	Txxx6A	2 回膜貫通	
	PxxxxN	1 回膜貫通	骨軟部 (B)
	Dxxxx3	1 回膜貫通	

肺がん

	標的分子	膜貫通	他のがんで同定
Rank A	Lxxxx9	12 回膜貫通	
	Lxxxx3	1 回膜貫通	
Rank B	Rxxxx1	1 回膜貫通	
	HxxxxB	7 回膜貫通	

膵がん

	標的分子	膜貫通	他のがんで同定
Rank A	Sxxxx9	10 回膜貫通	
	Pxxxx7	1 回膜貫通	卵巣がん (A)
Rank B	cxxx61	1 回膜貫通	
	LxxxxK	2 回膜貫通	

軟骨肉腫

	標的分子	膜貫通	他のがんで同定
Rank A	Exxxx1	1 回膜貫通	
	AxxxxK	1 回膜貫通	ユーイング (A)
	RxxxxB	1 回膜貫通	
	Fxxxxx1	2 回膜貫通	MFH (A) 乳がん (A)
Rank B	GxxxxC	7 回膜貫通	ユーイング (B)
	PxxxxN	1 回膜貫通	食道がん (B)
	SxxxG1	1 回膜貫通	
Rank C	Dxxxx8	4 回膜貫通	ユーイング (B)

ユーイング肉腫

	標的分子	膜貫通	他のがんで同定
Rank A	Exxxx1	1 回膜貫通	
	AxxxxK	1 回膜貫通	骨軟部 (A)
Rank B	OxxxxW	7 回膜貫通	
	Uxxxx2	1 回膜貫通	
	BxxxxC	1 回膜貫通	
	GxxxxC	7 回膜貫通	骨軟部 (B)
	AxxxxR1	1 回膜貫通	
	Txxxx3	1 回膜貫通	
	Dxxxx8	4 回膜貫通	骨軟部 (C)
Rank C	GxxxxC	1 回膜貫通	卵巣がん (A) 子宮体がん (A) MFH (B)
	Lxxxx1	1 回膜貫通	

表 9-3 先進的遺伝子発現解析により同定された各がん種の抗体医薬新規標的分子のリスト

卵巣がん

	標的分子	膜貫通	他のがんで同定
Rank A	L0xxx5	1 回膜貫通	子宮体がん (A)
	C1xxx6	1 回膜貫通	子宮体がん (A)
	Gxxx4	7 回膜貫通	子宮体がん (A) ユーイング (C) MFH (B)
	Pxxxx7	1 回膜貫通	膀胱がん (A)
Rank B	VxxxN1	2 回膜貫通	
	Rxxxx83	1 回膜貫通	子宮体がん (A)
	L0xxx1	3 回膜貫通	
	GxxxD2	1 回膜貫通	

子宮体がん

	標的分子	膜貫通	他のがんで同定
Rank A	L0xxx5	1 回膜貫通	卵巣がん (A)
	GxxxxP	4 回膜貫通	
	Rxxxx83	1 回膜貫通	卵巣がん (B)
	C1xxx6	1 回膜貫通	卵巣がん (A)
	Sxxx35	1 回膜貫通	
	Gxxx4	7 回膜貫通	卵巣がん (A) ユーイング (C) MFH (B)
Rank B	PxxxxL1	1 回膜貫通	
	Gxxx2	3 回膜貫通	
	Lxxxx4	1 回膜貫通	
	Txxxx1	7 回膜貫通	

悪性線維性組織球腫(MFH)

	標的分子	膜貫通	他のがんで同定
Rank A	CHxxx5	4 回膜貫通	乳がん幹 (A) 膀胱がん幹 (A)
	Rxxxx2	7 回膜貫通	
Rank B	RxxxD2		
	Sxxx01		

乳がんトリプルネガティブ

	標的分子	膜貫通	他のがんで同定
Rank A	Lxxx15	1 回膜貫通	
	Fxxxxx1	2 回膜貫通	乳がん (A) 骨軟部 (A)
	Axxx12	1 回膜貫通	
	GPxxx8	1 回膜貫通	
Rank B	FxxxxB	4 回膜貫通	
	LxxxR1	7 回膜貫通	
	Gxxx4	7 回膜貫通	卵巣がん 子宮体がん ユーイング
	PxxxxS	3 回膜貫通	
	PxxxxR	7 回膜貫通	
	Rank C	TxxxF1	1 回膜貫通
Pxxxx1		1 回膜貫通	
Fxxxxx2		7 回膜貫通	乳がん (A)
SxxxC1		1 回膜貫通	
AxxxxL		1 回膜貫通	
PPxxxA		7 回膜貫通	

以上のように、12 種のがん(乳がん、大腸がん、大腸がん肝転移、食道がん、軟骨肉腫、ユーイング肉腫、膵がん、肺がん、子宮体がん、卵巣がん、MFH、トリプルネガティブ乳がん)に関して先進的発現プロファイリングによる標的分子探索を行い、新規医薬抗体標的分子 85 分子を同定した。以下に、我々がこれまでに同定した 85 分子の代表例として、抗体作製分子と決定した乳がんにおける標的分子候補 2 種および大腸がんにおける標的分子候補 1 種の詳細を示す。

まず、乳がんにおける 2 種の標的分子候補、Axxxxx1 および Fxxxxx1 の各々の全解析症例(101 例)における陽性率は、それぞれ 11%および 33%であり、定量的 RT-PCR による発現量の検証では、マイクロアレイとの間に高い相関を示した(Pearson=0.99 および 0.84)(図 105-108)。図 105、107 に、乳がん症例と各種正常組織における Axxxxx1 および Fxxxxx1 の発現解析結果とアミノ酸配列を基にした細胞内局在の推定、図 106、108 に Axxxxx1 および Fxxxxx1 の定量的 RT-PCR による発現解析の結果を示す。Axxxxx1 および Fxxxxx1 陽性症例での発現量の平均は、カスタムアレイに搭載されている全遺伝子の各症例での発現量の平均と比較して、それぞれ 10 倍および 8 倍といずれも高値を示した。さらに、Axxxxx1 の正常組織での発現は、乳腺上皮および精巣でわずかに認められたが、陽性症例の発現量の平均は、それら 2 つの正常組織の発現量の 20 倍以上であった(図 102)。また、Fxxxxx1 の正常組織での発現は、胃、網膜および乳腺上皮で発現が認められたが、陽性症例の発現量の平均は、正常組織の中で最も発現の高かった網膜および乳腺上皮の発現量の 4 倍以上であった(図 107)。

乳がん症例においては図 106、108 に示すように、対象として、乳がんの分子標的薬剤(抗体医薬)であるハーセプチンのターゲット分子、ErbB2 の発現量を定量的 RT-PCR で測定した。今回測定した ErbB2 陽性症例(5/11、赤棒)での発現量は、195-6465 (copies/ β -actin mRNA 10^4 copies)、平均 581(copies/ β -actin mRNA 10^4 copies)であった。一方、Fxxxxx1 陽性症例(赤棒)での Fxxxxx1 発現量は、11-74(copies/ β -actin mRNA 10^4 copies)、平均 32(copies/ β -actin mRNA 10^4 copies)であり、ErbB2 の陽性症例での発現と比較して低値を示したが、Axxxxx1 の発現量は、陽性症例で 1716-3770(copies/ β -actin mRNA 10^4 copies)、平均 2453(copies/ β -actin mRNA 10^4 copies)であり、ErbB2 の陽性症例での発現と比較して同等またはそれ以上の発現量であった。

大腸がんにおける標的分子候補 Gxxxxx1 の、大腸がん症例と各種正常組織における発現解析結果とアミノ酸配列を基にした細胞内局在の推定を図 109 に示す。全解析症例(164 例)における陽性率は 15%であり、その発現量の平均は、カスタムアレイに搭載されている全遺伝子の各症例での発現量の平均と比較して、2.3 倍であった。一方、各種正常組織での Gxxxxx1 の発現は、検討したすべての正常組織でほとんど認められなかった(図 110)。

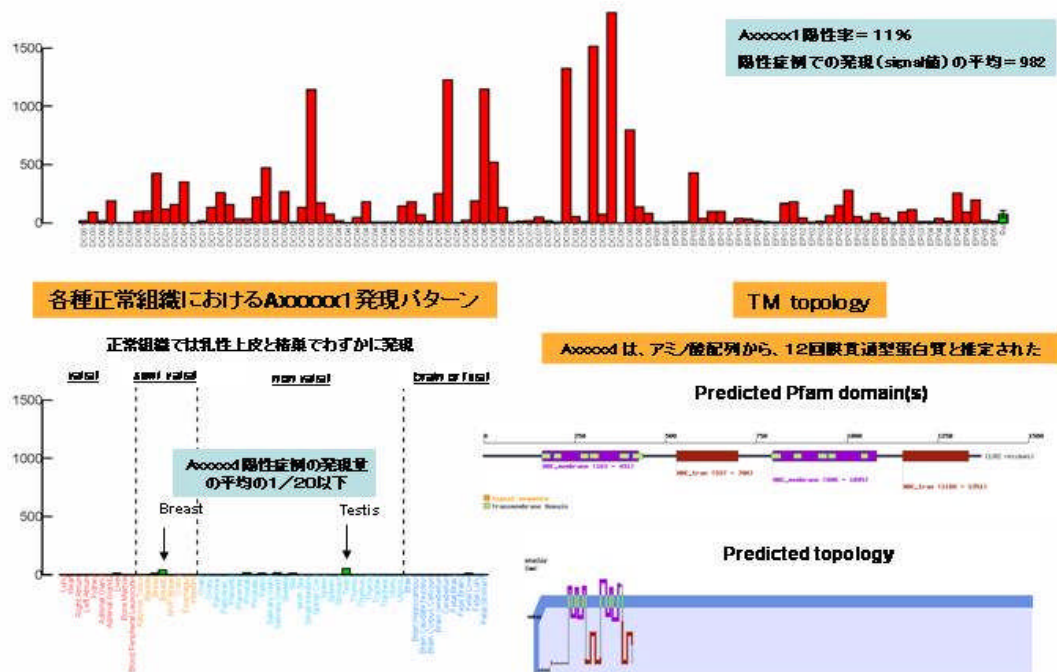


図 105 乳がん臨床例(101例)における Axxxxx1 の発現パターン

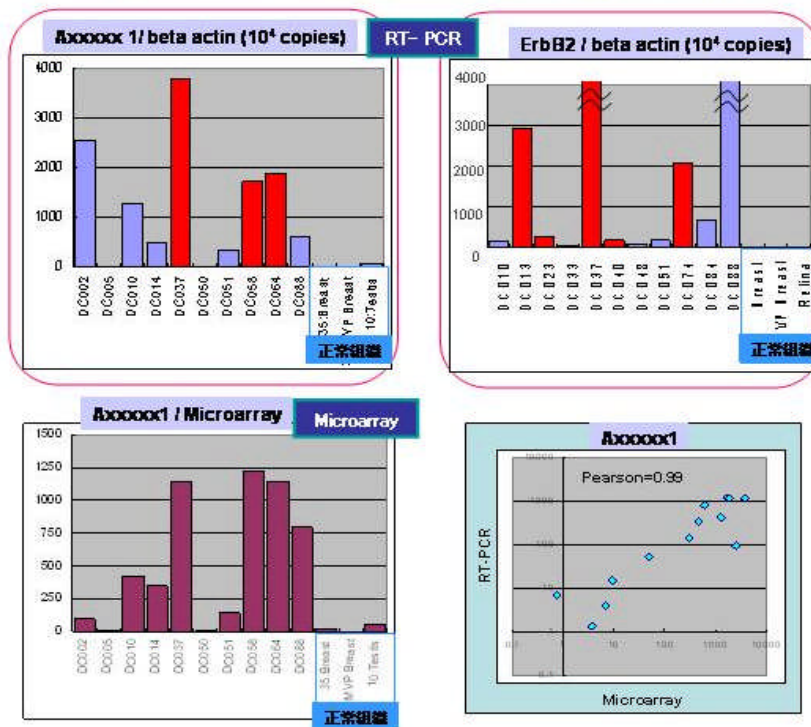


図 106 乳がん臨床例における Axxxxx1 の定量的発現解析

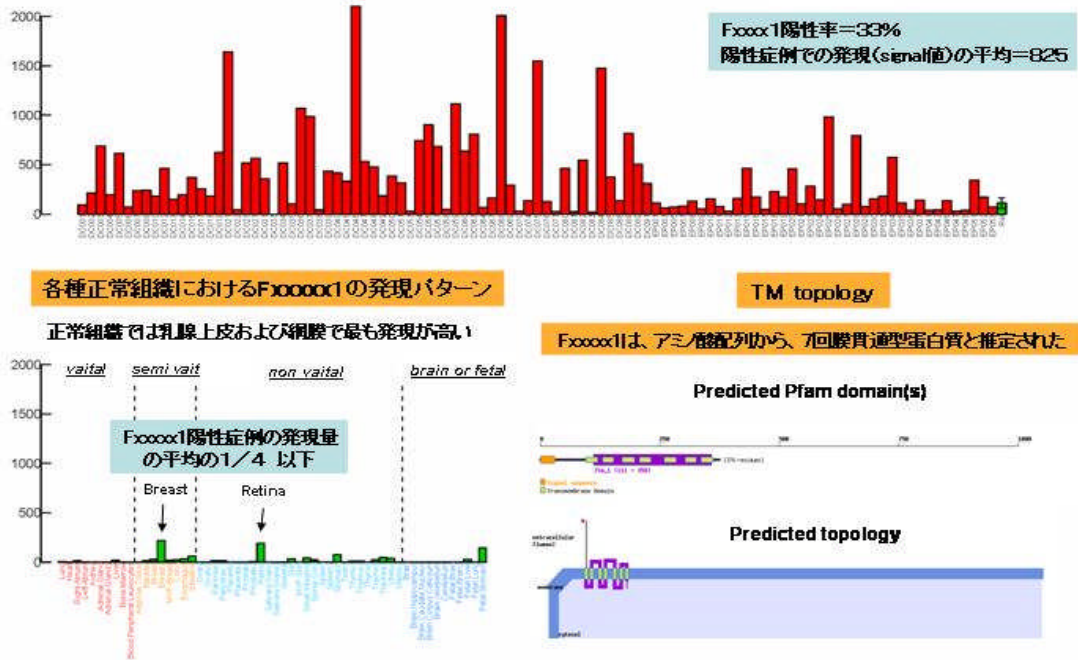


図 107 乳がん臨床例(101例)における Fxxxxx1 の発現パターン

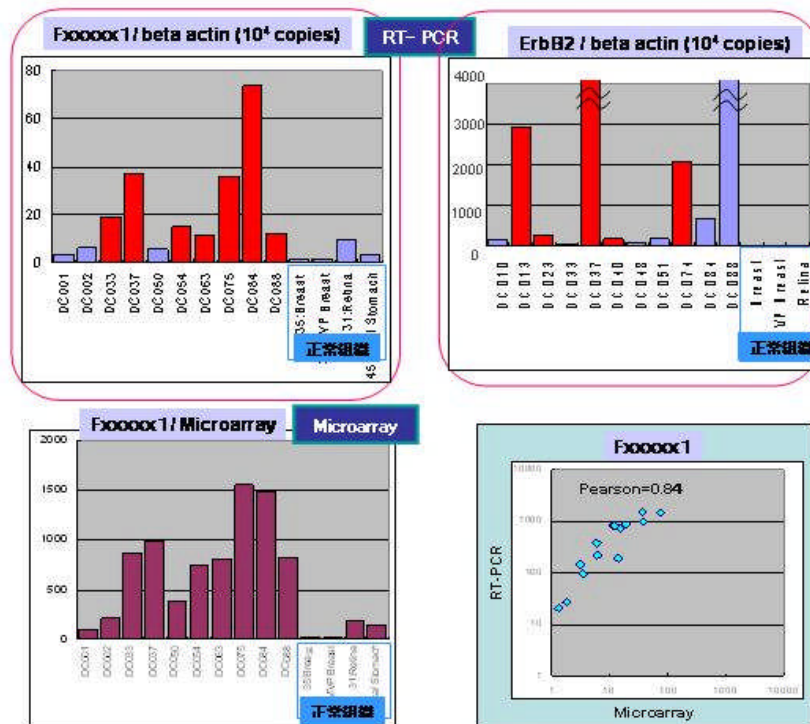


図 108 乳がん臨床例における Fxxxxx1 の定量的発現解析

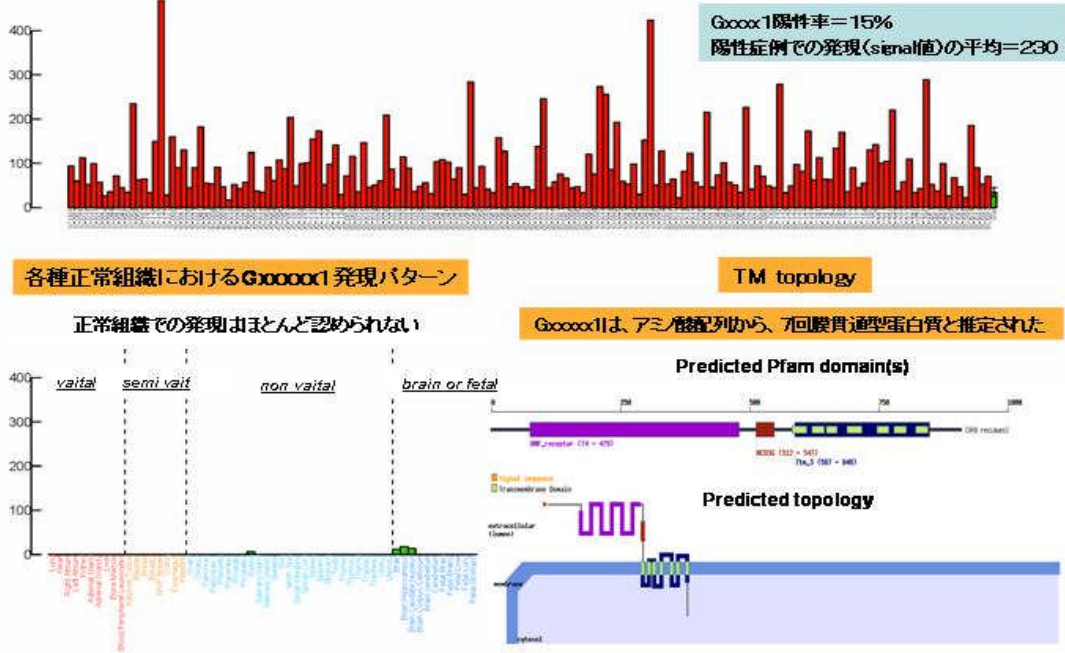


図 109 大腸がん臨床例(164 例)における Gxxxx1 の発現パターン

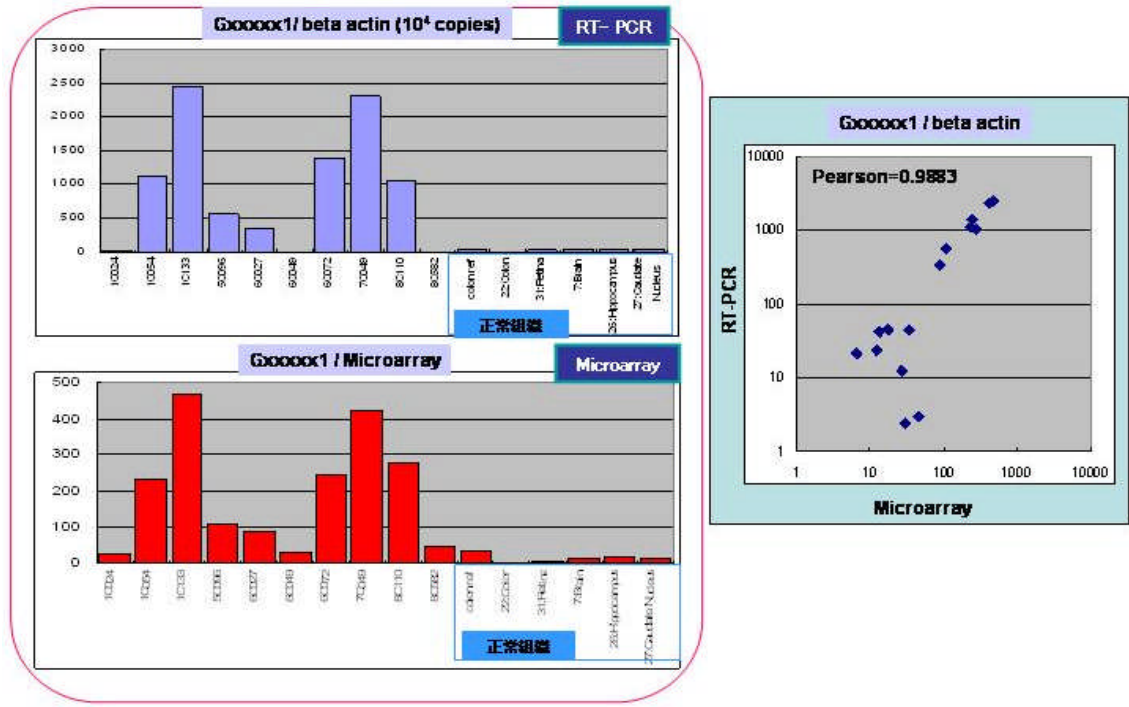


図 110 大腸がん臨床例における Axxxx1 の定量的発現解析

我々は、上記に示すように、高機能抗体の標的となる候補分子を同定する目的で、従来蓄積してきた各種ヒトがんサンプルに対してカスタムアレイ、U133P2アレイ、エクソンアレイによる遺伝子発現解析を行い、これを既に蓄積されている癌研がんゲノムデータベース中の発現プロファイルデータと併せて解析することにより抗体医薬標的分子候補の抽出システムを構築し、12種のがん(乳がん、大腸がん、大腸がん肝転移、食道がん、軟骨肉腫、ユーイング肉腫、膵がん、肺がん、子宮体がん、卵巣がん、MFH、トリプルネガティブ乳がん)に関して先進的発現プロファイリングによる標的分子探索を行い、新規医薬抗体標的分子 85 分子を同定した。最も優位性の高い 9 分子に関しては抗体作製分子と決定し、乳がんまたは大腸がんに関する 3 分子(Axxxxx1、Fxxxxx1、Gxxxxx1)については東京大学先端科学技術研究センターに遺伝子情報の提供を行った。残る 6 分子(Fxxxxx1、Sxxxxx1、AxxxxC、Sxxxx2、Pxxxx7、Gxxx4)については遺伝子情報に加え当該分子のタンパク発現ベクターの構築を行いカイオム社に情報を提供した。

h)がん幹細胞を標的とする新規医薬抗体標的分子の探索

悪性腫瘍は不均一であり、未分化な細胞から分化した細胞まで存在し、階層性を形成していることが多い。その中で自己複製能力を有し、分化可能な、がん幹細胞と呼ばれる細胞集団の存在が示唆されている。このがん幹細胞が抗がん剤や放射線療法に対する抵抗性や再発、転移に関与していると考えられることから、がん幹細胞を標的とする新たな治療法の開発が望まれている。そこで、がん幹細胞を標的とする新規医薬抗体標的分子を同定するため、難治性がんである膵がんと罹患数の多い乳がんのみに注目し、培養細胞からがん幹細胞を分離し遺伝子発現解析によって、がん幹細胞特異的な発現を示す分子の探索を行った。

ヒトがん細胞の表面抗原の発現パターンによる、がん幹細胞の同定には、多くの報告がなされているが、ヒト膵がん細胞では、表面抗原マーカーCD24(シアロ糖蛋白)、CD44(ヒアルロン酸結合蛋白)、ESA(ヒト上皮抗原 HEA)の全てが陽性の細胞にがん幹細胞が含まれることが報告されている。乳がんに関しては、CD44 陽性かつ CD24 陰性細胞が、がん幹細胞としての特徴を持つという論文が多く、また ALDH1(アルデヒド脱水素酵素)の発現が高い細胞が、がん幹細胞であるという報告もある。

そこで、ヒト膵がん培養細胞株のうち原発性膵がん由来株 11 例、転移性膵がん由来株 6 例に対して、CD24、CD44、ESA の 3 つの抗体で免疫染色し、FACS Aria にてそれぞれの細胞の陽性率を比較した。このうち CD24、CD44、ESA 全てが陽性の細胞分画が認められた 8 例について、全ての抗原マーカーが陽性の細胞、すなわち膵がん幹細胞を分離し、RNA を抽出した。U133P2アレイおよびエクソンアレイを用いて、膵がん幹細胞の遺伝子発現解析を行った。(図 111)

次に、本プロジェクトで開発した抗体医薬標的分子選定システムを用いて標的分子の探索を行った。Step1 から Step4 までの絞り込みを行い、U133P2アレイデータからは

12 分子を、エクソンアレイデータからは 25 分子を候補分子として絞り込んだ。このうち 10 分子は U133P2 アレイデータとエクソンアレイデータの両方で共通であった。これらについて出現頻度、発現量、正常組織での発現の有無、膜蛋白質であることの信頼度、がん特異性など、蓄積した情報をもとにした検討を行い、膵がん幹細胞に対する新規医薬標的分子を 10 分子決定した。(表 10)

また、ヒト乳がん培養細胞株 34 例に対して、CD24、CD44 の 2 つの抗体で免疫染色し、FACS Aria にて CD44 陽性かつ CD24 陰性細胞割合を比較した。このうち、CD44 陽性かつ CD24 陰性の細胞分画が認められた 5 例についてソーティングを行い、乳がん幹細胞と考えられる CD44 陽性かつ CD24 陰性の細胞を分離した。Affymetrix U133 および Exon array を用いて、正常細胞とがん幹細胞との発現パターンを比較し、遺伝子発現解析を行った。(図 111)

上記と同様に標的分子の探索を行った。Step1 から Step4 までの絞り込みを行い、U133P2 アレイデータからは 10 分子を、エクソンアレイデータからは 24 分子を候補分子として絞り込んだ。このうち U133P2 アレイデータとエクソンアレイデータの両方で共通であった分子は 1 分子であった。これらについて出現頻度、発現量、正常組織での発現の有無、膜蛋白質であることの信頼度、がん特異性など、蓄積した情報をもとにした検討を行い、乳がん幹細胞に対する新規医薬標的分子を 5 分子決定した。(表 10)

表 10 先進的遺伝子発現解析により同定された膵がん、乳がん幹細胞に対する抗体医薬標的分子のリスト

膵がん幹細胞標的候補分子

	標的分子	膜貫通	他のがんで同定
Rank A	PxxxP1	1回膜貫通	
	PxxAP1	2回膜貫通	
	FxxxP1	1回膜貫通	
	TxxxP6	2回膜貫通	
	SxxxP5	9回膜貫通	
Rank B	AxxxxG	1回膜貫通	
	Gxxxx7	7回膜貫通	
	Dxxxx2	1回膜貫通	
	AxxxxP	1回膜貫通	
	CHxxx5	4回膜貫通	乳がんトリプルネガティブ(A) 乳がん幹細胞(A)

乳がん幹細胞標的候補分子

	標的分子	膜貫通	他のがんで同定
Rank A	CxxxB5	1回膜貫通	
	CHxxx5	4回膜貫通	乳がんトリプルネガティブ(A) 膵がん幹細胞(A)
Rank B	Gxxx3	3回膜貫通	
	SxxxF2	12回膜貫通	
	Vxxx1	4回膜貫通	

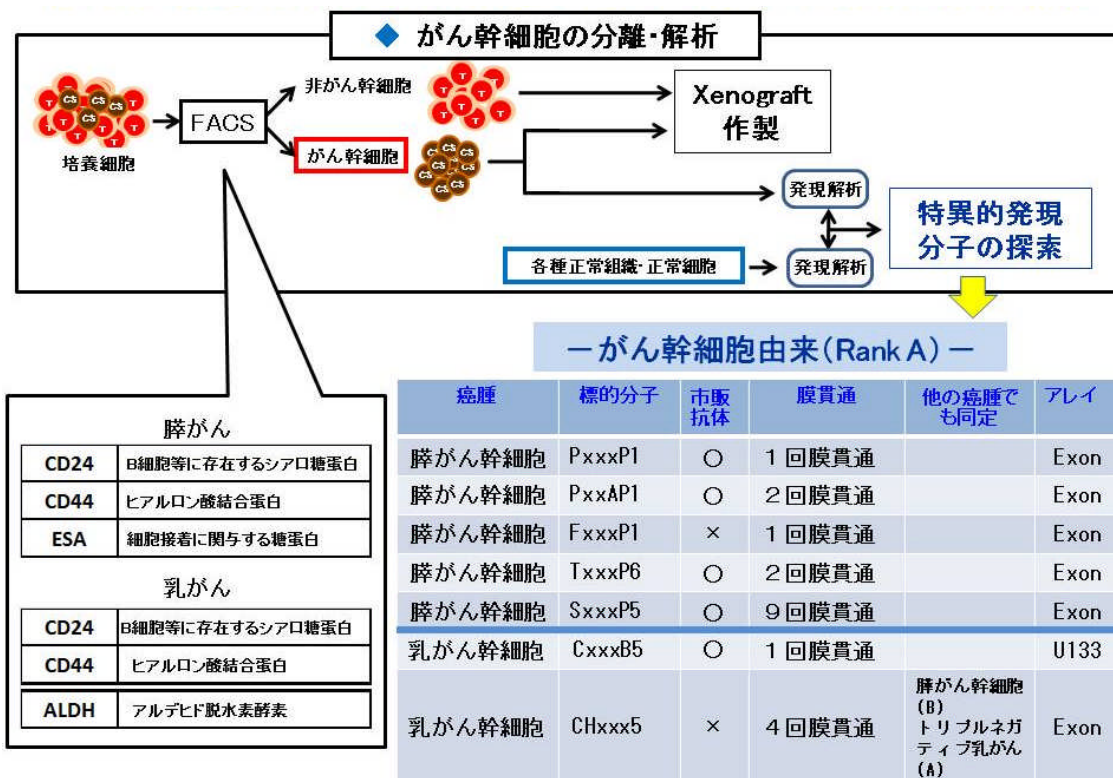


図 111 がん幹細胞由来の遺伝子発現プロファイリングによる標的の探索

図 112 に、膵がん幹細胞の新規標的候補分子の一例を示す。FxxxP1 は正常組織では精巣と子宮で発現をみとめるが、他の主要臓器での発現は低い。また臨床膵がんサンプルでは正常との比較で 3 倍以上の発現があるものはないが、膵がん幹細胞では 8 例すべてにおいて 5 倍以上の発現をみとめた。したがってこの分子は膵がん幹細胞特異的に発現していると考えられた。

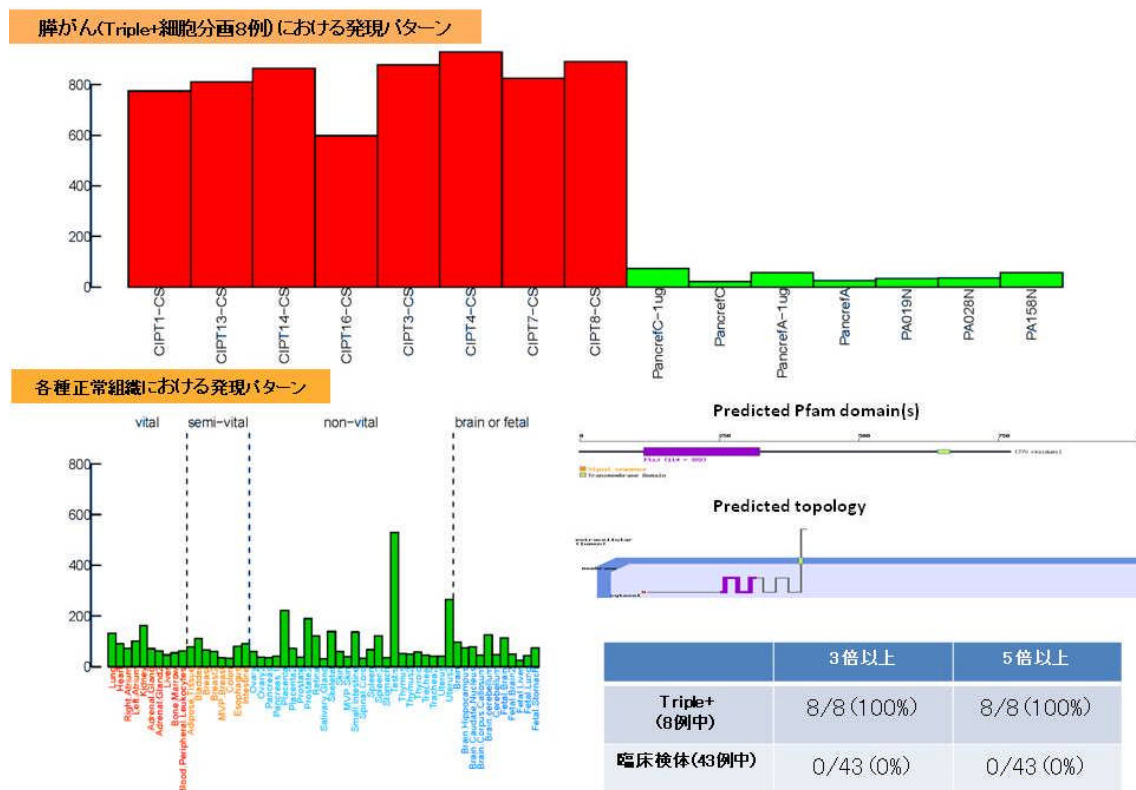


図 112 抗体医薬新規標的分子(膵がん幹細胞)-FxxxP1-

以上のように、膵がんおよび乳がん培養細胞株由来のがん幹細胞に関し先進的発現プロファイリングによる標的分子探索を行い、新規医薬抗体標的分子として膵がん 10 分子、乳がん 5 分子を同定した。

B)エクソンアレイを用いた標的候補分子の探索

先進的発現プロファイリングにより医薬抗体標的分子候補を探索するため、エクソンアレイ(GeneChip Human Exon 1.0 ST array)を用いて、既に 100 例を超える数の発現解析を行った。また、解析と並行して臨床腫瘍検体の収集は 16 種のがんに対して継続中であり、このうち 11 種のがんについては、各 100 症例を超える数の検体の収集を終え、収集された総検体数は 8948 例にのぼる。

これと並行して、臨床検体を解析する場合のサンプル量の違いによる発現量特性(再現性)を解明し、臨床検体に対する解析法を決定した。さらに、エクソンアレイ解析の本来

の目的である「がん特異的な遺伝子転写産物の同定」を行うためのプログラム開発に加え、エクソンアレイを包括的発現解析に用いるためのプログラム開発を行った。

a)アレイの重なるの検討とエクソンアレイ解析における実験法別再現性の検討

最初に、エクソンアレイを発現アレイとしての利用する場合に新たに解析結果を得ることのできる抗体医薬標的分子候補の数を検討するため、Affymetrix 社製 U133 Plus2.0 アレイと癌研究会ゲノムセンターが設計した Agilent 社の長鎖オリゴカスタムアレイと、エクソンアレイに搭載されている遺伝子の比較を行った(図 113)。遺伝子数の算定および種類の同異判定は、1)-A)-a)節に記述した Unigene ID を用いる方法で行った。前述したように Affymetrix U133 Plus2.0 アレイには 23,934 種の遺伝子が、癌研カスタムアレイには 17,746 種の遺伝子が搭載されている。エクソンアレイには 20,981 種の遺伝子が搭載されており、そのうちの 3,197 種は、Affymetrix U133 Plus2.0 アレイには搭載されず、エクソンアレイのみに搭載されている遺伝子であることが判明した。これまでに同一検体のカスタムアレイと Affymetrix U133Plus2.0 の両アレイを用いた解析結果から、Affymetrix U133 Plus2.0 アレイには十分に機能していないプローブセットが約 5%存在していることが判明している。これらの結果を考慮すると、エクソンアレイを用いることによってエクソンアレイのみに搭載された遺伝子(3,197種)と U133 アレイではプローブが不良で解析できなかった遺伝子(約900種)の合計約4,000種の遺伝子の発現が新たに解析できると推測された。そのため、本来エクソンアレイは「がん特異的な遺伝子転写産物を同定」することにあるが、本事業においては同時にこれを包括的発現解析のツールとしても用いることにより、併行して行っている癌研カスタムアレイによる解析に加え、さらに 4000 種の遺伝子に関して、抗体医薬の標的分子となる可能性を検討することとした。

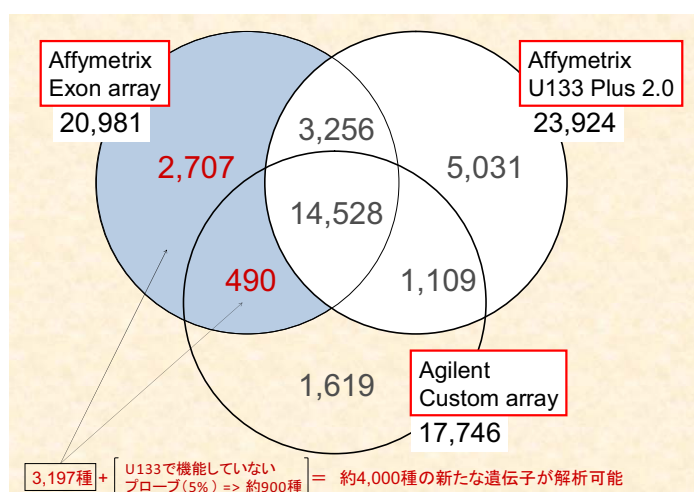


図 113 各アレイの遺伝子数

次に、エクソンアレイ解析を実際の臨床検体を用いて行う際に、特定の種類のがんで、使用可能な検体量が限定される場合があるため、RNA量に応じた解析法の特徴を明らかにした(図 114)。1 μ g の total RNA から ribosomal RNA を取り除いたサンプルを用いるリボマイナス法と、100ng の total RNA から ribosomal RNA を取り除かずそのまま使用するリボプラス法の比較を行った。膀胱がん培養細胞株の同一サンプルを繰り返し測定し、リボマイナス法とリボプラス法それぞれの発現特性の違いを検討した。その結果、リボプラス法を用いた発現量はリボマイナス法よりも低い値が観測される傾向が見られたが、2 種の方法の発現量の相関係数は 0.93 から 0.96 と高い相関を示していた。そこで、本プロジェクトでは臨床検体をエクソンアレイで解析する場合、laser capture microdissection(LCM)により正確にがん細胞のみを採取し 100ng の total RNA を抽出、リボプラス法を用いて発現プロファイルを解析することに決定した。



図 114 サンプル量の違いによる発現量特性(再現性)の解明

b) エクソンアレイ解析のための臨床検体の収集

エクソンアレイ解析のため、16 種類のがんの臨床検体の収集を開始し、11 種類のがん(乳がん、食道がん、膀胱がん、大腸がん、大腸がん肝転移、胃がん、子宮頸がん、子宮体がん、卵巣がん、MFH、甲状腺がん)において、それぞれ 100 症例を超える数の検体を収集した。その多くに関しては、既にマイクロダイセクションを行ってがん細胞のみを採取し、RNA の抽出を終えている。収集を行った臨床検体の一覧を表 11 に示す。

表 11 収集臨床検体一覧

癌研究会ゲノムセンター凍結保存臨床検体一覧

癌種名	総検体数	生検検体数	OPE検体数	Agilent 解析済症例数	Affymetrix 解析済症例数
乳癌	3290	416	2874	173	279
食道癌	708	434	274	52	36
膵癌	243	0	243	0	58
大腸癌	4112	2571	1589	191	0
大腸癌肝転移	385	0	385	22	25
胃癌	1315	1103	212	0	0
胆管癌	49	0	49	0	11
子宮頸癌	198	39	159	0	0
子宮体癌	417	0	417	0	31
卵巣癌	272	0	272	0	20
MFH	182	0	117	0	59
EWING	38	38	0	38	0
骨・軟部腫瘍	1566	57	1509	63	0
甲状腺癌	238 髄様癌 10 未分化癌 6	0	238	0	0
肝癌	217	0	217	0	5

c)エクソンアレイによる発現情報の解析

まず最初に、膵がん細胞株 20 種と乳がん細胞株 24 種とをエクソンアレイを用いて解析し、これら発現データを用いて、1)-B)-a)節で記載したエクソンアレイ解析における実験法別再現性の検討を行った。また、次節で説明するがん特異的な遺伝子転写産物の同定するためのプログラムを用いて、がん特異的な遺伝子転写産物を同定するためにこれらの発現データを用いた。

さらに、収集した臨床腫瘍検体の中から Agilent 社の癌研カスタムアレイで解析を行っていないがんを中心に、既に 100 例を越える検体に対してエクソンアレイによる発現解析を行った。各がん種における解析症例数は以下の通りである。

表 12 各がん種における解析症例数

がん種名	解析症例数
膵臓がん細胞株	20
正常膵組織	5
乳がん細胞株	24
正常乳腺培養細胞	2
正常乳腺組織	5
乳がん組織	86
骨肉種組織	15
骨肉種細胞株	2
正常骨培養株	1

d)エクソンアレイを包括的発現解析に用いるためのプログラムの開発

エクソンアレイの既存の解析ソフトウェアで使われている遺伝子レベルの発現量推定法は、解析したい全サンプルのアレイデータの情報を用いて、各々のサンプルの発現量を計算する。従って、既存の方法では、サンプルが追加されるたびに推定発現量を再計算する必要があり、また推定値自身も変わってしまうため、データベースに保存するための数値情報としては適していない。そこで、1 サンプルごとに遺伝子レベルの発現量の推定をする方法を開発した。取り扱うエクソンアレイデータは、アノテーション情報の確かな core プロブセットのみとした。推定アルゴリズムとしては、1 つの遺伝子の中にある core プロブセットのプロブのシグナル値とバックグラウンド値のそれぞれについて外れ値を取り除いた平均値を計算し、これらシグナル値とバックグラウンド値の平均値の差を遺伝子レベルの発現量とした。なお、平均値の計算には Tukey's biweight 法を用いた。

この方法の有用性を確認するため、20 種の膵がん細胞株と 1 つ正常組織の遺伝子発現を U133 アレイとエクソンアレイによって計測し、がん特異的に発現の高い遺伝子の探索を行った。U133 アレイとエクソンアレイで共通する約 18000 遺伝子について発現量を比較し、U133 アレイではがんと正常で発現差がないが、エクソンアレイでは発現差が認められる遺伝子を探索した。探索の条件として、(1)U133 アレイでは正常に比べて発現が 2 倍以上のがん細胞株が 10%未満(1 株以下)、(2)エクソンアレイでは正常に比べて発現が 5 倍以上のがん細胞株が 20%以上(4 株以上)に設定し探索した。その結果、エクソンアレイによってのみがん特異的な発現を確認することができた遺伝子 215 個を同定することができた。このように本開発プログラムを用いたエクソンアレイデータを用いることにより、U133 アレイデータでは見落とされていたがん特異的に発現の高い遺伝子の同定が可能であることが示された。

e)がん特異的標的分子探索のためのプログラム開発

エクソンアレイ解析のためのプログラム開発では、エクソンアレイ解析の本来の目的である「がん特異的な遺伝子転写産物を同定」するためのプログラム開発に加えて、エクソンアレイを包括的発現解析に用いるためのプログラム開発も行った。

最初に、後者のエクソンアレイを包括的発現解析のために用いるプログラムについて説明する。このプログラムでは、1 つの遺伝子内の多数のエクソン発現データから 1 つの遺伝子発現量を計算し、カスタムアレイで解析したようにがん特異的に発現する遺伝子を抽出することができる。具体的には、複数のエクソン発現データから 1 つの遺伝子発現量を計算する際には、遺伝子内の統計学的異常値と判定されるエクソン発現値を有するエクソンは除外し、残りの比較的類似する発現量を持つエクソンを用いて平均的な遺伝子発現量を計算する。次に、カスタムアレイと同様に発現が上昇している検体の割合やレファレンス(対象がん種に対する正常組織)に対する発現量比を用いて遺伝子を抽出

する。閾値を変更させ、遺伝子発現量別に条件を満足するがん検体の数を集計表として出力する。また、データベース化した 55 種類の正常組織のエクソンアレイデータをプログラムで参照し、vital な臓器で高発現が見られる遺伝子は候補から除外する。エクソンアレイは従来のアレイよりも多くのプローブセットの値が利用できるため、本プログラムの開発により、エクソンアレイを従来の解析よりもより正確でより多くの遺伝子をカバーする遺伝子発現解析アレイとして用いることが可能となった。

次に、がん特異的な遺伝子転写産物を同定するためのプログラム開発では、抽出する対象に応じて、3 種類のプログラム(A、B、C)を作成した(図 115)。

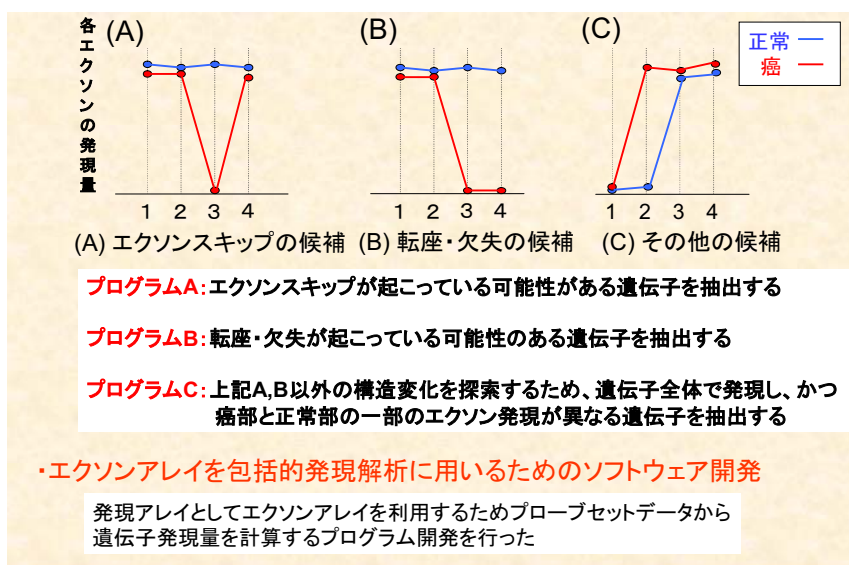


図 115 がん特異的標的分子探索のためのプログラム開発

プログラム A は、がん特異的な構造変化としてエクソンスキップが生じている遺伝子を抽出するプログラムで、がん部のエクソンスキップと、正常部のエクソンスキップのそれぞれを探索可能とした。さらに、1つのエクソン内に複数のプローブセットが存在する場合にも、そのエクソン内の変異の検出が可能である。プログラム B は、転座・欠失が生じている遺伝子を抽出するプログラムで、5'側のプローブセットは発現が認められるが、その隣のプローブセットから 3'側のプローブセットが全て連続して低発現である遺伝子を探索するプログラムである(5'と 3'が逆の場合も探索可能)。探索プログラム C は、がん部と正常部の間でがん特異的な構造変化を A、B のプログラムのように特定せず、多様な構造変化の探索を行う。そのため、遺伝子全体と各エクソンの発現量の両者を利用し、遺伝子全体ではがん部と正常部で共に有意に発現しているが、一部のエクソンにおいて発現量ががん部と正常部とで統計的に異なっている遺伝子を抽出するプログラムである。各プログラムとも、がん特異的な構造変化が一例の症例でも条件を満たせば候補遺伝子を抽出できるように開発を行った。

f)がん特異的な転写産物が同定された結果

がん特異的な遺伝子転写産物を同定するために開発した各プログラム A、B、C を用いて、膵がん細胞株 20 株と正常膵組織 5 例に対してエクソンアレイ解析を行って得られたデータセットと、乳がん細胞株 24 種、正常乳腺培養細胞 2 株と正常乳腺組織 5 例、乳がん組織 86 例、さらに骨肉腫組織 15 例、骨肉腫細胞株 2 例、正常骨培養細胞 1 例のデータセットに対して解析を行った。各プログラムから抽出された候補遺伝子の数、がん特異的なスプライスフォームを RT-PCR で確認した遺伝子数と、がん特異的な転写産物が確認された数を図 116 左に示す。プログラム C で探索した候補遺伝子に対して変異が確認された遺伝子は、プログラム A または B で探索した結果と一部一致していたが、プログラム A、B と比較し感度が低いため、中間評価以降はプログラム A または B を中心に改良・チューニングを行い解析を進めた(現在論文準備中)。

膵がんに対してプログラム A から抽出された遺伝子数は合計 620 個であった。ある特定のエクソンで発現量が低く抽出条件を満足していても遺伝子全体で発現量が低い場合は、観測値自体の偶然変動や測定誤差の影響により抽出条件をクリアした可能性が高いため、そのような遺伝子は RT-PCR の実験候補から除外した。さらに、抽出条件を満足したエクソン以外のエクソンにおいて発現量の分散が大きい遺伝子を優先的に選択し RT-PCR 実験を行った。膵がんでは RT-PCR 実験を行った遺伝子数は現在までに 31 個である。その中で、中間評価以前では、プログラム A を用いて膵がん 20 株のエクソンスキップを探索し実験を行った 2 遺伝子中の 1 遺伝子(SLxx)においてがん細胞株に特異的なエクソンスキップが確認された。さらに中間評価以降、膵がんエクソンアレイデータに対するプログラム A の解析を継続し、現在までに計 9 個の遺伝子においてがん細胞株に特異的なエクソンスキップを発見した。なお、乳がんでは合計 163 遺伝子が候補遺伝子として抽出され、その内 3 個の遺伝子を RT-PCR の実験で確認を行ったが、エクソンスキップが確認された遺伝子は検出されなかった。

がんにて異質な構造を有するキメラ遺伝子の探索に関してはプログラム B による解析を行い、6 遺伝子(膵がん細胞株および臨床検体に発現している 2 遺伝子、乳がん細胞株 2 遺伝子、乳がん臨床検体 1 遺伝子、骨肉種臨床検体 1 遺伝子)においてがんにて異質な構造を有する融合遺伝子を発見した(図 116 右参照)。膵がん細胞株において確認された LOxxx-EAxxx については、今後も継続して解析を行う予定である。

プログラムA(特異的エクソン)を用いた探索				プログラムB(転座・欠失による変異転写産物)を用いた探索						
候補遺伝子 (がん細胞株)	細胞株: ×	正常でエクソスキップ 感測で遺伝的スプライシング: 有: ○ 無: ×	正常組織での発現 有: ○ 無: ×	がん種	融合 遺伝子	細胞株	臨床 検体	コドン 読件	細胞株 同在下列	
VPXX	△ (2/20)	○ 正常: 2-4 異常: 2-3-4	△ 骨格筋?	膵がん 細胞株	RLXXX- ZMXXX	○ (1/20)	○ (1/58)	in frame	×	
TPXX	×	○ 正常: 12-14 異常: 12-13-14	△ 胚レベル		LOXXX- EAXXX	○ (3/20)	○ (3/9)	in frame	△	
COXX	×	○ 正常: 6-7 異常: 6-6-7	×		乳がん 細胞株	ZMXXX- CEXXX	○ (1/24)	×	out of frame	×
CTXX	×	○ 正常: 1-3 異常: 1-2-3	×	DOXXX- CDXXX		○ (1/24)	×	out of frame	×	
SLXX	×	×	○ 胚レベルで正常	乳がん 器者		ITXXX- RBXXX	×	○ (1/52)	in frame	×
TPXX	×	○ 正常: 5-7 異常: 5-6-7	○ 胚レベルで正常・胚・胎児		骨肉腫 器者	MEXXX- GNXXX	×	○ (1/33)	out of frame	×
SHXX	×	×	○ 胚レベルで正常・胚・胎児							
CDXX	○ (3/8)	○ 正常: 5-12 異常: 5-11-12	×							
NRXX	○ (4/20)	○ 正常: 10-18 異常: 10-11-18	×							

図 116 がんの特異的な構造を有するキメラ遺伝子の探索

C)LIMS システムの開発

匿名化患者情報とエクソンアレイやプロテオーム解析、ノックアウトマウス作製実験等の各種実験情報・結果を一元的に管理するための実験情報管理システム(LIMS)は初年度に開発を終了し、以後、本プロジェクトで使用する臨床検体に対する匿名化システムとの連携を可能としたシステムとして運用した。

2)マウス発生工学を用いた有効な抗体作製技術の開発

高機能抗体の標的として同定される候補分子の多くは種を越えて広く保存されており、このようなタンパク質に対する抗体作製は免疫寛容が起こり易いため困難なことが多い。そこで、種を越えて広く保存されている標的候補分子については免疫寛容を回避するためにマウス発生工学を用いてこれらの標的候補分子を欠失したノックアウトマウスを作製し、このマウスを用いて標的候補分子に対する抗体作製を行う必要がある。そこで我々は、PCR 法を用いて迅速にターゲティングベクターを作製するシステムを開発し、さらに、連続的に体外受精を繰り返すことにより迅速にノックアウトマウスを作製するシステムを開発した。このシステムを用いて、9 種類の抗体標的候補分子についてノックアウトマウスの作製に着手し、現在までに 6 種類の抗体標的候補分子のノックアウトマウスを開発した。

さらに、バキュロウイルス抗原発現系を用いた高機能抗体の作製を効率的に行うために、gp64 トランスジーンを導入したノックアウトマウスの作製を 3 種類の抗体標的候補分子について完了した。

A) 迅速なノックアウトマウス作製システムの開発(図 117)

a) 迅速なターゲティングベクター作製システムの開発

先進的発現プロファイリングにより同定された抗体標的候補分子についてノックアウトマウスの作製を迅速に行うために、ターゲティングベクター作製を迅速に行うシステムを開発した。

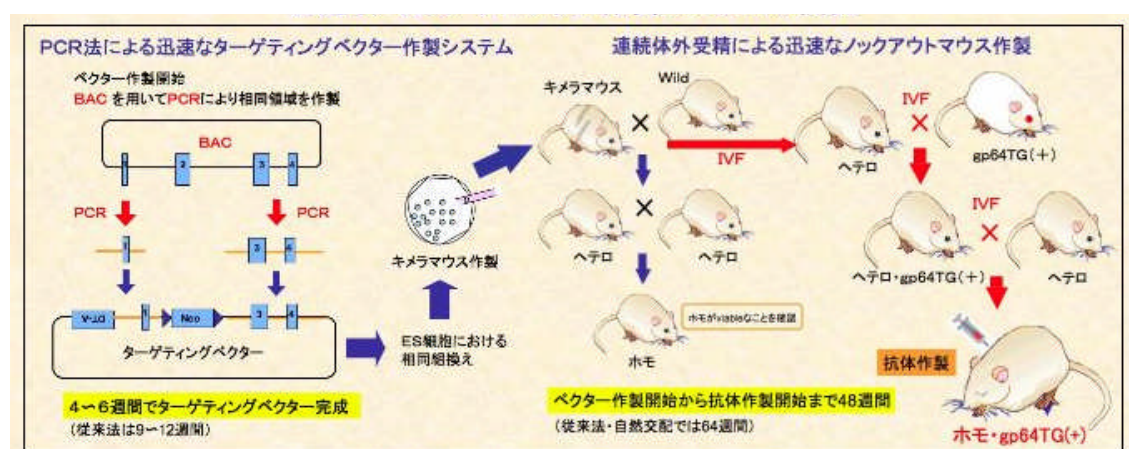


図 117 迅速なノックアウトマウス作製システムの開発

このシステムでは、同定された標的分子について Ensemble データベースから得た遺伝子情報情報をもとに標的エクソンを選定し、ターゲティングストラテジーを作成する。そして、目的とする標的遺伝子領域を含むマウス ES 細胞ゲノム DNA の BAC クローンを取得し、これをテンプレートとして PCR により 5'相同領域および 3'相同領域を増幅し、DTA-floxneo クローニングベクターに組み込むことによりターゲティングベクターを作製する。従来のターゲティングベクター作製法が 10 工程近くから成り、完成までに 9~12 週間を要するのに対して、この新たなシステムでは、作製工程が 5 ステップと少なく、4~6 週間でターゲティングベクターを作製することができる。実際に、このプロトコルを用いて 7 種類の遺伝子についてターゲティングベクターを作製し、常法にしたがってマウス ES 細胞に導入してスクリーニングを行った結果、6 種類の遺伝子について遺伝子改変 ES 細胞の作製に成功し、このシステムが有効に稼動することを確認した。一方、新システムにより遺伝子改変 ES 細胞が得られなかった遺伝子については、ターゲティングコンストラクトの変更や従来法によるターゲティングベクターの作製を行い、ノックアウトマウスの作製を追求する。実際に、遺伝子改変 ES 細胞が得られなかった 2 種類の

遺伝子についてターゲティングコンストラクトを作り直した結果、1種類の遺伝子について遺伝子改変 ES 細胞の作製に成功した。

b)連続体外受精による迅速なノックアウトマウス作製システムの開発

通常、マウスの妊娠期間は 18 日、生後 8 週で性成熟に達するので、自然交配では一世代を経るのに約 11 週を要する。しかしながら、雌は生後 4 週でホルモン処理により過排卵誘導をかけることが可能であり、したがって、体外受精を行うことにより 7 週毎に世代を進めることができる。そこで我々は、連続的に体外受精を繰り返すことにより迅速にノックアウトマウスを作製するシステムを開発した。相同組み換えにより変異が導入された遺伝子改変 ES 細胞は、プラストシストインジェクションによりマウスプラストシスト内に注入し、キメラマウスを作製する F1 マウスへの **germline transmission** を確認した後、F1 ヘテロ変異マウス同士の交配により F2 ホモ変異マウスを作製し、ホモ変異マウスが生存可能なことを確認する。これに平行して、F1 ヘテロ変異マウスを体外受精により大量に作製し、F1 ヘテロ変異マウスとバキュロウイルス gp64 タンパクを発現するトランスジェニックマウスとの体外受精により標的遺伝子ヘテロ・gp64(Tg/+)マウスを大量に作製し、さらに、このマウスの雌が 4 週齢に達した時点で標的遺伝子変異マウスとの体外受精を行い、標的遺伝子ホモ・gp64(Tg/+)マウスを作製する。キメラマウスから標的遺伝子ホモ・gp64(Tg/+)マウス作製まで、自然交配では少なくとも 35 週を要するが、本システムでは 27 週と短期間で標的遺伝子ホモ・gp64(Tg/+)マウス作製することができる。標的遺伝子ホモ・gp64(Tg/+)マウスは抗体作製に供試し、さらに、Balb/c マウスへの戻し交配を体外受精により 10 世代以上行い、遺伝的背景が Balb/c マウスになった標的遺伝子ノックアウトマウスを抗体作製に供試する。実際にこのシステムにより、現在までに、3 種類の標的候補分子について標的遺伝子ホモ・gp64(Tg/+)マウスの作製を完了した。

B)抗体標的候補分子のノックアウトマウスの開発

先進的発現プロファイリングにより同定された抗体標的候補分子に対する高機能抗体を作製するために、15 種類の抗体標的候補分子(GC001~GC0015)についてノックアウトマウスの作製を試みた。このうち 8 種類の標的候補分子についてノックアウトマウスの作製を完了し、7 種類のノックアウトマウスが生存可能であった。各標的候補分子の特徴とノックアウトマウス開発状況を表 13 に示す。

表 13 抗体標的候補分子のノックアウトマウス

ID	Gene	Classification	Plan	Construct	ES	Germline	Homo	Homo+gp64(+)
GC001	A000000x	typelltransmembrane protch	○	○	○	○	vbbb	○
GC002	G000000x	GPIanchored protch	○	○	○	○	vbbb	○
GC003	E000000x	typelltransmembrane protch	○	○	○	○	vbbb	○
GC004	H000000x	G protch-coupled receptor	○	○	○	○	vbbb	○
GC005	G000000x	xltraspantransmembrane protch	○	○	○	○	lthal	ND
GC006	A000000x	ransporter protch	○	○	○	○	vbbb	h progress
GC007	G000000x	xltraspantransmembrane protch	○	○	○	○	vbbb	h progress
GC008	F000000x	G protch-coupled receptor	○	○	○	○	vbbb	○
GC009	G000000x	G protch-coupled receptor	○	○	ND	ND	ND	ND
GC010	L000000x	ransporter protch	○	○	○	○	ND	ND
GC011	S000000x	ransporter protch	○	○	○	○	ND	ND
GC012	L000000x	Txltraspantransmembrane protch	○	○	○	ND	ND	ND
GC013	S000000x	ransporter protch	○	○	○	ND	ND	ND
GC014	L000000x	G protch-coupled receptor	○	○	○	ND	ND	ND
GC015	E000000x	ransporter protch	○	○	○	ND	ND	ND

さらに、本システムにより開発した 7 種類の抗体標的候補分子のノックアウトマウスを用いて高機能抗体の作製を効率的に行うために、6 種類の抗体標的候補分子のノックアウトマウスについては gp64 トランスジーンを導入を完了し、1 種類の抗体標的候補分子のノックアウトマウスについては gp64 トランスジーンを導入を進行中である。以下に各抗体標的候補分子のノックアウトマウス作製の概略を示す。

GC001(図 118)は、202 個の ES 細胞クローンをスクリーニングして 4 クローンの遺伝子改変 ES 細胞を得た。このうち 3 クローンをブラストシストインジェクションし、2 ラインの germline キメラを得た。さらに F1 ヘテロ変異マウス同士の交配により得られたホモ変異マウスは正常に生まれ、現在まで特に異常は認められていない。さらに、標的遺伝子ホモ・gp64(Tg+)マウスの作製を完了した。

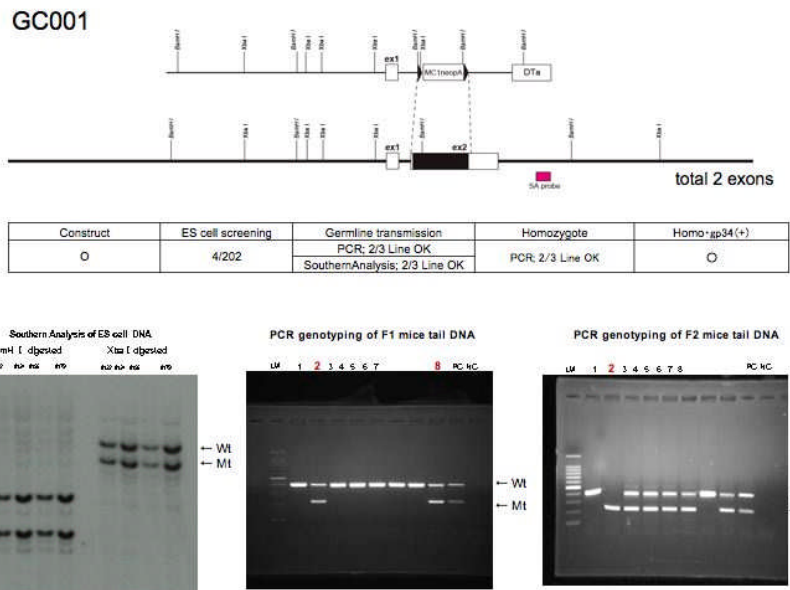


図 118 標的候補分子のノックアウトマウス作製の概略

GC002(図 119)は、5 回のターゲティングで最終的に 2 クローンの遺伝子改変 ES 細胞を得ており、これら 2 クローンをプラストシストインジェクションして、2 ラインで germline transmission を確認した。ノックアウトマウスは正常に生まれ、現在まで特に異常は認められていない。さらに、標的遺伝子ホモ・gp64(Tg/+)マウスの作製を完了した。

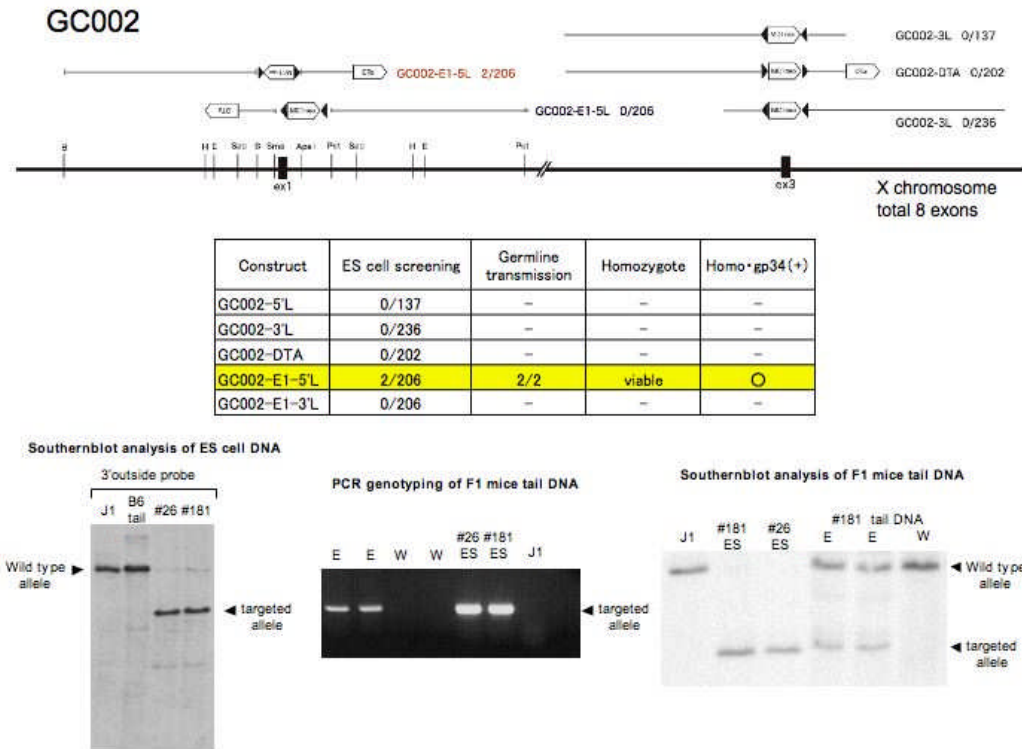


図 119 遺伝子改変 ES 細胞

GC003(図 120)は、213 個の ES 細胞クローンをスクリーニングして 13 クローンの遺伝子改変 ES 細胞を得た。このうち 3 クローンをブラストシストインジェクションし、3 ラインの germline キメラを得た。F1 ヘテロ変異マウス同士の交配により得られたホモ変異マウスは正常に生まれ、現在まで特に異常は認められていない。さらに、標的遺伝子ホモ・gp64(Tg/+)マウスの作製を完了した。

GC004(図 121)は、6 回のターゲティングを行い、最終的に 1 クローンの遺伝子改変 ES 細胞を得た。この 1 クローンをブラストシストインジェクションして、germline transmission を確認した。ノックアウトマウスは正常に生まれ、現在まで特に異常は認められていない。さらに、標的遺伝子ホモ・gp64(Tg/+)マウスの作製を完了した。

GC005 は、遺伝子改変 ES 細胞が得られ、germline transmission が確認されたが、ノックアウトマウスは致死であった。

GC006(図 122)は、192 個の ES 細胞クローンをスクリーニングして 5 クローンの遺伝子改変 ES 細胞を得た。このうち 4 クローンをブラストシストインジェクションし、1 ラインの germline キメラを得た。さらに F1 ヘテロ変異マウス同士の交配により得られたホモ変異マウスは生存可能であるが、野生型マウスやヘテロ変異マウスよりも矮小であった。

GC007 は、遺伝子改変 ES 細胞が得られ、germline transmission が確認され、ノックアウトマウスは正常に生まれ、現在まで特に異常は認められていない。

以下の図に、抗体標的候補分子のターゲティングの概要を例示する。

GC008(図 123)は、2 回のターゲティングを行い、最終的に 7 クローン of 遺伝子改変 ES 細胞を得た。このうち 2 クローンをブラストシストインジェクションし、2 ラインの germline キメラを得た。さらに F1 ヘテロ変異マウス同士の交配により得られたホモ変異マウスは正常に生まれ、現在まで特に異常は認められていない。さらに、標的遺伝子ホモ・gp64(Tg/+)マウスの作製を完了した。

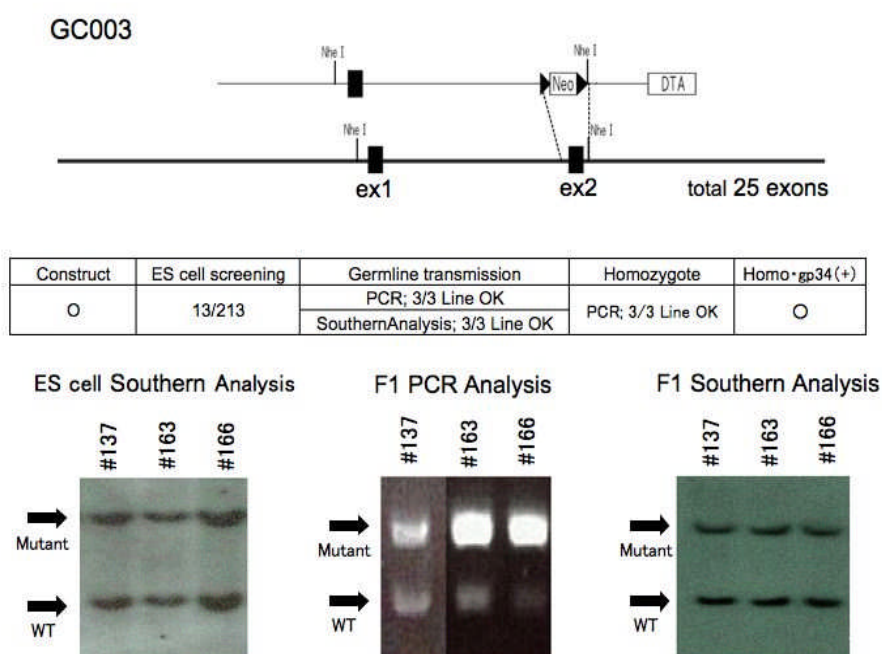


図 120 遺伝子改変 ES 細胞

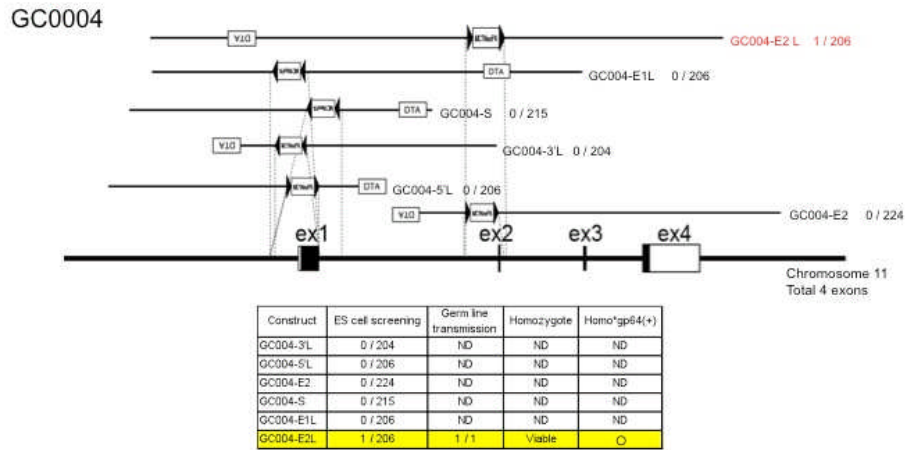
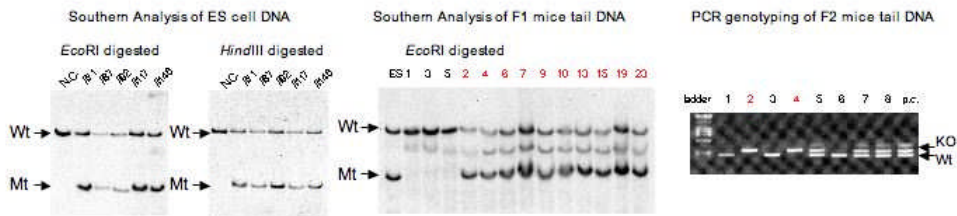
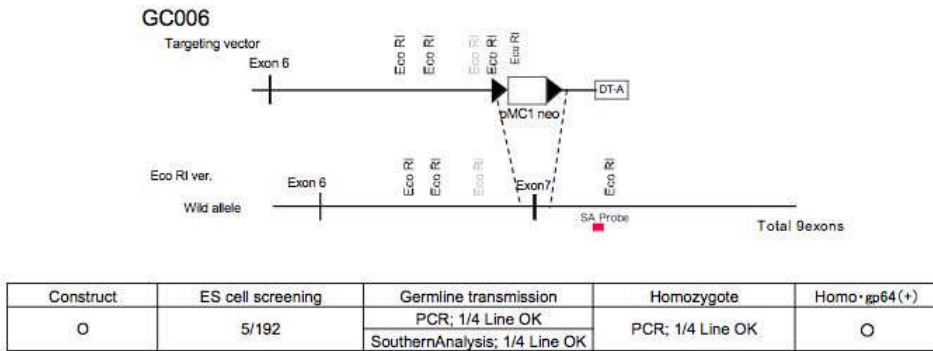


图 121 遺伝子改变 ES 細胞



GC006 ES-F2

图 122 遺伝子改变 ES 細胞

GC0008

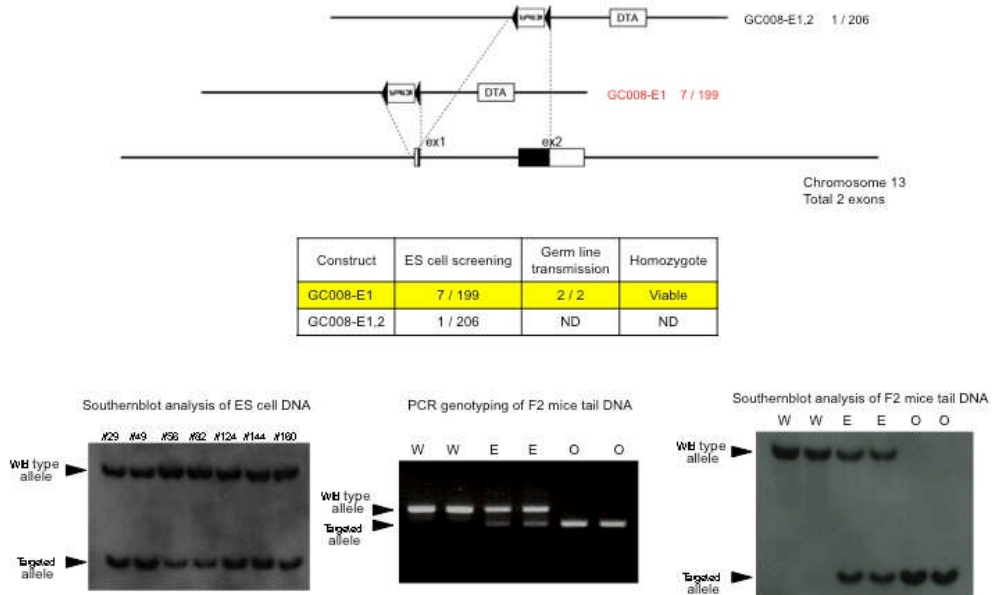


図 123 遺伝子改変 ES 細胞

3)機能抗体の体系的評価法の確立

高機能医薬抗体を開発する本プロジェクトにおいて創製される抗体を、大量にかつ効率的に解析し、よりすぐれた抗体を選別していくためには、抗体の体系的評価法の確立が不可欠である。そこで、我々は、抗体に対する各種の体系的機能評価法を行った。まず、抗体のがん細胞に対する機能を *in vitro* で定量的に評価するために、多数の培養細胞を用いた評価システムの確立を行った。また、生体内における抗体の特異性をハイスループットに解析するために、正常組織およびがん組織アレイの構築を行い、さらに、抗体の生体内での動態や効果を信頼性の高い方法で評価するために、ヒトの原発性腫瘍部の組織を直接マウスに移植するジェノグラフトの樹立を行った。

A)がん細胞を用いた評価システムの構築

創製された抗体の医療抗体としての有用性を生物学的に評価するために、がん腫由来細胞株の収集と基礎となるデータの集積を行った。まずがん種由来の細胞株の収集を行い乳がん 25 株、食道がん 10 株、膵がん 31 株、その他 12 株、計 78 株を収集した。収集した細胞株について、RNA の抽出を行い、カスタムアレイと U133P2 アレイを用いた網羅的発現解析を行い、発現プロファイリングデータを集積した。

また、創製された抗体の医療抗体としての有用性を評価するためには、生体内での効果の検討は不可欠である。そこで、乳がん細胞株 5 株、膵臓がん細胞株 14 株について、ヌ

ードマウスあるいは SCID マウスの皮下に移植し、造腫瘍能のチェックを行った。その結果、乳がん細胞株 5 例中 2 例(40%)、膵がん細胞株 14 例中 8 例(57%)に造腫瘍能が認められ、これらの細胞株については生体内における抗体の有用性の評価に用いることができることが示された。

B)組織アレイによる評価システムの構築

創製された抗体の生体内での特異性を確認するために、組織アレイの作製を行った。ヒト正常組織のパラフィンブロックを作製し、パラフィンブロック専用アレイヤー装置 KIN-1 型(東屋医科器械)を用いて、ヒト正常組織アレイを作製した。ヒト正常組織 50 種類と各種がん組織を搭載した組織アレイを作製した

C) *in vivo* 評価システムの構築

創製された抗体の機能評価の最終段階として、できるだけ原発性腫瘍の生体内での組織構築を保ったまま、抗体の集積性や効果の検討を行うことが理想的である。我々は、そのような検討を行なうために、ジェノグラフトを用いたシステムの確立を試みた。ジェノグラフトの作製は 2 種類の方法を用いて行った。一つは手術検体のがん組織を細切後、シャーレ内で培養を行い株化した後、SCID マウスに移植を行う方法である(細胞株ジェノグラフト)。この方法により乳がん 3 株、膵がん 12 株のジェノグラフトモデルを作製した。もう一つの方法として、手術検体のがん組織を細切し SCID マウスに移植を行う方法をとった(ダイレクトジェノグラフト)。この方法では株化というプロセスを経ないため、より原発性腫瘍の生体内での性質を反映できるものと考えられる。この方法により膵がん 19 例のダイレクトジェノグラフトモデルの作製を完了した。また脾内移植法による肝転移モデルの作製を行い、肝転移モデル 4 例を確立した。

構築した評価システムの全体像を図 124 に示す。今回開発した評価法では、「がん細胞を用いた評価システム」を用いて高発現細胞株の選択を行い、「組織アレイによる評価システム」を用いて、標的分子組織レベルでの発現を確認することにより、抗体の特異性の評価を行う。また上記において選択された高発現株を用いることにより、細胞レベルでの殺細胞効果を評価し、「*in vivo* 評価システム」でジェノグラフトモデルを用いた個体における治療効果を評価することにより、新規抗体の抗腫瘍効果の評価を行う。このように、今回開発した評価システムを用いることにより、抗体の体系的評価が可能となった。

機能抗体の体系的評価法の確立

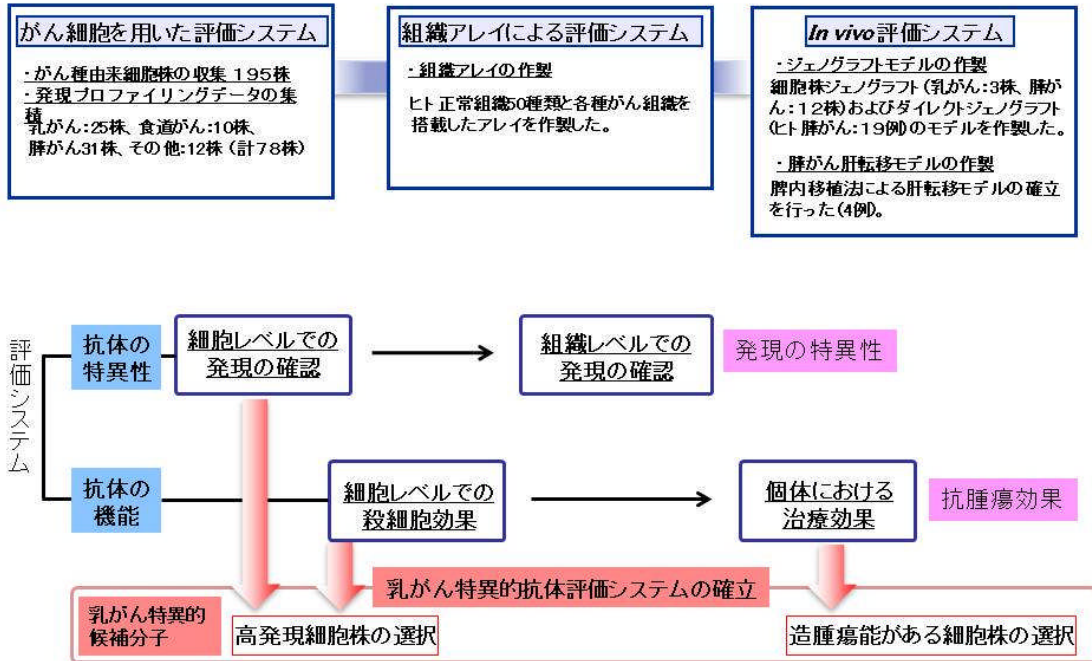


図 124 構築した評価システムの全体像

③-2-1 高親和性抗体を用いたターゲットドプロテオミクスによる複合体解析

(JBA 駒場分室(あすか製薬(株)、興和(株)、(株)ペルセウスプロテオミクス)、JBA つくば分室(JSR)、東京大先端研)

核内受容体は、結合するリガンドに依存して標的遺伝子群の転写を活性化したり抑制したりして、高等生物の分化・発生、個体機能維持など様々な役割を果たしているが、その制御においては受容体・リガンド複合体に対して刺激に応じて結合する様々なコファクター(転写共役因子)が存在することが分かっている。これらを同定することは核内受容体を標的とする創薬において重要な手がかりとなる。そのため内在性のタンパク質複合体を抗体を結合した磁性ビーズで免疫精製し、得られた複合体をショットガン法を用いた質量分析の手法で同定している。JSR 社の開発した非特異的タンパク質低吸着な磁性ビーズと本プロジェクトで作製した高親和性抗体を用いることで内在性タンパク質を1万倍以上濃縮することが可能になり10cm dish 1枚程度の細胞から複合体を同定している(図 125)。

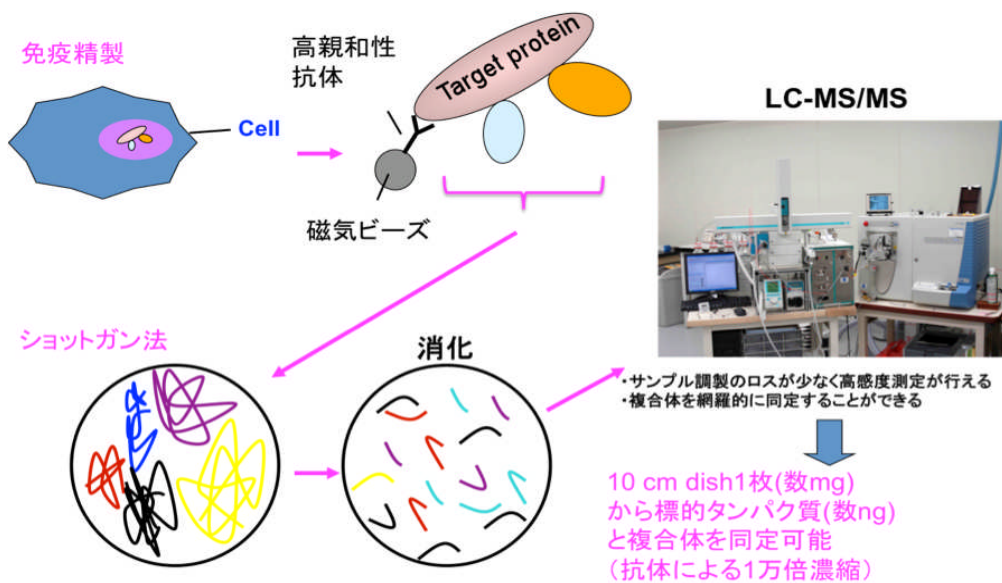


図 125 ショットガンプロテオミクスによる複合体解析

HNF4α は主に肝臓で発現しており脂質・グルコース・脂肪酸の代謝・発生・分化に関わる閥内受容体である。HNF4α 抗体を用いた解析では転写に関わるタンパク質や DNA 結合タンパクが多数同定されている(図 126)。

#	Protein Starred?	Bio View: Identified Proteins (77)	Accession Number	Molecular Weight	Protein Grouping Ambiguity	
					Control	HNF4α
1	✓	Hepatocyte nuclear factor 4-alpha (HNF-4-alpha)	P41235	53 kDa	★	37
2	✓	DNA-dependent protein kinase catalytic subunit (p460)	P78527	469 kDa		39
3	✓	Tubulin alpha-1C chain (Tubulin alpha-6 chain) (Alpha-tubulin 6)	Q980E3	50 kDa	★	3
4	✓	Poly [ADP-ribose] polymerase 1 (EC 2.4.2.30) (PARP-1)	P09874	113 kDa		2
5	✓	FACT complex subunit SPT16 (Facilitates chromatin transcription complex subunit SPT16)	Q9Y589	120 kDa		12
6	✓	FACT complex subunit SSRP1 (Facilitates chromatin transcription complex subunit SSRP1)	Q08945	81 kDa		9
7	✓	Hepatocyte nuclear factor 4-gamma (HNF-4-gamma)	Q14541	46 kDa	★	8
8	✓	Histone H4L	P62805	11 kDa		8
9	✓	ATP-dependent DNA helicase 2 subunit 2 (EC 3.6.1.-)	P13010	83 kDa		9
10	✓	ATP-dependent DNA helicase 2 subunit 1	P12956	70 kDa		9
11	✓	WD repeat-containing protein 5 (BMP2-induced 3-kb gene protein)	P61964	37 kDa		1
12	✓	RuvB-like 2 (EC 3.6.1.-) (48 kDa TATA box-binding protein-interacting protein)	Q9Y230	51 kDa		7
13	✓	Histone H2B type 1-K (H2B K) (HIRA-interacting protein 1)	O60814 (...)	14 kDa	★	5
14	✓	Probable ATP-dependent RNA helicase DDX17 (EC 3.6.1.-) (DEAD box protein 17)	Q92841	72 kDa	★	5
15	✓	Transformation/transcription domain-associated protein (PAF350/400)	Q9Y4A5	438 kDa		8
16	✓	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (EC 1.2.1.12) (GAPDH)	P04406	36 kDa		3
17	✓	Histone chaperone ASF1A (Anti-silencing function protein 1 homolog A)	Q9Y294	23 kDa		3
18	✓	Splicing factor, proline- and glutamine-rich (Polypyrimidine tract-binding protein-associated-splicing factor)	P23246	76 kDa		5
19	✓	WD repeat-containing protein 18	Q9B38	47 kDa		3
20	✓	78 kDa glucose-regulated protein precursor (GRP 78)	P11021	72 kDa		4
21	✓	60S acidic ribosomal protein P0 (L10E)	P05388	34 kDa		4
22	✓	RuvB-like 1 (EC 3.6.1.-) (49 kDa TATA box-binding protein-interacting protein)	Q9Y265	50 kDa		4
23	✓	DNA ligase 3 (EC 6.5.1.1) (DNA ligase III)	P49916	103 kDa		3
24	✓	Actin, cytoplasmic I (Beta-actin)	P60709 (...)	42 kDa		1
25	✓	Proline-, glutamic acid- and leucine-rich protein 1 (Modulator of non-genomic activity of estrogen receptor) (Transcription factor HMX3)	Q812L8	120 kDa		4
26	✓	Heat shock cognate 71 kDa protein (Heat shock 70 kDa protein 8)	P11142	71 kDa		3

図 126 HNF4α 複合体の解析

これらのデータは内在性の HNF4α と相互作用しているタンパク質を同定するもので、これまでのタグをつけて強制発現により相互作用候補タンパク質を同定しているプロテオミクスとは異なる。内在性の HNF4α を調べることにより、複数の新規リン酸化サイト

が見つかり、またオルタナティブスプライシングによって生ずる複数のアイソフォームとのヘテロ 2 量体を形成していることが明らかとなった。

これらのことから核内受容体 HNF4α は多種類の複合体を形成することによってより繊細な転写調節を行っていることが推測された。このような転写調節の機構を明らかにするためには、相互作用しているタンパク質の量比を求め、刺激後のダイナミックな変化を同定する必要がある。定量プロテオミクスとしては、現在安定同位体を用いてラベルする方法が用いられているが、継時的な変化を測定しダイナミックな調節機構を計測するには非ラベルの方法により定量することが望ましい。

そこで、複数回のプロテオミクスにより測定したデータにより、同定ペプチドの上位 3 個の定量値(レファレンスを HNF4α で求めた)を平均したものが免疫沈降でもとめた蛋白量とよく相関することから、ノンラベルの MS 定量法として使用できることを示した。これにより下図に示すように、仮説として相互作用すると考えられている転写コアクチベーターやコリプレッサーの複合体を同定することができた。また、新規のコアクチベーター候補分子を複数同定した。

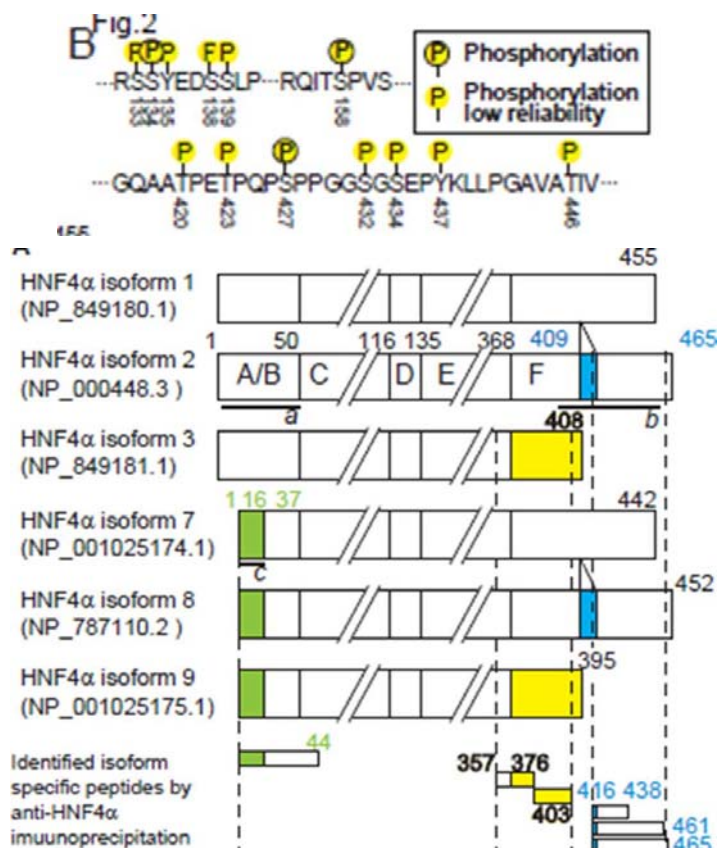


図 127 転写コアクチベーターやコリプレッサーの複合体の仮説

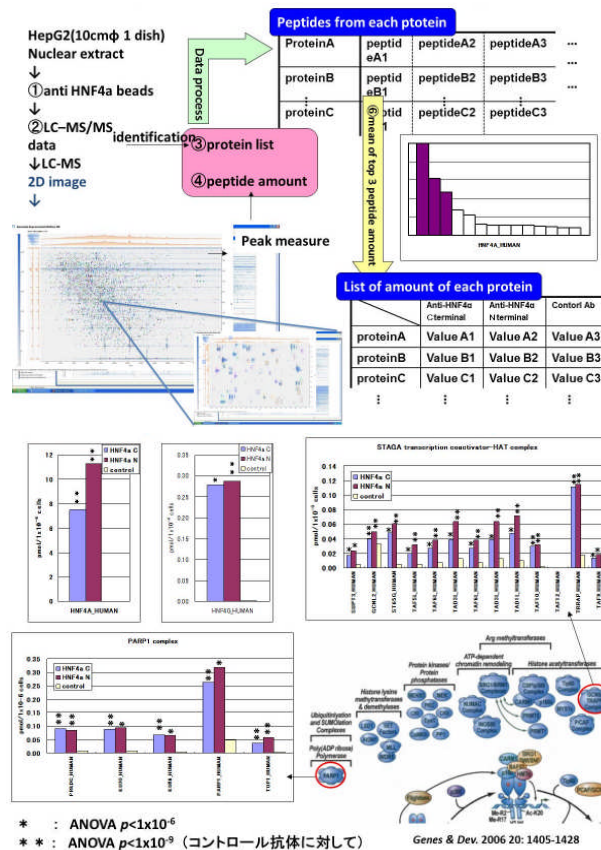


図 128 HNF4α の複合体の解析

副作用が少ない治療薬の開発には複合体の解析が必須であると考えられる。脂肪細胞を用いた複合体解析により既知の PPAR γ 複合体構成成分の RXR α の他に RXR β や mRNA プロセッシングに関わる多くのタンパク質が同定された。

1) プロテオミクスデータのノンラベル定量解析法について

これまでの複合体解析は質量分析による同定タンパクをコントロール抗体との比較によって行った物である。しかし核内受容体の様に複合体の構成変化で転写制御を行っている系ではそのダイナミズムを解析する必要がある。この手法を用いて多群解析もすでに検証済みでありリガンド刺激や分化、細胞周期による複合体変化を時系列で解析可能である。また同定ベースの手法と比べシグナルベースの解析ではペプチド配列に帰属できない有為なシグナルが多数得られる。これらの多くは機能的に重要な翻訳後修飾を含むと考えられる。

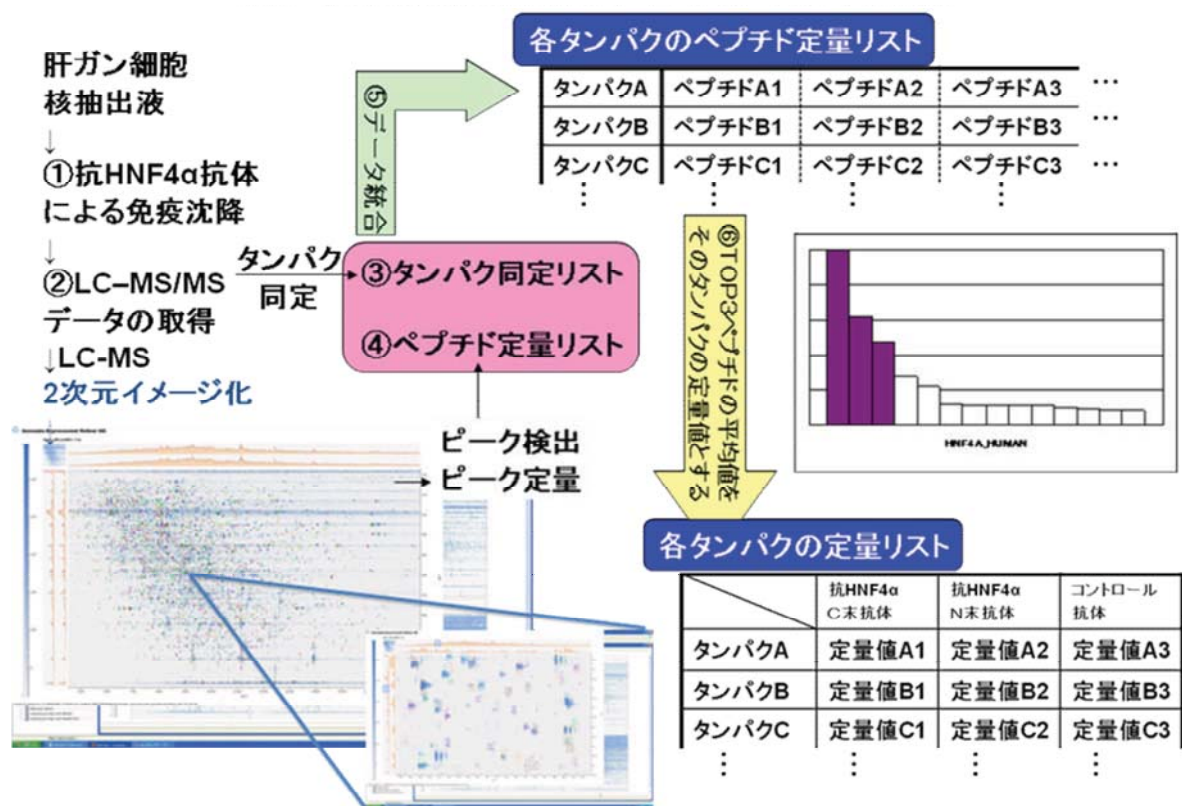


図 129 HNF4α 複合体の定量プロテオミクス解析

アルツハイマー症に深く関連すると考えられている γ セクレターゼ複合体は、プレセニリン、APH1、PEN2、ニカストリンの4種類の膜タンパク質によって構成される複合体タンパク質で、アミロイド前駆体タンパク質や Notch タンパク質等を基質として、膜貫通領域にあるペプチド結合を切断するカルボキシルプロテアーゼである。 γ -セクレターゼ複合体の構成成分の一つであるニカストリンの解析で γ -セクレターゼ複合体のプレセリニン、APH1 が同定された。

③-2-2 同定された標的タンパク質に対する系統的抗体作製技術の開発

1)抗体を系統的に創製するための基盤技術及び創製された抗体の評価

A)同定された標的タンパク質に対する系統的抗体作製技術の開発

転写因子およびその構成するコファクター、あるいは癌・代謝性疾患にかかる関連タンパク質等プロファイリングされたターゲットタンパク質およびその部位特異的エピトープについて、130項目で抗体を樹立した(下表)。バキュロウィルス発現系によるタンパク抗原として癌関連 55項目、血管新生関連 28項目、糖尿病関連 27項目、骨運動器疾患関連 3項目、筋萎縮症関連 10項目、炎症関連 3項目の計 130項目樹立クローン数 538

クローンについて抗体作製に至った。

表 14 樹立した抗体の内訳

癌関連	55
心血管疾患関連	28
糖尿病代謝疾患関連	27
骨運動器疾患関連	3
脳神経	4
筋萎縮症関連	10
炎症系疾患関連	3
合計	130

B)抗体の寄託について

本新機能抗体作製プロジェクトにて作製した抗体および先行する FOCUS プロジェクトと NEDO タンパクチッププロジェクトにおいて作製した抗体については、参加企業の要請により製品化されているものあるいは今後製品化の予定のあるもの、特許の範囲にあるものを除いて、広く一般の研究者および抗体製品開発企業に活用されることを目的としてパブリックのリソースセンターに寄託することとした。このため、平成 22 年度はまとめとクローンの選定および寄託のための細胞の凍結とデータ整理を行った。

理研バイオリソースセンターへの寄託を予定しており、まず前提条件のマイコプラズマ感染について、貯蔵室素タンク別のチェックを行い、感染フリーであることを確認した。

④ICOS 法を用いた癌治療用ヒト抗体単離技術開発

(藤田保健衛生大学総合医科学研究所)

④-1 抗原同定技術

我々の研究戦略は、「抗体の網羅的単離－クローンの選別－選ばれた抗体が認識する抗原の同定」と進む。すべての段階がある限られた時間で終了できる方法を開発してはじめて成立する研究戦略である。その様な目標を達成する技術開発および、その開発した方法を用いた研究の推進が本プロジェクトに課せられた任務である。本プロジェクトでは癌種を限定せずに、すべての固形癌を対象とすることとした。そこで最初は 7 種類の固形癌（肝癌、腎癌、膵癌、肺癌、大腸癌、胃癌、卵巣癌）を対象とし、途中から更に 4 種類（乳癌、前立腺癌、メラノーマ、グリオブラストーマ）を加えた。この癌種だけで、白血病を除く癌患者の 90%を超える。表 1 5 に示す 49 癌細胞株を抗原として ICOS 法で総数 6 7 回のスクリーニングを実施した。1 回のスクリーニングで約 200 個のクローンを単離したので結果として約 13,000 個のクローンを回収した。個々のクローンにつ

いては VH 鎖について塩基配列を決定し分類した。それをすべてデータベース化し詳細に解析すると、独立したスクリーニングで単離されたクローン間で、まったく同じ配列のものが頻繁に見出され、結局二千数百種類の異なる抗体が単離されたことになった。第二段階はクローンの選別である。この段階は藤田保健衛生大学病院で癌治療を実施している多くの外科教室が本プロジェクトに全面的に協力・参加していることにより可能になった。癌標本の染色像は、次の4パターンに分類された。1. 癌特異的染色像、2. 正常細胞もある程度染色されるが、癌細胞膜の染色が際立っている例、3. 癌細胞も正常細胞も類似の染色像を与える、4. 癌細胞も正常細胞も全く染色されない例。癌特異的抗原を厳格に定義するならば、1のカテゴリーがそれに相当するが、1及び2も含めると、単離された抗体の約3分の1が、癌特異的発現をしている可能性が示唆された。個々の抗体が結合する抗原が判明したのち、多数の肺癌組織を用いて極めて体系的に免疫組織染色を実施したが、上記の分類でカテゴリー1と2は、大きく二群に分かれることと対応していた(後述)。ここからが第三段階となるが、癌特異的染色像を与える800種類を超えるモノクローン抗体が認識する抗原を同定するステップである。モノクローン抗体を有しており、その標的抗原が大量に発現している癌細胞株が分かっているので、抗体を用いた免疫沈降(IP)もしくはアフィニティークロマトグラフィーで抗原を精製すれば、後はマス(MS)解析で抗原を決定できるはずだとかなり安易に考えていた。研究を進める上で明確になってきたことは、マス解析でタンパク質を同定していると主張しているグループは多く存在するが、グループごとに決定できているタンパク質の使用量が、何桁ものレベルで相互に全く異なっていることであつた。我々の大学では、多くの努力により500 fmol あれば、対象が何であるか決定できる段階までマス解析の精度が高まった。その結果、次のようなステップを経ることにより抗原決定が可能となった。

1. 様々な細胞株に対してフローサイトメトリー(FCM)を行って、対象抗原を大量に発現した細胞株を探す。
2. 細胞膜上のタンパク質をビオチン化する。
3. detergent を用いて細胞膜を溶かして、膜タンパク質を可溶化する。
4. 抗体を用いてIPし、標的抗原を回収する。
5. サンプルを二つに分けて、SDS ゲル電気泳動(SDS-PAGE)によりタンパク質を分離する。
6. 一方は、銀染色し、もう一方はストレプトアビジンを用いたウエスタンブロットを行う。以上の操作により、ウエスタンブロットで一本のバンドが得られて、そこに相当する場所に銀染色でバンドが見られればそれがマス解析の対象となる。ゲル内で直接トリプシン処理をして、ペプチドを溶出しマス解析でタンパク質を決定する。この一連のプロセスは、完全に確立した。ウエスタンブロットでバンドが数本検出される場合は、そのすべてについて解析した。マス解析の結果得られる抗原候補は複数であることも多く、更なる確認実験が必要であつた。そのために候補膜タンパク質の膜外部分をポリペプチド鎖として組換えDNA技術により調製し、それと抗体の反応性を確認した。一部については標的タンパク質を膜上に強制発現して抗体との反応性を確認した。更に siRNA 技術を用いて抗体との反応性の消失も調べた。本プロジェクト

で同定された癌特異抗原は、すべてこの手続きを経て同定・確認されたものである。

我々は、800種類を超える抗体を有している。その一つ一つについてこのような操作を行っていけばいくら時間があっても足りない。この状況を打破するために二種類の技術開発に成功した。上記したように多くの抗原について、様々な細胞株を用いた FCM を実施する中で、そのパターンが相互に似ているケースが数多く存在することに気がついた。これは同じ抗原に結合している、もしくは同じ複合体を構成している成分を認識していることを意味するのではないかと推定された。このことにより FCM により多くの抗体を分類する方法 GFC (grouping of clones by flow cytometry) の開発につながった。これは多数のクローンのマス解析を効率化するのにつながった。つまりこの方法の開発により、同一の抗原を認識する可能性の高い抗体を一度に処理することが可能になった。更に大量処理をより可能にしたのは、抗原確認のため調製したすでに同定された癌特異抗原の膜外部分に相当するポリペプチド鎖を用いた ELISA による各抗体の抗原決定である。上記した癌特異的染色像を与えなかったクローンも含めて、ICOS 法で単離されたすべてのクローン二千数百種類を対象に ELISA で標的抗原と結合するクローンを選び出した。この際にすべてのクローンを個別に ELISA すれば大量の精製抗原がプローブとして必要となる。それを 96 穴プレートにストックしたクローンを 3 種類の方法（三次元的に組み合わせる）で混合したサンプルに対して ELISA を行うことにより、限られた量の抗原でクローンを見つけ出す方法 SITE(simultaneous identification through three dimensional ELISA) 法の開発に成功した。この方法が成功した理由は、混合した数十種類の抗体の中に一種類のポジティブクローンがあるか正確に判断できたことに基づいており、我々の単離した抗体の高い特異性及び強い結合力の裏付けがあったことから可能となった。

以上の三段階 抗体単離－抗体の選別－抗原決定、から成るプロセスが完全にシステムティックに機能することにより、表 16 に示すように、32 種類の癌特異抗原の同定と 555 種類のヒトモノクローン抗体の単離に成功した。

④－2 機能制御抗体単離技術

動物を抗原で免疫することにより動物体内へ抗体産生を誘導させる従来法と異なり、ファージ抗体ライブラリーから特定の機能を有するクローンを単離するには、二つの条件を考える必要がある。1000 億種類のクローンから成るといってもライブラリーに含まれる抗体には限度があり、その中に入っていない抗体はいかなる方法を駆使しても得られない。ライブラリーをスクリーニングして抗体を回収する作業は、使用した抗原分子とファージ粒子上に存在する抗体分子の立体的相補性を基盤とした相互作用に基づく結合力で複合体が形成されるかどうかによって、クローンとして得られるかどうかが決まる。我々の場合は、癌治療用抗体単離を目標としており、抗原は生きた細胞上に存在する分子なので、結局は、前章に記した抗体単離により、いかに多数かつ多種類の抗体

を得るかに始まり、単離した抗体群から、いかにして使用目的に合致したクローンを選び出すかが高機能性抗体を得るかの課題となる。我々の採用した研究戦略の有用性を示す例を先に示す。CADM1/IGSF4 分子は癌抑制遺伝子として注目されていたが、我々の本プロジェクトによりこの分子が癌で大量発現している例も相当高頻度に存在することが判明し、その分子がヘテロな機能を担っていることが強く示唆されている。この分子に結合する様々な抗体が単離されているが、それを用いていくつかの細胞株に対する FCM および多くの肺癌組織に対する IHC を実施した。その結果特定の抗体によって認識されるが他の抗体によっては全く認識されない CADM1/IGSF4 分子が癌組織で見いだされた。なぜこのようなことが起こりうるかについて、CADM1/IGSF4 がいくつかの異なる分子複合体を形成していると考えるのが一番理解しやすいが、これに類似した現象は他のタンパク質でも見いだされており、特定のタンパク質に関して癌特異的複合体を見つけ出すことができるとすれば治療用抗体創薬にとっては大きなブレイクスルーとなる可能性がある。

この章では、同定した 32 種類の癌特異抗原と単離した数百種類の抗体の中から、いかにして癌治療用抗体を選び出すかについての戦略と実験結果を報告する。そのためには、癌細胞膜上に存在するタンパク質に特異的に結合する抗体を用いていかに癌細胞を殺傷するかにより戦略が異なる。成功例が多いのは IgG 型（とりわけ IgG1)抗体である。この抗体が癌細胞を殺す機構は、1. まずは抗体が細胞膜上の抗原分子に結合することによりその分子が果たしていた機能を阻害し、細胞が生存できない、もしくはアポトーシスを起こして死滅する、2. その抗原の分子の性質によっては、抗体の結合によりアポトーシスを誘発する、3. 細胞膜上での抗原抗体複合体の存在がナチュラルキラー細胞等による ADCC (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity) や補体経路を刺激し CDC(complement-dependent cytotoxicity) を引き起こす、が示されている。とりわけ成功例では、抗原分子の機能を抑えるという内容が、細胞の存続自身を不可能にするほどに多岐にわたった影響を与えることが判明している。EGFR に対するエルビタックス、HER2 に対するハーセプチン、CD20 に対するリツキサンのこれに相当する。癌化において重要な機能を担っていても抗体が結合しただけではその機能に影響を与えない抗原や、元来、癌が artifact として発現している癌特異抗原の場合は、上記機構 3 のみで癌を殺そうという試みもなされているが成功例は未だない。それ以外については、抗体分子の V ドメインの抗原結合力を生かして、さらに別の機能を付与して癌を殺す戦略は各種存在するが、その場合は抗体を、癌細胞への運搬手段 (delivery system) と考えている。具体的には、放射性同位元素を付加する例 (CD20 に対する抗体ゼバリン) と毒素を付加する例が考えられている。毒素は細胞質まで運搬されて効果があるので、抗原と結合して抗体が細胞質へ入り込む (internalization) が必要となる。キラー T 細胞 (cytotoxic T cell) やナチュラルキラー細胞の強い細胞殺傷力を使って、その際、癌細胞を認識させるために抗体を使うというアイデアに基づき研究が進められているが、まだ成功例はな

い。さらに抗体が二価であることを利用して、二重に抗原識別能力(bi-specific Ab)を持たせて癌細胞とキラーT細胞を近傍に引き寄せるアイデアも採用されている。我々は、本プロジェクトでは、IgG 1型ヒト抗体を用いて癌治療薬とすることを基本に考えて研究を進めた。

いずれの場合でも抗体を用いて癌治療薬とする場合に、標的抗原として求められる性質がある。1. 癌細胞膜上に存在し、抗体がその分子にアクセスできる。2. 癌は決して一様ではなくヘテロな集団になっているが、できる限りすべての癌細胞で発現している。3. 正常細胞では一切発現していないことがベストだが、少なくとも **vital organ** (心臓、肺、肝臓、膵臓、消化器、泌尿器等) では発現していないか発現していてもごく微量である。しかし現実には、我々が本プロジェクトで同定した癌特異抗原はすべて正常な状態にある健常人の体内で機能している分子であり、これらを標的とする抗体治療が成立するかどうかは、癌細胞をいかなる方法で殺傷するか、その際、副次的に損傷を受ける正常細胞(副作用)のレベルが許容範囲にあるかの兼ね合いによる。癌特異抗原として成功例である **EGFR** や **HER2** にしても、明らかに様々な正常組織で発現している。更に癌特異抗原ですらない **CD20** や **VEGF** が、なぜ癌治療用抗体の標的になり得たかは、それぞれ特別な理由づけ(**rationale**)がある。そこでまず発現レベルを知るために、我々の単離した抗体を用いて肺癌を例に体系的に免疫組織染色を実施した。染色結果は7種類のパターンに分類された。A, 癌細胞膜のみが染色される; B, 癌細胞と気管支上皮の細胞膜が染色される; C, 正常細胞膜も含めて染色される; D, 癌細胞特異的染色だが細胞質が染色される; E, 癌細胞の細胞質以外に正常細胞が染色される; F, 正常細胞しか染色されない; G, 染色像はどこにも見えない。結果は大きくカテゴリー(I)多くがAかGに分類される、とカテゴリー(II)IHCの結果がCに分類されたものが多い、のどちらかのカテゴリーに分類された。

さて現在、製薬会社が治療用抗体候補クローンを入手した際に、臨床試験を実施するかどうかをいかなる基準で判断するかについて考えてみる。1. 抗体が **ADCC** 活性もしくは **CDC** 活性を示すか、2. 標的抗原の機能としてその活性が測定できる場合は、抗原機能の抑制能力があるか、3. **In vitro** で細胞増殖抑制効果を示すか、4. 主として **xenograft** モデルを用いて、抗腫瘍効果の有無。結果は **all-or-none** で得られるわけではないが、すべてがポジティブであった場合は、あとは成功確率の判断となる。臨床試験を実施することになると、最初抗体を調製することとなる。一度選んだ抗体は、途中で変更できないためにその選択は慎重になる。**GMP(good manufacturing practice)** レベルの規格に合格する必要がある元となる抗体産生細胞株をマスターセルバンクとして確立するところから始まる。行く先のことを考えて、動物内での体内動態(基本的には、体内半減期が長いほうが良いと判断される)、動物とりわけサルを用いた安全性試験を目的とした前臨床試験実施のために、標的であるヒトタンパク質と同時に、同等のサルタンパク質とも結合することが求められる(ヒト/サル間のアミノ酸の相違はわずかであ

るためにほとんどがOK)、これをクリアすると抗体の調製が始まる。この段階で約百億円程度の出費が最低限必要と言われている。

我々の場合も、条件検討のために上記1-4の検討を行った。ファージ抗体は、最初 single chain Fv 型抗体が cp3 タンパクに融合した形で調製される。そこでクローンごとに IgG₁ に変換する必要がある。最初 IgG₁ に変換したのち ADCC 活性を解析したが、多くのモノクローン抗体が ADCC 活性を示した。ナチュラルキラー細胞が示す ADCC 活性の場合、Fc に対するレセプターが抗原抗体複合体を認識して細胞殺傷能力のある分子を分泌することにより癌細胞を殺す。そこで、本プロジェクトで同定した癌特異抗原のように癌細胞で大量発現の見られる分子が標的である場合は、解析した中で約半数の抗体が ADCC 活性を示したというのが結論である。

上記2と3は表裏一体の関係にある。分泌された分子 EGF がリガンドとなってその受容体である EGFR に結合し、それがシグナルとなって細胞増殖が起こる例では、抗体が EGF と EGFR の相互作用を阻害することにより細胞分裂を阻害するという極めてわかりやすくまた測定し易い系である。一方、CD44 に抗体が結合して細胞増殖が阻害される例では、CD44 の機能が判明しておらず、どのようにその機能に関係した活性を測定するかの手がかりがない。結果として、体系的に解析が可能なことは、抗体存在下で細胞を増殖させて、増殖速度に変化があるかどうかを解析する、さらに xenograft モデルでの抗腫瘍効果の測定となる。結局、28 種類の癌特異抗原に対する 87 種類の IgG₁ を調製し、in vitro での細胞増殖速度への影響、xenograft モデルでの抗腫瘍効果の測定を行った。抗 EGFR 抗体はすでに治療薬として抗体が市販されているが、我々の単離した抗 EGFR 抗体を例にそれぞれのクローンの EGFR に対する生物学的効果を解析した。たとえば図 130 に示すように、cetuximab と同等レベルの抗腫瘍活性を持ち、059-152 の場合は作用がすでに報告されているクローンとはまったく異なる機構で抗腫瘍活性を示すことが示されている。さらに様々な癌細胞株に対して xenograft モデルで抗体腫瘍効果を解析した結果では、市販されているエルビタックスやベクチビックスに対して、我々のクローンが抗腫瘍効果を示す例も見つかる。世界中で癌治療用抗体の開発が進められているが、実際に標的とされている抗原の種類は思いの外少ない。更に癌治療薬として認可され、その標的が癌特異抗原である例は、未だに EGFR と HER2 に限られている。本プロジェクトのように癌で異常に大量発現している様々な性質をした癌特異抗原を標的にしようとする場合、更なる独自の工夫が必要となる。この解析を通して得観察されたことで重要な点は、癌がきわめてヘテロな原因に基づく疾患である点である。更に状況を複雑にするのは、同じ癌細胞に対する同じ抗体の及ぼす効果についても細胞の培養条件が異なると異なった結果をもたらすことすらある。

我々が同定した 32 種類の癌特異抗原の場合、EGFR や HER2 そのもの及びそれに類似の細胞増殖因子受容体も含まれているが、CAM(cell adhesion molecule)に分類される分子を含めて様々な機能を示す分子群である。このような分子の機能を抗体の投与によ

り抑制するには、その機能の実体を明らかにする必要がある。そこで本研究では同定された抗原に対して、全て siRNA によるノックダウンを実施してその表現型を解析することとした。その結果、程度の差はあれ、かなりの頻度で増殖抑制が観察され、更にアポトーシスが誘導される例も見出された。その中には従来知られている性質からは、この現象は全く予想できない例もある。それぞれの抗原ごとに平均 10 種類ほどのモノクローン抗体が既に単離されているので、その中から siRNA と同様の効果をもたらすものを選び出すことも可能かもしれない。ファージディスプレイ抗体では最初利用可能なものが scFv 型抗体であるために、一価の抗体である。抗腫瘍効果を示すには二価であることが条件となる例も予想され、その場合には IgG 型抗体への変換が必要となる。ADCC 活性についても、大量の抗原を発現した癌細胞について ADCC 活性のある抗体と無い抗体があり、それが、認識するエピトープの差なのか抗体の結合力の差の結果なのかを判定する必要がある。

ファージ抗体ライブラリーから得られた抗体にとって癌特異抗原はナイーブ抗原であると推定される。そのためにここで単離された抗体の多くは抗原に対して強い結合力を示さずに治療用抗体としては作り直す必要があると当初予想されていた。しかし ICOS 法が我々の期待するように”平衡反応である抗原抗体複合体形成反応を忠実に反映した結果に基づき抗体を単離している”とすれば、抗原に対して結合力の高い抗体が選択的に濃縮されていることを期待できる。今までに得られたデータは、この期待を支持するものが多い。その顕著な例が抗 EGFR 抗体である。Kd 値が 0.1nM 以下であり、ヌードマウス中で育つヒト癌組織に対して、抗体単独投与で、既に市販されているエルビタックスと同様の効果もしくはより低濃度で強い抗腫瘍効果を示す。このクローンの場合、肝癌、腎癌、膵癌、肺癌から全く独立に単離され、独立に癌特異抗体であると判定されていた。同様に EpCAM に対する抗体は pM オーダーの濃度ですら ADCC 活性を示し、また担癌マウス中で強力な抗腫瘍活性を示した。抗体を投与することより癌治療に役立つ例が、抗 EGFR 抗体や抗 HER2 抗体以外でもありうるとすれば、我々がすでに単離したクローンの中に含まれているに違いないと確信している。そこで次の最大の課題は、それをいかに見出して臨床試験を実施するかである。

表 1 5 スクリーニングに用いた11種類の癌種由来の細胞株（49種類）

肝癌	HepG2, Nuk-1, OCTH-18, Hep3B, HLF, RBE and clinical samples
腎癌	Caki-1, CCF-RC1, ACHN
膵癌	PANC-1, MIA PaCa-2, BxPC-3, Capan-1
肺癌	A549, PC-14, NCI-H441, Calu-3, EBC-1, RERF-LC-AI, LK-2, VMRC-LCP
大腸癌	Caco-2, CW-2, SW480, HT-29
胃癌	MKN-45, NCI-N87, SNU-5, KATO III
卵巣癌	SKOv3, KF28, RMG-1, RMG-2
乳癌	BT474, MCF7, MDA-MB-231, CPL1500, YMB-1
前立腺癌	PC-3, DU-145, LNCapFGC, 22Rv1
メラノーマ	MMAc, HMV-II, G-361, CRL1579
グリオブラストーマ	U-87MG, T98G, A172, YKG1

表 1 6 プロジェクトで同定した癌特異抗原(32種類)と単離したヒトモノクローン抗体(555種類)

<u>Growth factor receptor</u>		<u>Adhesion molecule (IgSF)</u>		<u>Adenosine metabolism</u>	
EGFR	12	CADM1/IGSF4	29	CD73	1
HER2	22	ALCAM/CD166	13	<u>Complement inhibitor</u>	
HGFR	84	ICAM-1/CD54	25	MCP	101
PTK7/CCK-4	1	Lu/BCAM	49	<u>Protease inducer</u>	
EphA2	26	CEACAM6	1	EMMPRIN	5
IGF1R	3	CEA	2	<u>Prostate-specific antigen</u>	
PDGFR	3	JAM-A	2	PSMA	1
<u>Tyrosine phosphatase</u>		MCAM/MUC18/CD146	22	<u>Iron metabolism</u>	
PTP-LAR	46	<u>Adhesion molecule (Non IgSF)</u>		TfR	15
<u>Integrin family</u>		CD44	13	<u>Apoptosis inducer</u>	
α 3 β 1	16	EpCAM	3	TRAILR2	7
α V β 3	7	<u>Tetraspanin</u>		<u>Complement receptor</u>	
α 6 β 4	5	CD9	1	C1qR	2
α 2 β 1	1	<u>Tetraspanin partner</u>			
<u>Anoikis regulator</u>		PTGFRN(CD9P-1)	3		
CDCP1	31				

表 1 7 IgG化した抗体でモニタリングに提供された抗体一覧

抗体番号	抗体名称	認識抗原	抗体が示す作用(確認済み)
1	048-006	EGFR	強い抗腫瘍活性(in vitro,in vivo)
2	067-213	CD73(NTSE)	強い抗腫瘍活性(in vitro,in vivo)
3	059-053	CD147(EMMPRIN)	強いADCC誘導活性、in vivo抗腫瘍活性
4	028-179	TIR	強い抗腫瘍活性(in vitro,in vivo)
5	052-138	TIR	強い抗腫瘍活性(in vitro,in vivo)
6	076-048	IgSF4	ATL細胞に対し増殖阻止効果
7	029-028	EpCAM	強いADCC誘導活性、in vivo抗腫瘍活性
8	059-173	EGFR	強い抗腫瘍活性(in vitro,in vivo)
9	064-139	Integrin $\alpha V \beta$	強い細胞増殖阻止効果
10	067-153	EpCAM	強いADCC誘導活性、in vivo抗腫瘍活性
11	079-085	PTPRF	細胞増殖阻止効果
12	026-001	Integrin $\alpha V \beta$	強い細胞増殖阻止効果
13	035-212	IgSF4	ATL細胞に対し増殖阻止効果
14	051-054	IgSF4	ATL細胞に対し増殖阻止効果
15	055-237	CD44	強い細胞増殖阻止効果
16	057-024	CD137	強い細胞増殖阻止効果
17	058-069	CD137	強い細胞増殖阻止効果
18	066-166	CD137	強い細胞増殖阻止効果
19	015-126	Her-2	強い細胞増殖阻止効果
20	057-091	EGFR	強い抗腫瘍活性(in vitro,in vivo)

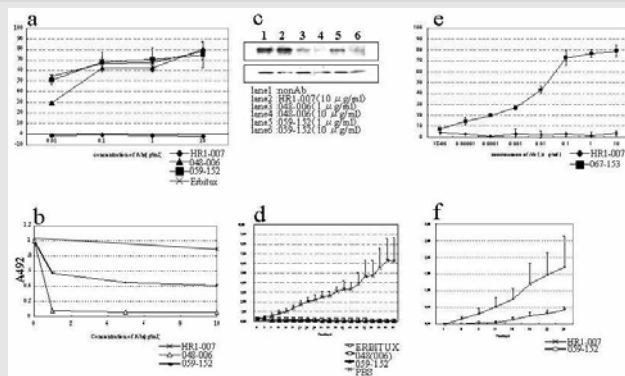


図 130 抗 EGFR 抗体及び抗 EpCAM 抗体の抗腫瘍活性

④オリゴクローナル抗体創製技術開発

(協和発酵キリン株式会社)

【研究の目的】

すでに、モノクローナル抗体は様々な疾患に対する治療薬として承認されており、その有効性が実証されている。しかしながら、臨床のニーズを満たすには活性が不十分であることもわかってきており、さらに強力な活性をもつ抗体医薬品の創製が望まれている。抗体医薬品としての機能を強化する有力な方法のひとつとして、複数の抗体を混合した、オリゴクローナル抗体、ポリクローナル抗体が考えられる(図 131)。個々の抗体の特性を同定しないポリクローナル抗体に比べ、オリゴクローナル抗体は、比較的少数の抗体の混合物である。特定の抗原、エピトープを認識する抗体を選抜して混合することにより、より強い効果を得ることができる可能性があり、同定された抗体を混合するため、ロット間のばらつきが少なく、ポリクローナル抗体に比べ安全性に優れていると考えられる。しかしながら、現時点では、どのような組み合わせの抗原、抗体が生物活性の増強をもたらすのか、ほとんど研究されていない。本研究においては、オリゴクローナル抗体の活性増強機構を解析し、効率的にオリゴクローナル抗体を作製する技術の開発を行った。

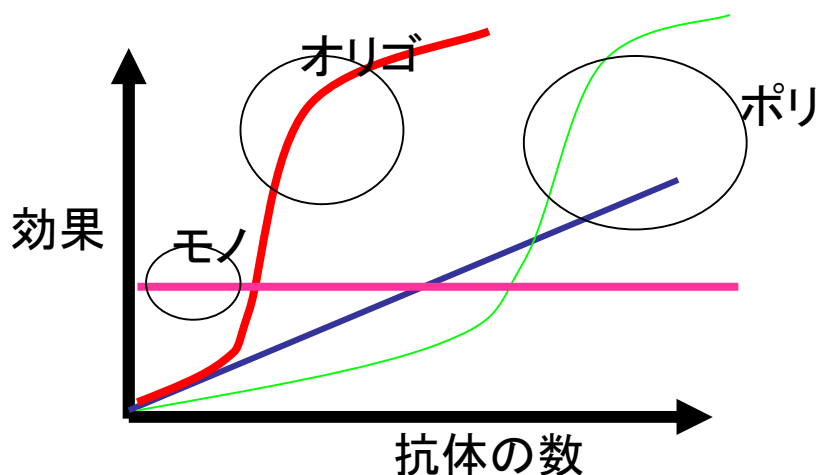


図 131 オリゴクローナル抗体の概念

オリゴクローナル抗体医薬品(エピトープ特異性の異なる複数の抗体の混合物)を作製する場合、単一抗原に対するものと、多抗原に対するものが考えられる。まず単一抗原に対する効果を解析するために抗原 A を選択した。オリゴクローナル抗体の選抜のためには、抗原蛋白質のいろいろなエピトープを認識する抗体の“パネル”を作製する必要がある。このために、抗体の結合部位を効率良く分類し、取得しづらい抗体を得るための抗原の作製が不可欠となる。抗体の取得方法としては、通常ハイブリドーマを用い

る方法を採用した。抗原は最終的に A, B, C, D, E, F, G, H, I, J の 10 種類についてマウスに免疫を実施し、抗体の取得を試みた。まず最初に、抗原 A について注力的に抗体を取得し、解析を実施した。その結果、抗体の混合により CDC 活性の増強が著しく増強し、産業上の利用を考慮した場合有望であると考えられたため、その他の抗原については、数個の抗体で CDC 活性の増強の有無を調べるという手法をとり、研究を進めた。

1) モデル抗原 A に対する抗体の取得と評価

【抗体の取得とエピトープ解析】

市販マウスと、弊社所有のヒト抗体産生マウスを 100 匹程度免疫し、抗体価が上昇したもののうち 12 匹を細胞融合に使用した。抗体を 40 個程度の抗体を取得した。マウス・ヒトキメラ抗原を用いて結合領域を分類し、29 個の抗体を選択した。

上記スクリーニングで選抜された 29clone は eRDF 培地に馴化し、MabSelect を用いてその培養上清から Fc fusion 可溶化タンパクの精製と同様の方法でマウス抗 hEGFR-ECD モノクローナル抗体を精製した。オリゴクローナル抗体作製のため、互いに競合しない clone を選抜する目的で、同一ドメイン認識抗体間の競合試験を Biacore 2000 を用いて行った。まず、抗原 A-GST 融合蛋白質をキャプチャーするために GST capture kit (Biacore)に含まれる抗 GST 抗体を amino coupling kit (Biacore)によって CM5 センサーチップに固相化した。抗原 A-GST をインジェクションした後、精製モノクローナル抗体を 1st Ab としてインジェクションした。さらに、1st Ab と同じドメインを認識する別クローンの精製抗体を 2nd Ab としてインジェクションし、センサーグラム上の RU 値の上昇によって競合の有無を評価した。

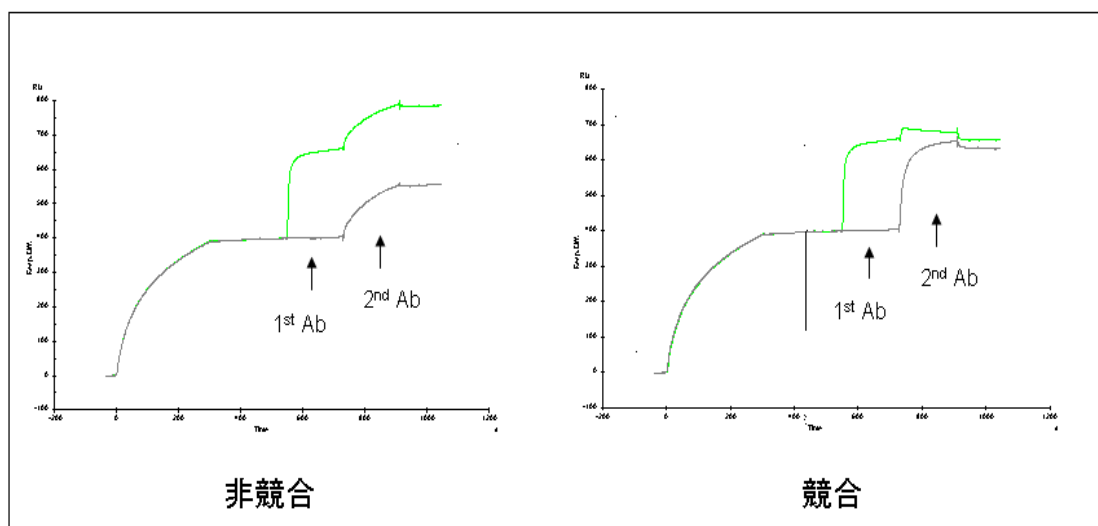


図 132 Biacore を用いた抗体の競合試験

2nd 抗体のセンサーグラムの RU 値の上昇により、競合、非競合を判断した。

その結果、同時に抗原 A 分子に結合できるモノクローナル抗体は、6 クローンが選抜された。この 6 クローンについて競合試験を実施したところ、6 クローンのうち、AC と AB は、結合ドメインは異なるものの、弱いながら競合することがわかった (表 18)。

表 18 競合試験の結果

	2 nd antibody						
		AA	AB	AC	AD	AE	AF
1 st antibo dy	AA		—	—	—	—	—
	AB	— ^a		+	—	—	—
	AC	—	+ ^b		—	—	—
	AD	—	—	—		—	—
	AE	—	—	—	—		—
	AF	—	—	—	—	—	

a 競合 <30%

b 競合 >30%

【キメラ抗原を用いた結合部位の詳細な解析】

オリゴクローナル抗体の活性増強機構を解析するために、エピトープ解析を実施した。機能的抗体は、タンパク質の高次構造を認識する機会が多いため、抗原タンパク質の結晶構造に基づいて、マウス・ヒトキメラ抗原を作製し、その結合様式から、結晶構造上のどの部分に抗体が結合するか調べた。キメラ抗原をデザインするためのプログラムを開発した。立体構造情報から、標的領域の C α 元素(CA)の重心を求める。次にランダムに作成した平面のどちら側に各 CA が存在するか調べ、パターンベクトルとして 1 または -1 を与える。そして類似の平面を除くためにパターンベクトル M_i, M_j について以下のスコアを計算する。

$$Sim(M_i, M_j) = \frac{1}{N} |M_i \cdot M_j| = \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N M_i(k) M_j(k)$$

ここで N は総残基数である。Sim スコアは 0 から 1 の間の値をとり、二つの平面の分割パターンが異なるほど 0 に近づく。この Sim スコアの閾値を設定し、既に採択されている平面とは異なる分割パターンを示す平面を抽出する。このようにして最初の平面を選んだ後、各平面に対して相互に直交する平面を抽出し、標的タンパク質の切り分けを行なう。このプログラムを用いて、抗原 A においてキメラタンパク質を 12 種作製し、選抜した 6 個の抗体についてエピトープ解析を実施した (図 132)。

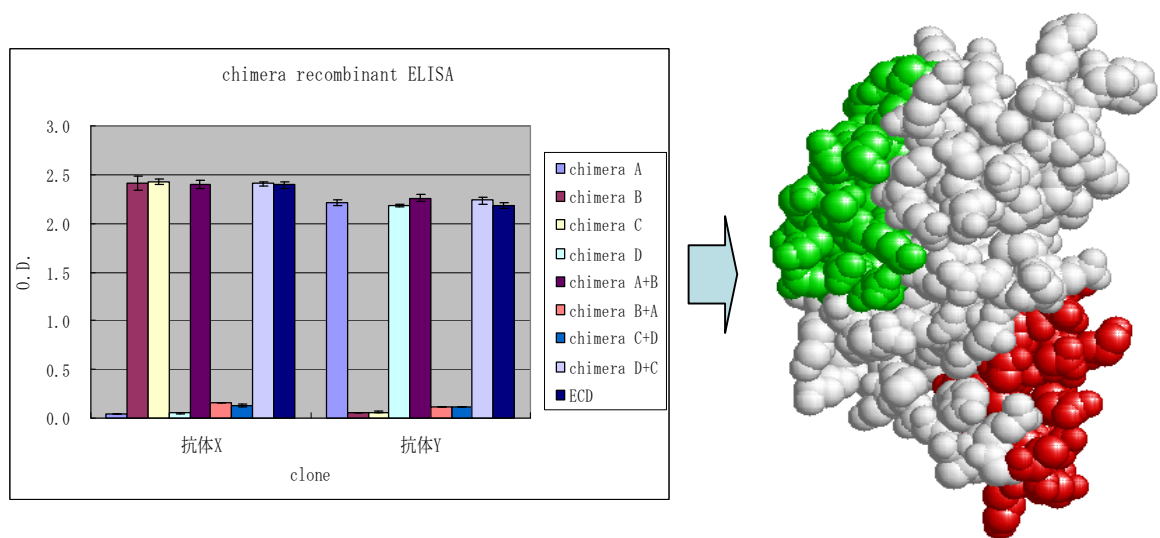


図 133 キメラ抗原を用いた、CDC 活性を増強する抗体の抗原結合部位推定の例。赤と緑の部分が 2 つの抗体の結合部位を示す。

2) 抗原 A に対するオリゴクローナル抗体の活性評価

【オリゴクローナル抗体の活性評価】

CDC 及び ADCC 活性を評価するため、選択された 6 抗体はすべて抗体可変領域のクローニングを行い、ヒト IgG1 定常領域と遺伝子工学的に連結した、キメラ抗体として発現・精製し、各種活性を評価した。評価項目として、1. 親和性、2. リガンド結合抑制活性、3. ADCC 活性、4. CDC 活性、5 細胞増殖抑制活性を調べた。結合については、可溶性抗原をもちいて ELISA (図 134A)、もしくは BiaCore(表 18)で解析を行った。抗体は 10^{-7} から 10^{-9} 程度の KD 値を示した。これは、いろいろなエピトープを認識する抗体を取得するため、自己免疫マウスを用いたため、アフィニティマチュレーションが十分ではなかった可能性が考えられる。リガンドの阻害活性 (図 134B) については既存抗体と同程度の活性を示すものもあった。マウスポリクローナル抗体により、リガンド阻害活性を調べたところ、高濃度においても完全に抑制来ることではできなかった。これは、リガンドの結合は各抗体の活性の平均値を取る傾向があるためであると考えられ、ポリクローナル抗体中に含まれる中和抗体の存在比率や、活性の強さが反映しているためであると考えられた。

ADCC 活性、CDC 活性を測定する前に、まず抗原の発現量を 16 種のヒト腫瘍株で解析を行い、その中から、抗発現の細胞株 (A431) と中発現の細胞株 (Colo205) をそれぞれ 1 種類選択し (図 135) 評価に使用した。

まず、最初に抗原 A を中程度発現する Colo205 細胞を用いて、6 種類の抗体を単独、2 種、3 種、4 種、5 種、6 種混合した場合の ADCC 活性を調べた (図 136)。それぞれの抗体単独では、ADCC 活性の強弱は観察されたが、混合する抗体の数が増えるにしたが

って、ADCC 活性が上昇する傾向が見られた。Colo205 においては、3-4 個程度の抗体数で活性がほぼ飽和しており、抗体のエピトープ依存性は低いと考えられた。

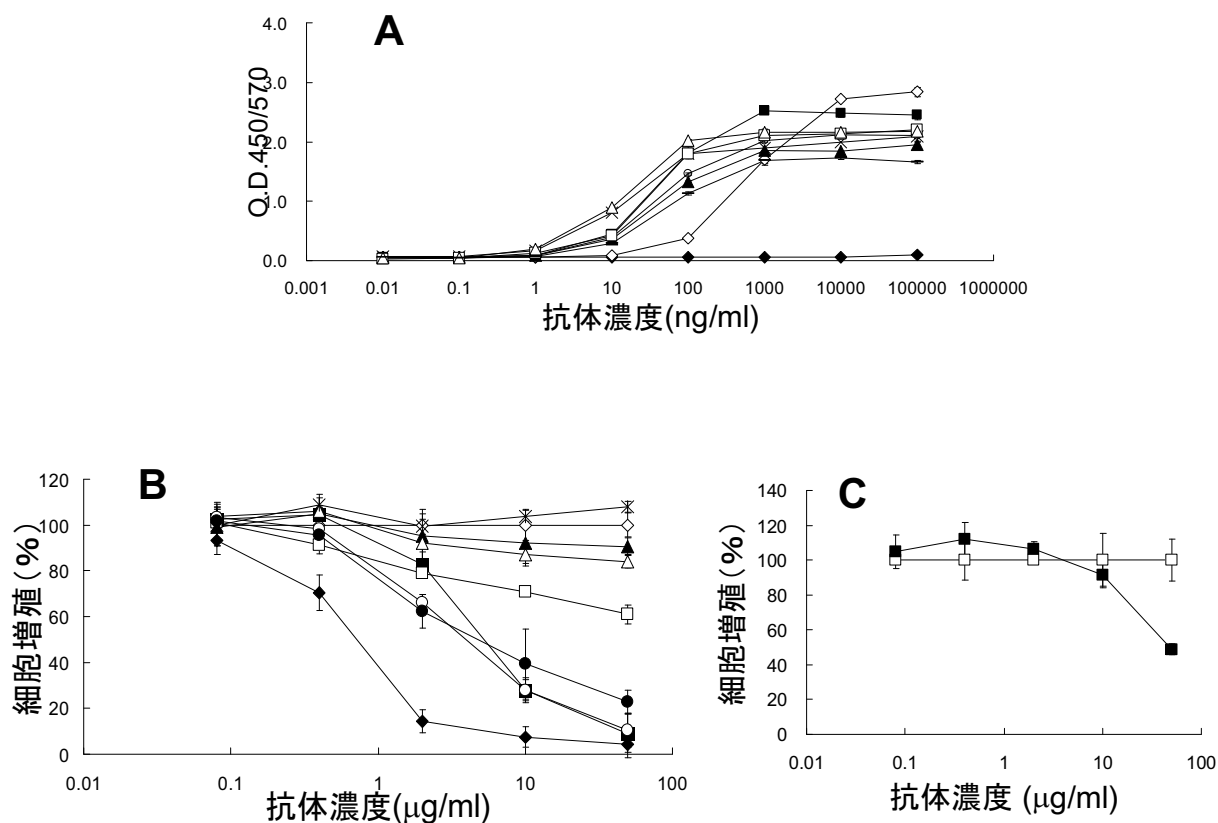


図 134 抗抗原 A 抗体の機能評価

A：可溶性抗原に対する結合活性を ELISA により評価した

B：リガンド阻害活性。精製したキメラ抗体のリガンド阻害活性を調べた。

ビオチン化したリガンドを抗原発現細胞に添加し、抗体存在下でインキュベート後、HRP-結合アビジンと作用し、酵素反応により活性を評価した。コントロール抗体を 100% として活性を表示した。C：ポリクローナル抗体のリガンド阻害活性評価。マウス数十匹を免疫し、精製した抗抗原 A ポリクローナル抗体のリガンド阻害活性を調べた。コントロール IgG(◇), 既存抗体(◆), 6 抗体混合(■), AA(□), AB(▲), AC(△), AD(○), AE(●),AF(*)

表 19 抗 A 抗原抗体の特性

抗体名	リガンド 結合阻害 ^a	アゴニスト活性 ^b	親和性(mol/L)	
			マウス	キメラ
AA	+	-	5.11×10^{-8}	1.19×10^{-7}
AB	-	+++	2.88×10^{-7}	2.34×10^{-8}
AC	-	++	9.16×10^{-8}	3.22×10^{-7}
AD	++	-	1.61×10^{-8}	6.58×10^{-9}
AE	++	-	1.40×10^{-7}	5.66×10^{-8}
AF	-	-	6.87×10^{-7}	3.22×10^{-7}
既存抗体	+++	-	-	1.40×10^{-9}

a リガンド結合阻害活性: - = 抗体濃度 50 μ g/ml で 40%以下の阻害; + = 抗体濃度 50 μ g/ml で 40%以上の阻害; ++ = 抗体濃度 10 μ g/ml で 40%以上の阻害; +++ = 抗体濃度 2 μ g/ml で 40%以上の阻害

b アゴニスト活性; - = コントロール IgG1 と同等; + = リガンドより弱い; ++ = リガンドと同等

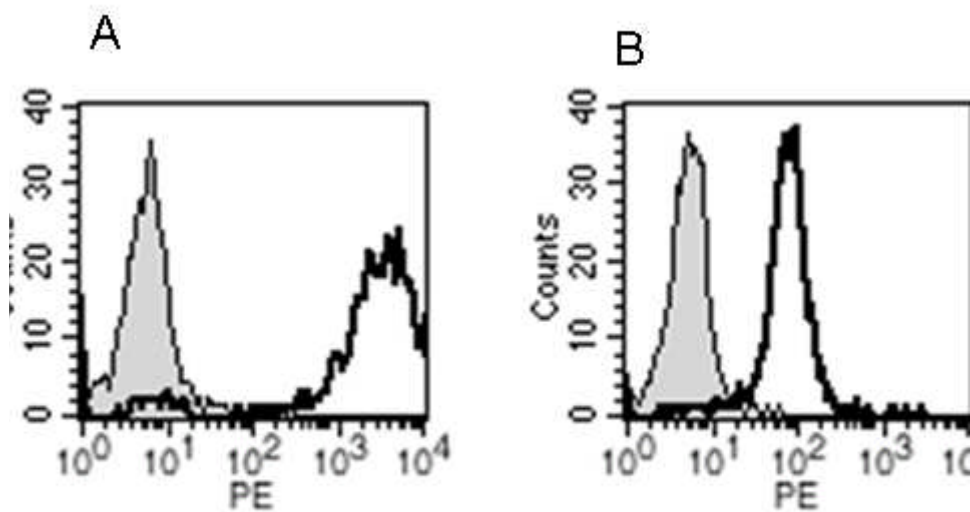


図 135 抗 A 抗体 (AA) の FACS 解析。ADCC 活性、CDC 活性を調べた 2 種類のヒト腫瘍株に対して、抗原の発現を調べるために、FACS 解析を実施した。

一方、抗原 A を高発現している、A431 細胞を用いて、ADCC 活性を測定したところ、Colo205 の場合と異なる挙動が観察された。A431 の場合は、抗体単独と 6 つの抗体すべ

てを混合した場合でも、ADCC 活性に差が観察されなかった。ADCC 活性は、標的細胞に結合した抗体の Fc 領域を、NK 細胞などのエフェクター細胞が認識し、活性化することにより、細胞死を誘導する。この作用機構から類推すると、抗原が高発現している場合は、すでに過剰量の Fc が存在することにより、エフェクター細胞の活性が飽和しているためであると考えられる。したがって、抗体を混合することにより、ADCC 活性を増強する技術は、比較的発現量が低い抗原において有効であることが示唆された。

A431 細胞を用いて、抗体の組み合わせによる影響を調べた。ADCC 活性とは異なり、CDC 活性は 1 個の抗体のみでは活性を検出することができなかった。しかしながら、2 つ以上の抗体を組み合わせることにより、活性を検出することができた (図 138)。CDC 活性の場合、ADCC とは異なり、抗体の数が増加すれば、抗体の種類に関係なく活性が増強するというわけではなく、どの抗体を混合するかが重要であり、エピトープ依存性が示唆された。図 139 に示すように、AA と AD という 2 つの抗体を混合した場合、6 個の抗体を混合した場合と、ほぼ同程度の活性を示していることから、CDC 活性の場合は、選抜した 2 個の抗体により最大限の効果を発揮できると考えられた。抗体 AA は強度の違いはあるが、残りの 5 個の抗体のうち、4 個の抗体と組み合わせることにより、CDC 活性が検出できる程度に増強することができている。一方、AA との組み合わせで最大の効果を生み出す、AD 抗体も 4 個の抗体との組み合わせで増強効果を確認できている。AB,AC,AE は、AA,AD 以外の抗体との組み合わせでは CDC 活性は観察されない。また、AF は AA,AD の両方の抗体との組み合わせにおいても、CDC 活性が観察されていない。これらのことから、CDC 活性増強のため抗体を混合する場合は、抗体のそれぞれの特性が寄与することが分かった。

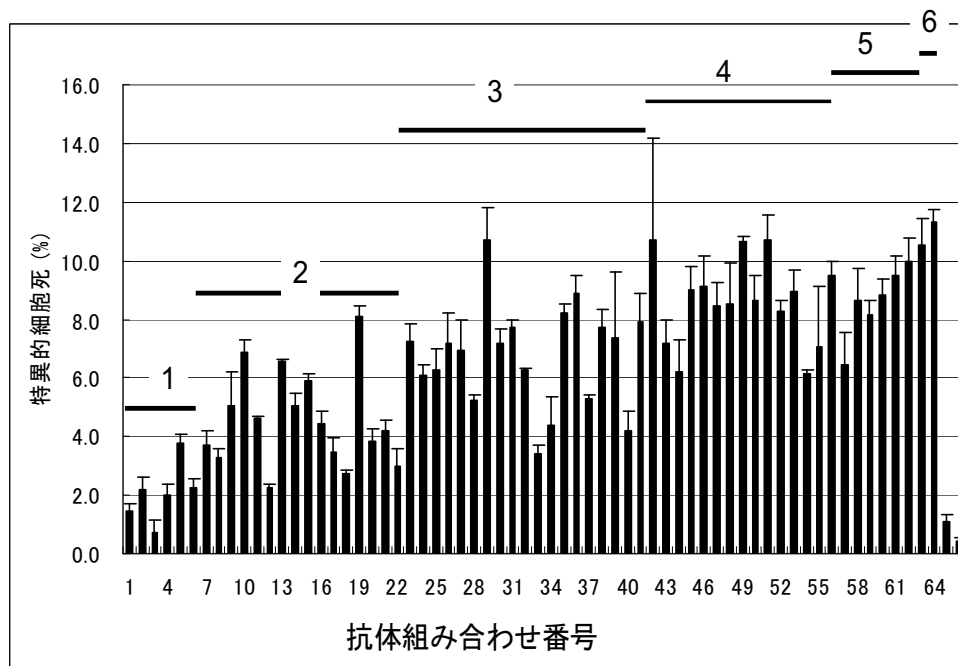


図 136 抗抗原 A 抗体の抗体の混合による ADCC 活性の増強。抗原 A を中程度発現する Colo205 細胞を標的細胞として、ADCC 活性を評価した。抗体の最終濃度は、1 g/ml, エフェクター細胞と ^{51}Cr を取り込ませた標的細胞の混合比は 25:1 で実施した。抗体とエフェクター細胞を添加・混合後 37°C で 4 時間培養した後、 ^{51}Cr のリリースを測定した。図中に示した数は抗体の混合数を示す。細胞障害活性の割合は、以下の計算式によって算出された。 % specific lysis = (experimental cpm – spontaneous cpm)/(maximal cpm – spontaneous cpm) x 100.

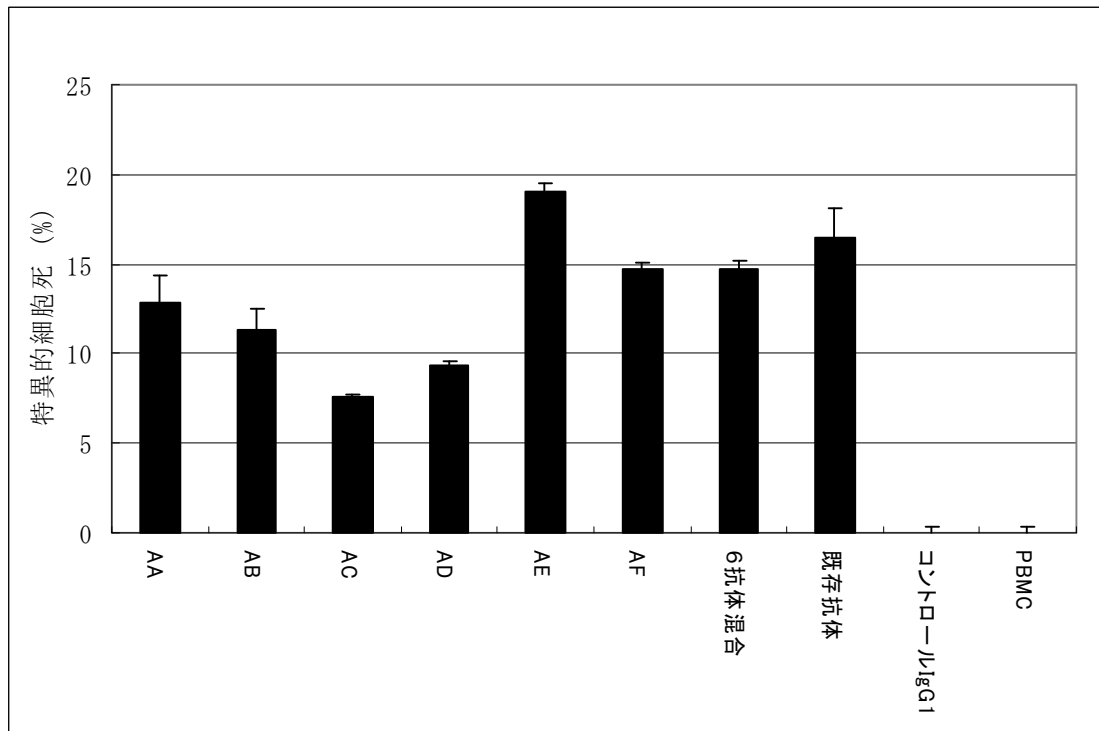


図 137 抗抗原 A 抗体の抗体の混合による ADCC 活性の増強。抗原 A を中程度発現する A431 細胞を標的細胞として、ADCC 活性を評価した。抗体の最終濃度は、1 g/ml, エフェクター細胞と ^{51}Cr を取り込ませた標的細胞の混合比は 25:1 で実施した。抗体とエフェクター細胞を添加・混合後 37°C で 4 時間培養した後、 ^{51}Cr のリリースを測定した。図中に示した数は抗体の混合数を示す。細胞障害活性の割合は、以下の計算式によって算出された。 $\% \text{ specific lysis} = (\text{experimental cpm} - \text{spontaneous cpm}) / (\text{maximal cpm} - \text{spontaneous cpm}) \times 100$.

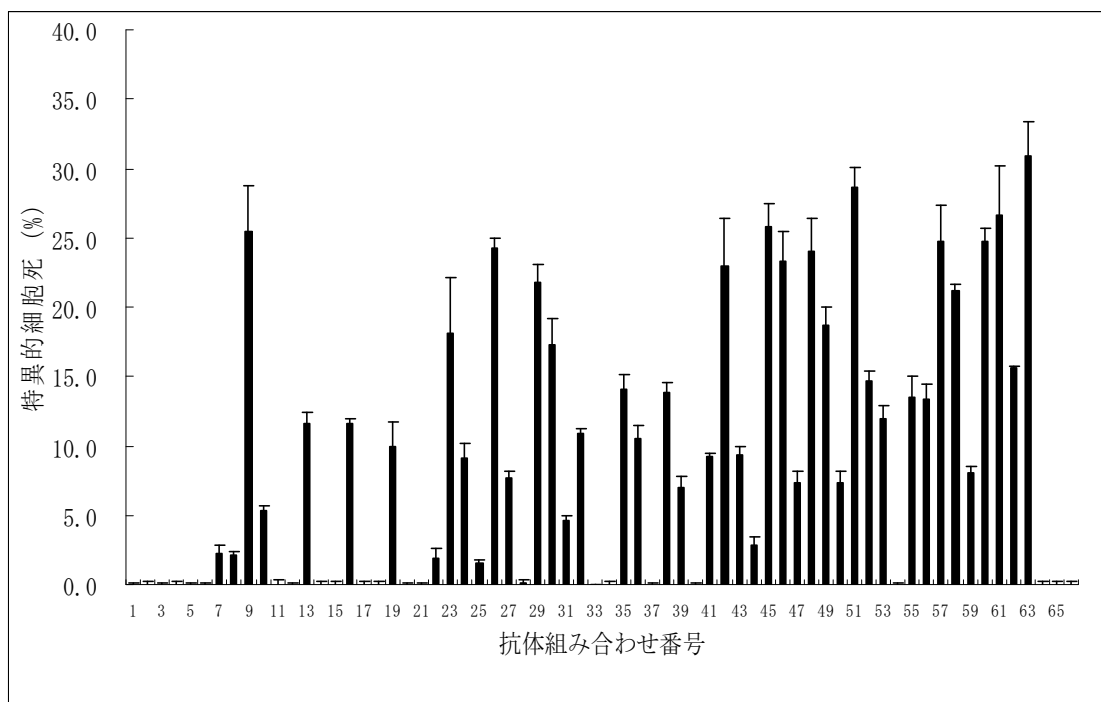


図 138 A431 細胞をもちいて、6 種の抗体を単独、2 個、3 個、4 個、5 個、6 個混合した場合の CDC 活性を測定した。A431 (1×10^6) を $50 \mu\text{Ci}$ (1.85MBq) の ^{51}Cr と共に 37°C 1 時間インキュベートしラベルした。洗浄後、culture medium によって $5 \times 10^5/\text{ml}$ に調製した。抗体 (最終濃度 $10 \mu\text{g/ml}$ $100 \mu\text{l/well}$) とラベルされた A431 ($50 \mu\text{l/well}$) を V bottomed microtiter plate (Corning International K.K.) に添加した。Final 5% human serum ($50 \mu\text{l/well}$) を添加することによって反応を開始した。 37°C 2 時間インキュベーション後、遠心分離し ^{51}Cr を含む上清 $50 \mu\text{l}$ を Lumaplate (PerkinElmer Co., Ltd.) に移し乾燥させた。 ^{51}Cr リリースは、cpm として測定された。細胞障害活性の割合は、以下の計算式によって算出された。

$$\% \text{ specific lysis} = (\text{experimental cpm} - \text{spontaneous cpm}) / (\text{maximal cpm} - \text{spontaneous cpm}) \times 100.$$

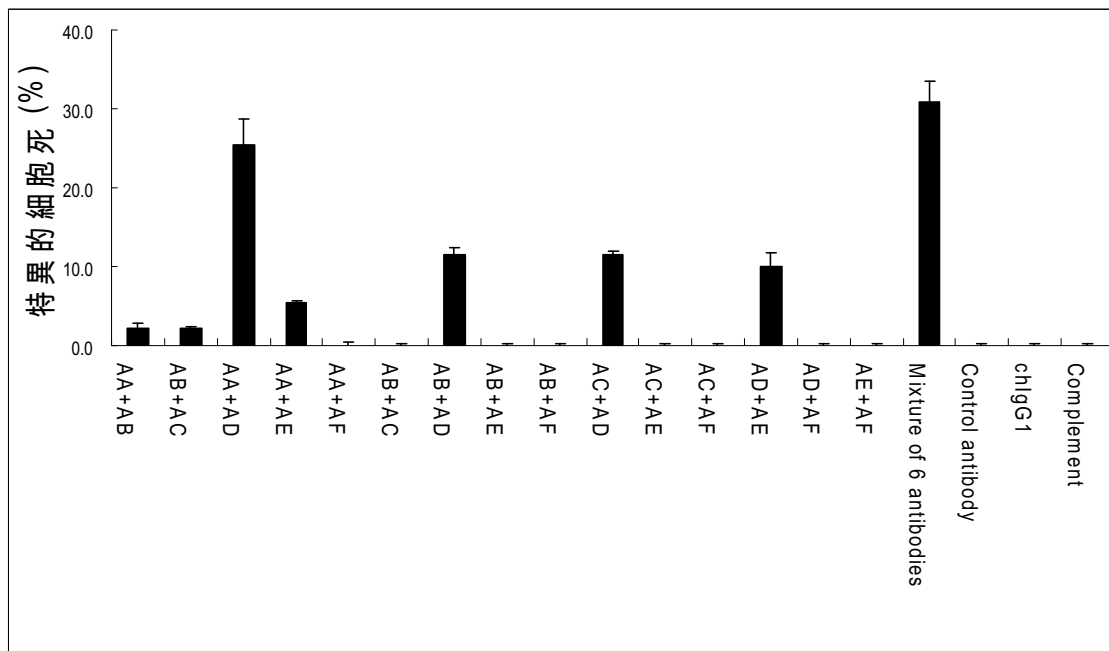


図 139 A431 細胞を用いて 抗体 2 つ混ぜた 15 組の組み合わせと 6 個すべて混ぜた場合の CDC 活性の比較。試験は図 138 の方法によって実施した。

3) 結晶構造解析によるオリゴクローナル抗体活性増強機構の解明

オリゴクローナル抗体を構成する各抗体由来 Fab の結晶構造解析

抗原 A を特異的に認識する抗体のうち、AA、AB、AC、AD、AE について Fab を調製し、結晶化実験を実施した結果、AD を除く 4 種類の Fab の結晶化に成功した。

それぞれの抗体の結晶化条件を以下に示す。

AA: : 20% PEG3350, 1% Tryptone, 0.05M HEPES pH7.0 (PEG/ION-II 48)

AB: : 20 %(w/v) PEG3350, 8 %(v/v) Tacsimate (pH7.0) (PEG/ION-II 16)および 20% PEG3350, 0.2M Ammonium sulfate (PEG/ION-I 35)他、2 条件で微結晶を確認した。

AC: : 25% (v/v)MPEG 550, 0.01M Zinc sulfate heptahydrate, 0.1M MES pH6.5,

AE: :20% PEG3350, 0.2M Ammonium fluoride

いずれの条件でも、PEG を沈殿剤とした条件で結晶を取得することができた。得られた結晶を用いて、X 線回折データを収集し、引き続き分子置換法による位相決定と精密化により結晶構造解析を実施した。決定した立体構造を図 140 に示す。

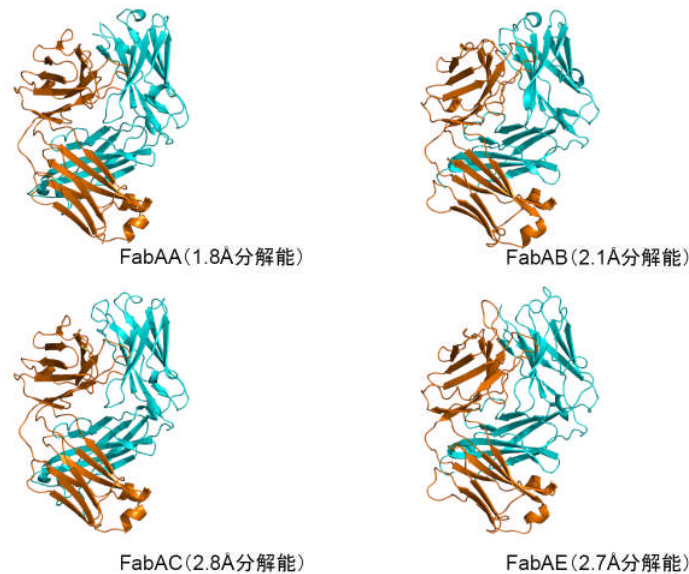


図 140 .オリゴクローナル抗体を構成する各抗体(Fab)の立体構造。抗体の重鎖および軽鎖は各々水色および橙で表示。

Fab/抗原 A 複合体の結晶化

Fab と抗原 A との複合体の構造解析に向けた結晶作製においては、大きく分けて 2 つアプローチをとった。一つは、①：抗原 A 全長に対して 1 分子あるいは複数の Fab を結合させた複合体の結晶化実験、もう一つは、②：ドメイン分割した抗原 A に対し 1 分子の Fab を結合させた複合体の結晶化実験である。①の方法からは、Fab 間の相対配置や Fab が結合したときの抗原 A 全体構造を直接得られるが、結晶化の難易度は高い。一方、②の方法は、分子が小さくなるため結晶を取得できる可能性が高まると考えられるが、各 1:1 構造データ取得後に、抗原 A 全体構造構築のためのモデリングが必要になる。

①抗原 A に対して 1 分子あるいは複数の Fab を結合させた複合体の結晶化実験

抗原 A と Fab との複合体の結晶化実験では、抗原 A に対して、1:1~1:3 までの様々な複合体を調製し、結晶化実験を行った(表 20)。1:3 複合体の結晶化実験では、抗原 A 1 分子に対して、CDC 活性が増強する組み合わせと増強がない組み合わせの 2 種の組み合わせの複合体を調製し、結晶化スクリーニングを実施した。また、1:1:1 複合体の結晶化実験が難航することも想定し、EGF 受容体/Fab 1:1 複合体の結晶化スクリーニングも実施した。

結晶化スクリーニングの結果、1:1:1 および 1:1 複合体については、数条件において結晶を取得し、X 線回折実験をしたが、いずれも立体構造解析に十分な回折データ収集するには至らなかった(表 20)。

1 分子の抗原 A に対して、CDC が増強する組み合わせと増強がない組み合わせで、2 種の抗体を結合させた 1:1:1 複合体をそれぞれ調製し、結晶化スクリーニングを実施した。

また、1:1:1 複合体の結晶化が難航することも想定し、抗原 A/Fab 1:1 複合体も計 3 種作製し結晶化スクリーニングを実施した。

表 20 EGFR-ECD/Fab 複合体の結晶化実験（まとめ）

	抗体組み合わせ	CDC 活 性 上昇	調 製	X 線回折実験結果
1:1 複合 体	抗原 A / Fab(AA)		○	
	抗原 A / Fab(AB)		○	分解能 3.0 Å の反射を確認。
	抗原 A / Fab(AC)		○	
	抗原 A / Fab (AD)		○	
	抗原 A / Fab (AE)		○	
1:2 複合 体	抗原 A / Fab (AA+AD)	+	○	
	抗原 A / Fab (AB+AD)	+	○	分解能 9.0 Å の反射を確認。
	抗原 A / Fab (AC+AD)	+	○	
	抗原 A / Fab (AD+AE)	+	○	
	抗原 A / Fab (AA+AC)	-	○	
	抗原 A / Fab (AB+AE)	-	○	微量結晶を確認。
1:3 複合 体	抗原 A / Fab (AA+AC+AD)	+		
	抗原 A / Fab (AB+AD+AE)	+	○	

②については、マウス/ヒト・キメラ抗体由来 Fab とドメイン分割した抗原 A との複合体の結晶化を試みた。エピトープ解析の結果に基づき、Fab とドメイン分割した抗原 A を混合し、ゲル濾過カラムクロマトグラフィーによってその結合を確認した（表 21）。FabAB の部分欠失変異体 del-1 に対する結合と、FabAE の部分欠失変異体 del-3 に対する結合が確認できなかったが、これはエピトープではない領域も抗体結合に影響を与えており、その領域を除いた欠失変異を導入したためと考えられた。複合体形成可能な組み合わせのうち、CDC 活性の顕著な相乗効果が見られる組み合わせ（FabAB-FabAD）と見られない組み合わせ（Fab AB-Fab AC）を選択し、Fab AB/Del-2、FabAC/ドメイン Del-2、Fab AD/ドメイン Del-3 の 3 つの組み合わせについて、複合体を大量調製し結晶化実験を実施した。しかし、現時点ではいずれの複合体においても、結晶は得られていない。

表 21 Fab と部分欠失変異抗原 A との結合および結晶化実験（まとめ）

使用した Fab	抗原 A 部分欠失変異体	ゲル濾過実験 (抗原 - 抗体結合確認)	結晶化実験
Fab AA	Del-1	○	-
Fab AA	Del-2	○	-
Fab AB	Del-1	×	-
Fab AB	Del-2	○	実施
Fab AC	Del-2	○	実施
Fab AD	Del-3	○	実施
Fab AE	Del-3	×	-

オリゴクローナル抗体活性増強機構についての考察

オリゴクローナル抗体による CDC 活性増強機構を考察するために、これまでに得られている抗原 A の構造情報を総括した Fab 複合体モデル構造を作製した。データベース(PDB)に登録されている抗原 A の立体構造に、本プロジェクトで得られたマウス・ヒトキメラ抗原を用いたエピトープ解析の結果を反映させて、オリゴクローナル抗体と Fab の複合体モデルを作成した(図 141)。抗体 AA, AB, AC, AE については、本研究で解析した Fab 単体の立体構造情報を、抗体 AD については構造未決定のために Fab AE の構造情報を使用した。得られたモデルから下記のことが推定できる。

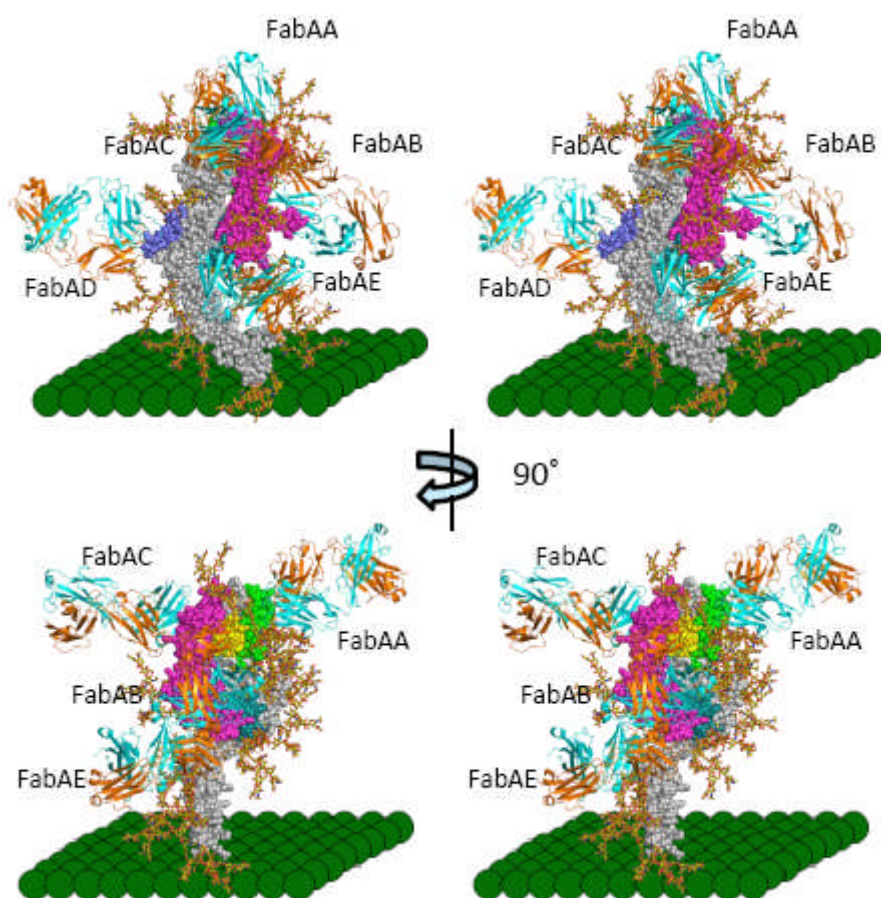


図 141 抗原 A に対するオリゴクローナル抗体(Fab)結合モデル。抗原 A は球状モデル、糖鎖は棒状モデル、抗体はリボンモデルで表示。キメラ体を用いて決定された抗原 A 中の各抗体による認識領域は (AA: 緑、AB: 黄、AC: 赤紫、AD: 青、AE: 青緑) で、抗体の重鎖および軽鎖は各々水色および橙で表示。

抗体 AA(Fab AA)および AD(Fab AD)は、その他の抗体(Fab AB, AC, AE)と空間的に離れた位置で結合する。

- 1) 抗体 AA(Fab AA)および AD(Fab AD)は、細胞膜から見て上側から結合している(Fc の C 末端が上を向いている)。
- 2) 抗体 AA(Fab AA)および AD(Fab AD)は CDC 活性上昇への寄与が高い抗体で、特にこの両者の組み合わせにおいて最も活性向上が見られる。

以上の点から、オリゴクローナル抗体による細胞障害活性の増大機構について、次のように考察した。オリゴクローナル抗体における CDC 活性上昇には、(1)抗体の結合方向 (Fc の C 末端が細胞膜から見て上を向いている)、(2) 1つの抗原に対して相対的に離れたエピトープを認識する抗体の組み合わせが効果的であること、(3) オリゴクローナル抗体が同一の抗原に対して生成されているのであれば、作用する抗原 A の細胞外ドメイ

ンの構造は活性型であると考えられる。

4) 他抗原への応用の可能性の検討

【抗原 B 抗体の取得と抗原 B に対するオリゴクローナル抗体の CDC 活性評価】

市販マウスを 20 匹程度免疫し、抗体価が上昇したもののうち数匹を細胞融合に使用した。競合試験や、機能評価の結果から 4 つの抗体を選択した。CDC 活性の評価のため、可変領域をクローニングし、キメラ抗体を発現・精製し、活性の評価を行った。

抗抗原 B 抗体 4 個の単独と 2 つずつ混合した場合の、CDC 活性の評価を行った(図 142)。抗抗原 B 抗体は、抗抗原 A 抗体と同様に単独では CDC 活性は示さなかった。しかしながら、抗抗原 B 抗体に対する抗体を混合した場合は、BD 抗体以外の抗体はどの抗体を組み合わせた場合においても CDC 活性が測定できるようになった。

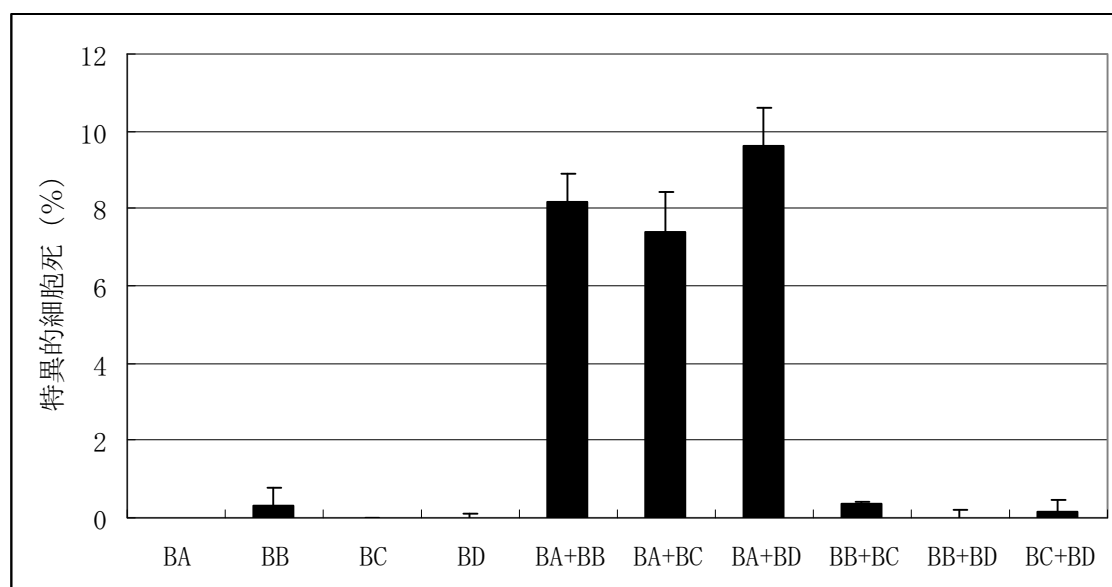


図 142 抗原 B 発現細胞を用いて、抗抗原 B 抗体の CDC 活性を測定した。図 138 に示したものと同様な方法で測定を行った。

【抗原 E,F 抗体の取得と抗原 E,F に対するオリゴクローナル抗体の CDC 活性評価】

市販マウスを 20 匹程度免疫し、抗体価が上昇したもののうち数匹を細胞融合に使用した。抗抗原 E 抗体については、1 クローンのみ取得できた。抗原 F については、3 クローン取得できた。CDC 活性の評価のため、可変領域をクローニングし、キメラ抗体を発現・精製し、活性の評価を行った。抗抗原 E、F 抗体についても、単独では CDC 活性を発揮しなかったものの、抗抗原 E 抗体と抗抗原 F 抗体を混合することにより、CDC 活性を検出することができるようになった。

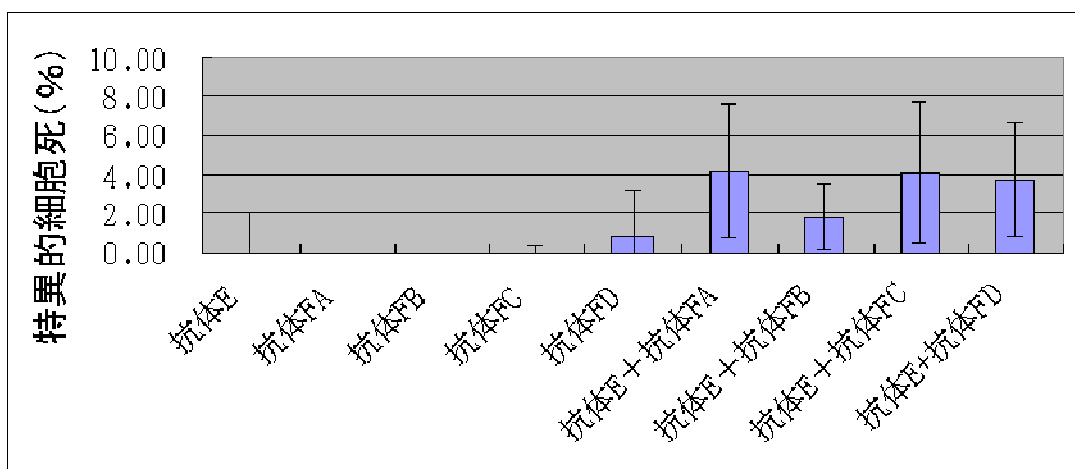


図 143 抗原 E、F 発現細胞を用いて、抗抗原 E、F 抗体の CDC 活性を測定した。図 8 に示したものと同様な方法で測定を行った。

【まとめ】

抗抗原 A モノクローナル抗体のパネルを作製し、抗体を混合した場合、どのような活性が増強されるか調べた。抗原 A については、特に CDC 活性が顕著に増強された。ヒト・マウスキメラ抗原を用いた解析から、抗体が結合するエピトープが重要であることが示唆された。一方で、最も CDC 活性を増強する抗体の組み合わせは、たとえば、ADCC 活性や細胞増殖抑制活性においても最強であるわけではなく、発揮したい活性によって組み合わせを検討する必要があることが分かった。さらに、抗原 A に対する抗体は 1/3 がアゴニスト抗体を示すことがわかったが、たとえば癌の治療を考慮し、オリゴクローナル抗体技術を用いた場合、いかにこのような活性を持たない抗体の組み合わせにより最大の薬効を発揮するかが重要となる。抗原 A の場合、アゴニスト活性の発揮による副作用を考慮した場合、3 種類のモノクローナル抗体を組み合わせることによって、抗腫瘍活性の効率的誘導と増殖促進抑制能を併せ持つ、オリゴクローナル抗体の作製が可能になると考えられた。

CDC 活性増強の作用機構を調べるため、結晶構造解析を行った。CDC 活性増強する Fab 単独、もしくは Fab と抗原複合体の結晶化条件を検討した。Fab については、結晶化に成功した。一方で、Fab と抗原の複合体の結晶化については、結晶は得られたものの解像度が低く、必要な情報を得ることができなかった。キメラ抗原への結合性から、エピトープは分かっているため、Fab の結合領域の構造から、蛋白質結合モデリングにより、抗原への結合様式を推定したところ、CDC の状況には、Fab の向き、距離、抗原の構造が関与することが示唆された。

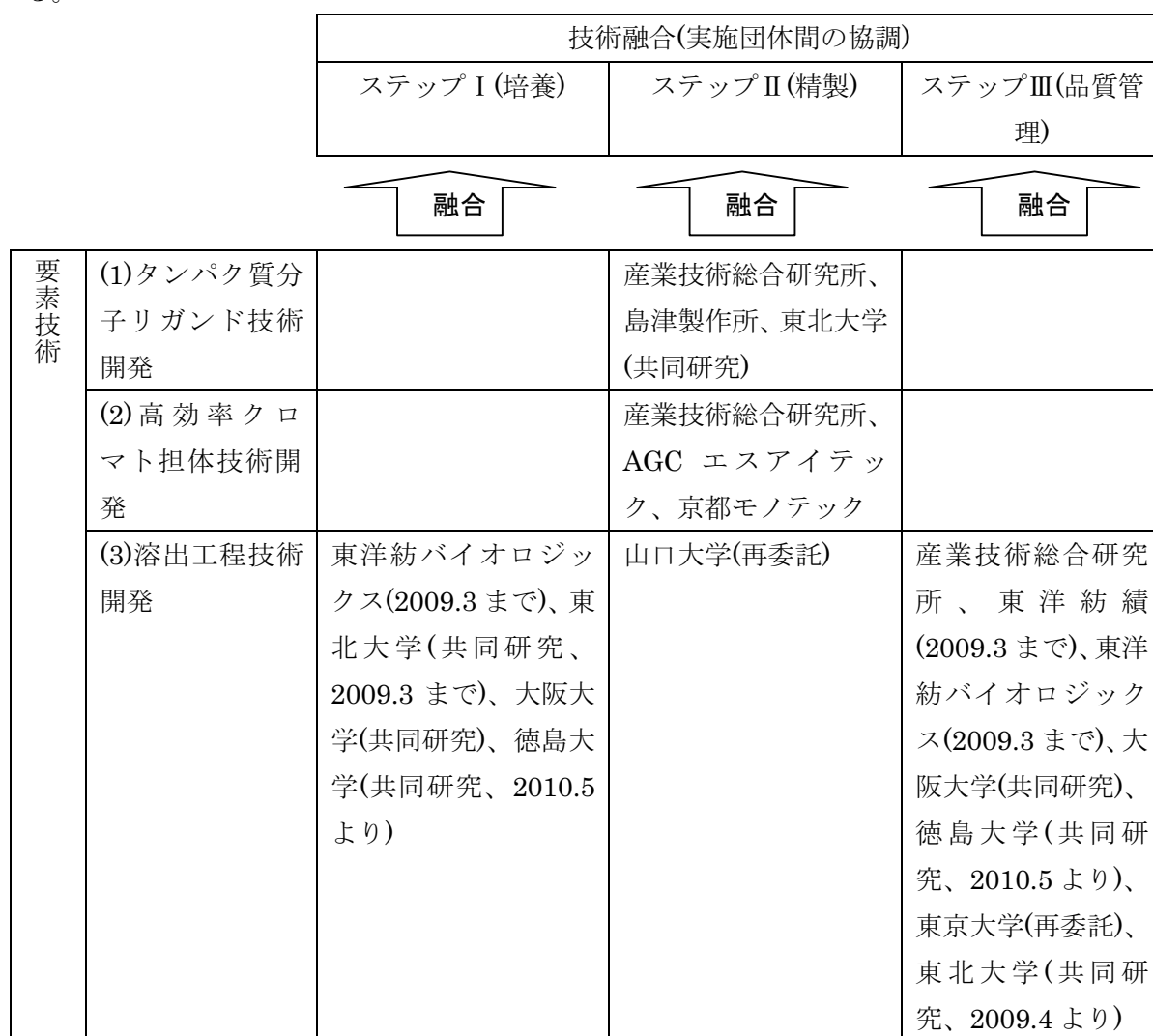
抗原 A 以外に活性増強が観察されるか調べるため、抗原 A を含め計 10 種の抗原を免疫した。モノクローナル抗体を複数個取得できたもののうち、抗原 B、E、F については抗

原 A と同様に CDC 活性の増強が観察されたが、抗原 A と同様に多数のマウスを免疫し、抗体のパネルを作製した、抗原 C については CDC 活性の増強は観察されなかった。抗原 A,B,E,F と抗原 C との違いから、CDC 活性増強には、抗原が持つドメイン構造が重要であることが示唆された。

本研究により、抗体を混合することにより活性が著しく増強する場合があることがわかり、その活性は、エピトープや抗原の構造的長に依存する可能性が示唆され、医薬品としてオリゴクローナル抗体を開発する上で重要な知見を得ることが出来た。

第二部 B：高効率な抗体分離精製技術

研究開発項目②「高効率な抗体分離精製技術」は、技術領域に即した3つの小項目、(1)タンパク質分子リガンド技術開発、(2)高効率クロマト担体技術開発、(3)溶出工程技術開発で構成され、産業技術総合研究所およびバイオインダストリー協会各分室が、それぞれの小項目で担当する要素技術の開発を進めた。また、開発した要素技術を持ち寄り、全体として統一したダウンストリーム・システムを完成させるための技術融合も同時に進めた。システム構築のための技術融合は、抗体医薬製造工程の流れに沿った3つのステップ、ステップⅠ(培養)、ステップⅡ(精製)、ステップⅢ(品質管理)、ごとに行われた。以上の、要素技術の開発とシステム構築のための技術融合の関係をまとめると以下のように表わされる。



3つの開発小項目で行う要素技術の開発および3つのステップに整理される技術融合の概略は以下のとおりである。

(1)タンパク質分子リガンド技術開発

抗体精製用のアフィニティークロマトカラムに充填されるアフィニティリガンドに関する技術開発を行う。具体的には、「①タンパク質分子リガンドに関する基盤技術の開発」として、抗体結合性を有する新規タンパク質の設計・創製技術の開発を行う。多品種の抗体分子に対応可能で、結合・解離特性の優れたタンパク質分子リガンドを迅速・安価に提供するための設計技術、合成技術、評価技術の開発を行う。また、「B-①タンパク質分子リガンドの多様化および評価に関する技術開発」として、アフィニティリガンドの多様化のためのライブラリー構築技術と効率的特性評価機器システムの開発を行った。

(2)高効率クロマト担体技術開発

抗体精製用のアフィニティークロマトカラムに充填されるクロマト担体に関する技術開発を行う。具体的には、「②高効率クロマト担体に関する基盤技術の開発」として、担体基材に対するタンパク質分子リガンドの配向制御固定化技術、高密度化・安定化固定化技術の開発を行う。また、「B-②無機固体系を用いたクロマト担体基材の開発」として、開発した新規クロマト担体の静的抗体結合量、動的抗体結合特性の評価を行う。また、クロマト担体に適用可能な動的特性の優れた基材の開発を行った。

(3)溶出工程技術開発

抗体精製のための各種クロマトグラフィーの溶出工程に関する技術開発を行う。具体的には、「③溶出工程に関する基盤技術の開発」として、溶出時の抗体の不可逆的な会合凝集・変性等を抑制するための溶出溶媒の最適化にむけて、抗体の凝集化過程を迅速に検出する技術の開発を行う。また、「B-③溶出工程における支援技術の開発および分離精製システムの実用的評価」として、溶出工程の高度化および効率化に向けた支援技術の開発を行う。開発した分離精製システム全体の実用性の評価を行った。

ステップ I (培養)

内外の大学、公的機関および製薬メーカー・創薬ベンチャーに対し、本プロジェクトの意義を説明し、医薬候補であるヒト型モノクローナル抗体の提供を依頼する。提供を受けた遺伝子または抗体産生細胞を元に、遺伝子の再構成、高発現細胞のクローニング、培養条件の検討等により抗体産生の生産性を向上させ、実用化に近いレベルまで生産システムを構築する。この系で、パイロットスケールの細胞培養を繰り返し、得られた培養液を「実証パイプライン」と称して各要素技術開発に供給する。また、本事業の後期では、研究開発項目①「系統的な高特異性抗体の創製技術開発」にて開発した新規の医薬候補のモノクローナル抗体に関して、同様の検討とパイロットスケールの細胞培養を行い、得られた培養液を「実証パイプライン」に加え各要素技術開発に供給した。

ステップ II (精製)

アフィニティリガンドのライブラリー構築、ライブラリーのハイスループットスクリー

ニング技術の開発、計算機を利用したリガンドの論理的改変、流動特性の優れた次世代型クロマト担体基材の開発、効率的リガンド固定化反応の開発、リガンドタンパク質およびクロマト担体基材の商業規模生産技術等の要素技術を持ち寄って、高性能な抗体精製用アフィニティークロマトグラフィー担体を開発する。開発した試作カラムを用いて、ステップⅠで調整した医薬候補のヒト型モノクローナル抗体の培養原液を「実証パイプライン」として精製し、試作カラムの性能を評価した。

ステップⅢ(品質管理)

抗体の変性・凝集の分子機構の解析、抗体-溶媒相互作用に関する溶液化学的解析等の基礎的知見の集積と、抗体の変性・凝集検出技術の開発、抗体の分子多様性の評価法の開発、溶出溶媒の探索手法の開発、溶出工程のスケールアップシミュレーション技術等の要素技術の開発を進め、これらを基盤として、ステップⅡで行う、ヒト型モノクローナル抗体の培養原液の試作カラムによる精製実験において、最大のパフォーマンスを発揮するための溶出条件の特定を行う。また、あわせて、アフィニティークロマト前後の処理工程についても、溶液化学的観点からの最適化を進め、ステップⅠで調整した医薬候補のヒト型モノクローナル抗体の培養原液をステップⅡで精製することで得られた「実証パイプライン」の精製抗体の品質を確認する。

以下に、まず、要素技術の開発の進捗および成果に関して課題ごとに記載し、ついで、システム構築ための技術融合の進捗および成果に関してステップごとにまとめた。

B-① タンパク質分子リガンドの多様化および評価に関する技術開発

1)独立行政法人 産業技術総合研究所

図 144 は、タンパク質分子リガンド技術開発の開発方針の概略を示す。

リガンド機能を担う配列として、抗体結合機能を示す公知配列をもとに、配向制御固定化反応が適用できるようにシステイン残基及びリジン残基を全く含まない配列に改変したものを作製し、それを構成要素とするタンパク質集団を一次ライブラリーとした。

一次ライブラリーの構成要素には、アフィニティリガンドとして有用性があきらかであるプロテイン A 由来のドメインがあり、これをもとに、イ. プロテイン A 型リガンド・ライブラリーの開発を行った。プロテイン A 由来以外の配列については、ロ. プロテイン A 代替リガンド・ライブラリーの開発に供した。

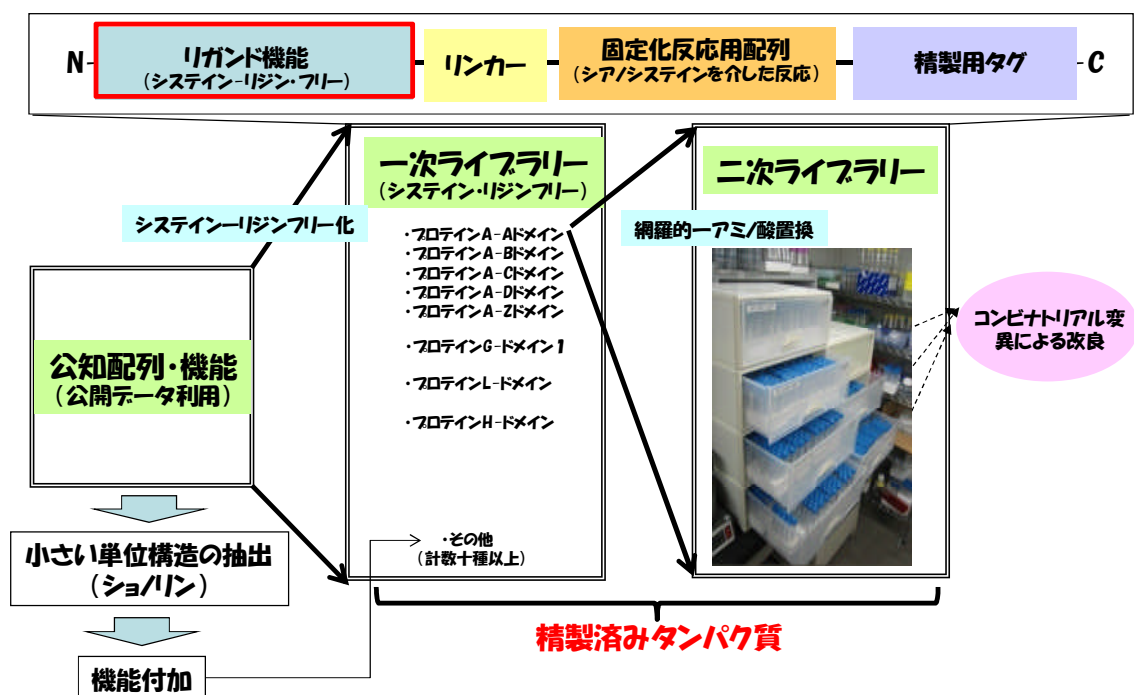


図 144 タンパク質分子リガンド技術開発の開発方針の概略

イ. プロテイン A 型リガンド・ライブラリーの開発

抗体結合分子であるプロテイン A 配列を元に、カルボキシル末端側もしくはアミノ末端側を介して一箇所のみで担体に結合する形にアミノ酸配列を改変した。作製したアミノ酸配列を元に大腸菌で発現できる人工遺伝子を作製し、大腸菌での大量発現を行った。発現した固定化用改変プロテイン A を大量に作製し、クロマト担体作製用リガンドとしての供給を進めた。更に、この配列を出発として、網羅的な 1 アミノ酸変異体遺伝子を作製し、866 種類の遺伝子ライブラリーを完成させた。ついで、これらの人工遺伝子で形質転換した大腸菌の大量発現を行い、845 種類のプロテイン A 型リガンドタンパク質ライブラリー(これを 2 次ライブラリーと称する)を完成させた。表面プラズモン共鳴法を用いて、作製したすべての 1 アミノ酸変異体について、ヒトポリクローナル抗体との結合特性解析を完了した。また、島津分室が開発したリガンド特性評価装置を用いたアフィニティ担体に組み込んだ時のリガンド特性を解析した。その結果、作製したライブラリー中に、所望のリガンドがみいだされ、我々の開発方針の有効性が実証された。

更に、網羅的 1 アミノ酸変異体タンパク質ライブラリーの抗体結合特性データをもとに、より特性のすぐれた多重変異体タンパク質の設計・合成を進め、温和な条件で抗体を効率よくできるアフィニティリガンドの開発に成功した。アミノ末端 1 箇所で結合できるリガンドの開発を行い、リガンドの製造を自動的に行う反応装置を開発した。

ロ. プロテイン A 代替リガンド・ライブラリーの開発

プロテイン A 以外の 35 種の候補タンパク質を 1 次ライブラリー化し、これらの野生型

配列を配向制御固定化に向けデザインし、その人工遺伝子の合成及びその大腸菌での発現を行った。1次ライブラリーの中から抗体結合特性を優れた2種をプロトタイプリガンドとして特定し、この配列を出発として、網羅的な1アミノ酸変異体遺伝子を作製し、2次ライブラリーを構築した。表面プラズモン共鳴法を用いて、2次ライブラリーの452種の変異体について、ヒトポリクローナル抗体との結合特性解析を行った。計算機を用いた独自の分子設計法を開発し、熱安定性に優れたプロテインG変異体タンパク質を合成し、これらの抗体結合特性を定量的に測定した。この中から選別したりガンドの配列をさらに改変し、弱酸性域で溶出可能な実用的なプロテインA代替リガンドを完成させた。既知の抗体結合性のタンパク質とは全く異なるアミノ酸配列を有するリガンドを創出することを目指して、分子骨格として極微小人工タンパク質シニョリンを採用し、これを進化分子工学的手法で機能化することで、30アミノ酸以下ながら高い親和性で特異的に抗体を認識することができる小型人工リガンドタンパク質の開発に成功し、これを上記一次ライブラリーに組み込んだ。

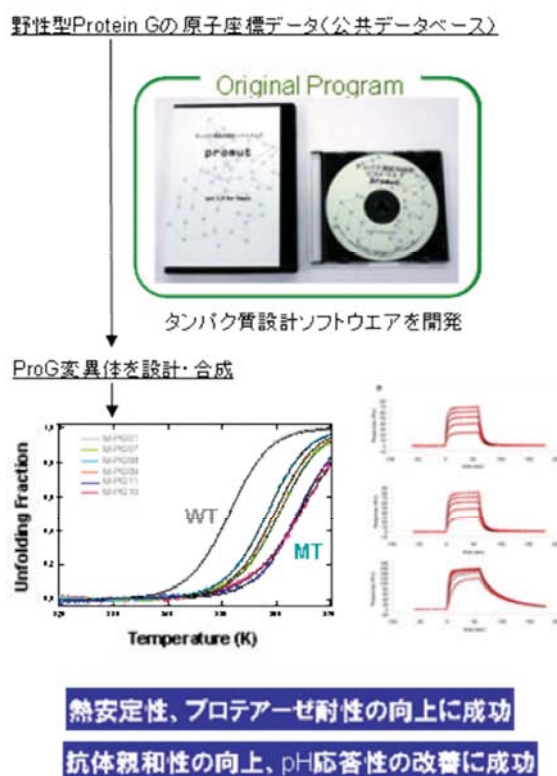


図 145 計算機を用いた独自の分子設計法を開発

ハ. リガンドの効率生産技術の研究

プロテインA型リガンド・ライブラリーの人工遺伝子の発現を効果的に行わせるための発現ベクター開発に関しては、高い転写効率で遺伝子を発現させる発現系を大腸菌で構築した。これを基本として、さらに商業規模生産に向けたスケールアップに伴う課題

を解決し、プロテイン A 型プロトタイプリガンドの数グラム～数百グラムスケールの安定的生産を可能にした。

2)島津分室(株式会社島津製作所)

イ. 抗体アレイスポットティング装置の開発

多種類のリガンドをアクリルアミド等の平板担体に自動的にスポットする装置(抗体アレイスポットティング装置)を開発した。1枚の担体に96点をスポットするのに要する時間は約40分程度であり、担体が平板モノリスの場合、スポットが重ならない最小間隔は1.2mm程度であった。

ロ. 抗体アレイを用いたリガンド特性評価装置の開発

イ. で作製した多種類のリガンドがスポットされた平板担体を用いて、これに各種抗体溶液を流し、その前後のスポット毎のタンパク質濃度をスポットの紫外線吸収を測定することでリガンドと抗体の相互作用を評価する装置(リガンド特性評価装置)を開発した。担体が平板モノリスの場合、最小画面取得間隔は8秒程度であった。

また、これとは別にリガンドを含むカラムからの溶出を測定する方式によるリガンド特性評価装置(2号機)を開発し、ハ.の溶媒探索用分析システムの検出系とした。

ハ. 溶媒探索用分析システムの開発

ロ.の評価装置2号機を検出系とし、新たに20個の溶媒を自動切替え可能な流路系を開発し、合わせて溶媒探索用分析システムとして構築した。カラム材料をモノリスとし、9種類の溶出溶媒を順次切替えた場合にデータ取得に要する時間は5時間半程度であった。

3)東北大学大学院工学研究科

イ. リード配列の構築とライブラリの作製

抗体精製用の新規リガンドとして、ヒト IgG1 特異的抗体を産生するハイブリドーマから可変領域断片(Fv)の遺伝子配列をクローニングし、一本鎖抗体(scFv)遺伝子を作製、さらに大腸菌発現系を用いた調製系の構築を行った。作製した scFv のヒト IgG1 に対する結合活性と特異性を表面プラズモン共鳴などにより確認後、抗体精製用の新規リガンドの構築に向けて主に固定化条件を検討し、固定化後の機能解析を進めた。結果、ヒト IgG1 由来の Fc に特異的な結合活性を有したまま固定化することに成功した。本技術は、既存のプロテイン A を用いた精製条件では凝集が見られる等、調製が困難な抗体医薬候補に対して最適ナリガンドを用意する発想、可能性を期待させるものである。

B-② 無機固体系を用いたクロマト担体基材の開発

1)独立行政法人 産業技術総合研究所

ニ. リガンド固定化技術の開発

リガンドタンパク質を担体基材に固定化する際の配向を制御するために重要な、カル

ボキシル末端側のアミノ酸配列とスペーサー配列長の最適化をプロテイン A 型リガンドタンパク質に関して検討し、スペーサー配列としては 4 グリシンで十分であることを確認した。また、高密度かつ高安定な固定化を実現するため、足場となる担体基材表面の官能基の密度とリガンド候補タンパク質の投入濃度と固定化量との関係を明らかにした。これにより、従来より少ないリガンド投入量で、ほぼ最密充填に近いレベルまで抗体を結合できる高効率配向制御固定化技術の開発に成功した。また、新たな配向制御型配列固定化反応として、プロテイン A 様改変タンパク質の主鎖の N 末端のみ反応させる方法を開発した。

ホ. アフィニティ担体の評価

作製される多数のリガンド候補タンパク質を固定化したアフィニティ担体としての特性解析をハイスループット化するための方法として、96 種のリガンドを同時に検出評価できるクロマトレイ測定法を新規に開発した。この新しい測定法を安定に行うための素材や加工条件の検討を行い最適化することで、最終的に 845 種の固定化プロテイン A 型リガンドの抗体性能評価を行った。また、プロテイン A 型のプロトタイプリガンドを固定化したパイロットスケールのアフィニティ担体を作製した。得られたプロトタイプアフィニティ担体は、ヒトポリクローナル抗体に対する最大結合量(静的結合量)の値として 90mg/mL-resin、接触時間 0.8 分の動的結合容量として 40mg/mL-resin 以上、更に接触時間 3 秒の場合の動的結合量として 30mg/mL-resin 以上の値を示すなど、世界トップの結合性能を発揮した。「イ. プロテイン A 型リガンド・ライブラリ開発」において開発に成功した温和な条件で抗体を効率よくできるアフィニティリガンドを組み込んだアフィニティカラムを利用することにより、抗体タンパク質にダメージを与えることの少ない温和な条件である pH5.0 における定量的溶出を達成し、従来ほとんど回収できなかった条件で 90%以上の安定回収することに成功した。プロトタイプアフィニティ担体を用いては、研究開発項目①「系統的な高特異性抗体の創製技術開発」にて開発した新規の医薬候補のモノクローナル抗体を含む「実証パイプライン」のパイロットスケールの培養液を系統的に精製し、用いた 24 種類のモノクローナル抗体のうち 19 種類に関して、80%以上回収率でアフィニティ精製が実施できることを確認した。

2)北九州分室(AGC エスアイテック株式会社)

イ. クロマト動的特性改良に関する技術開発

アフィニティクロマト基材に適する細孔径 100nm を有する大細孔径シリカゲルの細孔物性の制御要因を調査し、量産化用電気炉の設計を行った。また、抗体の動的拡散係数が最大となる細孔物性の最適化を行った。

ロ. 基材表面の官能基付与に関する技術開発

アフィニティリガンドと結合させるアミノ基の修飾方法を検討し、理想的なポリメリック構造をつくるアミノ基高密度表面処理方法を確立した。以上の成果により、動的吸

着容量が、目標値を大きく上回る 20mg-IgG/mL-Bed 上の性能を有するアフィニティク
ロマト充填剤が得られた。

ハ. 最適化した多孔質球状シリカゲルのスケールアップに関する技術開発

目的とする多孔質球状シリカゲル原体 5kg/Batch の安定生産を行うべく、量産化用電
気炉の運転条件を最適化した。その結果、Batch 内および Batch 間のバラツキは低減し、
不良率 0%の生産性を達成させた。

ニ. 産総研が開発したアフィニティリガンドの修飾方法に関する技術開発

リガンドの化学安定性の向上と、更なる非特異吸着を低減させるために、高分子によ
り架橋させる技術を検討した。本アミノ基担体に産総研のアフィニティリガンドを修飾
し、修飾量と性能を維持したまま、化学的安定性を大きく向上させ、非特異吸着を低減
させることに成功した。次いで、クラス 10,000 のクリーンルームを使用した cGMP 準拠
体制を確立し、製造バリデーションを実施した結果、500cm/hr 以上の高流速領域におい
て、動的結合容量 40mg-IgG/mL-bed 以上、リガンドリーク量 88ng/mg-IgG 以下、エン
ドトキシン 10.0EU/mL 以下、Bioburden 100CFU/mL 以下を検証した。本担体 5L-bed
を試作するとともに、将来の量産プラントを設計した。

ホ. リガンドの化学的安定性の評価

市販の ELISA キットの選定ならびに最適化を図り、リガンドリーク量を精度良く測定
し得る分析系を構築した。本法を用いてリガンドリーク量を測定した結果、17ng/mg-IgG
という低いリーク量であり目標を大きく上回る結果を得た。

ヘ. アフィニティカラムの試作と評価

以上の成果を集約したアフィニティ担体を、ヒト型モノクローナル抗体培養液の連続
精製に供した。少なくとも 50 サイクルの間、高い動的結合容量を保持したまま、90%以
上の抗体回収率を維持できることから、本担体は高効率な抗体分離精製に十二分に耐え
得ることを立証した。

3)京都分室(株式会社京都モノテック)

イ. シリカモノリスの構造最適化およびスケールアップ

シリカモノリスの構造(マクロポア径およびメソポア径)の制御手法を確立した。マク
ロポア径については 0.5~50 μ m の範囲で、メソポア径については 8~100nm の範囲でそれ
ぞれ独立に制御可能とした。さらに、シリカモノリスの構造と抗体分離特性との関係を
調べる手法を確立し、抗体の動的結合容量と構造との関係を明らかにした。また、チュ
ーブ型シリカモノリスカラムを作製し(16 ϕ ×5 ϕ ×100 mm の中空型カラムを作製し、リガ
ンドを固定化することに成功した。分取に必要な溶出時間を短縮することに成功し、約
0.8CV の溶液量で分取が可能となった。さらに、大量分取を実現するための大型シリカ
モノリスの作製方法を確立し、直径 47mm のゲルを作製した。

ロ. シリカ表面への官能基導入技術の開発

シランカップリング剤によるアミノ基およびエポキシ基修飾については、アフィニティリガンドとシリカゲルとを化学的に結合させるためにシリカゲル表面へのアミノ基およびエポキシ基導入方法の検討し、反応試薬の選定、反応条件を確立するとともに修飾したアミノ基およびエポキシ基の定量方法、カラムとしての評価方法を確立した。また、ポリマーコート法により、アミノ基およびスルホ基をシリカモノリス表面に導入する技術を確立した。それぞれの官能基を導入したシリカモノリスのカラム特性評価を行い良好な結果を得た。さらにアミノ基修飾シリカモノリスに産総研より技術導入したプロテイン A 修飾を適用し、高速での抗体分離が可能であることを実証した。

ハ. 耐酸性、耐アルカリ性の向上

シリカモノリスの原料として珪素-炭素結合を有する化合物を用いることにより担体の耐酸性・耐アルカリ性を向上させることを目的とし、原料として 3 官能アルコキシドであるメチルトリメトキシシランを含有するハイブリッドシリカモノリスの作製を可能とした。さらに、作製条件によりハイブリッドシリカモノリスの構造制御を可能とした。ハイブリッドシリカ表面にアミノ基をポリマーコートすることにより更なる耐アルカリ性の向上を達成し、pH11 での連続使用を可能とした。結果 200 サイクルのアルカリ試験を行い、溶出ピークの形状、面積値が変化なく再現することができた。

ニ. 特性解析用アレイ基板の開発

リガンド特性評価装置用アレイ基板の開発を行う際に、必要として条件がスポットティングが可能であり、UV 透過性を有し、溶媒の送液が可能なシリカモノリス膜をシリカガラス表面に形成したアレイ基板を作製することである。アレイ基板中のシリカモノリス膜を形成させる部分を 3 種類作製することにより、膜の安定性及び UV 透過性の比較を試みた。最終的にサンドフラスト加工鏡面仕上げで作製した基板を用いて UV 透過性を良くし 500 個のスポットティングを可能にした。

B-③溶出工程における支援技術の開発および分離精製システムの実用的評価

1)独立行政法人 産業技術総合研究所

へ. 抗体の変性凝集検出技術の研究

B シート構造の変化の検出に優れた特徴を有する赤外分光法を用いて、抗体の変性凝集過程を迅速に検出する技術の開発を進めた。全反射型セルを用いたフーリエ変換赤外分光法の採用により、タンパク質溶液中の水の吸収や凝集による透過光の散乱・減衰に起因する問題が回避されることを確認し、再現性の高い安定な赤外分光スペクトルを得るための測定条件、加熱に伴う抗体溶液の変性凝集過程を感度よく迅速に検出するための測定条件を確立したのち、実験計画法にもとづく 28 種の溶媒条件のモデル抗体の加熱凝集過程を解析した。また、抗体溶液の赤外スペクトルを主成分分析することを特徴とする情報工学的アルゴリズムを考案し、溶液中の凝集体の存否を判定するプログラムを開発した。動的光散乱法等による可溶性凝集体の検出基盤を整備し、「実証パイプライン」

のパイロットスケールの培養液から開発中のプロトタイプアフィニティ担体で精製された、複数の精製抗体の物理化学的品質を系統的に評価した。

2)大津(東洋紡)分室(東洋紡績株式会社)

イ. 抗体凝集の高感度検出技術の開発

抗体凝集について LC や電気泳動、定量的免疫検出法等の分析系を組み合わせ、培養液中および精製溶液中の抗体凝集を定量的に行いうる分離分析技術として、電気泳動で純度分析できる系を検討した。また、定量的免疫検出法により、培養液・精製液中の定量測定法を検討した。さらに、LC 分析の条件を検討した。平成 18 年 8 月 16 日以降に大津(東洋紡)分室で実施計画されていた研究については、大津(PBI：現 TBI)分室に移行させ大津(PBI：現 TBI)分室の研究機能を強化させた。

3)大津(TBI)分室(株式会社東洋紡バイオロジックス)

イ. 抗体産生細胞の調製

ヒト型モノクローナル抗体産生細胞について、15L 規模の培養を行いうる基礎的検討として、1L 規模の培養槽やフラスコを用い、無血清培地や添加物あるいは、攪拌数といった物理的、化学的条件を比較検討した。また、新たに導入した 15L 規模での培養が可能な培養槽の IQ、OQ を完了させた。次いで、30L スケールの培養規模へのスケールアップ培養の検討を行い、培養系を確立した。さらに、本技術開発に用いる IgG3 抗体産生細胞の樹立を行い、無血清馴化を完了するとともに、本技術開発に使用する抗体産生細胞培養上清を 2 回作製し提供した。

ロ. AC 前後処理技術の開発

澄明な培養上清を得るために、30L スケール培養の培養液を用いて、数種の膜による細胞除去条件検討を行い、細胞除去条件を定めた。

ハ. 評価用カラムの試作

プロテイン A およびイオン交換カラムによる抗体分離精製技術の検討を行い、本技術開発の比較対照法となるコンベンショナルな抗体精製法を設定し、30L スケール培養の培養上清を用いて抗体精製を行い、その培養上清からの抗体精製結果を得た。また、新たに導入した高速液体クロマトグラフィーおよびキャピラリー電気泳動装置の IQ、OQ、PQ を完了した。

ニ. 抗体凝集の高感度検出技術の開発

モデル抗体産生細胞の 30L スケールの培養によって得られた培養上清をプロテイン A、イオン交換カラムで精製し、得られた抗体を用いて、凝集体の高速液体クロマトグラフィーや電気泳動法を用いた検出法の検討を行い、高速液体クロマトグラフィー法による分析条件を設定した。

ホ. 抗体の分子多様性の評価法の開発

30L スケールの培養によってモデル抗体産生細胞を培養し、その培養上清から精製したヒト型モノクローナル抗体のシアル酸測定によって抗体の分子多様性の分析評価法検討を行った。

4)東北大学大学院工学研究科(共同実施)

ロ. 抗体産生細胞の調製

抗体医薬として充分期待がもてる組換え型 IgG 様抗体を複数設計、発現ベクターを構築した。CHO 細胞に遺伝子導入後、培地上清から精製し、機能評価を行った結果、有意ながん細胞の成長抑制効果が見られた。このため、安定産生株を樹立、遺伝子増幅を行った後、ダウンストリームを含めた抗体調製系開発のためのモデル抗体として MTA を締結し提供した。また安定性を向上させるために再設計を行った発現ベクターも構築し、同様にその遺伝子を提供すると共に、その安定発現 CHO 細胞株も樹立し機能評価を行った。これらの IgG 様抗体はモデル抗体としての利用の他、強力な治療効果を有しているため、投与量の低減、即ち薬価の低減化が見込まれる。

ハ. 精製抗体の品質評価と抗体断片の調製技術開発

大規模培養から調製された組換え型 IgG 様抗体を用いて、ラボスケールで調製した分子との機能の比較を行った。それぞれゲルろ過クロマトグラフィーで分画した分子を用いて、がん細胞傷害活性を評価した結果、何れの濃度領域でも同等の活性がみられた。また、抗体濃度に応じた抗腫瘍性のサイトカインの分泌量の増加も確認することができた。長期保存における安定性を評価した結果、4℃で半年以上安定であることが分かった。さらにこの組換え型 IgG 様抗体を基に、特異的プロテアーゼを利用したタンパク質分子リガンド開発のための機能性抗体断片の調製技術開発にも成功した。

5)大阪大学大学院工学研究科(共同実施)

イ. 抗体産生細胞の調製

抗体産生細胞として、3 種類(IgG1、IgG3、ならびに IgG1 様抗体)の抗体を生産する CHO (Chinese Hamster Ovary) 細胞を調製した。要素技術検証用標準プロセス/標準パイプラインとして成立しうる ATCC (American Tissue Culture Collection)由来 組換えヒト抗 IL-8 IgG1 生産株については、工業生産に用いるレベルの抗体生産細胞調製に必要な安定株を得るために、細胞株のクローニングを行い、生産性の高い候補株を取得した。得られた候補株について、調製に必要なパラメータとして、比増殖速度および抗体比生産速度を 1L 以下の小スケール培養にて検証した。さらに、5 回の凍結融解を行い、得られた候補株がパラメータとしての比増殖速度および抗体比生産速度を維持していることを確認した。東北大学が構築した IgG1 様抗体発現 CHO 細胞について、工業生産に用いるレベルの抗体生産細胞調製に必要な無血清培地への馴化、ならびに浮遊培養系への馴化を行った。得られた馴化細胞株について 1L 以下の小スケール培養にて抗体サン

ルを提供可能な調製に必要なパラメータとして、比増殖速度および抗体比生産速度を検証した。さらにヒト IgG3 抗体発現ベクターを構築し、これを CHO 細胞に形質転換を行い、IgG3 抗体生産細胞株を構築した。構築した細胞株のクローニングを行い、実際の工業生産に用いるレベルの抗体産生細胞の候補株を選択した。これら 3 種類の抗体全てについて、徳島大学にて確立された標準化手法に基づいて培養を行い、2 種類について標準化した手法によって調製した培養液を供給した。さらに、「系統的な高特異性抗体創製技術開発」チームから提供される 2 種類の医薬候補のヒト型モノクローナル抗体について、発現ベクター構築、CHO 細胞へのトランスフェクションならびに、無血清培地への馴化、ならびに培養条件の検討を行い、そのうち、1 種類(IgG1 生産株)について回分培養を用いた培養原液の供給方法を確立した。

ロ. 抗体の分子多様性の評価法の開発

上記にて生産されたヒト化 IgG1 様抗体を用いて、分子多様性のひとつであるシアル酸修飾を対象とした lectin binding assay による測定法構築を試みた。バックグラウンドを酸化処理によって低減した後、抗体濃度をそろえたサンプル調整を行い、これに対して標準曲線を作成する手法にて分子多様性の一つであるシアル酸の簡便な分析法を構築した。その結果、計画の 200 μ L より少量の 100 μ L のサンプル量にて分子多様性としてのシアル酸修飾を評価する系ができた。構築した系を用いて、IgG1 様抗体発現 CHO 細胞の培養経過中のシアル酸変化について検証した。さらに同様の検出系を応用することにより、抗体の ADCC、CDC 活性に影響するフコース、ガラクトース修飾について lectin binding assay を確立した。さらに、2 種類の抗体産生細胞(IgG1、ならびに IgG1 様抗体)について 1L の細胞培養槽スケールにて培養を行い、多様性としてフコースの経時変化を評価した。さらに東洋紡バイオリジックスの構築した LC を用いた凝集体評価法を用いて、その培養液から精製したヒト型モノクローナル抗体溶液中の凝集体含量について分析評価した。その結果、ヒト化 IgG1 様抗体においては、凝集体含量が培養経過に伴って増加し、培養終了時には 40%に達し、この割合は IgG1 抗体に比較して、非常に高い結果となった。

ハ. 抗体の分子多様性の制御手法の確立

1L の細胞培養槽スケールにおける結果に基づいて構築した凝集体含量と分子多様性の制御因子を含めたデータベースに基づいて構築された抗体培養液の供給方法の標準化に基づいて、ヒト化 IgG1 様抗体ならびに IgG1 抗体について、これを用いた標準化培養液を 1L の細胞培養槽スケールにてそれぞれ 1 回検証培養を行った。

6)徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部(共同実施)

イ. 抗体産生細胞の調製

抗体産生細胞として、大阪大学の構築した 3 種類(IgG1、IgG3、ならびに IgG1 様抗体)の抗体を生産する無血清馴化 CHO(Chinese Hamster Ovary)細胞について、CTD-品質に

関する概括資料：新規生物薬品(原薬)のモックアップに準じて分離精製プロセスに至る前段階までの工程において、それぞれの細胞株において工業生産に用いるレベルの要素技術検証用プロセス/パイプラインとなり得る抗体培養液の供給方法の標準化を行った。具体的には、WCB から 3 段階の種培養を経て 1L スケールのリアクター培養に至るスケールアップ手法ならびに培養条件、温度条件、生産培地の培地組成からハーベスト工程について詳細に設定し、さらに生産培養においては流加培養を用いた標準化の手法を確立した。

ロ. 抗体の分子多様性の評価法の開発

2 種類の抗体産生細胞について 1L の細胞培養槽スケールにて評価された抗体産生細胞の多様性および凝集体含量の結果に基づいて、小スケールでの結果も加味して凝集体含量と分子多様性の制御因子を含めたデータベースを作成した。凝集体含量は糖鎖含量に影響され、糖鎖量は培地添加物によって変動し、特に酵母加水分解物を添加することにより、糖鎖修飾が改善され、さらに抗体生産が増強された。

ハ. 抗体の分子多様性の制御手法の確立

1L の細胞培養槽スケールにおける結果に基づいて構築した凝集体含量と分子多様性の制御因子を含めたデータベースに基づいて、分子多様性の変動を最小化する要素技術検証用プロセス/パイプラインとなり得る抗体培養液の供給方法の標準化を行った。その結果、培養中のフコース修飾の変動を一定に抑えるためには、培養前半にグルコースを添加しない培養が適していた。

7)東京大学大学院新領域創成科学研究科(再委託)

7)東京大学医科学研究所 疾患プロテオミクスラボラトリー(再委託)

イ. 抗体の凝集機構と溶出溶媒に関する研究

抗体の酸性暴露と pH 滴定における凝集形成に関する基礎的な知見を蓄積し、酸性条件下での抗体構造に関する新規な知見を得た。抗体の製剤化における溶媒条件と安定性との関連に関する検討のなかで、アルギニンを中心にした、抗体の分子種に依存しづらい凝集抑制法の開発を行った。特に濃度、温度、pH に関して、抗体における凝集抑制条件を検討し、サブクラスに応じた条件を提案した。サイズ排除クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、親和性クロマトグラフィーの展開・溶出溶媒にアルギニンを用いた、効率的かつ定量性の高い分離・分析・分取法を提案した。アルギニンがタンパク質高次構造に及ぼす効果について、その作用機序を考察し、そのユニークな性質を明らかにした。FFF を用いた抗体の凝集分析に関して、分離条件の至適化を図り、定量分析への礎を築いた。アルギニンが示す特徴的な作用機序に関して、新しい概念を提案し、その抗体溶出技術における安全性の物性基盤を築いた。

8)山口大学工学部(再委託)

イ. AC 前後処理技術の開発

静電的相互作用に基づくイオン交換クロマトグラフィーあるいはハイドロキシアパタイトクロマトグラフィーのような複合モードクロマトグラフィーのリガンド密度や細孔構造と抗体や凝集体あるいは DNA 等の分離特性および吸着・脱着特性係を関係づけることを目的とした。

一体型イオン交換クロマトグラフィーマトリックス(モノリス)での流速依存性がないことを明らかにした。また、96 穴マイクロプレートモノリスによる実験方法を確立した。DNA のイオン交換クロマトグラフィーにおける保持機構についてタンパク質と対比して検討し、小さな DNA でも結合サイト数は大きく、非常に高い塩濃度が溶出に必要であることを明らかとした。

イオン交換クロマトグラフィーやハイドロキシアパタイトクロマトグラフィーにおける溶出位置の推定を簡単な勾配溶出実験から得られるデータに基づいて可能であることを示した。また PEG を移動相に添加することにより重合体や DNA の除去効率が飛躍的に向上することを見出し、その機構を解析した。

ロ. 実用カラムのための設計理論の構築

96 穴マイクロプレートを利用したバッチ吸着実験方法による吸着等温線の迅速な測定方法を確立した。この方法では 1 穴(ウェル)あたり数 μL のクロマトグラフィー充填剤と 100-200 μL の液量で測定ができるので、試料が大幅に削減できる。ビーカー実験と比較して、スケールダウンが適切に行われていることを確認した。本プロジェクトで開発された Protein A 担体(AIST-2)を含む市販主要 Protein A 担体について吸着等温線を測定し、Langmuir 式で定式化した。

Protein A カラムクロマトグラフィーのスケールダウンについて検討し、内径 5mm 高さ 5cm(約 1mL)を標準サイズとして上記マイクロプレート実験に使用した主要 Protein A 担体を充填し動的吸着量と静的吸着量を滞留時間の関数として測定した。どのカラムも問題なくスケールダウンできたが、本プロジェクトで開発した AIST-2 タイプは充填が容易であり高さ 1.2cm(約 0.24mL)まで良好にスケールダウンが可能であった。スケールダウンの容易さに加えて、動的吸着量も滞留時間が 1 分で 40mg/mL となり、既存の標準的な Protein A 担体に比較してプロセス設計に有利である。

ハ. プロセスシミュレーション

動的吸着量 DBC と静的吸着量 SBC の比 DBC/SBC はカラムベッド有効利用率を表し、この値が高いほど高性能なクロマトグラフィーとなる。 DBC/SBC と滞留時間の関係は AIST-2 が最も高い値となり、高性能であることが示された。特に滞留時間 1 分では既存の標準品であるアガロース系 Protein A 担体が 0.45 程度であるのに対して 0.8 という非常に高い値であった。 DBC/SBC と滞留時間の関係を定式化することができた。この式に基づき任意のスケールのカラムの DBC を滞留時間の関数としてシミュレーションすること

が可能である。前述(ロ.)の 96 穴マイクロプレート実験から得られた吸着等温線から SBC が推定できることを明らかとしたので、96 穴マイクロプレートと 0.2mL 小型カラムにより少量の試料でプロセスシミュレーションに必要なデータを迅速に取得できる。また粒子径を考慮した無次元数で DBC/SBC はよく相関されたので、AIST-2 担体の粒子径を変更したときの DBC と滞留時間の関係もシミュレーション可能である。

ステップ I (培養)における技術融合の成果

ステップ I(培養)は、新たな技術開発を行うのではなく、内外の大学、公的機関および製薬メーカー・創薬ベンチャーに対し、本プロジェクトの意義を説明し、医薬候補であるヒト型モノクローナル抗体の提供を頂き、提供を受けた遺伝子または抗体産生細胞を元に、抗体産生細胞の調製を行い、以降のステップ II,III において検証可能な抗体培養液をすみやかに供給することを主眼とするステップである。供給を受けた遺伝子または抗体産生細胞より、最終的に 3 種類(IgG1、IgG3、ならびに scDb-Fc (IgG1 型次世代抗体)のヒト型抗体を生産する CHO(Chinese Hamster Ovary)細胞を調製した。

現在上市されている抗体医薬にはサブクラス IgG の違いがあるが、IgG1 が最も数多く市販されている抗体医薬である。そこで、要素技術検証用標準プロセス/標準パイプラインとして成立しうるヒト型 IgG1 抗体として、組換えヒト抗 IL-8 IgG1 を選択し、この生産株について、工業生産に用いるレベルの抗体生産細胞調製に必要な安定株を得るための、細胞株のクローニング、高生産性候補株取得、さらには無血清馴化ステップまでの調製を行い、マスターセルバンク、ワーキングセルバンクを構築し、さらに小スケールでの培地最適化を行い、30L 培養槽にて培養を行い、培養上清を 2 回作製し提供した。

次に、次世代型抗体として、東北大学が構築、調製したリンパ球をがん細胞に標的化できる様な二重特異性を有している scDb-Fc (IgG1)抗体発現 CHO 細胞について、工業生産に用いるレベルの抗体生産細胞調製に必要な無血清培地への馴化、ならびに浮遊培養系への馴化を行い、マスターセルバンク、ワーキングセルバンクを構築し、さらに小スケールでの培地最適化を行い、30L 培養槽にて培養を行い、次世代型抗体を含む培養上清を 2 回作製し提供した。

さらにまた、3 番目のパイプラインとして、通常の場合では ProteinA への結合が弱い IgG3 タイプを選択した。製薬会社から提供された IgG3 タイプ医薬品候補のヒト IgG3 抗体遺伝子を元に、2 種類の発現ベクターを構築し、これを CHO 細胞に形質転換を行い、IgG3 抗体生産細胞株を構築した。構築した細胞株のクローニング、培地選択、無血清馴化を完了し、実際の工業生産に用いるレベルの抗体産生細胞の候補株を調製し、マスターセルバンク、ワーキングセルバンクを構築し、30L 培養槽にて培養を行い、培養上清を 1 回作製し提供した。

以上の 3 種類のパイプラインについては、CTD-品質に関する概括資料：新規生物薬品(原薬)のモックアップに準じて分離精製プロセスに至る前段階までの工程において、供給

方法の標準化を行った。

さらに、「系統的な高特異性抗体創製技術開発」チームから提供される医薬候補のヒト型モノクローナル抗体(IgG1 生産株) について、発現ベクター構築、CHO 細胞へのトランスフェクションならびに、無血清培地への馴化、ならびに培養条件の検討を行い、そのうち、1 種類について 1L リアクタースケールでの回分培養を用いた培養原液の供給方法を確立し、これについてもモックアップに準じた標準化を行った。



図146 モックアップに準じた標準化された培養液調製法

ステップII(精製) における技術融合の成果

ステップII(精製)における技術融合は、アフィニティリガンドのライブラリー構築、リガンド・ライブラリーのハイスループットスクリーニング技術の開発、計算機を利用したリガンドの論理的改変、流動特性の優れた次世代型クロマト担体基材の開発、効率的リガンド固定化反応の開発、リガンドタンパク質およびクロマト担体基材の商業規模生産技術等の各要素技術開発の成果を受けて、(1)高性能な抗体精製用アフィニティクロマトグラフィー担体を開発し、それを用いて培養原液から医薬候補のヒト型モノクローナル抗体の精製を行い、実用化に向けた必要性能を評価するとともに、新たな開発指針を得て、各要素技術開発にヒードバックし、持続的な性能改良に資すること、(2)開発した精製技術の特性をより解析し、開発した技術の適用分野をさらに広げることにより貢献できるものと考えられる。

技術融合の成果のうち主なものとしては、アフィニティ担体構築のために、リガンド開発のハイスループット化に向けたリガンドアレイとその検出装置の開発、そこでえられた成果としてのプロトタイプリガンドである AIST-2、更にはその改良型リガンドである AIST-3 の開発、プロトタイプリガンドである AIST-2 を用いた各種シリカ担体の開発、開発したアフィニティ担体を利用した実証パイプラインの構築などがあげられる。

アフィニティ担体を構成する要素としては、担体基材、固体化反応及びタンパク質リガンドの 3 通の要素があり、それらの要素技術を集合することにより、優れたアフィニティ担体を構築することができる。このうち、タンパク質リガンドの再デザイン技術については、新たな基本フレームを創出し、これをプラットフォームとし技術開発を行った。なお、このプラットフォームについては、本プロジェクト終了時点で、5 社に特許ライセンス(実施契約)という形で技術移転が行われた。

リガンド機能を担うタンパク質部分として、IgG 結合を示す各種タンパク質ドメインを公知データベースやコンピュータデザイン等により探索し、これをシステイン且つリジンフリー化し、それぞれ基本フレームに組み込み、これをタンパク質として発現生産することにより、一次ライブラリーを作製した。この一次ライブラリーを構成中に、すでに優れたアフィニティリガンド機能を発揮するものが見つかり、これをプロトタイプリガンド AIST-2 と命名し、その後の担体開発に用いた。一次ライブラリーに構成要素について、リガンド機能を発揮する部分について網羅的一アミノ酸置換を施したものを作製し、これを二次ライブラリーと称した。作製した二次ライブラリーから、温和な条件でのモノクローナル抗体の溶出・回収特性に優れた性能を発揮できる改良型リガンド AIST-3 を見出すことに成功した。

二次ライブラリーを構成する各変異体タンパク質のリガンド機能を効率よく測定するために、アレイ解析装置を開発し、また、2 次ライブラリーを構成する各変異体タンパク質をアレイ化することによりリガンドアレイライブラリーを作製した。

開発したリガンドアレイライブラリーをアレイ解析装置で開発することにより、その特性を効率よく測定できた。この測定そのものは、原理的にはクロマトグラフィーを並列化(アレイ化)したものと考えられ、アレイ化したリガンドが示すアフィニティクロマトグラフィーとしての特性と効率よく測定できるものであった。この測定で得られた特性をパラメータ化し、中性における各リガンドが示す IgG との結合の強さ(Kd)と温和な条件である pH5 での溶出回収のしやすさを示す指標としての T0.5 の値とをプロットした結果、プロトタイプリガンドである AIST-2 の改良リガンドとして AIST-3 が得られた。

得られた AIST-3 をシリカモノリスに導入して作製したアフィニティカラムを用いて抗 IL8 モノクローナル抗体を発現する CHO 細胞の培養液を用いてクロマトグラフィーを行い、AIST-2 カラムと比較した。その結果、AIST-2 では溶出回収できない pH4.5 において容易に溶出回収できること、また、より温和な酸性である pH5.0 においても、定量的に溶出回収できることが示された。

プロトタイプリガンドである AIST-2 リガンドを用いて、多孔質性能の高度に制御したシリカ担体、固定化反応の高度制御技術の確立、担体基材上の未反応官能基の効率的マスク条件開発などの技術集積を行うことにより、プロトタイプではあるが、静的結合特性(80mg-IgG1/mL-bed 以上)および動的結合特性(保持時間 1 分未満の高条件において 40mg-IgG1/mL-bed 以上)としては世界トップの特性を發揮できる IgG 精製用アフィニティ担体(AIST-2 と名づけた)の開発に成功した。

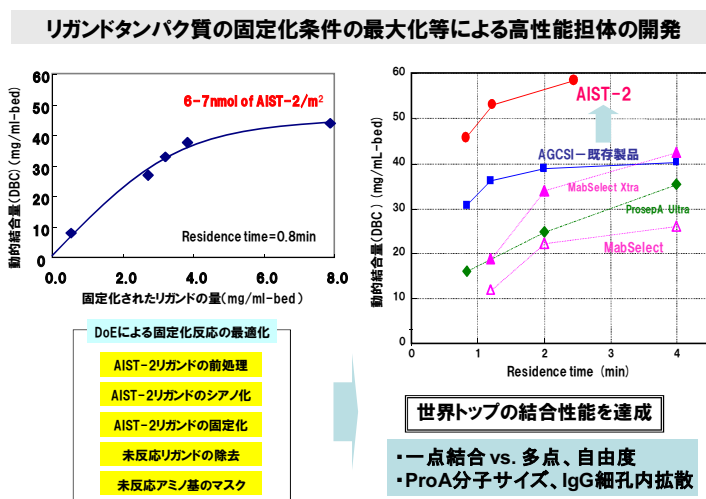


図 147 高性能アフィニティ担体の開発に成功

この AIST-2 担体を用いて、実証パイプラインの構築を行った。実証パイプラインとしては、ステップ I において作製したモデルパイプラインと、A-チームで開発した高親和で今後医薬候補品として期待が持てるものを選び、約 100mg の精製スケールを念頭に置き、培養液 2 から 3L を一度に処理することをを行った。この際、プロトタイプ担体の大量供給に制限により、1mL サイズのカラムを有効に活用することを試み、連続試料注入クロマトグラフィーの開発を行った。開発した装置を用い、アフィニティクロマトグラフィーとそれに引き続くポリッシングのためのクロマトグラフィーを組み合わせることで、高度に精製されたモノクローナル抗体を得ることができた。

結果的に、25 種類の実証パイプラインを設定し、いずれも有効に精製を行うことができることを確認した。このようにして精製したモノクローナル抗体は、試用モニタリング用サンプルとして、希望する製薬企業等に提供した。

シリカモノリス基材は、超高速領域での流動特性に優れていることから、この特性を利用することにより、多くの抗体を迅速に精製できる精製システムとして活用できるようにすることを試み、このことを実現する担体として、スピнкаラムに組み込むことを行った。このことにより、迅速に実用化更に商品化が行われた。AIST-2 を導入したシリカモノリス担体をスピнкаラムに組み込むことにより、たった数分でサブミリグラム程度の抗体が高度に精製できる。

図は、この成果を活用して商品化が行われたAIST-2モノリススピンカラムの商品パンフレットである。

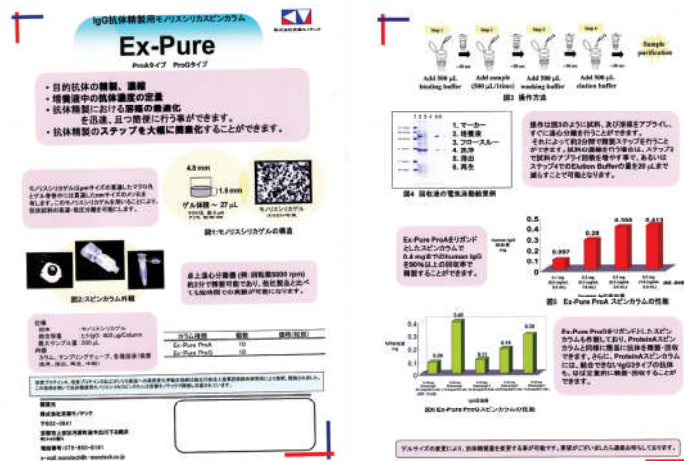


図 148 商品化が行われた AIST-2 モノリススピンカラム

このように、開発した各種技術を融合することにより、実用化に向けた多くの成果が得られた。

ステップⅢ(品質管理)における技術融合の成果

プロジェクト全体におけるステップⅢの役割は、「品質分析」のための技術開発と、精製抗体の「品質評価」による精製システムの検証である。「品質分析」に関しては、「抗体の分子多様性」と「変性・凝集による劣化」に焦点をあて、主に各機関が独立に要素技術を開発することで進めた。抗体の分子多様性に関しては、大阪大学が分析手法の高度化を、大津(TBI)分室(㈱東洋紡バイオロジックス)が実用的な評価系の改善を主に担当した。抗体の変性・凝集に関しては、東京大学が原理・機構の解明を、産業技術総合研究所が分析手法の高度化を、大津(TBI)分室(㈱東洋紡バイオロジックス)が実用的な評価系の改善を主に担当した。一方、「品質評価」に関しては、「実証パイプライン」として設定した医薬候補のモノクローナル抗体(研究開発項目①「系統的な高特異性抗体の創製技術開発」にて開発した新規抗体を含む)に関して、ステップⅠで調整した培養原液をステップⅡで精製することで得られた精製抗体の品質を評価することで、プロジェクトで開発した精製システムの性能を評価した。主に産業技術総合研究所が精製抗体の物理化学特性解析を主に東北大学が精製抗体の生物活性と保存安定性を評価した。また、それらの評価結果をステップⅠまたはステップⅡにフィードバックすることで、「培養時の分子多様性の恒常化」と「分離精製時の変性・凝集の低減化」を目指した。以下のそれらの成果と進捗の概略を列挙する。

抗体の分子多様性の品質分析に関しては、大阪大学を中心として、シアル酸糖鎖付加

による抗体糖鎖の多様性を分析する手法の高感度化を進めた。Lectin Binding Assay を基盤とする微量分析法を構築し、100 μ L のサンプル量にて抗体糖鎖のシアル酸、フコース、ガラクトース修飾を定量的に評価可能な系を開発した。抗体の変性・凝集の品質分析に関しては、東京大学を中心として、酸性暴露と pH 滴定における凝集形成に関する基礎的な知見を蓄積した。酸処理後の抗体分子の変性・凝集化は、pH2.7 の酸処理の場合、劣化の程度が顕著であるのに対し、pH3.5 の酸処理ではそのダメージが大きく軽減することを明らかにした。アルギニンによる凝集抑制法の開発を行い、濃度、温度、pH、あるいはサブクラスに応じた凝集抑制条件を検討した。さらに、各種クロマトグラフィーの展開・溶出溶媒にアルギニンを用いた、効率的かつ定量性の方法を開拓した。また、抗体の変性・凝集の品質分析に関しては、産業技術総合研究所を中心として、赤外スペクトルを利用した分析手法の高度化を進め、50 μ L のサンプル量にて抗体溶液内の凝集の存在量を評価する系を構築した。これを用いて、28 種類の異なる溶媒に溶解した抗体の凝集性について解析し、最適な溶媒を探索するためのシステム開発の基礎とした。さらに、大津(TBI)分室(株東洋紡バイオロジックス)を中心として、サイズ排除クロマトグラフィーによる抗体の凝集評価の精度の向上を進めた。移動層の組成が変化するとクロマトグラムが変化することを明らかにし、ついで、実験計画法の一種である応答曲面法を利用して、もっとも鋭敏な応答を示す移動層の組成を決定した。

精製システムの検証としては、産業技術総合研究所が、「実証パイプライン」として得た 20 種以上の精製抗体の物理化学特性解析を行った。マイクロチップ電気泳動法により純度を、赤外スペクトル法により構造安定性を、動的光散乱法により凝集性を評価した。また、ELISA 法により精製時にアフィニティクロマト担体からの脱離が危惧されるプロテイン A リガンドのリーク試験もあわせて行った。精製抗体の純度は大部分が 99%以上で、開発した精製システムの高い性能が実証された。

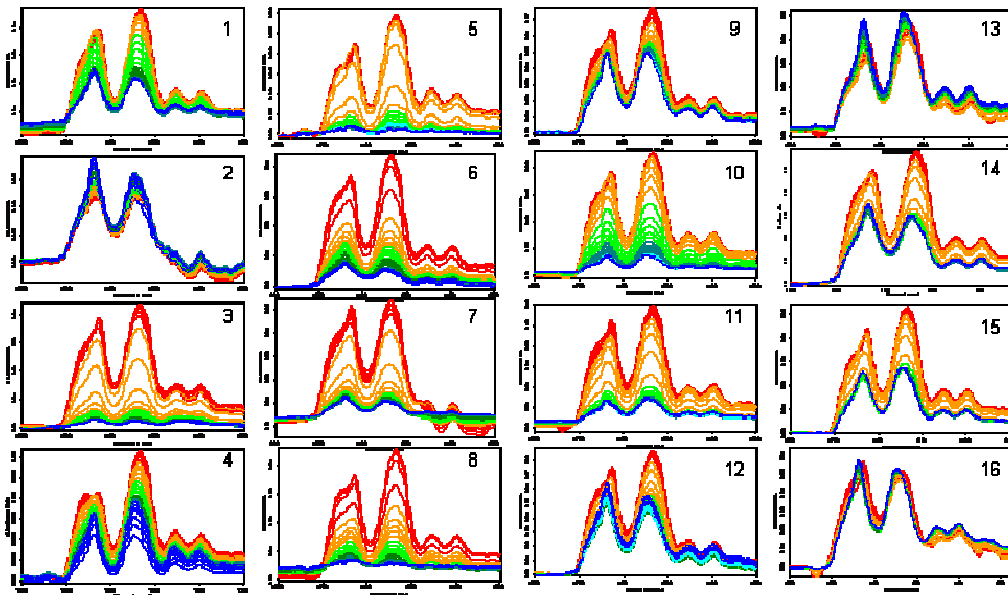


図 149 赤外分光スペクトルによる種々の抗体の加熱凝集過程の解析

また、リガンド・リーク試験により、測定したすべてのケースで自主的に設定したプロジェクト基準値(88ng/mg-IgG)を下回ることが確認され、開発したリガンド固定化技術と担体基材の有効性が実証された。構造安定性と凝集性の解析からは、分子のコンパクトさと微視的不均一性と構造安定性の 3 特性が相関することが示された。東北大学では、精製抗体の生物活性と保存安定性を評価した。その結果、次世代型抗体 scDb-Fc (IgG1)は、パイロットスケールで培養、精製されたものでも、その特徴的な二重特異性を定量的に保持していることが確認され、また、サイズ排除クロマトグラフィーにより、6 ヶ月以上の長期保存安定性も確認され、開発した精製システムが精製抗体に対して好ましからざるストレスを与えるものでないことが証明された。

回収率の改善に関しては、産業技術総合研究所で開発に成功した温和な条件で抗体を効率よくできるアフィニティリガンドを組み込んだアフィニティカラムを利用することにより、抗体タンパク質にダメージを与えることの少ない温和な条件である pH5.0 で定量的溶出を達成し、従来ほとんど回収できなかった条件で 90%以上の回収率を達成した。また、プロテイン A 型プロトタイプアフィニティ担体を用いて、「実証パイプライン」のパイロットスケールの培養液を系統的に精製したところ、用いた 24 種類のモノクローナル抗体のうち 19 種類に関して、80%以上回収率でアフィニティ精製が実施できることを確認した。

以上は、本プロジェクトの成果の顕著な技術優位性を表すものであり、先行技術に対して十分な市場競争力を有していることを示している。

IV. 実用化の見通しについて

1. 実用化の見通しについて

1.1 系統的な高特異性抗体創製技術

既に実用化されているものとしてはヒトゲノム上の48種の全ての核内受容体抗体を作製し、そのうち24種は免疫染色可能である。その中から、診断薬が認可され臨床応用され厚生省の認可をうけ診断薬として市販されている（平成18年から）、核内受容体研究用抗体は世界スタンダード化し、市販額だけで年間5000万円となっている。

実用化の見通しとしては下記のことが考えられる。

治療薬として肝臓がん治療薬、グリピカン3がヒト型化されP1臨床試験を終了し、P2臨床試験に入っている。肺がん治療薬として抗CDH3抗体、膵がん治療薬としてAMIGO2抗体がそれぞれ前臨床試験に向け製造段階あるいは候補抗体絞込みに入っている。実用化候補として、 γ セクレターゼ阻害抗体、HIV感染阻害抗体を取得した。肝がんおよび扁平上皮がんのターゲットとしてのROB01抗体を取得して、放射線治療およびイメージング試薬としてPETによる肝臓がんイメージングの動物実験に成功した。さらにscFv化とプレターゲットティングへの分子デザインを最先端プロジェクトに移行して継続しており、4年後の前臨床試験に向けて開発中である。リボゾーマルディスプレイによる改変抗体のエピトープマッピング技術や膜タンパク質合成技術を開発し、2年後のキット発売を予定している。診断試薬は新規炎症マーカーのPTX3について大規模な臨床サンプルで炎症性疾患マーカーとしての有用性検定に入っている。同様に、パーキンソン病診断薬としてのDJ-1に対する抗体が検定に入っている。その他、これまでに難治性疾患に関わるタンパク質に対する抗体が種々得られており、数年後に疾患マーカーとして診断および研究試薬として実用化されると考えられる。また抗体を用いる複合体プロテオミクス解析技術を確認し、細胞の分化および癌化に関与するヒストンの修飾因子に対する抗体や転写因子およびコファクター等の抗体が、新規創薬ターゲット探索に強力なツールを提供するものであることが明らかになった。今後世界的な規模で進むと考えられる高速シーケンサーを用いるゲノムワイドの治療ターゲット探索や新規バイオマーカーの探索にも重要であると期待される。また同技術は、前身プロジェクトのチップ技術開発の延長にあり、高感度診断法としての分子標的医薬のコンパニオン血清診断を可能とするもので、実用化に向け開発を行っている。

免疫寛容を破る、制御性T細胞除去モデルマウスあるいは欠損マウスを作製し、自己抗原に対する抗体作製または自己免疫疾患のモデル動物として使用可能であることが明らかになった。細胞障害機能をあげるため、タンデムFc型融合タンパク質を開発し、既存のFc融合タンパク質に対する優位性を明らかにし、実用化に向けて企業との共同研究を進めていく。

循環器系疾患の治療用シーズ抗体に関して、ApoB、LOX1他2種のニワトリ抗体を1～2年で研究用試薬としてキット販売を予定している。また、LOX1、インテグリン抗体について前臨床試験実施を予定している。ADLibシステムによるがん特異的抗原に対する抗体をがん研究会で評価し2年後の臨床試験を目指して開発している。

1.2 高効率な抗体分離精製技術

実用化を強く意識し、研究開発成果の知的財産権の確保、およびその技術移転を積極的に進め

てきた。この目的で、種々の業種の企業等からの要望・期待・実情を集約し、研究開発のベクトルをより現実性の高い方向に修正することなどを目的のひとつとした「バイオリジカルズ（タンパク医薬）製造技術研究会」を、JBA と産業技術総合研究所との協力で開催し、当該分野の連携を深めることで、実用化、実用化に向けた取り組みを積極的に行ってきた。以下に、現時点で進行している技術移転の概要を記す。

本プロジェクトの成果として、既存品に比べて性能的に優れており、競争力の高いアフィニティリガンド及びアフィニティ担体の開発に成功したが、それらアフィニティリガンド、アフィニティリガンドの配向制御固定化方法、およびアフィニティ担体に関する特許群（産業技術総合研究所保有）に関しては、タンパク質製造を業とする企業及びクロマトカラムなどの実用化を希望する企業 5 社とライセンス契約を締結した。現在、ライセンスを受けた企業において市場への供給が準備されつつある。特に、抗体医薬品開発・製造目的に本技術が使用されるためには、c GMP 準拠でアフィニティリガンド及びアフィニティ担体の製造が必要であるが、すでに、c GMP 適合製造施設を有している企業にもライセンスが付与されており、実用化・製品化の実現が近い。

アフィニティリガンド開発のハイスループット化を目指したタンパク質アレイ基板技術に関しては、基本特許（産業技術総合研究所保有）のライセンスを受けた企業において、その技術を元にしたアレイ検出機器等の開発が進んでおり、今後製品化が期待される。

シリカモノリスを利用したアフィニティ新素材については、スピнкаラムとして、製品化された。この製品は、研究開発向けの簡易抗体精製に便利であるが、そのような利用だけでなく、今後、製造プロセス分析、培養細胞開発、臨床検査用キット開発等幅広い利用が考えられ、このような利用開発がすすめられている。

小さいカラムを並列に設置し、大量の試料を連続的に処理・精製できる連続精製装置については、平成 22 年度戦略的基盤技術高度化支援事業において、3 社の中小企業の連携で製品化を目指した研究開発が行われており、平成 23 年度内の上市が期待される。

本プロジェクトで開発した 24 種類の人もしくは人型化モノクローナル抗体を用いた精製技術実証の結果得られた精製抗体の性能モニタリング活動により、抗体開発技術及び抗体精製技術に関して、医薬品製造企業への成果普及活動を行った結果、成果利用に関する問い合わせがあり、連携が進んでいる。

1. 3 ICOS 法を用いた癌治療用ヒト抗体単離技術開発

本プロジェクトは、癌治療用ヒトモノクローナル抗体を開発することを目指しており、我々が単離した多くのヒトモノクローナル抗体の中から、具体的に薬が作られ医療現場に出回ることがなければ、プロジェクトが成功したとは考えない。そこで、どのような問題が存在し、どのように解決しようとしているかを報告する。1997年の非ホジキン型リンパ腫に対する抗 CD20 抗体であるリツキサンの FDA による認可、および翌年の乳癌に対する抗 HER2 抗体であるハーセプチンの認可は、製薬業界にきわめて大きなインパクトを与えた。1975年 Keller と Milstein による細胞融合法を用いたモノクローナル抗体作製法の開発により、その直後から癌に対するモノクローナル抗体を治療薬とする“ミサイル療法”の可能性が叫ばれ始め、癌治療抗体開発競争が世界中で起こった。その後約 20 年間にわたる研究の歴史は、“ジェットコースター”に例えられる期待に基づ

く昂揚感と挫折の繰り返しであった。この間、マウスモノクローン抗体をヒト・マウスキメラ抗体に変換する技術開発、CDR 部分のみをマウス由来とするヒト化抗体とする技術、ヒト抗体を産生するトランスジェニックマウスの開発及びファージディスプレイ技術によるヒト抗体ライブラリー技術の開発で完全ヒト抗体の作製も可能となり、遺伝子操作による抗体の改編はほぼ完成の域に到達した。しかし2006年のベクチビックスを最後に、ここ数年間新しい癌治療用抗体の認可が止まっている。更によく見れば、癌特異抗原に結合する抗体で成功しているのは、EGFR と HER2 だけであるのが実態である。その抗 EGFR 抗体についても、エルビタックスとベクチビックスの成功例以外にも強力な数グループが独立して開発に取り組んでいるにもかかわらず認可まで到達していない。抗 HER2 抗体についても、ハーセプチンの開発に成功した Genentech 自身がハーセプチンとは作用が異なると期待される抗体を薬として開発中だが未だ成功していない。それ以外の世界中で異なる数グループが独立して取り組んでいる標的について、たとえば抗 EpCAM 抗体の場合、1995年に一度認可されたが、そののち開発企業自身が販売を取り消した。しかし我々自身も経験しているが、EpCAM の癌での発現は極めて impressive なほど強烈であり、また抗体が示す ADCC 活性が極めて強いために、未だに数グループが開発をあきらめずに取り組んでいる。MUC1, CEA, PSMA などの癌抗原は診断マーカーとして実用化しており、様々な形での抗体治療薬の標的となっている。

我々はエルビタックスやベクチビックスは抗腫瘍効果を示さないが我々の抗体が強い抗腫瘍効果を示す例に数多く遭遇している。このことは実際のヒト癌患者の中に、この観察を生かせる対象がいることを示しているのか、そのことをどのようにして臨床試験の初期段階で知ることが可能か。実施されている臨床試験の報告を読むと、結局課題は、次の二点に集約される。課題1. 副作用の強さと抗腫瘍効果の強さの兼ね合いで、後者が強いものは前者も強く、前者が許容範囲のものは後者も十分でない。このジレンマをいかに突破するかである。課題2. フェーズ3まで到達した例でも、抗腫瘍効果がある患者とない患者の相違を生み出す原因が定かでない段階で、対象となる数多くの患者をランダム化して二群にわけ、現在行われている最も優れた治療法と比較して、延命効果（平均生存日数）の点で著しく改善した結果が得られるかという評価基準から見て良好な成績を得られないでいる。もし抗腫瘍効果が期待できる患者の選別法が分かっている（薬使用に関する rationale が確立している）なら、そのような患者を対象とする臨床試験実施が可能となり、成績もずっと良くなるはずである。腫瘍効果の有無を作り出している背景にある真の原因の探索を地道に続けることが、臨床試験の成功率を高める近道と考えている。

1. 4 オリゴクローナル抗体創製技術開発

抗 EGFR モノクローナル抗体を2種類混合することによって CDC 活性が誘導されることは以前から知られていたが、本研究によって CDC 活性を効率的に誘導するためのエピトープが解明された。また、EGFR をターゲットとした抗体医薬において、アゴニスト抗体によるリン酸化シグナルは細胞増殖を引き起こす危険性が大きく、オリゴクローナル抗体の作製には不適であると考えるのが一般的であるが、本研究によってアゴニスト抗体による EGFR リン酸化を完全に抑制できるアンタゴニスト抗体が取得され、さらにその認識部位が解明された。即ち、これら3種類のモノクローナル抗体を組み合わせることによって、抗腫瘍活性の効率的誘導と増殖促進抑制能を併せ持つ、抗 EGFR オリゴクローナル抗体の作製が可能になると考えられる。さらに、これら3種類のモノク

ローナル抗体に ADCC 活性増強技術を組み合わせることによって、既存の抗体医薬品を越える抗腫瘍効果を発揮する新たなオリゴクローナル抗体医薬品として期待できるのではないかと考えられる。以上のオリゴクローナル抗体の結果より、より多くのエピトープを認識する抗体を含むと思われるマウスポリクローナル抗体においても同様の活性を期待したが、明確な活性は認められなかった。即ち、ポリクロには 153 のようなアゴニスト抗体も、695 のようなリン酸化阻害抗体も含まれていると思われるが、活性を評価するために十分な抗体価に達していないなど、lot による活性の差があると思われる。本研究で見出された EGFR をターゲットとしたオリゴクローナル抗体の知見は、ポリクローナル抗体においても応用が可能であると考えられる。即ち、ポリクローナル抗体においても、これら 3 種類のエピトープを認識する抗体が確実に含まれていることが重要であり、そのためにこれらのエピトープ認識抗体の抗体価が上昇しやすいような抗原による免疫の工夫が必要であると考えられる。

オリゴクローナル抗体を作製するにあたり、副作用の危険性や製造コストの側面から、最大の抗腫瘍活性を有するための過不足ないモノクローナル抗体を選抜することが重要である。そのために不可欠なのは、ターゲット分子に対してなるべく多くの種類のモノクローナル抗体を取得・解析することである。本研究においても、上記のような抗体の組み合わせの知見が得られた最大の要因は、最初のステップであるモノクローナル抗体のパネルの作製にあった。EGFR 細胞表面をほぼ網羅できるだけのモノクローナル抗体を取得でき、個々のモノクローナル抗体の認識部位が解析できた。現時点で、これら 3 種類の抗体と hEGFR との結晶構造解析は解かれていないが、構造が解かれれば活性強化のメカニズム解明の足掛かりになるのではないかと期待される。今後、他の ErbB family をはじめとする RTK などについても同様の解析が行われ、情報が蓄積されていけば、ターゲット分子の立体構造情報や発現パターンなどを基に、バイオインフォマティクスによってオリゴクローナル抗体に最適な抗体の数や組み合わせが予測できるようになり、将来的にはピンポイントでモノクローナル抗体を取得できるようになるように期待する。

2. 実用化までのシナリオ

2. 1 系統的な高特異性抗体創製技術

肺がん治療薬として抗 CDH 3 抗体が 24 年度前臨床試験入りを計画し、製造段階（1 年程度）に入っている。また膵がん治療薬として AMIGO 2 抗体が 25 年度前臨床試験入りを計画している。それぞれ、1 年後程度に P1 臨床試験、その 1 年後に P2 臨床試験にはいる予定である。その他、実用化候補として、 γ セクレターゼ阻害抗体、HIV 感染阻害抗体については導出も含め実用化への検討を行う。肝がんおよび扁平上皮がんのターゲットの ROB01 抗体は、現在 FIRST プログラムでコンピュータデザインを行っており、scFv 改変とプレターゲットング技術の開発により、4 年後の診断用および治療用抗体医薬として前臨床試験を予定している。

新 PURE システムを今年度夏にキット発売予定であり、リボゾーマルディスプレイによるエピトープマッピングおよび膜タンパク質合成について 2 年後キット発売を予定している。診断試薬は新規炎症マーカーの PTX 3 について大規模な臨床サンプルで炎症性疾患マーカーとしての有用性検定に入っている。パーキンソン病診断薬としての DJ-1 に対する抗体が検定に入っている。DJ-1 抗体はマイケルフォックス財団の研究課題に選定されており、抗体の性能の検定後製品化する

る見込みである。その他、これまでに難治性疾患に関わるタンパク質に対する抗体が種々得られており、数年後に疾患マーカーとして、診断および研究試薬として実用化されると期待される。現在、本プロジェクトにおいて直近の製品化のメドのない抗体クローンについては、公的細胞バンクに寄託し、研究および医薬開発に広く公共に提供できるようにした。

抗体を用いる複合体プロテオミクス解析技術と並行して、抗体磁気ビーズの性能を高め、高感度検出が可能となった。抗体医薬の適応や治療効果を検査するためのコンパニオン血清診断を可能とするもので、数年後に実用化される見込みである。制御性 T 細胞除去モデルマウスあるいは欠損マウスを作製し、自己抗原に対する抗体作製または自己免疫疾患のモデル動物として使用可能である。

ApoB ニワトリモノクローナル抗体については、本年度研究用試薬として販売予定であり、酸化 LDL 検出抗体としてキット製造予定である。LOX1 抗体は本年国外製薬企業にサンプル提供し、前臨床試験前段階の *ex vivo* 実験実施予定。また、国内製薬企業でも前臨床実験実施予定である。抗インテグリン抗体については、国内製薬企業にサンプル提供を行った。

2. 2 高効率な抗体分離精製技術

精製を含む製造技術の実用化における大きな障壁の一つに、技術ユーザー側の保守性があげられる。近年製造者責任が厳しくなってきたことから、この傾向は顕著になってきていると考えられる。また、医薬品の特徴として、一度認可を受けた製造方法を変更することは大変な労力とコストが必要であることがあげられる。従って、実用化までのシナリオ構築においては、ユーザー側の保守性を打破して、新規技術の導入を歓迎する素地を如何に作るか？という観点での検討が必要である。すなわち、「優秀な技術が必ずしも利用されるとは限らない」、という現実があることをまず理解する必要がある。

実用化までのシナリオの前提としては、本プロジェクトで開発した各技術それらを集積化した成果物は、真に、従来の物に比べて優れているということである。特に、アフィニティ担体としては、動的結合容量、処理速度（接触時間）、温和な溶出において、他の追随を許さない性能が発揮できる。一方、唯一、アフィニティ担体のアルカリ耐性についてのみ、従来品に一步及ばない可能性がある。

ユーザー側の保守性を打破する事柄としては、性能が優れていることに加えて、コストメリットと使い勝手、それに、安心感が大きなファクターである。

コストメリットに関しては、アフィニティ担体のうち大きな割合を占めるリガンドタンパク質の製造コストがあげられる。リガンドタンパク質の製造については、本技術をライセンスしている企業において、独自に製造工程の見直しを行うとともに、本技術の特徴であるリガンドタンパク質がタグタンパク質であることから、タグ精製のコストダウンについて検討を行っており、1 から 2 年後には、現在の製造コストの数分の 1（目標 5 分の 1）にまでコストを下げることができると考えられる。このことにより、担体そのものの提供価格を大幅に引き下げることにより、本技術を使用することによるコストメリットが達成されるものと期待される。一方、よりコストを引き下げるためには、高価なアフィニティ担体の使用量を減らすことが考えられる。この観点では、本プロジェクトの成果である、並列カラムを用いた連続精製装置を組み込むことによ

り、使用担体量を数分の1以下に減らすことが可能となる。連続精製装置については、平成23年度に上市される見込みが高いため、上記アフィニティ担体の製造コストの引き下げ効果と合わせて、大幅な製造コストの低下が、ここ1から2年で実現できることになる。

ユーザーの使い勝手については、プレパックカラムとシングルユーステクノロジーの開発を行い、製造現場における洗浄バリデーションの苦労を少なくするという観点でのメリットを実現することを計画している。カラムコストの引き下げと連続精製プロセスの実現により、従来の製造コストを引き下げながら、精製のシングルユーステクノロジーの実現は可能であり、本技術をライセンスしている企業を中心に、数年以内にその実現を目指している。

安心感については、ライセンスしている企業にcGMP製造に実績がある企業があることから、医薬品製造に適用可能な製品を随時提供できる環境が整っており、この点での実用化を早期に行うことができるものと期待される。

本プロジェクトの成果は、小スケールから巨大スケールまで適用可能であるが、今すぐ現在稼働中の製造プロセスに組み込まれることは、製造承認変更の観点で困難であると考えられることから、小スケール精製についての各種デバイスを商品化し、抗体開発の現場における活用を目指す。この観点で、すでに、96穴タイプの並列カラム等の開発がおこなわれており、試供品としての提供が行われている。抗体開発段階での利用から開始して、大スケールの製造工程にまで至るには、5年ないし10年ぐらいの時を要することから、本成果の本格的な実用化は、5年ないし10年後ということになる。この間、各種製造スケールに対応した製品及びその使用法（いわゆる使用コンテンツ）開発をこまめに行うことが重要であると考えられる。

2. 3 ICOS法を用いた癌治療用ヒト抗体単離技術開発

本プロジェクトの最終年度である平成22年度には産総研巖倉博士のグループと我々が協力して表3に示す20種類の抗体を大量調製/精製し、それを希望する国内の製薬メーカーに1mgずつ配布し、活性等のモニタリングをお願いする企画を実施した。この企画に応えた企業が、ここで記述した我々の持つ抗体の可能性について追認し、創薬への高い成功確率を確信する例が生まれることを期待している。我々自身は次のように研究を進める。

(i) すでに単離した抗体を対象にハイスループットに行なっている方針は、1. スードマウス中で、抗腫瘍活性を示す細胞株とモノクローン抗体の組み合わせの探索（臨床試験開始に必要な最低限の条件）、及び2. 担癌モデルマウス中での癌集積性の検討（集積性の高いクローンについては、IgG₁以外で癌細胞を殺す方針も検討する）。

(ii) すでに治療用抗体が開発されている例、とりわけ抗EGFR抗体について、市販されている抗体との差別化をはかるため、エピトープの同定（これについては、抗原抗体複合体の結晶解析がベスト）及び担癌マウス中での抗腫瘍効果について新規性のある組み合わせの例を探索している。

(iii) CD44を代表例として、分子としては同じ抗原を認識するが、結合するエピトープは相互に大きく異なるクローンが見出されており、その中で特定のクローンが癌特異的染色像を与える。これは癌特異抗原について、新しい概念を提起しており、このような例についてその実体を明らかにすることが重要と考えている。

(iv) 本研究で対象としている肝癌、及び肺癌についてはほとんど全ての症例で血液も保存され

ている。そこで、発現している癌特異抗原の種類と血液中に含まれる成分更には DNA に導入された変異との間の規則性を見出すハイスループットな解析を開始した。

(v) 我々が単離した多くの抗体の中で癌特異的染色像を与える抗体が認識する抗原の同定については、容易でないもののみが未同定のまま残っており、その標的抗原についても更に新しい方法を開発して同定を進める。

以上のような研究の展開の中から、臨床現場にまで到達する抗体を作り出すべく今後も努力を続ける。

健康安心イノベーションプログラム基本計画

平成22年4月1日
産業技術環境局
製造産業局

1. 目的

今後、世界に類を見ない少子高齢化が進展する我が国において、国民が健康で安心して暮らせる社会を実現することは喫緊の課題である。具体的には、個の医療を通じて健康寿命の延伸、QOL（Quality of Life：生活の質）の向上を図ることが求められている。

この目的を達成するため、創業に資する基盤技術の開発、再生医療の確立、医療機器・福祉機器の開発等の手段を適切に組み合わせることによって、健康維持増進、疾患の早期診断、及び適切な治療法の提供を実現するほか、関連産業の競争力強化・ベンチャー企業の創出を図る。

2. 政策的位置付け

○新成長戦略（基本方針）（2009年12月30日）

強みを活かす成長分野として「グリーン・イノベーション」分野と「ライフ・イノベーション」分野を策定、人材育成や技術開発を後押しするほか、需要を創造すると同時に利用者の立場に立った社会ルールの変更に取り組む。また、政府は新たな分野に挑戦する人々を支援するとしている。

○革新的医薬品・医療機器創出のための5か年戦略（2009年2月12日改訂）

内閣府、文部科学省、厚生労働省及び経済産業省の間において革新的な医薬品・医療機器の創出に向け、研究資金の集中投入、ベンチャー企業の育成、臨床研究・治験環境の整備、アジアとの連携、薬事法における審査の迅速化・質の向上、イノベーションの適切な評価、官民対話等、研究から上市に至る過程の一貫かつ集中的な支援を実施することとしている。

○「ドリームBTジャパン」（2008年12月11日BT戦略推進官民会議）

2002年に策定した「バイオテクノロジー戦略大綱」以降、バイオテクノロジーをめぐる状況が変化してきたことを背景に、新産業の育成・創出、食糧問題解決、バイオマス利活用等の課題に対処すべく、イノベーション強化11項目や官民が協働で取り組むべき最重点課題を策定した。

○新経済成長戦略のフォローアップと改訂（2008年9月19日閣議決定）

2006年6月に経済産業省がとりまとめた「新経済成長戦略」を、資源価格の高騰等の構造変化を踏まえフォローアップと改訂を行った。「資源生産性競争」時代における経済産業構造の構築、世界市場獲得と持続的発展のためのグローバル戦略の再構築、地域・中小企業・農林水産業・サービスの未来志向の活性化を3つの柱として、「新経済成長戦略」を強化した。

○「iPS細胞研究の推進について（第一次とりまとめ）」（2008年7月3日総合科学技術会議 iPS細胞研究WG）

iPS細胞研究の成果がもたらす医療への波及効果や新しいバイオインダストリーの進展等について検討を行い、iPS細胞研究を推進するための研究推進体制、国の支援の在り方、知的財産戦略、国際化協力の在り方等を取りまとめた。

○「イノベーション25」（2007年6月閣議決定）

生涯健康な社会形成に向けて中長期的に取り組むべき課題として、治療重点の医療から予防・健康増進を重視する保健医療体系の転換、生命倫理・安全性と医療技術促進政策の調和などをとりあげ、再生医療及び在宅医療・介護に係る社会還元加速プロジェクトを実施するとともに、臨床研究・臨床への橋渡し研究をはじめとする研究開発ロードマップの提示により所要の措置を講じていくこととしている。

○がん対策推進基本計画（2007年6月閣議決定）

がん対策基本法に基づき、国、地方公共団体及び関係者等が、がん対策を総合的かつ計画的に推進するために策定された基本方針であり、取り組むべき施策の一つとして「がん研究」が取り上げられている。具体的には、現状、診断薬・診断機器の開発、治療薬・治療機器の開発等が推進されているが、さらに、有用な早期診断技術についての研究開発の推進等に取り組むことが提示されている。

○新健康フロンティア戦略（2007年4月新健康フロンティア戦略賢人会議）、同アクションプラン（2007年12月）

健康寿命の延伸や生活の質の向上を図ることを目的として策定された新健康フロンティア戦略及び新健康フロンティア戦略アクションプランの中で、「人間の活動領域の拡張に向けた取組」及び「医療・福祉技術のイノベーション」において、「先進的予防・診断・治療技術の開発」や「医薬等ベンチャー・基盤産業支援対策」等の施策が提示されている。

3. 達成目標

- ①医薬品開発の成功確率の向上に資する技術開発や、基礎研究から臨床への橋渡し研究等を通じた、医薬品の上市期間の短縮や開発コストの低減を図る。
- ②再生医療の早期実現を目標とし、産業化を促進する。
- ③医療機器¹など先進的な技術開発等の推進による国際競争力の強化、厚生労働省との連携事業（医療機器開発ガイドラインの策定など）による開発から製品に至るまでの期間の短縮等を達成する。
- ④高齢者・障害者の自立促進や介護者の負担軽減等のため、優れた技術や創意工夫のある福祉機器の実用化支援を行う。

¹ 医療機器は、画像診断システムなどの「診断機器」、内視鏡下手術支援システムなどの「治療機器」、その他家庭用医療機器、歯科材料、眼科用品を含む。

4. 研究開発内容

I. 創薬・診断

I-1. 革新的医薬品の創出

(1) 糖鎖機能活用技術開発（運営費交付金）

①概要

我が国が強みを持つ糖鎖工学分野において、これまでに取得・開発した「糖鎖遺伝子ライブラリー」「糖鎖構造解析技術」「糖鎖合成技術」を活用し、癌や感染症など様々な疾病に関与する糖鎖の機能を解析する基盤技術を確立し、我が国の優位性を維持するとともに、創薬・診断等の分野における糖鎖機能の産業利用の促進を図る。

②技術目標及び達成時期

2010年度までに、糖鎖や糖タンパク質などの機能を分子レベルで効率的に解明するための基盤技術、糖鎖の機能解析・検証技術、及び、有用性が認められた糖鎖機能を産業利用するための基盤技術を開発する。

③研究開発期間

2006年度～2010年度

(2) ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発（化合物等を活用した生物システム制御基盤技術開発）（運営費交付金）

①概要

我が国が強みとする完全長cDNAライブラリーやタンパク質相互作用解析技術等を最大限に活用し、重要なタンパク質ネットワーク解析等により創薬の対象となるタンパク質の効率的な絞り込みを行うとともに、疾患等の生物現象を制御する化合物の探索まで、一貫した技術開発を行う。

②技術目標及び達成時期

2010年度までに、超高速・高感度にタンパク質の相互作用を解析する技術や疾患を制御する化合物の探索・評価技術を開発する。

③研究開発期間

2006年度～2010年度

(3) ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発（創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発）

①概要

創薬上重要な膜タンパク質は複合体を形成していることも多く、その構造解析及び相互作用の情報を取得することは創薬研究において重要であるが、その解析は非常に困難である。そこで、膜タンパク質やその複合体の構造情報を取得する新たな技術等の開発に向けて、タンパク質の立体構造及びその構造変化や膜タンパク質複合体の構造情報等の解析及び構造情報を基にした高精度なシミュレーション技術を開発する。

②技術目標及び達成時期

2011年度までに生体内に近い状態での膜タンパク質及びその複合体の構造解析手法、リガンド分子との相互作用解析手法を確立するとともに、当該技術から得られた情報に基づく in silico スクリーニング手法を確立する。

③研究開発期間

2007年度～2011年度

(4) 新機能抗体創製技術開発 (運営費交付金)

①概要

ポストゲノム研究や診断・創薬等において重要となっている機能を有する抗体を創製するため、創薬標的として産業利用上重要だが、解析が困難な膜タンパク質やタンパク質複合体を特異的に認識できる抗体を系統的に作成する技術や抗体の分離・精製を高効率に行うための技術の開発を行う。

②技術目標及び達成時期

2010年度までに、産業上有用と考えられるタンパク質やその複合体を特異的に認識する抗体を創製するための基盤技術、及び、製造コスト低減に向けた抗体の分離・精製を高効率に行う技術を開発する。

③研究開発期間

2006年度～2010年度

(5) 基礎研究から臨床研究への橋渡し促進技術開発 (運営費交付金)

①概要

がん対策等の国民医療高度化を目指し、急速に発展している多様なバイオ技術の融合と医療現場への円滑な橋渡しによるイノベーションの創出・加速のため、総合科学技術会議のもと文部科学省及び厚生労働省と連携し、橋渡し研究の強化に一体的に取り組む。具体的には、民間企業と臨床研究機関（文部科学省や厚生労働省が整備する橋渡し研究拠点等）が一体となって行う、医薬品、医療機器、診断ツール等の開発を推進する。

②技術目標及び達成時期

2011年度までに医療現場及び臨床研究からのフィードバックに基づく研究開発により、医薬品、医療機器、診断ツール等の研究開発成果を円滑に実用化につなげる仕組みを確立する。

③研究開発期間

2007年度～2012年度

(6) 幹細胞産業応用促進基盤技術開発 (運営費交付金)

①概要

創薬プロセス効率化や再生医療への応用が期待される iPS 細胞等幹細胞について、産業応用に不可欠な基盤技術の開発や、iPS 細胞に関連した産業応用事例創出の促進を行う。

②技術目標及び達成時期

2013年度までに、安全で効率的なiPS細胞の作製技術を開発するとともに、産業応用に繋げるために必要となるiPS等幹細胞の選別・評価・製造技術を開発し、産業上利用可能な創薬スクリーニングシステムを確立する。

③研究開発期間

2009年度～2013年度

(7) 後天的ゲノム修飾のメカニズムを活用した創薬基盤技術開発

①概要

がんや生活習慣病などの後天的疾患の原因として重要な因子である「後天的な遺伝子の変化(後天的ゲノム修飾)」を解析する技術や疾患との関連づけにより診断の指標を特定する手法の開発等を実施する。

②技術目標及び到達時期

2014年度までに、後天的ゲノム修飾解析技術開発として、極微量サンプルに対応した解析技術の高精度・高感度化、システム化を行うとともに、開発した技術やモデル動物等を活用し、後天的ゲノム修飾と疾患との関連づけを行う。また、探索的実証研究として、制御因子の探索・同定、制御に関する検証を行う。

③研究開発期間

2010年度～2014年度

I-2. 診断ツールの開発

(1) 個別化医療実現のための技術融合バイオ診断技術開発(運営費交付金)

①概要

我が国が有する微細加工技術・表面処理技術といったナノテク等の強みを活かし、染色体異常を高感度、高精度かつ迅速、安価で非コード領域までを検出するゲノムアレイや解析基盤技術開発を行うとともに、診断への応用を可能とする全自動解析システムの開発を行う。

②技術目標及び達成時期

2010年度までに、BACを用いた非コード領域を含むゲノム全領域を検出できる高精度ゲノムアレイを開発する。さらに、臨床現場において、微量サンプル(数ナノグラム)から、12時間以内に染色体異常(増幅、欠失、コピー数多型等)を、低コストかつ定量性・再現性を確保して検出ができる自動染色体異常解析システムのプロトタイプを開発する。

③研究開発期間

2006年度～2010年度

(2) 糖鎖機能活用技術開発(運営費交付金)【再掲】

(3) 基礎研究から臨床研究への橋渡し促進技術開発(運営費交付金)【再掲】

I-3. 創薬・診断に係る基盤整備

(1) 統合データベースプロジェクト

①概要

ライフサイエンス分野では、自身の研究成果と既存の研究成果と対比することにより、自身の研究成果の仮説を考案する手がかりが得られたり、新しい実用化の発想が得られたりする可能性があるため、国家プロジェクト等により産生された研究データを一括して活用できるデータベースが、産業界や社会から要望されている。

このため、政府全体の“生命科学データベース統合化の取組”の一環として、経済産業省関連の公的資金研究から産出される研究データを、産業上の有用性を評価のうえ、統合化し、産業界等に提供する。

②技術目標及び達成時期

2010年までに経済産業省関連機関により実施されたライフサイエンス分野の研究開発プロジェクトの成果に関する情報提供サイトを構築・運用する。また、ヒト遺伝子に関連した各種研究成果に関しては、平成17～19年度に実施したゲノム情報統合プロジェクトにおいて構築した「ヒト全遺伝子のアノテーション統合データベース (H-Invitational)」を基礎として、経済産業省関連の研究成果を連携して利用できるシステムを構築する。

③研究開発期間

2008年度～2010年度Ⅱ. 再生医療

II. 再生医療

II-1. 再生医療の実用化

(1) 次世代機能代替技術研究開発事業（うち、次世代再生医療技術研究開発）（運営費交付金）

①概要

生体内で自己組織の再生を促すセルフリー型再生デバイスや、少量の細胞により生体内で自律的に成熟する自律成熟型再生デバイスの実用化を促進するとともに、これら再生デバイスにおける有効性・安全性の評価技術等を確立する。

②技術目標及び達成時期

2014年度までに、生体内で自己組織の再生を促進するための細胞外マトリクス、幹細胞誘導・分化促進因子等の再生医療技術を確立し、工学的技術との組み合わせにより、セルフリー型再生デバイス及び自律成熟型再生デバイスを作製する。また、それらを用いて再生した組織等の有効性・安全性に関して、低侵襲で高精度な評価技術の標準化に取り組む。さらに、開発する再生デバイスを低侵襲に植込む技術を確立する。

③研究開発期間

2010年度～2014年度

(2) 基礎研究から臨床研究への橋渡し促進技術開発（運営費交付金）【再掲】

II-2. 再生医療に係る基盤整備

(1) 医療機器開発ガイドライン策定事業

①概要

医療機器産業への投資、新規企業参入、医療機器研究開発の促進及び薬事法審査の円滑化・迅速化にも資する「医療機器開発ガイドライン」を厚生労働省との連携の下、産学の協力を得て、個別の機器ごとに策定し、国内での機器開発促進の環境整備を図るとともに、医療機器産業に製品として、または部品・部材の供給として参入しやすい環境を整備するための方策を検討し、医療機器分野の活性化・国際競争力の強化を図る。

②技術目標及び達成時期

2010年度までに、今後実用化が期待される先進的な医療機器について、工学的安定性や生物学的安定性等に関する詳細な評価基準を策定し、開発ガイドラインとして取りまとめる。また、平成21年度事業において検討・整理された医療機器産業への参入を促す方策や部材供給の活性化方策の具体化を図るため、様々なマッチング機会をコーディネートする人材育成や事業者の海外展開支援策並びに部材供給取引契約にかかるガイドラインの作成及びPL保険のあり方や普及方法等についてさらに検討を加え、医療機器産業の活性化に資するものとする。

③研究開発期間

2008年度～2010年度

Ⅲ. 医療機器

Ⅲ-1. 医療機器の開発

(1) がん超早期診断・治療機器総合研究開発プロジェクト（運営費交付金）

① 概要

がんの診断・治療の革新を一体の課題として捉え、多様な治療法選択が可能なより早期のステージのがんに対して、治療方針を決定するために必要ながん性状、並びに位置に関する正確な情報を確実に取得し、得られた診断情報に基づく侵襲性の低い治療を可能とすることで、患者のQOLを向上させる。

② 技術目標及び到達時期

診断機器システムとしては、分子プローブ等の薬剤並びにそれらの薬剤を用いる高感度・高解像度な画像診断システム、病理診断の効率・信頼性を向上させる病理画像等診断支援システム、遺伝子診断の信頼性を向上させる検体前処理技術を備えた血中がん分子・遺伝子診断システム等を開発する。

治療機器システムとしては、より侵襲性の低い外科的治療を実現する内視鏡下手術支援システム並びに高精度で容易なオペレーションを可能とするX線治療機器を開発する。

③ 研究開発期間

2010年度～2014年度

(うち、内視鏡下手術支援システムは 2007年度～2011年度)

(2) 基礎研究から臨床研究への橋渡し促進技術開発（運営費交付金）【再掲】

(3) 次世代機能代替技術研究開発事業（うち次世代心機能代替治療技術研究開発）（運営交付金）

①概要

小柄な体格にも適用可能な小型の製品で、血栓形成や感染を防ぎ、長期在宅使用が可能な植込み型補助人工心臓を開発する。

②技術目標及び達成時期

2014年度までに、小児を含めた小柄な患者への適用を可能とする、長期使用可能な小型の植込み型補助人工心臓を作製するとともに、有効性及び機械的・電気的・生物学的な安全性の評価を行う。

③研究開発期間

2010年度～2014年度

Ⅲ－2. 医療機器の開発に係る基盤整備

(1) 医療機器開発ガイドライン策定事業【再掲】

①概要

医療機器産業への投資、新規企業参入、医療機器研究開発の促進及び薬事法審査の円滑化・迅速化にも資する「医療機器開発ガイドライン」を厚生労働省との連携の下、産学の協力を得て、個別の医療機器ごとに策定し、国内での機器開発促進の環境整備を図るとともに、医療機器産業に製品として、または部品・部材の供給として参入しやすい環境を整備するための方策を検討し、医療機器分野の活性化・国際競争力の強化を図る。

②技術目標及び達成時期

2010年度までに、今後実用化が期待される先進的な医療機器について、工学的安定性や生物学的安定性等に関する詳細な評価基準を策定し、開発ガイドラインとして取りまとめる。また、平成21年度事業において検討・整理された医療機器産業への参入を促す方策や部材供給の活性化方策の具体化を図るため、様々なマッチング機会をコーディネートする人材育成や事業者の海外展開支援策並びに部材供給取引契約にかかるガイドラインの作成及びPL保険のあり方や普及方法等についてさらに検討を加え、医療機器産業の活性化に資するものとする。

③研究開発期間

2008年度～2010年度

Ⅳ. 福祉機器

Ⅳ－1. 福祉機器の開発

(1) 福祉用具実用化開発推進事業（運営費交付金）

①概要

「福祉用具の研究開発及び普及の促進に関する法律」（福祉用具法）に基づき、高齢者・障害者及び介護者の生活の質の向上を目的として、生活支援分野、社会活動支援分野を中心とした福祉用具の実用化開発を行う民間企業等に対し、研究開発費

用の2/3以内を補助することで、多様な福祉ニーズに対応するとともに、当該分野における新産業の創出、成長の促進に資する。

②技術目標及び達成時期

高齢者、障害者の生活支援、社会参加支援に資する福祉用具の実用化開発を促進することにより、高齢者等の生活における負担の軽減を図り、安全で安心のできる生活を実現する。より具体的な目標として、各々の補助対象事業終了後3年経過した時点で50パーセント以上を製品化する。

③研究開発期間

1993年度～

IV-2. 福祉機器の開発に係る基盤整備

(1) 福祉機器情報収集・分析・提供事業

①概要

福祉用具法に基づき、民間による福祉機器の実用化のための研究開発を促進するため、福祉機器に関する産業技術に係る情報の収集・分析・提供事業を実施することで、当該分野における福祉機器の普及や新規産業の創出・成長の促進を図る。

②技術目標及び達成時期

各年において福祉機器に係るニーズ等の調査の実施及び福祉用具実用化推進事業で開発された福祉機器の各種展示会等への出展による情報収集・分析・情報の提供を実施する。

③研究開発期間

1993年度～

5. 政策目標の実現に向けた環境整備（成果の実用化、導入普及に向けた取組）

[標準化]

- ・各プロジェクトで得られた成果のうち、標準化すべきものについては、適切な標準化活動（国際規格（ISO/IEC）、日本工業規格（JIS）、その他国際的に認知された標準の提案等）を実施する。具体的には、統合データベースの情報やインターネットに公開されている情報資源等を相互運用するために、必要なデータ形式、フォーマット等の標準化を推進する。
- ・高齢者等支援機器については、関係省庁との緊密な連携の下、標準化等の手法による実用化及び普及の方策を検討する。

[導入普及促進]

- ・ゲノム研究の進展は、個人遺伝情報を用い、情報技術を駆使した幅広い医療・健康サービスによる人々の健康や福祉の向上、さらには新しい医療・健康サービス産業の育成に重要な役割を果たそうとしているが、その際、人権を尊重し、社会の理解と協力を得て、個人遺伝情報の厳格な管理の下で適正に事業を実施することが不可欠である。そのため、個

人遺伝情報を安全に保護するために作成した事業者が遵守すべきルール「経済産業分野のうち個人遺伝情報を用いた事業分野における個人情報保護ガイドライン（2004年12月17日告示）」（個人遺伝情報保護ガイドラインという）を適切に運用する。

[産業間連携]

- ・バイオベンチャーは商品を市場に送り出すまでに長期間を要する、研究開発のために多額の資金調達を必要とする、事業を行うために様々な規制・審査を経る必要がある等、他業種のベンチャー企業と比較して困難な問題を抱えていることが多い。そのため、バイオベンチャーの様々な問題に対して施策への反映を検討し、補助金等の施策の紹介を通じてバイオベンチャー振興を図る。
- ・「産業クラスター計画」に基づき、全国のバイオクラスターにおいて、企業間のネットワーク形成の支援、産学連携による研究開発プロジェクトの支援、地域系ベンチャーファンドによる資金調達支援等を実施していく。
- ・医療の進歩・国民の健康に貢献する医療機器・用具の産業技術力向上及び国際競争力強化を目指し、研究開発から市場化までのすべてのプロセスにおけるマクロな戦略の検討と、医療機器の重要性について社会的認知の向上を実現するための仕組み及び個別プロジェクトの形成をはかることを使命とした「医療技術産業戦略コンソーシアム（METIS）」が平成13年に設立され、平成21年10月より第4期に入っている。

[プロジェクト等間の連携について]

- ・ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発（化合物等を活用した生物システム制御基盤技術開発）については、タンパク質機能解析・活用プロジェクトの成果を活用することで、超高速・高感度にタンパク質の相互作用を解析する技術を開発する。
- ・ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発（創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発）については、「生体高分子立体構造情報解析」の成果を活用することで、膜タンパク質やその複合体の構造情報を取得する新たな技術等の開発に向けて、タンパク質の立体構造及びその構造変化や膜タンパク質複合体の構造情報等の解析及び構造情報を基にした高精度なシミュレーション技術を開発する。
- ・糖鎖機能活用技術開発については、糖鎖合成関連遺伝子ライブラリー構築、糖鎖エンジニアリングプロジェクトの成果を活用することで、糖鎖の機能を効率的に解析するための基盤技術を開発する。
- ・ゲノム創薬加速化支援バイオ基盤技術開発の「化合物等を活用した生物システム制御基盤技術開発」、「創薬加速に向けたタンパク質構造解析基盤技術開発」については、必要に応じ、各々の成果を活用し、効率的、効果的な研究開発を図る。

[関係機関との連携]

- ・総合科学技術会議が推進する基本政策推進専門調査会 分野別推進総合PT ライフサイエンスPT及び科学技術連携施策（「生命科学の基礎・基盤」、「臨床研究・臨床への橋渡し研究」）の下、各プロジェクトについて、関係府省との適切な連携を図る。

[その他]

- ・一段と激化する特許戦争の中、成果実用化・効率的な研究開発を推進するため、プロジェクト企画段階から、研究テーマ周辺の論文及び特許状況のサーベイ実施やプロジェクト実施段階における特許出願後の事業化構想等、特許に関する戦略的取組（プロパテントアプローチの導入）を実施する。
- ・医療機器の審査体制の強化による薬事法審査の迅速化の観点から、2004年より独立行政法人産業技術総合研究所の工学系研究者を独立行政法人医薬品医療機器総合機構へ派遣しているところである。
- ・福祉機器においても、中小企業等産業側の観点を福祉政策に活かすため2008年より独立行政法人産業技術総合研究所の職員を厚生労働省に派遣中である。

6. 研究開発の実施に当たっての留意事項

事業の全部又は一部について独立行政法人の運営費交付金により実施されるもの（事業名に（運営費交付金）と記載したものは、中期目標、中期計画等に基づき、運営費交付金の総額の範囲内で、当該独立行政法人の裁量によって実施されるものである。

なお、適切な時期に、実用化・市場化状況等について検証する。

7. 改訂履歴

- (1) 平成12年12月28日付けがん・心疾患等対応高度医療機器プログラム制定。
- (2) 平成14年2月26日付け健康維持・増進のためのバイオテクノロジー基盤研究プログラム基本計画制定。
- (3) 平成14年2月28日付け健康寿命延伸のための医療福祉機器高度化プログラム基本計画制定。がん・心疾患等対応高度医療機器プログラム（平成12・12・27工総第13号）は、廃止。
- (4) 平成15年1月27日付け健康維持・増進のためのバイオテクノロジー基盤研究プログラム基本計画制定。健康維持・増進のためのバイオテクノロジー基盤研究プログラム基本計画（平成14・02・25産局第4号）は、廃止。
- (5) 平成15年3月10日付け健康寿命延伸のための医療福祉機器高度化プログラム基本計画制定。健康寿命延伸のための医療福祉機器高度化プログラム基本計画（平成14・02・05産局第2号）は、廃止。
- (6) 平成16年2月3日付け制定。健康維持・増進のためのバイオテクノロジー基盤研究プログラム基本計画（平成15・01・23産局第4号）及び健康寿命延伸のための医療福祉機器高度化プログラム基本計画（平成15・03・07産局第17号）は、本プログラム基本計画に統合することとし、廃止。
- (7) 平成17年3月31日付け制定。健康安心プログラム基本計画（平成16・02・03産局第12号）は、廃止。
- (8) 平成18年3月31日付け制定。健康安心プログラム基本計画（平成17・03・25産局第1号）は、廃止。
- (9) 平成19年4月2日付け制定。健康安心プログラム基本計画（平成18・03・31産局第2号）は、廃止。
- (10) 平成20年4月1日付け制定。健康安心プログラム基本計画（平成19・03・20産局第5号）は、廃止。

- (11) 平成21年4月1日付け制定。健康安心プログラム基本計画（平成20・03・25産局第6号）は廃止。
- (12) 平成22年4月1日付け制定。健康安心プログラム基本計画（平成21・03・26産局第3号）は廃止。

(健康安心イノベーションプログラム)

「新機能抗体創製技術開発」基本計画

バイオテクノロジー・医療技術開発部

1. 研究開発の目的・目標・内容

(1) 研究開発の目的

本研究開発は、創薬に資する基盤技術の開発、再生医療の確立、医療機器・福祉機器の開発等の手段を適切に組み合わせることによって、健康維持増進、疾患の早期診断、及び適切な治療法の提供を実現し、個の医療を通じた健康寿命の延伸、生活の質の向上を図り、今後、世界に類を見ない少子高齢化が進展する我が国において、国民が健康で安心して暮らせる社会の実現をめざすことを目的とする「健康安心イノベーションプログラム」の一環として実施する。

近年、抗体はポストゲノム研究に重要であるとともに、創薬や診断等への応用が期待されることから、幅広い産業利用が期待されるため、極めて重要なものとなっており、世界的にも研究競争が激化している。しかし、産業上有用と考えられるタンパク質やその複合体を特異的に認識する抗体を創製する際、抗原の産生が困難なことや、抗体の創製が免疫寛容等により困難であることが技術課題となっている。このため、こうした課題に対応し、創薬上重要なタンパク質やその複合体等の機能を有した抗原を系統的に産生する技術や、様々な膜タンパク質等を抗原として特異性が高く、機能性の高い抗体を創製する技術の革新が必要である。また、抗体の産業利用を促進するには、その高い製造コストが大きな課題となっていることから、抗体創製の基盤技術の開発に加えて、ダウンストリームにあたる抗体製造プロセスにおける技術革新も同時に必要となる。具体的には、抗体の製造コストの低減を図るべく、抗体の分離・精製技術について高純度精製化、高機能化、低コスト化の技術革新が必要である。これらの技術革新により抗体を活用した研究や創薬、診断を加速し、ポストゲノム研究の産業化を促進することが重要である。

そこで、本研究開発は、創薬等のポストゲノム研究の産業化において重要と考えられるタンパク質やその複合体等について、タンパク質を抗原として特異性の高い抗体を系統的に創製するための抗原産生技術、抗原提示増強や免疫寛容回避等の基盤技術の開発及び抗体の分離・精製を効率化するための技術を開発することを目的とする。

これにより、抗体を活用したポストゲノム研究の加速といった幅広い効果が期待できるとともに、ポストゲノム研究や創薬及び診断において有用な抗体の創製が加速され、個別化医療の早期実現や画期的な創薬等につながると同時に、国民が健康で安心して暮らせる社会の実現に寄与することが期待される。

(2) 研究開発の目標

最終目標（平成22年度末）

産業利用上重要なタンパク質やその複合体等を特異的に認識できる抗体を系統的に創製するための技術を開発し、産業上有用なタンパク質を生体内における機能を有した状態で500程度産生する。さらに、これを抗原として産業上有用な機能を有する抗体を50程度取得することで、技術の有用性を評価する。また、抗体の製造コスト低減に向けた抗体の分離・精製等を高効率に行う技術を開発し、既存のProtein Aクロマト担体の適用が困難な抗体(回収率50%以下)の抗体回収率を70%以上に向上する技術を開発する。

中間目標(平成20年度末)

産業利用上有用なタンパク質やその複合体等を特異的に認識できる抗体を系統的に創製する基盤技術として、系統的な抗原の産生技術、高特異性抗体を創製する技術、抗体の機能向上の基盤技術を構築する。これらの技術を用いて、産業上有用なタンパク質を生体内における機能を有した状態で250程度産生し、これを抗原として産業上有用な機能を有する抗体を25程度取得する。また、抗体の製造コスト低減に向けた分離・精製等を効率的に行うための基盤技術を開発し、既存のProtein Aクロマト担体の適用が困難な抗体(回収率50%以下)の抗体回収率を60%以上に向上する技術を開発する。

(3) 研究開発の内容

上記目標を達成するために、以下の研究開発項目について、別紙の研究開発計画に基づき研究開発を実施する。

- ①系統的な高特異性抗体創製技術
- ②高効率な抗体分離精製技術

2. 研究開発の実施方式

(1) 研究開発の実施体制

本研究開発は、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構(以下、「NEDO技術開発機構」という。)が、単独ないし複数の原則、本邦の企業、研究組合、公益法人等の研究機関(原則、国内に研究開発拠点を有していること。ただし、国外企業の特別な研究開発能力、研究施設等の活用あるいは国際標準獲得の観点からの国外企業との連携が必要な場合はこの限りではない。)から公募によって研究開発実施者を選定後、共同研究契約等を締結する研究体を構築し、委託して実施する。

共同研究に参加する各研究開発グループの有する研究開発ポテンシャルの最大限の活用により効率的な研究開発の推進を図る観点から、研究体にはNEDO技術開発機構が指名した東京大学先端科学技術研究センターシステム生物医学分野 児玉龍彦教授を研究開発責任者(プロジェクトリーダー)とし、その下に研究者を可能な限り結集して効果的な研究開発を実施する。

(2) 研究開発の運営管理

研究開発全体の管理・執行に責任を有するNEDO技術開発機構は、経済産業省及びプロジェクトリーダーと密接な連携を維持しつつ、プログラムの目的及び目標、並びに本研究開発の目的及び目標に照らして適切な運営管理を実施する。具体的には、必要に応じて、NEDO技術開発機構に設置する委員会及び技術検討会等、外部有識者の意見を運営管理に反映させる他、四半期に一回程度プロジェクトリーダー等を通じて研究開発の進捗について報告を受けること等を行う。

3. 研究開発の実施期間

本研究開発の実施期間は、平成18年度から平成22年度までの5年間とする。

4. 評価に関する事項

NEDO技術開発機構は、技術的及び政策的観点から、研究開発の意義、目標達成度、成果の技術的意義ならびに将来の産業への波及効果等について、外部有識者による研究開発の中間評価を平成20年度、事後評価を平成23年度に実施する。なお、評価の時期については、当該研究開発に係る技術動向、政策動向や当該研究開発の進捗状況等に応じて、前倒しする等、適宜見直すものとする。

5. その他重要事項

(1) 研究開発成果の取り扱い

①共通基盤技術の形成に資する成果の普及

得られた研究開発成果のうち、下記共通基盤技術に係る研究開発成果については、NEDO技術開発機構、実施者とも普及に努めるものとする。

a) 実現手法の確立、体系的整理

- ・ 系統的な高特異性抗体創製技術
- ・ 高効率な抗体分離精製技術

b) 新たな特性データの取得・整備

・ 診断・創薬ターゲットのデータの取得・整備等、本技術開発を通じて得られる有用な情報

②知的基盤整備事業又は標準化等との連携

得られた研究開発の成果については、知的基盤整備または標準化等との連携を図るため、データベースへのデータの提供、標準情報（TR）制度への提案等を積極的に行う。

③知的財産権の帰属

委託研究開発の成果に関わる知的財産権については「独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構新エネルギー・産業技術業務方法書」第25条の規定等に基づき、原則として、すべて受託先に帰属させることとする。

④成果の産業化

a) 受託者は、本研究開発から得られる研究開発成果の産業面での着実な活用を図るため、本研究開発の終了後に実施すべき取り組みのあり方や研究開発成果の産業面での活用のビ

ビジネスモデルを立案するとともに、立案した取り組みのあり方とビジネスモデルについて、研究開発の進捗等を考慮して、本研究開発期間中に必要な見直しを行う。

b) 受託者は、上記a)で立案した取り組みとビジネスモデルを本研究開発終了後、実行に移し、成果の産業面での活用に努めるものとする。

(2) 基本計画の変更

NEDO技術開発機構は、研究開発内容の妥当性を確保するため、社会・経済状況、内外の研究開発動向、政策動向、プログラム基本計画の変更、第三者の視点からの評価結果、研究開発費の確保状況、当該研究開発の進捗状況等を総合的に勘案し、達成目標、実施期間、研究開発体制等、基本計画の見直しを弾力的に行うものとする。

(3) 根拠法

本研究開発は、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構法第15条第1項第2号に基づき実施する。

(4) 関連指針の厳守

当該プロジェクトの実施にあたっては、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」(平成13年度文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)等、研究開発関連の指針を厳守しなければならない。また、本研究開発成果の事業化においては、「経済産業分野のうち個人情報を用いた事業分野における個人情報保護ガイドラインの策定について」(平成16・12・24製局第1号)を厳守しなければならない。

6. 基本計画の改訂履歴

(1) 平成18年1月制定。

(2) 平成20年3月改訂。プロジェクトリーダー名の記載。

(3) 平成20年7月、イノベーションプログラム基本計画の制定により、「(1) 研究開発の目的」の記載を改訂。

(別紙) 研究開発計画

研究開発項目①「系統的な高特異性抗体創製技術」

1. 研究開発の必要性

抗体は生体内に存在する分子の一つで、近年、創薬及び診断等の産業利用上、極めて重要であることが明らかになりつつある。しかし、抗体創製においては、次のような技術課題があり、解決が求められている。①創薬等の標的として産業利用上極めて重要な膜タンパク質等については機能を有した状態で抗原とすることが難しく、特に、機能発現している複雑な複合体に対する抗体創製が困難であること、及び、②膜タンパク質は、生物種間で保存されている領域もあることから、免疫寛容により特異性の高い抗体創製が困難なケースが多く、動物種を変えても特異性の高い機能を有する抗体を得にくいことが課題である。こうした課題に対応するため、産業利用上、重要な膜タンパク質や複合体が機能を有した状態の抗原産生技術の開発、さらにその抗原に対して高特異性・高親和性を有する抗体の

効率的な創製技術の開発が必要である。

2. 研究開発の具体的内容

系統的な高特異性抗体の創製技術を構築する為に、以下の技術開発を行う。

(1) 膜タンパク質及びその複合体等の機能を有した抗原の系統的な産生技術

創薬標的となりうる産生が困難な膜タンパク質やその複合体等（G蛋白質共役型受容体等）を、生体内における機能を有した状態で、系統的に産生する技術開発を行う。特に、高い特異性を有する抗体の創製に適した抗原産生技術を開発する。

(2) 高特異性・高親和性・高機能性を有する抗体の効率的な創製技術

抗原提示増強、免疫寛容の抑制等により、抗体が出来にくい標的に対する高特異性抗体（人工抗体を含む）の創製技術の開発を行う。さらに、系統的に創製された抗体の特異性・高親和性等の機能を高める抗体の改変技術の開発を行う。

(3) 抗体を系統的に創製するための基盤技術及び創製された抗体の評価

(1), (2) で得られる技術を活用し、産業上有用な標的候補となるタンパク質やその複合体を同定して得られた標的タンパク質に対して系統的に抗体を創製することで、抗原の系統的産生技術及び抗体の出来にくい標的に対し高特異性抗体を創製する技術の検証及び実証を行い、その有用性を評価する。さらに、創製した抗体の創薬標的に対する特異性や機能を検証する技術を開発し、系統的に創製された抗体の特異性や機能の評価を行う。

3. 達成目標

(1) 最終目標（平成22年度末）

上記技術開発で得られる系統的な抗原の産生技術、高特異性・高親和性・高機能性を有する抗体を創製する技術について基盤技術の有効性を評価するため、産業上有用なタンパク質等を500程度産生するとともに、これを抗原として、産業上有用な機能を有する抗体を50程度取得し、その有用性を評価する。

(2) 中間目標（平成20年度末）

上記技術開発で得られる系統的な抗原の産生技術、高特異性・高親和性・高機能性を有する抗体を創製する技術について基盤技術の有効性を評価するため、産業上有用なタンパク質等を250程度産生するとともに、これを抗原として、産業上有用な機能を有する抗体を25程度取得し、その有用性を評価する。

研究開発項目②「高効率な抗体分離精製技術」

1. 研究開発の必要性

抗体の需要は近年大幅に伸びているが、高品質な抗体を低コストで生産・供給するためのダウンストリームの技術の開発が強く要望されている。しかし、抗体製造の低コスト化は容易でなく、製造プロセスにおける単位操作技術の抜本的革新が必要である。

抗体は培養細胞で生産されるが、その後の分離・精製工程が抗体製造の低コスト化を実現する上で技術課題となっている。例えば、分離・精製工程における単位操作技術として、

アフィニティー・クロマトが挙げられるが、この単位操作プロセスが時として全分離精製コストの8割以上になることもある。このアフィニティー・クロマトは、抗体分子と特異的に結合するリガンドを有するビーズ（担体）を充填したものである。現在は、リガンドとして主として天然型（及びその組換え型）の抗体結合性タンパク質（Protein A等）が用いられているが、拡大する多品種抗体の低コスト生産に対応できなくなっている。また、リガンドに結合した抗体の溶出工程では、溶媒・pHが過酷な為、抗体の不可逆的な会合凝集・変性が起こりやすく、低収率や凝集体混入の原因となり、低コスト化のみならず安全性・信頼性を確保する上での課題ともなっている。

こうした課題を解決するためには、分離・精製工程における新規アフィニティー・クロマトの開発を中心とした技術革新が重要である。具体的には、個々の抗体に対応するリガンド設計、担体基材の革新によるクロマトグラフィーの動的挙動の改良や溶出工程の最適化等の開発を行い、今後拡大的に開発される多品種の抗体を高品質、低コストで製造するための技術確立する必要がある。また、抗体の分離・精製工程のこれらの技術を短期間で最適化し、抗体の研究開発から量産開始までの時間短縮を図ることも重要である。

2. 研究開発の具体的内容

分子特性の異なる個々の抗体の分離・精製工程に対応するアフィニティー・クロマトを中心とした製造技術の技術革新を行い、抗体分離・精製工程の最適化に係る設計時間の大幅短縮化により、抗体製造の低コスト化を実現するため、以下の技術開発を行う。また、技術開発を行うにあたり、抗体の実用化レベルの生産に適用可能な技術開発を目指し、得られた技術を実際の製造システムへ適用することで、技術の検証及び実証を行い、その有効性を評価する。

(1) タンパク質分子リガンド技術開発

多品種の抗体分子に対応する結合・解離特性の最適なアフィニティー・リガンド分子の設計・創製技術の開発を行う。特に、迅速な分子設計のための多様なアフィニティー・リガンド分子からなるライブラリの創製、部分構造最適化によるリガンドと抗体の結合・解離特性・安定性向上技術開発、及び、アフィニティー・リガンド分子の迅速選別技術開発等を行う。

(2) 高効率クロマト担体技術開発

精製操作時等にリガンド脱落が少なく、かつ、結合量を最大化するリガンド-担体結合技術（固定化技術）を開発する。また、高効率固定化のクロマト担体表面修飾技術開発、及び、スケールアップに必要なクロマトの動的特性改良技術開発等を行う。

(3) 溶出工程技術開発

溶媒工学を基盤として、溶出工程における抗体の不可逆的な会合凝集・変性を抑制するための支援技術を開発する。

3. 達成目標

(1)最終目標（平成22年度末）

抗体の大量生産（培養規模数千リットル以上）に対応する高品質で安全性に優れた製品を低コストで生産・供給するための分離・精製技術を確立する。具体的には、アフィニティー・クロマト用リガンドの選定から分離条件の設定までの工程を構成する単位操作それぞれについて最適化技術を開発することにより、分離精製が困難な新規抗体の分離・精製工程の最適化に係る設計時間を3ヶ月に短縮するとともに、既存のProtein Aクロマト担体の適用が困難な抗体（回収率50%以下）の抗体回収率を70%以上にする。

(2)中間目標（平成20年度末）

分離精製コストの低減および信頼性の向上を図るうえで重要な基盤技術を確立する。具体的には、既存のProtein Aクロマト担体の適用が困難な抗体（回収率50%以下）について、結合特性の一桁以上の改善を達成するリガンド創製技術を開発する。さらに、改善リガンドを用いたアフィニティークロマトシステムの開発により、60%以上の抗体回収率を達成する。

3. 達成目標

(1)最終目標（平成22年度末）

抗体の大量生産（培養規模数千リットル以上）に対応する高品質で安全性に優れた製品を低コストで生産・供給するための分離・精製技術を確立する。具体的には、アフィニティー・クロマト用リガンドの選定から分離条件の設定までの工程を構成する単位操作それぞれについて最適化技術を開発することにより、分離精製が困難な新規抗体の分離・精製工程の最適化に係る設計時間を3ヶ月に短縮するとともに、既存のProtein Aクロマト担体の適用が困難な抗体（回収率50%以下）の抗体回収率を70%以上にする。

(2)中間目標（平成20年度末）

分離精製コストの低減および信頼性の向上を図るうえで重要な基盤技術を確立する。具体的には、既存のProtein Aクロマト担体の適用が困難な抗体（回収率50%以下）について、結合特性の一桁以上の改善を達成するリガンド創製技術を開発する。さらに、改善リガンドを用いたアフィニティークロマトシステムの開発により、60%以上の抗体回収率を達成する。

(別紙) 研究開発計画

研究開発項目①「系統的な高特異性抗体創製技術」

1. 研究開発の必要性

抗体は生体内に存在する分子の一つで、近年、創薬及び診断等の産業利用上、極めて重要であることが明らかになりつつある。しかし、抗体創製においては、次のような技術課題があり、解決が求められている。①創薬等の標的として産業利用上極めて重要な膜タンパク質等については機能を有した状態で抗原とすることが難しく、特に、機能発現している複雑な複合体に対する抗体創製が困難であること、及び、②膜タンパク質は、生物種間で保存されている領域もあることから、免疫寛容により特異性の高い抗体創製が困難なケースが多く、動物種を変えても特異性の高い機能を有する抗体を得にくいことが課題である。こうした課題に対応するため、産業利用上、重要な膜タンパク質や複合体が機能を有した状態の抗原産生技術の開発、さらにその抗原に対して高特異性・高親和性を有する抗体の効率的な創製技術の開発が必要である。

2. 研究開発の具体的内容

系統的な高特異性抗体の創製技術を構築する為に、以下の技術開発を行う。

(1) 膜タンパク質及びその複合体等の機能を有した抗原の系統的な産生技術

創薬標的となりうる産生が困難な膜タンパク質やその複合体等（G蛋白質共役型受容体等）を、生体内における機能を有した状態で、系統的に産生する技術開発を行う。特に、高い特異性を有する抗体の創製に適した抗原産生技術を開発する。

(2) 高特異性・高親和性・高機能性を有する抗体の効率的な創製技術

抗原提示増強、免疫寛容の抑制等により、抗体が出来にくい標的に対する高特異性抗体（人工抗体を含む）の創製技術の開発を行う。さらに、系統的に創製された抗体の特異性・高親和性等の機能を高める抗体の改変技術の開発を行う。

(3) 抗体を系統的に創製するための基盤技術及び創製された抗体の評価

(1)、(2)で得られる技術を活用し、産業上有用な標的候補となるタンパク質やその複合体を同定して得られた標的タンパク質に対して系統的に抗体を創製することで、抗原の系統的産生技術及び抗体の出来にくい標的に対し高特異性抗体を創製する技術の検証及び実証を行い、その有用性を評価する。さらに、創製した抗体の創薬標的に対する特異性や機能を検証する技術を開発し、系統的に創製された抗体の特異性や機能の評価を行う。

3. 達成目標

(1) 最終目標（平成22年度末）

上記技術開発で得られる系統的な抗原の産生技術、高特異性・高親和性・高機能性を有する抗体を創製する技術について基盤技術の有効性を評価するため、産業上有用なタンパク質等を500程度産生するとともに、これを抗原として、産業上有用な機能を有する抗体を50程度取得し、その有用性を評価する。

(2) 中間目標（平成20年度末）

上記技術開発で得られる系統的な抗原の産生技術、高特異性・高親和性・高機能性を有する抗体を創製する技術について基盤技術の有効性を評価するため、産業上有用なタンパク質等を250程度産生するとともに、これを抗原として、産業上有用な機能を有する抗体を25程度取得し、その有用性を評価する。

研究開発項目②「高効率な抗体分離精製技術」

1. 研究開発の必要性

抗体の需要は近年大幅に伸びているが、高品質な抗体を低コストで生産・供給するためのダウンストリームの技術の開発が強く要望されている。しかし、抗体製造の低コスト化は容易でなく、製造プロセスにおける単位操作技術の抜本的革新が必要である。

抗体は培養細胞で生産されるが、その後の分離・精製工程が抗体製造の低コスト化を実現する上で技術課題となっている。例えば、分離・精製工程における単位操作技術として、アフィニティー・クロマトが挙げられるが、この単位操作プロセスが時として全分離精製コストの8割以上になることもある。このアフィニティー・クロマトは、抗体分子と特異的に結合するリガンドを有するビーズ（担体）を充填したものである。現在は、リガンドとして主として天然型（及びその組換え型）の抗体結合性タンパク質（Protein A等）が用いられているが、拡大する多品種抗体の低コスト生産に対応できなくなっている。また、リガンドに結合した抗体の溶出工程では、溶媒・pHが過酷な為、抗体の不可逆的な会合凝集・変性が起こりやすく、低収率や凝集体混入の原因となり、低コスト化のみならず安全性・信頼性を確保する上での課題ともなっている。

こうした課題を解決するためには、分離・精製工程における新規アフィニティー・クロマトの開発を中心とした技術革新が重要である。具体的には、個々の抗体に対応するリガンド設計、担体基材の革新によるクロマトグラフィーの動的挙動の改良や溶出工程の最適化等の開発を行い、今後拡大的に開発される多品種の抗体を高品質、低コストで製造するための技術確立する必要がある。また、抗体の分離・精製工程のこれらの技術を短期間で最適化し、抗体の研究開発から量産開始までの時間短縮を図ることも重要である。

2. 研究開発の具体的内容

分子特性の異なる個々の抗体の分離・精製工程に対応するアフィニティー・クロマトを中心とした製造技術の技術革新を行い、抗体分離・精製工程の最適化に係る設計時間の大幅短縮化により、抗体製造の低コスト化を実現するため、以下の技術開発を行う。また、技術開発を行うにあたり、抗体の実用化レベルの生産に適用可能な技術開発を目指し、得られた技術を実際の製造システムへ適用することで、技術の検証及び実証を行い、その有効性を評価する。

(1) タンパク質分子リガンド技術開発

多品種の抗体分子に対応する結合・解離特性の最適なアフィニティー・リガンド分子の設計・創製技術の開発を行う。特に、迅速な分子設計のための多様なアフィニティー・リガ

ンド分子からなるライブラリの創製、部分構造最適化によるリガンドと抗体の結合・解離特性・安定性向上技術開発、及び、アフィニティー・リガンド分子の迅速選別技術開発等を行う。

(2) 高効率クロマト担体技術開発

精製操作時等にリガンド脱落が少なく、かつ、結合量を最大化するリガンド-担体結合技術（固定化技術）を開発する。また、高効率固定化のクロマト担体表面修飾技術開発、及び、スケールアップに必要なクロマトの動的特性改良技術開発等を行う。

(3) 溶出工程技术開発

溶媒工学を基盤として、溶出工程における抗体の不可逆的な会合凝集・変性を抑制するための支援技術を開発する。

3. 達成目標

(1) 最終目標（平成22年度末）

抗体の大量生産（培養規模数千リットル以上）に対応する高品質で安全性に優れた製品を低コストで生産・供給するための分離・精製技術を確立する。具体的には、アフィニティー・クロマト用リガンドの選定から分離条件の設定までの工程を構成する単位操作それぞれについて最適化技術を開発することにより、分離精製が困難な新規抗体の分離・精製工程の最適化に係る設計時間を3ヶ月に短縮するとともに、既存のProtein Aクロマト担体の適用が困難な抗体（回収率50%以下）の抗体回収率を70%以上にする。

(2) 中間目標（平成20年度末）

分離精製コストの低減および信頼性の向上を図るうえで重要な基盤技術を確立する。具体的には、既存のProtein Aクロマト担体の適用が困難な抗体（回収率50%以下）について、結合特性の一桁以上の改善を達成するリガンド創製技術を開発する。さらに、改善リガンドを用いたアフィニティークロマトシステムの開発により、60%以上の抗体回収率を達成する。

「新機能抗体創製技術開発」は技術戦略マップ2008(2008年4月10日公開)のバイオテクノロジー分野において、下記のように「創薬・診断分野」における重要な技術と位置づけられている。以下にその内容を抜粋し紹介する。

技術戦略マップ2008(経済産業省)

バイオテクノロジー分野の技術マップ(創薬・診断分野)

Ⅱ. 技術マップ

(1) 技術マップ

国民にとって最大の関心事項である健康とは、病気になった場合に早期に健康状態に戻れること、そして、そもそも病気にならず健康であり続けることに大きく二分される。この2つのニーズに対応するためには、副作用の少ない最適な医薬品の提供を可能とするとともに、将来の疾患リスクを事前に把握した上で、各人において日々の健康管理を行える環境の整備が重要となっている。このため、①「より良い医薬品の開発・提供」及び②「健康産業の創造(治療から予防への転換)」を研究開発の柱として位置づけ、ニーズに従って必要な技術を技術マップ上に俯瞰した。

① より良い医薬品の開発・提供

個々人の病態や遺伝的背景に応じて薬剤を選択することを可能とするためには、画期的な医薬品の開発を促進し、薬剤の母数を拡大することが重要であり、このためには、疾患メカニズムを踏まえ、医薬品のターゲットとなるタンパク質、糖鎖、RNA等の生体分子を探索・特定し、これを医薬品としていち早く市場化することが必要である。また、薬効や副作用の大小は個々人により異なるため、多数の医薬品の中から個々人に応じた最適な医薬品の選択・処方が求められている。このため、技術マップでは、画期的な医薬品開発のための技術課題と医薬品の最適な使用のための技術課題に分け、前者については、医薬品の種類と医薬品開発プロセスという軸から技術課題を整理している。なお、疾患と医薬品との関係については、がんやその他の疾患を見ても、その疾患メカニズムはある特定の疾患の中でも異なっており、また治療用のターゲットが複数存在することから、開発過程において、それぞれの疾患に対し固有の医薬品形態にとらわれない複数のアプローチが取られている。

② 健康産業の創造

病気を予防するためには、自らの罹患リスクを遺伝的に認識した上で、日々の健康管理を行える環境の整備が必要であり、このための技術課題を整理している。さらに、バイオマーカーに着眼し、当該技術より可能な予防及び超早期診断による健康維持のあり方について深化して検討を行い、技術マップを整理している。また、①、②の戦略を推進するうえ

で重要となる「ゲノム情報等をベースとした新規診断技術」のビジネスモデルを【参考資料3】に示す。このビジネスモデルから以下の点が見込まれる。

○現在の臨床現場における利用は治療に比べて相対的に保険点数が低いものの、健康産業を含む公的保険以外の自己負担、民間保険、雇用主負担等でカバーするエリアでの展開は有望である。

○医薬品開発におけるファーマコゲノミクスの進展により、医薬品と診断法の一体化開発や臨床現場での薬物療法における投薬前診断分野における市場の成長性が期待できる状況である（ただし、この分野では診断技術を提供する企業と製薬企業との密な協業が必要）。

（2）重要技術の考え方

この分野の具体的目標である

- ・画期的な医薬品をより早く効率的に提供することにより、優れた治療法を提供する。
- ・個の医療を支える薬剤のバラエティを拡大し、幅広い選択肢を提供する。
- ・個々人の特性・病態に合わせた最適な医療を実現する。
- ・疾患・罹患リスクの把握とこれに対応した予防・早期診断による適切な健康管理を実現する。

を踏まえて、下記の観点から重要技術を抽出し、技術マップに示している。なお、我が国発の技術として脚光を浴びているヒトiPS(induced pluripotent stem cell)細胞については、再生医療分野だけでなく、創薬分野においても「健常人iPS細胞に由来する健常モデル細胞（心筋細胞、肝細胞など）を用いた毒性評価」、「患者iPS細胞由来の疾患モデル細胞を用いた創薬スクリーニング」系の構築による創薬プロセスの効率化（成功率の向上やスピードアップ）や疾患メカニズム解明による新規医薬品の創出などに資する重要技術として幅広い観点から期待されており、技術マップ及びロードマップの該当箇所に明示している。また、iPS細胞研究の展開には、これまで取り組んできているES細胞及び体性幹細胞における知見が大いに活用されるものであり、我が国における幹細胞研究全体の加速が期待できる。

① 「画期的な医薬品・診断技術の開発」

創薬シーズの創出、バイオマーカーの探索、疾病状態における細胞内分子状態の把握等、画期的な医薬品及び診断技術の開発のために重要であると考えられる技術・機器。具体的には、画期的な医薬品ターゲットや各種診断マーカー探索のために重要となるゲノム、プロテオーム、糖鎖、RNA等の生体分子とこれらの相互作用解析や、研究を支援する研究ツール・機器の開発といった診断・医薬品開発への応用に必要な技術開発が挙げられる。

② 「医薬品開発の効率化」

成功確率の向上、製造コスト低減、開発期間短縮等、医薬品開発の効率化のために重要であると考えられる技術・機器。具体的には、医薬品開発の早期段階において毒性や薬剤有効性の評価に利用されるモデル生物系（iPS細胞から構築されるモデル細胞を含む）の

構築、細胞ネットワーク解析、バイオマーカーの活用、化合物ライブラリーの充実、ファーマコゲノミクス等が挙げられる。

③ 「ＱＯＬの向上」

診断の正確さや早期性・簡便性を向上し、日々の健康状態を把握し、疾病状況に応じた適切な医薬品投与や治療を可能とする技術・機器、また、将来の疾患リスクを予測可能とし、日々の健康状態の把握により疾患を未然に防ぐ技術・機器。具体的には、遺伝子情報と疾患との関連解明のための研究開発で得られた情報を有効に活用したバイオマーカーの同定、薬剤投与前に医療現場において安価かつ迅速に個人毎の疾患状態を詳細に診断するためのツールの開発、薬物動態の個人差を考慮した薬効・毒性把握等が挙げられる。

④ 「日本の強みが活かせる技術分野の更なる強化」

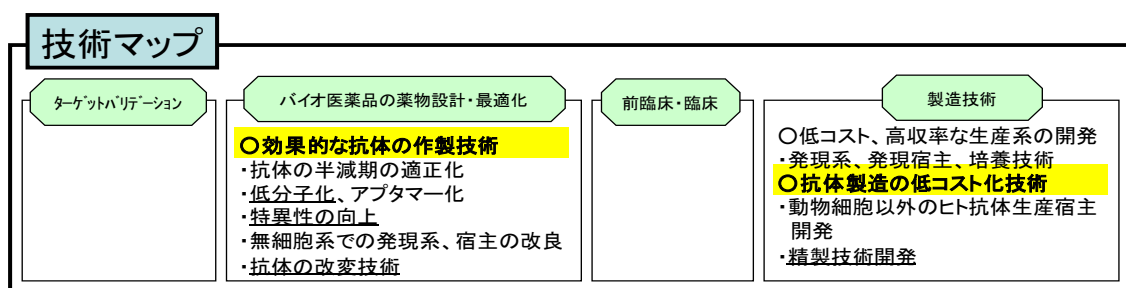
日本における研究が進んでいる分野や他分野での技術力を踏まえた分野等、現在及び将来の技術競争力を保持する上で重要であると考えられる技術・機器。具体的には、糖鎖、完全長cDNA、iPS細胞作製技術、発酵技術、中間体生産技術、微細加工技術等が挙げられる。

⑤ 「波及効果の高い技術」

他分野への波及も含め、波及効果の高い技術・機器。具体的には、新たな研究領域として開拓されつつあり、画期的な医薬品開発への寄与が期待される機能性RNA等が挙げられる。

(3) 改訂のポイント

技術マップ中の重要技術として幹細胞操作技術、疾患モデル細胞の利用技術、安全性評価技術を中心にヒトiPS細胞の活用について追記した。



(経済産業省技術マップ2008より抜粋)

Ⅲ. 技術ロードマップ

(1) 技術ロードマップ

技術マップで抽出された重要技術を中心として作成したロードマップにおいては、個別技術の進展を示すⅢ. 「技術進捗」、技術の進展により得られる直接的な効果を上記の重要技術の分類のうち①～③毎に示したⅡ. 「具体的効果」、及び、この「具体的効果」がもたらす医療現場における変化をⅠ. 「医療現場における進展」として三段階に分けて整理

した。例えば、具体的効果の部分では、①2010年にはがんの抗体医薬のターゲットがほぼ探索され、2025年には自己免疫疾患や生活習慣病及び精神・神経疾患等の発症メカニズムがほぼ解明されているなど、種々の疾患に対する分子レベルでの解明が進むとともに、これを活用した医薬品の開発が進展することが予想される。②また、医薬品の臨床時のドロップアウトを低減する、ヒト臨床症状を反映した疾患モデルの作製技術の確立等により、医薬品の成功確率が現在の5%程度から2025年には50%程度まで向上するなど医薬品の開発効率の向上が予想される。③更に、早期診断・確定診断に有効な疾患マーカー、罹患リスク診断マーカー及び健康モニターマーカーが順次開発され、予防のための環境が整備されるとともに、1つの診断ツールで複数の薬剤の薬効を評価できるなど2015～2025年には個々人の特性を踏まえた治療方法を提供するための技術の確立が見込まれる。これらの技術的効果により、現在の治療を中心とした医療から、予防を重視した医療へと変遷し、また、病気になった場合であっても、現在、治療困難な疾患も含め、患者の体質・遺伝情報や病態に応じた個別療法の提供が可能になるなど、個別化医療が進展していると考えられる。

(2) 改訂のポイント

技術ロードマップ中の疾患モデル動物・細胞系にヒトiPS細胞に係る技術を追記した。

IV. その他の改訂のポイント

○ベンチマーキングの策定

研究開発規模、市場規模、ベンチャー企業の動向、特許出願技術動向について、海外との比較を行った。【創薬・診断分野の国際競争ポジション】

創薬・診断分野の導入シナリオ

現状 2010年 2015年 2025年

将来像

健康維持増進
 ~「疾患を予防する」ことが幅広く行われ、病気になる人が減ると共に、健康産業が拡大される~

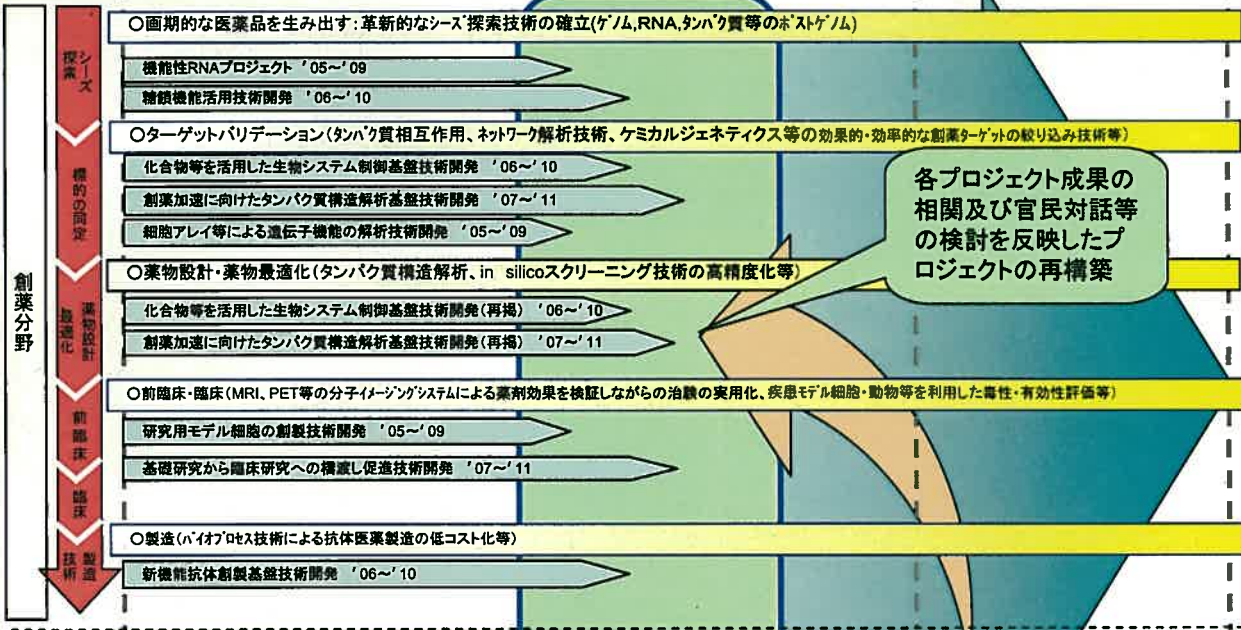
疾患の早期診断
 ~疾患の早期診断により、早期段階での治療を行い、より早く回復すると共に医療費増大が抑制可能となる~

適切な治療法の提供
 ~治療がより低侵襲になり回復が早くなるとともに、患者の病状や個人差に基づき適切な治療法が選択できるようになり、治療効果の向上、QOLの向上が図られる~

疾患別目標	がん患者5年生存率	60%(20%向上*)
	<生活習慣病関連> ・糖尿病 ・脳卒中 ・心疾患	・発生率の20%改善*1 ・死亡率の25%改善*1 ・死亡率の25%改善*1
産業構造	創薬ベンチャーの増加 異業種参入の進展	創薬開発プロセスの分業化の進展
		健康管理と医療の連携による健康サービス産業の創出
		健康産業の拡大

*1: 創薬フロントティア戦略(2005年~2014年)による。

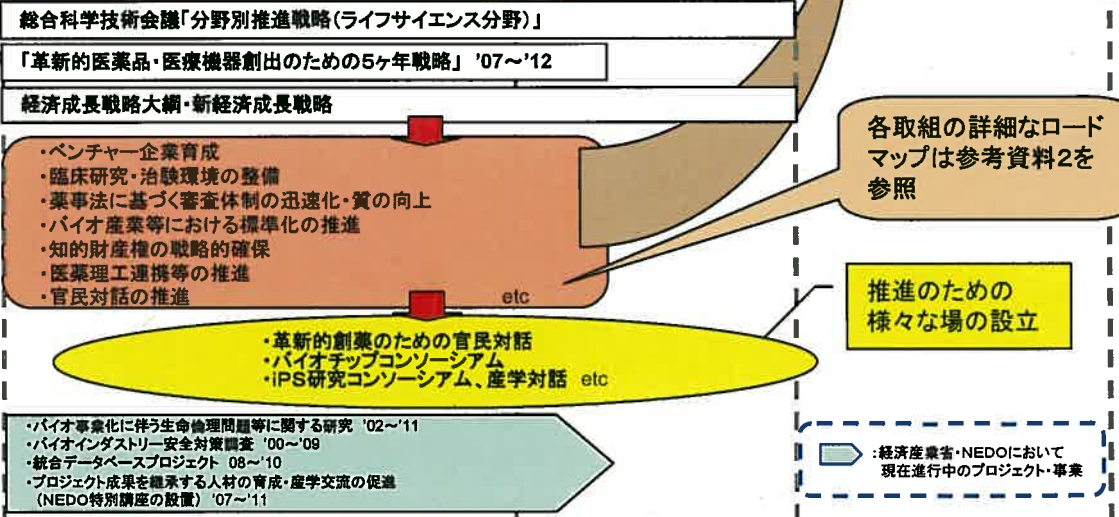
研究開発



診断分野

- 個の医療の実現に向けた技術の開発 (個人の遺伝情報による罹患リスク診断、個人の体質や疾病に応じた最適な薬や投与方法選択のための診断、疾患の予後予測等の技術開発)
- 糖鎖機能活用技術開発(再掲) '06~'10
- 染色体解析技術開発 '06~'10
- バイオ診断ツール実用化開発 '06~'08

環境整備

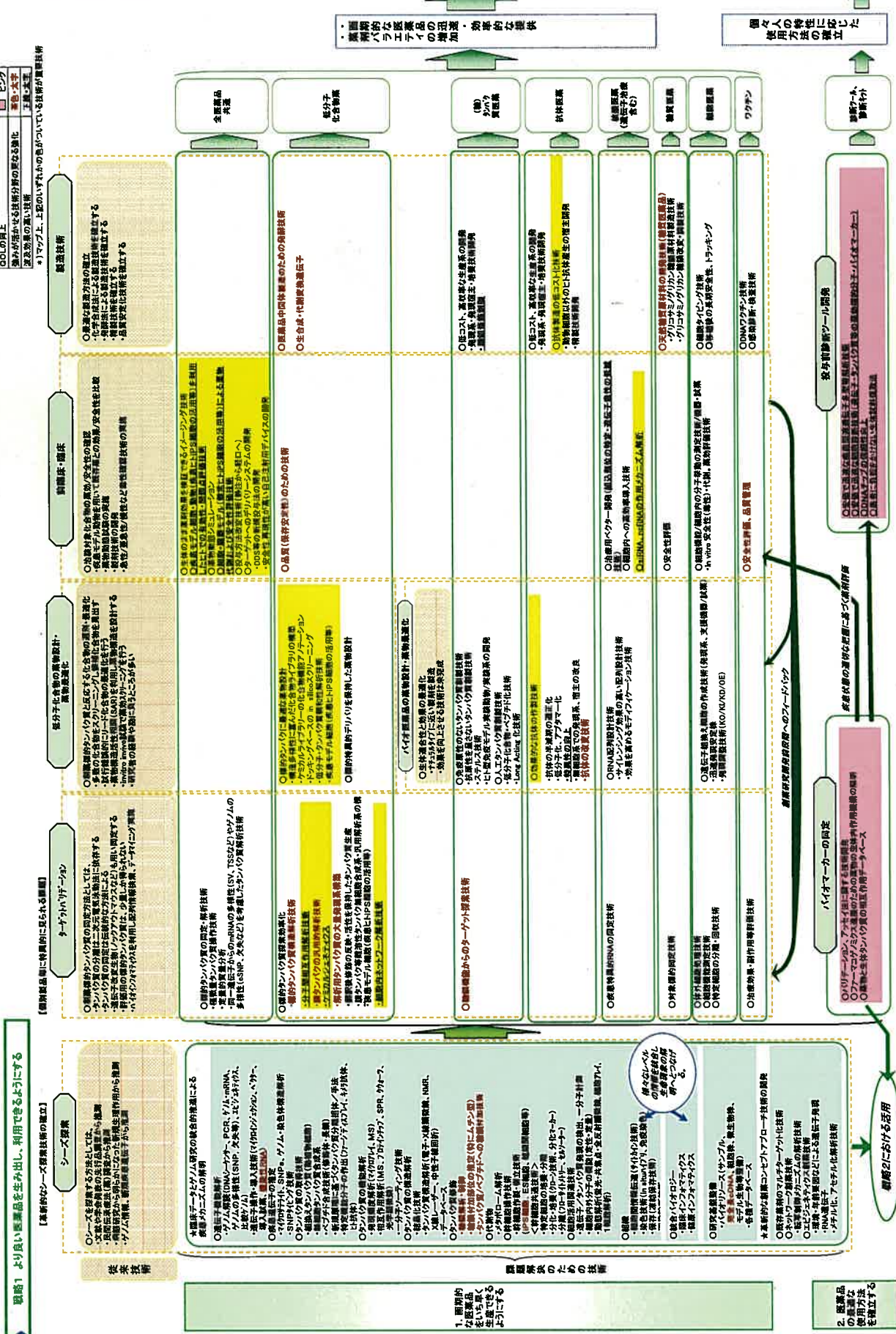


創薬・診断分野の技術マップと重要技術(1/2)

個の医療、健康安心社会の実現(個人に合わせた優れた治療法の提供・予防)・重要競争力の確保

重要技術の抽出項目	凡例
創薬・診断分野の技術	<input type="checkbox"/> 水色
創薬・診断分野の技術	<input type="checkbox"/> 黄色
創薬・診断分野の技術	<input type="checkbox"/> 緑色
創薬・診断分野の技術	<input type="checkbox"/> 赤色
創薬・診断分野の技術	<input type="checkbox"/> 紫色
創薬・診断分野の技術	<input type="checkbox"/> 黒色

*)マップ上、上記のいずれかの色がついている技術が重要技術



事前評価書

作成日 平成17年10月5日

1. 事業名称 (コード番号)	新機能抗体創製技術開発プロジェクト
2. 推進部署名	バイオテクノロジー・医療技術開発部
3. 事業概要	<p>(1)概要：抗体は生体内に存在する分子の一つで、近年、研究や創薬、診断等の産業利用上、極めて重要であることが明らかになりつつある。本施策では、産業上重要だが作製が困難な膜タンパク質やその複合体等に対して系統的に特異性の高い抗体を作成するための技術開発を行うとともに、抗体の製造コストを低減する抗体の効率的な分離・精製技術等の基盤技術の開発を行い、バイオ産業の競争力強化に貢献する。</p> <p>(2)事業規模：平成18年度事業費 15.6億円</p> <p>(3)事業期間：平成18年度～22年度（5年間）</p>
4. 評価の検討状況	
<p>(1)事業の位置付け・必要性</p> <p>①事業の位置付け</p> <p>本プロジェクトは、健康・安心プログラムの一環として実施されるものである。プログラムの目標である「国民が健康で安心して暮らせる社会の実現」に向け、達成すべき重要な課題の1つとして、個別化医療による効果的・効率的な医療の実現が掲げられている。個別化医療、すなわち、個々人の体質に合わせた、きめ細かで個々人にとって最適な個別的な医療を行う為には、個々人の疾患に対応する医薬を開発することが必須である。抗体医薬は特異性が高く、個別化医療に不可欠のものであるが、抗体の開発・製造において、種々の大きな技術課題がある。このような課題を解決し、系統的に抗体を作成できる基盤技術の構築は、民間単独では困難であり、国の負担をもって行うことが適切である。</p> <p>なお、技術戦略マップ(平成17年3月経済産業省策定)においては、個別化医療の実現に向けた技術のうち、波及効果が高く、医薬品の効率化に資する技術として、位置づけられている。</p>	

②事業の必要性

今後世界に類を見ない少子高齢社会を迎える我が国において、バイオテクノロジーに係る研究開発・産業化の加速や高度な医療福祉機器等の開発・実用化の促進を通じ、国民が健康で安心して暮らせる社会を実現することが必要とされる。特に、個別化医療・予防医療等高度医療の実現に向け、バイオテクノロジーを活用した画期的な創薬(治療薬・診断薬)創出が重要である。

抗体は生体内に存在する分子の一つで、近年、創薬及び診断等の産業利用上、極めて重要であることが明らかになりつつある。このように、抗体研究をめぐる世界的競争が激しい一方で、とりわけ有用と考えられる膜タンパク質及びその複合体に対する抗体の作成は困難であることや、製造コストが高いことが大きな技術課題となっている。(注:抗体とは、生体内の特定の分子に結合し、生理活性機能を発現するタンパク質)

こうした課題に対応し、膜タンパク質やその複合体等を効果的に発現させる技術や、様々な膜タンパク質複合体等を抗原として特異性の高い抗体を作製する技術が求められている。また、抗体の製造コストの低減を計るべく、抗体の分離・精製技術について高純度精製、高機能化、低コスト化を図るための技術革新が必要である。これにより抗体を活用した研究や創薬、診断を加速し、ポストゲノム研究の産業化を促進することが必要とされている。

こうした課題を解決し、系統的に抗体を作成できる基盤技術の構築は、民間単独では困難。EUでは既に抗体の製造技術の開発等を国が推進、我が国でも主体的な関与が必要。

(2)研究開発目標の妥当性

<目標>

ポストゲノム研究や診断、創薬等において重要な機能を有する抗体を創製するため、以下の技術の開発を行う。

①創薬標的として産業利用上重要だが、解析が困難な膜タンパクやタンパク質複合体等を特異的に認識できる抗体を系統的に作製するための技術

②抗体の製造コスト低減に向けた抗体の分離・精製等を高効率に行う技術

◎数値目標は、次のとおり：

- ・上記の新機能抗体創製基盤を構築することが目標であるが、その過程で診断薬となりうるリード抗体を30程度、治療薬となりうるリード抗体を10程度見出す。

<妥当性>

目標設定は、特異性抗体を創製する基盤技術を確立する段階である本プロジェクトとしては十分と考えられるが、NEDO POST2 やワークショップ等を通じて意見を聴取し、妥当性について更なる検討を行う。

(3)研究開発マネジメント

公募を行い最適な研究開発体制を構築する。プロジェクトリーダーを選定し、プロジェクトリーダーと協議して研究管理を行う。また、研究開発委員会を年2～3回開催し、研究テーマ間の連携の強化、進捗状況を踏まえた予算配分・事業計画の策定を行う。プロジェクト開始後3年目に中間評価を行い、その評価結果を踏まえ事業全体を見直す。

(4)研究開発成果

創薬上重要と考えられる膜タンパク質やその複合体等、500 個程度のタンパク質を対象に特異性の高い抗体を系統的に作製するための複合体発現技術、抗原提示増強や免疫寛容回避等の基盤技術の開発及び抗体の分離・精製を効率化するための技術を開発する。

(5)実用化・事業化の見通し

本プロジェクトは、産業上の有用性が期待される抗体の作成に共通する技術課題を解決することで、個別化医療の実現及び画期的な新薬開発及びポストゲノム研究の産業化に寄与する技術開発であり、高い波及効果が見込まれる。さらに、本プロジェクトにおいては、参画する企業等の自己負担により、当該技術の実用化のために必要な実用化研究を同時並行的に行い、適切な受益者負担による早期の市場投入を進める。

当プロジェクトの成果により、創薬や診断において有用な抗体の創製が加速されるので、製薬産業を中心に、研究開発スピード向上や製造コストの大幅な低減に資することが可能となる。さらに、製造コストの削減、高品質な抗体生産による医薬品の上市確立の向上が見込まれる。また、抗体を活用したポストゲノム研究の加速といった、幅広い効果が期待できるため、国としての付加価値が上がることから、対日投資や海外企業進出を促進させ、国内産業の活性化にもつながることが想定される。

(6)その他特記事項

5. 総合評価

本プロジェクトは、産業上の有用性が期待される抗体の作成に共通する技術課題を解決することで、個別化医療の実現及び画期的な新薬開発及びポストゲノム研究の産業化に寄与する技術開発であり、高い波及効果が見込まれる。当プロジェクトの成果により、創薬や診断において有用な抗体の創製が加速されるとともに、抗体を活用したポストゲノム研究の加速といった、幅広い効果が期待できるため、本プロジェクトの有効性は高いと考えられる。

「新機能抗体創製技術開発基本計画（案）」に対するパブリックコメント募集の結果について

平成18年2月27日
NEDO技術開発機構
バイオテクノロジー・医療技術開発部

NEDO POST 3において標記基本計画（案）に対するパブリックコメントの募集を行いました結果をご報告いたします。
お寄せいただきましたご意見を検討し、別添の基本計画に反映させていただきました。
みなさまからのご協力を頂き、ありがとうございます。

1. パブリックコメント募集期間

平成17年12月27日～平成18年1月11日

2. パブリックコメント投稿数<有効のもの>

計2件

3. パブリックコメントの内容とそれに対する考え方

ご意見の概要	ご意見に対する考え方	基本計画への反映
<p>全体について</p> <p>[意見 1] 新規機能抗体の開発と、ヒト抗体の医薬品としての大量生産の両者の実現化を目指す、非常にバランスの良いプロジェクトだと思えます。21世紀に登場した抗体医薬品は「がん治療分野」に今のところ限られておりますが、造血幹細胞移植などの組織幹細胞移植分野(再生医療分野)にも大変重要な役割を果たすと思えます。既存分野に限らない、様々な難治性疾患分野を対象とした創薬シーズをたくさん開発していただき、国民の健康安心につながる成果を挙げていただければと思います。</p> <p>[意見 2] ・抗原の作製、抗体の創製、抗体量産化という工程に分けてプロジェクトが構成されていることはロジカルであると考えます。プロジェクトの目的には、創薬や診断に向けて新機能抗体を創製すると記載されていますが、創薬と診断では技術開発に求められる特性が違っていると感じます。たとえば、量産化する抗体の量、求められる純度や混入物質の種類・量など。ワークショップでの各講師の資料からは、抗体医薬を意識した方向性が強く出ていると感じます。主眼をどこにおいて開発するか具体化する必要があるように思います。</p>	<p>[考え方と対応] ご意見のとおり、新機能抗体創製技術開発により、産業を活性化し、国民の健康安心につなげていきたいと思います。</p> <p>・創薬と診断では、抗体に求められる特性が異なる面があると考えられますが、それらは実際に産業化を行う際に、考慮すればよいことかと考えられます。</p>	<p>[反映の有無と反映内容] 特になし。</p> <p>特になし。</p>

1. 研究開発の目的	
(3) 研究開発の内容	
<p>[意見 3]</p> <ul style="list-style-type: none"> ・免疫寛容性に対する打開策は、やはり生物がゲノム上に持っているライブラリに頼らない、コンビケム的なアプローチが欠かせないと考えます。もちろんリスクがありますので、コンビケム一本に絞るのではなく、コンテインジェンシー(代替)プランとして、欧米にない独自技術に目を配っておくことが不可欠と考えます。 <p>[意見 4]</p> <ul style="list-style-type: none"> ・アフィニティ精製法に関して、タンパク質分子リガンドの開発が項目として上がっていますが、タンパク質相互作用を弱めて溶出する際、タンパク質の構造が不安定化する条件にさらすため、抗体が不溶化するなどの現象が生じやすいと考えられます。アフィニティ用のリガンドとして、アプタマーのようなペプチド性でないものを想定することも必要ではないでしょうか？ その意味で、「タンパク質分子リガンド」からタンパク質という限定を外して適用可能な技術を探すことが必要ではないかと思えます。 	<ul style="list-style-type: none"> ・当該基本計画では、コンビケムに限定しておりませんので、広く独自技術のご提案をお願いします。 <p>特になし。</p>
<ul style="list-style-type: none"> ・研究開発の具体的内容として、“タンパク質分子リガンド技術開発”が挙がっておりますが、これはタンパク質分子リガンドに限定するものではなく、タンパク質分子リガンドと同等以上の特性を有する物であれば、研究開発の対象となり得ます。 <p>特になし。</p>	<p>特になし。</p>

特許論文リスト

特許、論文、外部発表等の件数（内訳）

区分 年度	国内	外国	PCT*出願	査読付き	学会発表	その他外部発表 （プレス発表等）
H18FY	3件	0件	0件	47件	22件	0件
H19FY	4件	0件	0件	52件	57件	2件
H20FY	0件	0件	0件	42件	45件	7件
H21FY	4件	0件	0件	49件	25件	6件
H22FY	5件	0件	1件	23件	15件	5件

[知的所有権] 研究開発項目①「系統的な高特異性抗体創製技術」

番号	出願者	出願番号	国内 外国 PCT	出願日	状態	名称	発明者
001	東京大学、ペルセウス	特願 2006-291091 (特願 2006-114134 に 基づく優先権主張)	日本特許	2006/10/26	出願 済	膵臓癌の診断薬お よび治療薬	油谷浩幸、岩成 宏子、河野功、 勝美恵子、森由 紀子
002	東京大学、ペルセウス	特願 2006-347544	日本特許	2006/12/25	出願 済	膵臓癌の診断薬お よび治療薬	油谷浩幸、岩成 宏子、河野功
003	国立大学法人広 島大学、ヒュー マンサイエンス 振興財団	特願 2007-256649	日本特許	2006	出願 済	新規抗体及びその 利用方法	松田治男、沢村 達也、西道教尚
004	東京大学、ペルセウス	特願 2007-48964	日本特許	2007/2/28	出願 済	腎癌の診断薬およ び治療薬	油谷浩幸、深山 正久、森川鉄 平、河野功、杉 山暁
005	東京大学、ペルセウス	特願 2007-068053	日本特許	2007/3/16	出願 済	癌の診断薬及び治 療薬	油谷浩幸、浜窪 隆雄、河野功
006	東京大学	特願 2007-140356	日本特許	2007/5	出願 済	抗 ROBO1 抗体を含 む PET 用腫瘍診断 剤	岩成宏子、河野 功、浜窪隆雄、 熊倉嘉貴、伊藤 浩孝、先浜俊 子、油谷浩幸、 百瀬敏光
007	国立大学法人 岡山大学	特願 2007-23174	日本特許	2007	出願 済	B細胞の抗体遺伝 子変異様式の転換 方法	大森齊、金山直 樹
008	東京大学 新潟大学 PPMX	2009-1209233	国内	2009/4/28	出願 済	免疫寛容機構の解 除を用いる抗体の 製造方法及び自己 免疫疾患モデル動 物の製造方法	浜窪隆雄、先浜 敏子、岩成宏 子、坂口志文、 内藤 真、須藤 幸夫、中田淑子
009	財団法人 癌研究会	特願 2009-046810	日本特許	2009/2/27	出願 中	食道がんに対する 放射線化学療法感 受性マーカー	野田哲生 陳勁松 高橋一臣
010	㈱広島バイオメ ディカル	特願 2009-145696	日本特許	2009	出願 済		松田治男、澤村 達也
011	広島大学	特願 2009-242891	日本特許	2009	出願 済	抗インテグリン ・8・1抗体	松田治男、西道 教尚、立石能 子、横崎恭之
		特願 2010-85473 PCT/099135771	PCT				

012	広島大学	特願 2010-065194	日本特許	2010	出願済	オステオポンチン特異的モノクローナル抗体	松田治男、西道教尚、横崎恭之
013	国立大学法人東京大学、国立大学法人新潟大学、株式会社ペルセウスプロテオミクス(PPMX)	2009-109230	国内	2010/4/28	出願済	転移基で修飾された基質の製造方法	浜窪隆雄、児玉龍彦、畑中研一、高橋一彰、須藤幸夫、川村猛、中田淑子
014	国立大学法人岡山大学	特願 2010-258404	日本特許	2010	出願済	ヒト型抗体を産生するB細胞の作製方法	大森齊、金山直樹
015	東京大学、田辺三菱製薬株式会社	特願 2010-268763	日本特許	2010/12/1	出願済	無細胞翻訳系でFabを提示しうるポリヌクレオチド構築物ならびにそれを用いたFabの製造方法およびスクリーニング方法	藤野泰寛、藤田梨紗子、和田浩一、藤重古都美、上田卓也、清水義宏、金森崇
016	東京理科大	特願 61425773	日本特許	2010/12/22	米国仮出願	Modified protein therapeutics	増保安彦、金子要、長島弘明、山野井彩香

【論文・文献発表】 研究開発項目①「系統的な高特異性抗体創製技術」

番号	発表者	所属	タイトル	発表誌名、ページ番号	査読	発表年
001	Tachibana K, Anzai N, Ueda C, Katayama T, Kirino T, Takahashi R, Yamasaki D, Ishimoto K, Tanaka T, Hamakubo T, Ueda Y, Arai H, Sakai J, Kodama T, Doi T.	東京大学・先端科学技術研究センター	Analysis of PPAR alpha function in human kidney cell line using siRNA.	<i>Nucleic Acids Symp Ser (Oxf)</i> . (50):257-8	有	2006
002	Horiuchi K, Umetani M, Minami T, Okayama H, Takada S, Yamamoto M, Aburatani H, Reid PC, Housman DE, Hamakubo T, Kodama T.	東京大学・先端科学技術研究センター	Wilms' tumor 1-associating protein regulates G2/M transition through stabilization of cyclin A2 mRNA.	<i>Proc Natl Acad Sci U S A</i> . 103(46):17278-83.	有	2006
003	Inoue K, Kobayashi M, Yano K, Miura M, Izumi A, Mataka C, Doi T, Hamakubo T, Reid PC, Hume DA, Yoshida M, Aird WC, Kodama T, Minami T.	東京大学・先端科学技術研究センター	Histone deacetylase inhibitor reduces monocyte adhesion to endothelium through the suppression of vascular cell adhesion molecule-1 expression.	<i>Arterioscler Thromb Vasc Biol</i> . 103(46):17278-83	有	2006
004	Ishimoto K, Tachibana K, Sumitomo M, Omote S, Hanano I, Yamasaki D, Watanabe Y, Tanaka T, Hamakubo T, Sakai J, Kodama T, Doi T.	東京大学・先端科学技術研究センター	Identification of human low-density lipoprotein receptor as a novel target gene regulated by liver X receptor alpha.	<i>FEBS Lett</i> . Sep 4;580(20):4929-33.	有	2006

005	Ito H, Funahashi S, Yamauchi N, Shibahara J, Midorikawa Y, Kawai S, Kinoshita Y, Watanabe A, Hippo Y, Ohtomo T, Iwanari H, Nakajima A, Makuuchi M, Fukayama M, Hirata Y, Hamakubo T, Kodama T, Tsuchiya M, Aburatani H.	東京大学・先端科学技術研究センター	Identification of ROBO1 as a novel hepatocellular carcinoma antigen and a potential therapeutic and diagnostic target.	<i>Clin Cancer Res.</i> Jun 1;12(11 Pt 1):3257-64.	有	2006
006	Ogura T, Mio K, Hayashi I, Miyashita H, Fukuda R, Kopan R, Kodama T, Hamakubo T, Iwatsubo T, Tomita T, Sato C.	東京大学・先端科学技術研究センター	Three-dimensional structure of the gamma-secretase complex.	<i>Biochem Biophys Res Commun.</i> May 5;343(2):525-34	有	2006
007	Daigo K, Sugita S, Mochizuki Y, Iwanari H, Hiraishi K, Miyano K, Kodama T, Hamakubo T.	東京大学・先端科学技術研究センター	A simple hybridoma screening method for high-affinity monoclonal antibodies using the signal ratio obtained from time-resolved fluorescence assay.	<i>Anal Biochem.</i> Apr 15;351(2):219-28.	有	2006
008	Saitoh R, Ohtomo T, Ito Y, Nezu J, Kimura N, Funahashi S, Aso Y, Ohizumi I, Kodama T, Hamakubo T, Tsuchiya M.	東京大学・先端科学技術研究センター	Recovery of functional peptide transporter PepT1 in budded baculovirus fraction.	<i>Protein Expr Purif.</i> Mar;46(1):130-5.	有	2006
009	Shinozaki-Narikawa N., Kodama T., Shibasaki Y.	東京大学・先端科学技術研究センター	Cooperation of phosphoinositides and BAR domain proteins in endosomal tubulation.	<i>Traffic 7,</i> 1539-1550.	有	2006
010	Tanaka, T., Jiang, S., Hotta, H., Takano, K., Iwanari, H., Sumi, K., Daigo, K., Ohashi, R., Sugai, M., Ikegame, C., Umezu, H., Hirayama, Y., Midorikawa, Y., Hippo, Y., Watanabe, A., Uchiyama, Y., Hasegawa, G., Reid, P., Aburatani, H., Hamakubo, T., Sakai, J., Naito, M. and Kodama, T.	東京大学・先端科学技術研究センター	Dysregulated expression of P1 and P2 promoter-driven hepatocyte nuclear factor-4alpha in the pathogenesis of human cancer.	<i>J Pathol</i> 2006; 198, 662-672.	有	2006
011	Takayasu, S., Sakurai, T., Iwasaki, S., Teranishi, H., Yamanaka, A., Williams, S. C., Iguchi, H., Kawasaki, Y. I., Ikeda, Y., Sakakibara, I., Ohno, K., Ioka, R. X., Murakami, S., Dohmae, N., Xie, J., Suda, T., Motoike, T., Ohuchi, T., Yanagisawa, M., and Sakai, J.	東京大学・先端科学技術研究センター	A neuropeptide ligand of the G protein-coupled receptor GPR103 regulates feeding, behavioral arousal, and blood pressure in mice.	<i>Proc Natl Acad Sci USA</i> 103, 7438-7443.	有	2006

012	Takahashi S, Tanaka T, Kodama T, Sakai J	東京大学・先端科学技術研究センター	Peroxisome proliferator-activated receptor delta (PPARdelta), a novel target site for drug discovery in metabolic syndrome.	<i>Pharmacol Res</i> , 53, 501-507.	有	2006
013	Suh-J.-M., Yu C.-T., Tang K., Tanaka T., Kodama T., Tsai M.-J., Tsai S.-Y.	東京大学・先端科学技術研究センター	The expression profiles of nuclear receptors in the developing and adult kidney.	<i>Mol. Endocrinol.</i> , 20, 3412-3420.	有	2006
014	Suh-J.-M., Yu C.-T., Tang K., Tanaka T., Kodama T., Tsai M.-J., Tsai S.-Y.	東京大学・先端科学技術研究センター	The expression profiles of nuclear receptors in the developing and adult kidney.	<i>Mol. Endocrinol.</i> , 20, 3412-3420.	有	2006
015	Guo Y, Chen Y, Ito H, Watanabe A, Ge X, Kodama T, Aburatani H.	東京大学・先端科学技術研究センター	Identification and characterization of lin-28 homolog B (LIN28B) in human hepatocellular carcinoma.	<i>Gene</i> . 384:51-61	有	2006
016	Midorikawa Y, Yamamoto S, Ishikawa S, Kamimura N, Igarashi H, Sugimura H, Makuuchi M, Aburatani H.	東京大学・先端科学技術研究センター	Molecular karyotyping of human hepatocellular carcinoma using single-nucleotide polymorphism arrays.	<i>Oncogene</i> 25 (40):5581-90	有	2006
017	Kinoshita Y, Watanabe A, Hippo Y, Ohtomo T, Iwanari H, Nakajima A, Makuuchi M, Fukayama M, Hirata Y, Hamakubo T, Kodama T, Tsuchiya M, Aburatani H.	東京大学・先端科学技術研究センター	Identification of ROBO1 as a Novel Hepatocellular Carcinoma Antigen and a Potential Therapeutic and Diagnostic Target.	<i>Clin Cancer Res</i> . 12 (11):3257-64.	有	2006
018	Hiratsuka S, Watanabe A, Aburatani H, Maru Y.	東京大学・先端科学技術研究センター	Tumour-mediated upregulation of chemoattractants and recruitment of myeloid cells predetermines lung metastasis.	<i>Nat Cell Biol</i> . 8 (12):1369-75	有	2006
019	<u>Tachibana K, Anzai N, Ueda C, Katayama T, Kirino T, Takahashi R, Yamasaki D, Ishimoto K, Tanaka T, Hamakubo T, Ueda Y, Arai H, Sakai J, Kodama T, Doi T.</u>	東京大学・先端科学技術研究センター	Analysis of PPAR alpha function in human kidney cell line using siRNA.	<i>Nucleic Acids Symp Ser (Oxf)</i> . : (50):257-8.	有	2006
020	<u>Horiuchi K, Umetani M, Minami T, Okayama H, Takada S, Yamamoto M, Aburatani H, Reid PC, Housman DE, Hamakubo T, Kodama T.</u>	東京大学・先端科学技術研究センター	Wilms' tumor 1-associating protein regulates G2/M transition through stabilization of cyclin A2 mRNA.	<i>Proc Natl Acad Sci U S A</i> . Nov 14;103 (46):17278-83.	有	2006
021	<u>Ogura T, Mio K, Hayashi I, Miyashita H, Fukuda R, Kopan R, Kodama T, Hamakubo T, Iwatsubo T, Tomita T, Sato C.</u>	東京大学・先端科学技術研究センター	Three-dimensional structure of the gamma-secretase complex.	<i>Biochem Biophys Res Commun</i> . May 5;343 (2):525-34.	有	2006

022	<u>Tanaka T, Jiang S, Hotta H, Takano K, Iwanari H, Sumi K, Daigo K, Ohashi R, Sugai M, Ikegame C, Umezu H, Hirayama Y, Midorikawa Y, Hippo Y, Watanabe A, Uchiyama Y, Hasegawa G, Reid P, Aburatani H, Hamakubo T, Sakai J, Naito M, Kodama T.</u>	東京大学・先端科学技術研究センター	Dysregulated expression of P1 and P2 promoter-driven hepatocyte nuclear factor-4alpha in the pathogenesis of human cancer.	<i>J Pathol.</i> Apr;208(5):662-72	有	2006
023	<u>Saitoh R, Ohtomo T, Ito Y, Nezu J, Kimura N, Funahashi S, Aso Y, Ohizumi I, Kodama T, Hamakubo T, Tsuchiya M.</u>	東京大学・先端科学技術研究センター	Recovery of functional peptide transporter PepT1 in budded baculovirus fraction.	<i>Protein Expr Purif.</i> Mar;46(1):130-5	有	2006
024	<u>Asakawa, H., Sasabe, M., Miyazaki, Ryuunosuke, Matsuda, H., Fukai, F., Hanada, K., Hirano, H. and Takasaki, S.</u>	広島大学・大学院生物圏	The analysis of N-glycolylneuraminic acid (NeuGc) of hepatoma tissue and K562 cell ferritins using HPLC and mass spectrometry..	<i>Proc. Jpn. Acad. Ser. B.</i> 82:181-187,	有	2006
025	<u>Ma, F.X., Zhou, B., Chen, Z., Ren, Q., Lu, S.H., Sawamura, T. and Han, Z.C</u>	国立循環器病センター	Oxidized low density lipoprotein impairs endothelial progenitor cells by regulation of endothelial nitric oxide synthase.	<i>J. Lipid Res.</i> 47:1227-1237	有	2006
026	<u>Tanigawa, H., Miura, S., Matsuo, Y., Fujino, M., Sawamura, T. and Saku, K.</u>	国立循環器病センター	Dominant-negative LOX-1 blocks homodimerization of wild-type LOX-1-induced cell proliferation through extracellular signal regulated kinase 1/2 activation.	<i>Hypertension</i> 48:294-300	有	2006
027	<u>Akagi, M., Nishimura, S., Yoshida, K., Kakinuma, T., Sawamura, T., Munakata, H. and Hamanishi, C.</u>	国立循環器病センター	Cyclic tensile stretch load and oxidized low density lipoprotein synergistically induce lectin-like oxidized LDL receptor-1 in cultured bovine chondrocytes, resulting in decreased cell viability and proteoglycan synthesis.	<i>J. Orthop. Res.</i> 24:1782-1790	有	2006
028	<u>Kanata, S., Akagi, M., Nishimura, S., Hayakawa, S., Yoshida, K., Sawamura, T., Munakata, H. and Hamanishi, C.</u>	国立循環器病センター	Oxidized LDL binding to LOX-1 upregulates VEGF expression in cultured bovine chondrocytes through activation of PPAR-gamma.	<i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i> 348:1003-1010	有	2006
029	<u>Tanigawa, H., Miura, S., Zhang, B., Uehara, Y., Matsuo, Y., Fujino, M., Sawamura, T. and Saku, K.</u>	国立循環器病センター	Low-density lipoprotein oxidized to various degrees activates ERK1/2 through LOX-1.	<i>Atherosclerosis</i> 188:245-250	有	2006
030	<u>Oka, K., Yasuhara, M., Suzumura, K., Tanaka, K. and Sawamura, T.</u>	国立循環器病センター	Antioxidants Suppress Plasma Levels of Lectinlike Oxidized Low-Density Lipoprotein Receptor-Ligands and Reduce	<i>J. Cardiovas. c Pharmacol.</i> 48:177-183	有	2006

			Atherosclerosis in Watanabe Heritable Hyperlipidemic Rabbits.			
031	Kanayama, N., Todo, K., Takahashi, S., Magari, M., Ohmori, H.	岡山大学	Genetic manipulation of an exogenous non-immunoglobulin protein by gene conversion machinery in a chicken B cell line.	<i>Nucleic Acids Res.</i> 34 e10.	有	2006
032	Yamaguchi T, Sakaguchi S.	京都大学再生医科学研究所	Skin controls immune regulators.	<i>Nat Med.</i> 12:1358-1359	有	2006
033	Katakai T, Nomura T, Gonda H, Sugai M, Agata Y, Nishio A, Masuda T, Sakaguchi S, Shimizu A.	京都大学再生医科学研究所	Spontaneous Large-Scale Lymphoid Neogenesis and Balanced Autoimmunity versus Tolerance in the Stomach of H+/K+-ATPase-Reactive TCR Transgenic Mouse.	<i>J Immunol.</i> 177:7858-67,	有	2006
034	Wing, K. and Sakaguchi, S.	京都大学再生医科学研究所	Regulatory T cells in allergy.	<i>Curr. Opin. Allergy and Immunol.</i> 6:482-8,	有	2006
035	Sakaguchi, S.	京都大学再生医科学研究所	Introduction: Regulatory T cells.	<i>Curr. Opin. Allergy and Immunol.</i> 6:482-8,	有	2006
036	Sakaguchi, S.	京都大学再生医科学研究所	Introduction: Regulatory T cells.	<i>Springer Semin. Immunopathol.</i> 28:1-2,	有	2006
037	Fehervari, Z. and Sakaguchi, S.	京都大学再生医科学研究所	Peacekeepers of the immune system.	<i>Sci Am.</i> 295:56-63,	有	2006
038	Wing, K., Fehervari, Z., and Sakaguchi, S.	京都大学再生医科学研究所	Emerging possibilities in the development and function of regulatory T cells.	<i>Int. Immunol.</i> 18:991-1000	有	2006
039	Sugimoto, N., Oida, T., Hirota, K., Nakamura, K., Nomura, T., Uchiyama, T., and Sakaguchi, S.	京都大学再生医科学研究所	Foxp3-dependent and -independent molecules specific for CD25 ⁺ CD4 ⁺ natural regulatory T cells revealed by DNA microarray analysis.	<i>Int. Immunol.</i> 18:1197-1209	有	2006
040	Nishioka, T., Shimizu, J, Iida, R., Yamazaki, S., and Sakaguchi, S.	京都大学再生医科学研究所	CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺ T cells and CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺ T cells in aged mice.	<i>J. Immunol.</i> 176:6586-6593	有	2006
041	Sakaguchi, S.	京都大学再生医科学研究所	Regulatory T cells: meden agan.	<i>Immunol. Rev.</i> 212:5-7,	有	2006
042	Sakaguchi, S., Ono, M., Setoguchi, R., Hori, S., Fehervari, Z., Shimizu, J., Takahashi, T., and	京都大学再生医科学研究所	Foxp3 ⁺ CD25 ⁺ CD4 ⁺ natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease.	<i>Immunol. Rev.</i> 212:8-27	有	2006

	Nomura, T.					
043	Ono, M., Shimizu, J., Miyachi, Y., and Sakaguchi, S.	京都大学再生医科学研究 所	Induction of fatal autoimmune myocarditis and other autoimmune diseases in mice by depleting Foxp3-expressing naturally arising CD4 ⁺ regulatory T cells.	<i>J. Immunol.</i> 176:4748-4756	有	2006
044	Fehervari, Z., Yamaguchi, T., and Sakaguchi, S.	京都大学再生医科学研究 所	The dichotomous roles of IL-2: tolerance versus immunity.	<i>Trends Immunol.</i> 27:109-111,	有	2006
045	Yamaguchi, T. and Sakaguchi, S.	京都大学再生医科学研究 所	Regulatory T cells in immune surveillance and treatment of cancer.	<i>Semin. Cancer Biol.</i> 16:115-123,	有	2006
046	Sakaguchi, S., Setoguchi, R., Yagi, H., and Nomura, T.	京都大学再生医科学研究 所	Naturally arising Foxp3-expressing CD25 ⁺ CD4 ⁺ regulatory T cells in self-tolerance and autoimmune disease.	<i>Curr Top Microbiol Immunol</i> 305:51-66	有	2006
047	Fehervari, Z. and Sakaguchi, S.	京都大学再生医科学研究 所	T lymphocytes: Regulatory. Nature Encyclopedia of Life Sciences.	<i>Wiley Interscience Available at www.els.net.</i>	有	2006
048	Tachibana K, Katayama T, Ueda C, Sumitomo M, Tagami M, Ishimoto K, Yamasaki D, Tanaka T, Hamakubo T, Sakai J, Kodama T, Obika S, Imanishi T, Doi T.	東京大学・先端科学技 術研究セン ター	Antisense activity of 2',4'-BNA targeted to PPAR gamma in THP-1 and HCT116 cells.	<i>Nucleic Acids Symp Ser (Oxf).</i> (51):441-2.	有	2007
049	Baba M, Suzuki M, Ganeev RA, Kuroda H, Ozaki T, Hamakubo T, Masuda K, Hayashi M, Sakihama T, Kodama T, Kozasa T.	東京大学・先端科学技 術研究セン ター	Decay time shortening of fluorescence from donor-acceptor pair proteins using ultrafast time-resolved fluorescence resonance energy transfer spectroscopy.	<i>Journal of Luminescenc</i> 127, 355-361	有	2007
050	Wako K, Kawasaki T, Yamana K, Suzuki K, Jiang S, Umezu H, Nishiyama T, Takahashi K, Hamakubo T, Kodama T, Naito M.	東京大学・先端科学技 術研究セン ター	Expression of androgen receptor through androgen-converting enzymes is associated with biological aggressiveness in prostate cancer.	<i>J Clin Pathol.</i> 24 Apr:61(4):448 -54	有	2007
051	Reid PC, Urano Y, Kodama T, Hamakubo T.	東京大学・先端科学技 術研究セン ター	Alzheimer's Disease: cholesterol, membrane rafts, isoprenoids and statins.	<i>J Cell Mol Med.</i> May-Jun:11(3) :383-92.	有	2007
052	Yoshitake H, Takahashi M, Ishikawa H, Nojima M, Iwanari H, Watanabe A, Aburatani H, Yoshida K, Ishi K, Takamori K, Ogawa H, Hamakubo T, Kodama T,	東京大学・先端科学技 術研究セン ター	Aldo-keto reductase family 1, member B10 in uterine carcinomas: a potential risk factor of recurrence after surgical therapy in cervical cancer.	<i>Int J Gynecol Cancer.</i> Nov-Dec:17(6) :1300-6	有	2007

	Araki Y.					
053	Takahashi S, Tanaka T, Sakai	東京大学・先端科学技術研究センター	New Therapeutic Target for Metabolic Syndrome: PPARdelta.	<i>Endocr J</i> , 54, 347-357,	有	2007
054	Sumi K, Tanaka T, Uchida A, Magoori K, Urashima Y, Ohashi R, Ohguchi H, Okamura M, Kudo H, Daigo K, Maejima T, Kojima N, Sakakibara I, Jiang S, Hasegawa G, Kim I, Osborne TF, Naito M, Gonzalez FJ, Hamakubo T, Kodama T, Sakai J.	東京大学・先端科学技術研究センター	Cooperative interaction between Hepatocyte Nuclear Factor 4{alpha} and GATA transcription factors Regulates ATP-binding cassette sterol transporters ABCG5 and ABCG8.	<i>Mol Cell Biol.</i> Jun;27(12):4248-60	有	2007
055	Saitoh R, Ohtomo T, Yamada Y, Kamada N, Nezu J, Kimura N, Funahashi S, Furugaki K, Yoshino T, Kawase Y, Kato A, Ueda O, Jishage K, Suzuki M, Fukuda R, Arai M, Iwanari H, Takahashi K, Sakihama T, Ohizumi I, Kodama T, Tsuchiya M, Hamakubo T.	東京大学・先端科学技術研究センター	Viral envelope protein gp64 transgenic mouse facilitates the generation of monoclonal antibodies against exogenous membrane proteins displayed on baculovirus.	<i>J Immunol Methods.</i> 2007 Apr 30;322(1-2):104-17.	有	2007
056	Sakamoto A, Kawasaki T, Kazawa T, Ohashi R, Jiang S, Maejima T, Tanaka T, Iwanari H, Hamakubo T, Sakai J, Kodama T, Naito M.	東京大学・先端科学技術研究センター	Expression of Liver X Receptor {alpha} in Rat Fetal Tissues at Different Developmental Stages.	<i>J Histochem Cytochem.</i> Jun;55(6):641-9	有	2007
057	Iguchi H, Urashima Y, Inagaki Y, Ikeda Y, Okamura M, Tanaka T, Uchida A, Yamamoto TT, Kodama T, Sakai J	東京大学・先端科学技術研究センター	SOX6 Suppresses Cyclin D1 Promoter Activity by Interacting with beta-Catenin and Histone Deacetylase 1, and Its Down-regulation Induces Pancreatic beta-Cell Proliferation.	<i>J Biol Chem</i> 282, 19052-19061.	有	2007
058	Oshima T., Kawasaki T., Ohashi R., Hasegawa G., Jiang S., Umezumi H., Aoyagi Y., Iwanari H., Tanaka T., Hamakubo T., Kodama T.	東京大学・先端科学技術研究センター	Down-regulated P1 promoter-driven HNF4a expression in human colorectal carcinoma is a new prognostic factor against liver metastasis.	<i>Pathol. Int.</i> , 57, 82-90	有	2007
059	Qin J., Suh J.-M., Kim B.-J., Yu C.-T., Tanaka T., Kodama T., Tsai M.-J., Tsai S.-Y.	東京大学・先端科学技術研究センター	The expression pattern of nuclear receptors during cerebellar development.	<i>Dev. Dyn.</i> , 236, 810-820.	有	2007
060	Morikawa T, Sugiyama A, Kume H, Ota S, Kashima T, Tomita K, Kitamura T, Kodama T, Fukayama M, Aburatani H.	東京大学・先端科学技術研究センター	Identification of toll-like receptor 3 as a potential therapeutic target in clear cell renal cell carcinoma.	<i>Clin Cancer Res.</i> 13(19):5703-9.	有	2007

061	<u>Tachibana K, Katayama T, Ueda C, Sumitomo M, Tagami M, Ishimoto K, Yamasaki D, Tanaka T, Hamakubo T, Sakai J, Kodama T, Obika S, Imanishi T, Doi T.</u>	東京大学・先端科学技術研究センター	Antisense activity of 2',4'-BNA targeted to PPAR gamma in THP-1 and HCT116 cells.	<i>Nucleic Acids Symp Ser (Oxf).</i> : (51):441-2	有	2007
062	<u>Yoshitake H, Takahashi M, Ishikawa H, Nojima M, Iwanari H, Watanabe A, Aburatani H, Yoshida K, Ishi K, Takamori K, Ogawa H, Hamakubo T, Kodama T, Araki Y.</u>	東京大学・先端科学技術研究センター	Aldo-keto reductase family 1, member B10 in uterine carcinomas: a potential risk factor of recurrence after surgical therapy in cervical cancer.	<i>Int J Gynecol Cancer.</i> Nov-Dec;17(6):1300-6	有	2007
063	<u>Sugiyama A, Wada Y, Izumi A, Kobayashi M, Kohro T, Patrick CR, Hamakubo T, Kodama T.</u>	東京大学・先端科学技術研究センター	Transcriptional activation by hypoxia and low-density lipoprotein loading in cultured vascular smooth muscle	<i>J Atheroscler Thromb.</i> Oct;14(5):226-34	有	2007
064	<u>Imamura M, Kawasaki T, Savchenko AS, Ohashi R, Jiang S, Miyamoto K, Ito Y, Iwanari H, Sagara M, Tanaka T, Hamakubo T, Kodama T, Uchiyama M, Naito M.</u>	東京大学・先端科学技術研究センター	Lipopolysaccharide induced expression of pentraxin 3 in human neutrophils and monocyte-derived macrophages.	<i>Cell Immunol.</i> Aug;248(2):86-94.	有	2007
065	<u>Reid PC, Urano Y, Kodama T, Hamakubo T.</u>	東京大学・先端科学技術研究センター	Alzheimer's disease: cholesterol, membrane rafts, isoprenoids and statins.	<i>J Cell Mol Med.</i> May-Jun;11(3):383-92	有	2007
066	<u>Sumi K, Tanaka T, Uchida A, Magoori K, Urashima Y, Ohashi R, Ohguchi H, Okamura M, Kudo H, Daigo K, Maejima T, Kojima N, Sakakibara I, Jiang S, Hasegawa G, Kim I, Osborne TF, Naito M, Gonzalez FJ, Hamakubo T, Kodama T, Sakai J.</u>	東京大学・先端科学技術研究センター	Cooperative interaction between hepatocyte nuclear factor 4 alpha and GATA transcription factors regulates ATP-binding cassette sterol transporters ABCG5 and ABCG8.	<i>Mol Cell Biol.</i> Jun;27(12):4248-60	有	2007
067	<u>Saitoh R, Ohtomo T, Yamada Y, Kamada N, Nezu J, Kimura N, Funahashi S, Furugaki K, Yoshino T, Kawase Y, Kato A, Ueda O, Jishage K, Suzuki M, Fukuda R, Arai M, Iwanari H, Takahashi K, Sakihama T, Ohizumi I, Kodama T, Tsuchiya M, Hamakubo T.</u>	東京大学・先端科学技術研究センター	Viral envelope protein gp64 transgenic mouse facilitates the generation of monoclonal antibodies against exogenous membrane proteins displayed on baculovirus.	<i>J Immunol Methods.</i> Apr 30;322(1-2):104-17	有	2007
068	<u>Sakamoto A, Kawasaki T, Kazawa T, Ohashi R, Jiang S, Maejima T, Tanaka T, Iwanari H, Hamakubo T.</u>	東京大学・先端科学技術研究センター	Expression of liver X receptor alpha in rat fetal tissues at different developmental stages.	<i>J Histochem Cytochem.</i> Jun;55(6):641-9	有	2007

	<u>Sakai J, Kodama T, Naito M.</u>					
069	<u>Oshima T, Kawasaki T, Ohashi R, Hasegawa G, Jiang S, Umez H, Aoyagi Y, Iwanari H, Tanaka T, Hamakubo T, Kodama T, Naito M.</u>	東京大学・先端科学技術研究センター	Downregulated P1 promoter-driven hepatocyte nuclear factor-4alpha expression in human colorectal carcinoma is a new prognostic factor against liver metastasis.	<i>Pathol Int.</i> Feb;57(2):82-9	有	2007
070	Higashikawa F, Eboshida A, Yokosaki Y.	広島大学・大学院生物圏	Enhanced biological activity of polymeric osteopontin.	<i>FEBS Lett</i> 581:2697-2701	有	2007
071	Miyamoto, K., Shimamoto, T., Aosasa, M., Nakamura, N., Okubo, Y., Yokoyama, T., Horiuchi H., Furusawa, S. and Matsuda,	広島大学・大学院生物圏	H. Development of recombinant chicken IgY from single chain fragment of variable region for diagnosis of BSE.	<i>Biologicals</i> , 35:31-34,	有	2007
072	Miyamoto, K., Kimura, S., Nakamura, N., Yokoyama, T., Horiuchi, H., Furusawa, S. and Matsuda, H.	広島大学・大学院生物圏	Chicken antibody against a restrictive epitope of prion protein distinguishes normal and abnormal prion	<i>proteins. Biologicals</i> , 35:303-308,	有	2007
073	Miyoshi, M., Horiuchi, H., Fukushima, Y., Matsuda, H. and Furusawa, F.	広島大学・大学院生物圏	Cloning of the chicken interleukin-13 receptor alpha2 gene and production of a specific monoclonal antibody.	<i>Dev. Comp. Immunol.</i> , 31:394-406,	有	2007
074	Akagi, M., Kanata, S., Mori, S., Itabe, H., Sawamura, T. and Hamanishi, C.	国立循環器病センター	Possible involvement of the oxidized low-density lipoprotein/lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 system in pathogenesis and progression of human osteoarthritis.	<i>Osteoarthritis Cartilage</i> 15:281-290,	有	2007
075	Mehta, J.L., Sanada, N., Hu, C.P., Chen, J., Dandapat, A., Sugawara, F., Satoh, H., Inoue, K., Kawase, Y., Jishage, K., Suzuki, H., Takeya, M., Schnackenberg, L., Beger, R., Hermonat, P.L., Thomas, M. and Sawamura, T.	国立循環器病センター	Deletion of LOX-1 reduces atherogenesis in LDLR knockout mice fed high cholesterol diet.	<i>Circ. Res.</i> 100:1634-1642	有	2007
076	Marwali, M.R., Hu, C.P., Mohandas, B., Dandapat, A., Deonikar, P., Chen, J., Cawich, I., Sawamura, T., Kavdia, M. and Mehta, J.L.	国立循環器病センター	Modulation of ADP-induced platelet activation by aspirin and pravastatin: role of lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1, nitric oxide, oxidative stress, and	<i>J. Pharmacol. Exp. Ther.</i> 322:1324-1332	有	2007

			inside-out integrin signaling.			
077	Inoue, N. and Sawamura, T.	国立循環器病センター	Lectin-like oxidized LDL receptor-1 as extracellular chaperone receptor: Its versatile functions and human diseases.	<i>Methods</i> 43:218-222	有	2007
078	Hu, C., Dandapat, A., Chen, J., Fujita, Y., Inoue, N., Kawase, Y., Jishage, K., Suzuki, H., Sawamura, T. and Mehta, J.L.	国立循環器病センター	LOX-1 deletion alters signals of myocardial remodeling immediately after ischemia-reperfusion.	<i>Cardiovasc. Res.</i> 76:292-302	有	2007
079	Ohashi, H., Shimizu, Y., Ying, B.W. and Ueda, T.	東京大学新領域	Efficient protein selection based on ribosome display system with purified components.	<i>Biochem Biophys Res Commun</i> 352, 270-276	有	2007
080	Ushijima, M., Miyata, S., Eguchi, S., Kawakita, M., Yoshimoto, M., Iwase, T., Akiyama, F., Sakamoto, G., Nagasaki, K., Miki, Y., Noda, T., Hoshikawa, Y. and Matsuura, M.	癌研究所	Common peak approach by semi-supervised learning using mass spectrometry datasets for predicting effects on anticancer drugs on breast cancer.	<i>Cancer Informatics</i> Vol. 3, 285-293	有	2007
081	Oishi Y, Nagasaki K, Miyata S, Matsuura M, Nishimura S, Akiyama F, Iwai T, Miki Y.	癌研究所	Functional pathway characterized by gene expression analysis of supraclavicular lymph node metastasis-positive breast cancer.	<i>J Hum Genet.</i> 52 (3) :271-279	有	2007
082	Shibata H, Takano H, Ito M, Shioya H, Hirota M, Matsumoto H, Kakudo Y, Ishioka C, Akiyama T, Kanegae Y, Saito I, and Noda T.	癌研究所	Alpha-catenin is essential in intestinal adenoma formation.	<i>Proc Natl Acad Sci USA.</i> 104 (46) :18199-204,	有	2007
083	Sakaguchi S, Wing K, Miyara M.	京都大学再生医科学研究所	Regulatory T cells in brief history and perspective.	<i>Eur. J. Immunol</i> 37:s116-123,	有	2007
084	Sakaguchi S, Powrie F.	京都大学再生医科学研究所	Emerging challenges in regulatory T cell function and biology.	<i>Science</i> 317:627-629,	有	2007
085	Yamaguchi T, Hirota K, Nagahama K, Ohkawa K, Takahashi T, Nomura T, Sakaguchi S.	京都大学再生医科学研究所	Control of immune responses by antigen-specific regulatory T cells expressing the folate receptor.	<i>Immunity</i> 27 :145-159,	有	2007
086	Ono M, Yaguchi H, Ohkura N, Kitabayashi I, Nagamura Y, Nomura T, Miyachi Y, Tsukada T, Sakaguchi S.	京都大学再生医科学研究所	Foxp3 controls regulatory T cell function via interacting with AML1/Runx1.	<i>Nature.</i> 446:685-689	有	2007
087	Nomura T, Sakaguchi S.	京都大学再生医科学研究所	Foxp3 and Aire in thymus-generated T(reg)	<i>Nat Immunol.</i> 8:333-334,	有	2007

		研究所	cells: a link in self-tolerance.			
088	Miyara M, Sakaguchi S.	京都大学再生医科学研究 所	Natural regulatory T cells: mechanisms of suppression.	<i>Trends Mol Med.</i> 13:108-116,	有	2007
089	Bodor J, Fehervari Z, Diamond B, Sakaguchi S.	京都大学再生医科学研究 所	ICER/CREM-mediated transcriptional attenuation of IL-2 and its role in suppression by regulatory T cells	<i>Eur J Immunol.</i> 37:884-895,	有	2007
090	Bodor J, Fehervari Z, Diamond B, Sakaguchi S.	京都大学再生医科学研究 所	Regulatory T cell-mediated suppression: potential role of ICER.	<i>J Leukoc Biol</i> 81:161-167,	有	2007
091	Ejima D, Tsumoto K, Fukada H, Yumioka R, Nagase K, Arakawa T and Philo J.S.	東京大新領 域	Effects of acid exposure on the conformation, stability, and aggregation of monoclonal antibodies.	<i>Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics</i> 66, 954-962	有	2007
092	Arakawa T, Ejima D, Tsumoto K, Ishibashi M and Tokunaga M	東京大新領 域	Improved performance of column chromatography by arginine: Dye-affinity chromatography.	<i>Protein Expr. Purif.</i> 52, 410-414	有	2007
093	Tsumoto K, Ejima D, Nagase K and Arakawa T	東京大新領 域	Arginine improves protein elution in hydrophobic interaction chromatography. The cases of human interleukin-6 and activin-A.	<i>J. Chromatogr. A</i> 1154, 81-86	有	2007
094	Arakawa T, Ejima D, Tsumoto K, Obeyama N, Tanaka Y, Kita Y and Timasheff S.N.	東京大新領 域	Suppression of protein interactions by arginine: A proposed mechanism of arginine effects.	<i>Biophys Chem.</i> 127, 1-8	有	2007
095	Arakawa T, Tsumoto K, Nagase K and Ejima D	東京大新領 域	The effects of arginine on protein binding and elution in hydrophobic interaction and ion-exchange chromatography.	<i>Protein Expr. Purif.</i> 54, 110-116	有	2007
096	Tsumoto K, Ejima D, Senczuk A.M, Kita Y and Arakawa T	東京大新領 域	Effects of salts on protein-surface interactions: applications for column chromatography.	<i>J. Pharmaceut. Sci.</i> 96, 1677-1690	有	2007
097	Arakawa T, Tsumoto K, Ejima D, Kita Y, Yonezawa Y and Tokunaga M	東京大新領 域	Induced binding of proteins by ammonium sulfate in affinity and ion-exchange column chromatography.	<i>J. Biochem. Biophys. Methods</i> 70, 493-498	有	2007
098	Shiroishi M, Tsumoto K, Tanaka Y, Yokota A, Nakanishi T, Kondo H, Kumagai I	東京大新領 域	Structural consequences of mutations in interfacial Tyr residues of a protein antigen-antibody complex: The case of HyHEL-10-HEL.	<i>J. Biol. Chem.</i> 282, 6783-6791	有	2007
099	Watanabe H, Tsumoto K, Taguchi S, Yamashita K,	東京大新領 域	A Human Antibody Fragment with High Affinity for	<i>Bioconjugate Chem.</i> 18,	有	2007

	Doi Y, Nishimiya Y, Kondo H, Umetsu M, Kumagai I		Biodegradable Polymer Film.	645-651		
100	Hu, C., Chen, J., Dandapat, A., Fujita, Y., Inoue, N., Kawase, Y., Jishage, K., Suzuki, H., Li, D., Hermonat, P.L., Sawamura, T. and Mehta, J.L.	広島大学・大学院生物圏	LOX-1 abrogation reduces myocardial ischemia-reperfusion injury in mice.	<i>J. Mol. Cell. Cardiol.</i> , 44:76-83	有	2008
101	Sakihama T., Masuda K., Sato T., Doi T., Kodama T., Hamakubo T.	東京大学・先端科学技術研究センター	Functional reconstitution of G protein-coupled receptor-mediated adenylyl cyclase activation by a baculoviral co-display system.	<i>Journal of Biotechnol.</i> May 20;135(1):28-33	有	2008
102	Yorikawa C, Takaya E, Osako Y, Tanaka R, Terasawa Y, Hamakubo T, Mochizuki Y, Iwanari H, Kodama T, Maeda T, Hitomi K, Shibata H, Maki M.	東京大学・先端科学技術研究センター	Human calpain 7/Pa1BH associates with a subset of ESCRT-III-related proteins in its N-terminal region and partly localizes to endocytic membrane compartments.	<i>J Biochem.</i> Mar 3 Jun;143(6):731-45	有	2008
103	Sakihama T, Sato T, Iwanari H, Kitamura T, Sakaguchi S, Kodama T, Hamakubo T.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>A simple detection method for low-affinity membrane protein interactions by baculoviral display.</u>	<i>PLoS ONE.</i> ;3(12):e4024	有	2008
104	Ishiguro T, Sugimoto M, Kinoshita Y, Miyazaki Y, Nakano K, Tsunoda H, Sugo I, Ohizumi I, Aburatani H, Hamakubo T, Kodama T, Tsuchiya M, Yamada-Okabe H.	東京大学・先端科学技術研究センター	Anti-glypican 3 antibody as a potential antitumor agent for human liver cancer.	<i>Cancer Res.</i> Dec 1;68(23):9832-8	有	2008
105	Tachibana K, Anzai N, Ueda C, Katayama T, Yamasaki D, Kirino T, Takahashi R, Ishimoto K, Komori H, Tanaka T, Hamakubo T, Ueda Y, Arai H, Sakai J, Kodama T, Doi T.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>Regulation of the human PDZK1 expression by peroxisome proliferator-activated receptor alpha.</u>	<i>FEBS Lett.</i> Nov 26 ;582(28):3884-8	有	2008
106	Sugai M, Umezu H, Yamamoto T, Jiang S, Iwanari H, Tanaka T, Hamakubo T, Kodama T, Naito M.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>Expression of hepatocyte nuclear factor 4 alpha in primary ovarian mucinous tumors.</u>	<i>Pathol Int.</i> Nov;58(11):681-6	有	2008
107	Yoshitake H, Shirai Y, Mochizuki Y, Iwanari H, Tsubamoto H, Koyama K, Takamori K, Ogawa H, Hasegawa A, Kodama T, Hamakubo T, Araki Y. J	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>Molecular diversity of TEX101, a marker glycoprotein for germ cells monitored with monoclonal antibodies: variety of the molecular characteristics according to subcellular localization within the mouse testis.</u>	<i>Reprod Immunol.</i> Oct;79(1):1-11	有	2008

108	Ohguchi H, Tanaka T, Uchida A, Magoori K, Kudo H, Kim I, Daigo K, Sakakibara I, Okamura M, Harigae H, Sasaki T, Osborne TF, Gonzalez FJ, Hamakubo T, Kodama T, Sakai	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>Hepatocyte nuclear factor 4alpha contributes to thyroid hormone homeostasis by cooperatively regulating the type 1 iodothyronine deiodinase gene with GATA4 and Kruppel-like transcription factor 9.</u>	<i>J. Mol Cell Biol.</i> Jun;28(12):3917-31	有	2008
109	. Sakihama T., Masuda K., Sato T., Doi T., Kodama T., Hamakubo T.	東京大学・先端科学技術研究センター	Functional reconstitution of G protein-coupled receptor-mediated adenylyl cyclase activation by a baculoviral co-display system	<i>J Biotechnol.</i> May 20;135(1):28-33	有	2008
110	Savchenko A, Imamura M, Ohashi R, Jiang S, Kawasaki T, Hasegawa G, Emura I, Iwanari H, Sagara M, Tanaka T, Hamakubo T, Kodama T, Naito M.	東京大学・先端科学技術研究センター	Expression of pentraxin 3 (PTX3) in human atherosclerotic lesions.	<i>J Pathol.</i> May;215(1):48-55	有	2008
111	Wako K, Kawasaki T, Yamana K, Suzuki K, Jiang S, Umezumi H, Nishiyama T, Takahashi K, Hamakubo T, Kodama T, Naito M.	東京大学・先端科学技術研究センター	Expression of androgen receptor through androgen-converting enzymes is associated with biological aggressiveness in prostate cancer.	<i>J Clin Pathol.</i> Apr;61(4):448-54	有	2008
112	<u>Yorikawa C, Takaya E, Osako Y, Tanaka R, Terasawa Y, Hamakubo T, Mochizuki Y, Iwanari H, Kodama T, Maeda T, Hitomi K, Shibata H, Maki M.</u>	東京大学・先端科学技術研究センター	Human calpain 7/Pa1BH associates with a subset of ESCRT-III-related proteins in its N-terminal region and partly localizes to endocytic membrane compartments.	<i>J Biochem.</i> Jun;143(6):731-745	有	2008
113	Hiroaki Nagashima, Tomoya Teduka, Wakako Tsuchida, Hiroaki Maeda, Junya Kohroki and Yasuhiko Masuho.	東京理科大学薬学部	Tandemly repeated Fc domain augments binding avidities of antibodies for Fcγ receptors, resulting in enhanced antibody-dependent cellular cytotoxicity.	<i>Mol. Immunol.</i> 45: 2752-63	有	2008
114	Tateishi, Y., Nishimichi, N., Horiuchi, H., Furusawa, S. and Matsuda, H.	広島大学・大学院生物圏	Construction of chicken-mouse chimeric antibody and immunogenicity in mice.	<i>J. Vet. Med. Sci.,</i> 70(4):397-400	有	2008
115	Sato, Yuko, Nishimichi, Norihisa, Nakano, Atsushi, Takikawa, Kenji, Inoue, Nobutaka, Matsuda, Haruo, and Sawamura, Tatsuya.	広島大学・大学院生物圏	Determination of LOX-1-ligand activity in mouse plasma with chicken monoclonal antibody for ApoB.	<i>Atherosclerosis</i> <i>i200</i> :303-309,	有	2008

116	Nakano, A., Inoue, N., Sato, Y., Nishimichi, N., Takikawa, K., Fujita, Y., Kakino, A., Yamaguchi, S., Matsuda, H. and Sawamura, T.	広島大学・大学院生物圏	LOX-1 Mediates Vascular Lipid Accumulation in Hypertensive Rats—Implication in the initial step of atherosclerosis under hypertension.	<i>Hypertension</i> , 52:86–92,	有	2008
117	Ishigaki, Y., Katagiri, H., Gao, J., Yamada, T., Imai, J., Uno, K., Hasegawa, Y., Kaneko, K., Ogihara, T., Ishihara, H., Sato, Y., Takigawa, K., Nishimichi, N., Matsuda, H., Sawamura, T. and Oka, Y.	広島大学・大学院生物圏	Impact of plasma oxidized LDL removal on atherosclerosis.	<i>Circulation</i> 118:75–83,.	有	2008
118	Tang, D., Lu, J., Walterscheid, J.P., Chen, H.H., Engler, D.A., Sawamura, T., Chang, P.Y., Safi, H.J., Yang, C.Y. and Chen, C.H.	国立循環器病センター	Electronegative LDL circulating in smokers impairs endothelial progenitor cell differentiation by inhibiting Akt phosphorylation via LOX-1.	<i>J. Lipid Res.</i> 49:33–47	有	2008
119	Sato, Y., Baba, T., Zubair, M., Miyabayashi, K., Toyama, Y., Maekawa, M., Owaki, A., Mizusaki, H., Sawamura, T., Toshimori, K., Morohashi, K. I. and Katoh-Fukui, Y.	広島大学・大学院生物圏, 国立循環器病センター	Importance of forkhead transcription factor Fkh18 for development of testicular vasculature.	<i>Mol Reprod Dev.</i> Sep;75(9):1361–71.	有	2008
120	Tateishi, Y., Nishimichi, N., Horiuchi, H., Furusawa, S. and Matsuda, H.	広島大学・大学院生物圏, 国立循環器病センター	Construction of chicken–mouse chimeric antibody and immunogenicity in mice.	<i>J. Vet. Med. Sci.</i> Apr;70(4):397–400	有	2008
121	Sato, Y., Nishimichi, N., Nakano, A., Takikawa, K., Inoue, N., Matsuda, H. and Sawamura, T.	広島大学・大学院生物圏, 国立循環器病センター	Determination of LOX-1–ligand activity in mouse plasma with chicken monoclonal antibody for ApoB.	<i>Atherosclerosis</i> Oct;200(2):303–9	有	2008
122	Awaya T, Yokosaki Y, Yamane K, Usui H, Kohno N, Eboshida A.	国立循環器病センター	Gene–environment association of an <i>ITGB2</i> sequence variant with obesity in ethnic Japanese	<i>Obesity</i> Jun;16(6):1463–6	有	2008
123	Okazawa, T., Magari, M., Kimoto, T., Kouyama, E., Ohmori, H. and Kanayama, N.	岡山大学	Analysis of B cell selection in the germinal center reaction during a T–dependent antibody response at a single cell level.	<i>Immunol. Lett</i> 117, 96–105	有	2008
124	Sakaguchi, S	京都大学再生医科学研究所	Regulatory T cells in the past and for the futur	<i>Eur. J. Immunol</i> 38:901–937,	有	2008

125	Sakaguchi, S., Yamaguchi, T., Nomura, T., and Ono, M	京都大学再生医科学研究所	Regulatory T cells and immune tolerance	<i>Cell</i> 133: 775-787	有	2008
126	Onishi, Y., Fehervari, Z., Yamaguchi, T., and Sakaguchi, S	京都大学再生医科学研究所	Foxp3 ⁺ natural regulatory T cells preferentially form aggregates on dendritic cells in vitro and actively inhibit their maturation	<i>Proc. Natl. Acad. Sci. USA</i> 29:10113-10118,	有	2008
127	Wakasa-Morimoto, G., Toyosaki-Maeda, T., Matsutani, T., Yoshida, R., Nakamura-Kikuoka, S., Maeda-Tanimura, M., Yoshitomi, H., Hirota, K., Hashimoto, H.,	京都大学再生医科学研究所	Arthritis and pneumonitis produced by the same T-cell clones from mice with spontaneous autoimmune arthritis	<i>Int. Immunol</i> 20:1331-1342	有	2008
128	Li, Y., Zhao, X., Cheng, D., Haga, H., Tsuruyama, T., Wood, K., Sakaguchi, S., Tanaka, K., Uemoto, S., and Koshiba, T	京都大学再生医科学研究所	The presence of FOXP3 expressing T cells within grafts of tolerance human liver transplant recipients	<i>Transplantation</i> 86:1837-1843	有	2008
129	Wing, K., Onishi, Y., Prieto-Martin, P., Yamaguchi, T., Miyara, M., Fehervari, Z., Nomura, T., and Sakaguchi, S	京都大学再生医科学研究所	CTLA-4 control over Foxp3 ⁺ regulatory T cell function	<i>Science</i> 322:271-275	有	2008
130	Satoda N, Shoji T, Wu Y, Fujinaga T, Chen F, Aoyama A, Zhang JT, Takahashi A, Okamoto T, Matsumoto I, Sakai H, Li Y, Zhao X, Manabe T, Kobayashi E, Sakaguchi S, Wada H, Ohe H, Uemoto S, Tottori J, Bando T, Date H, Koshiba T	京都大学再生医科学研究所	Value of FOXP3 Expression in Peripheral Blood as Rejection Marker After Miniature Swine Lung Transplantation	<i>J. Heart Lung Transplant</i> 27:1293-1301	有	2008
131	Sakihama T, Sato T, Iwanari H, Kitamura T, Sakaguchi S, Kodama T, Hamakubo T	京都大学再生医科学研究所	A simple detection method for low-affinity membrane protein interactions by baculoviral display.	<i>PLoS ONE</i> 3(12):e4024	有	2008
132	Miyara, M., and Sakaguchi, S	京都大学再生医科学研究所	Regulatory T Cells and the Control of Auto-Immunity: From day 3 Thymectomy to FoxP3 ⁺ Regulatory T Cells. In Regulatory T cells and Clinical Application, Ed. S	<i>Jiang, Springer</i> p3-16,	有	2008
133	Tsumoto K, Yokota A, Tanaka Y, Ui M, Tsumuraya T, Fujii I, Kumagai I, Nagumo Y, Oguri H, Inoue M, Hiramama M.	東京大新領域	Critical contribution of aromatic rings to specific recognition of polyether rings: The case of ciguatoxin CTX3C-ABC and its specific antibody 1C49.	<i>J Biol Chem.</i> May 2;283(18):12259-66	有	2008

134	Mihoko Ui, Yoshikazu Tanaka, Takeshi Tsumuraya, Ikuo Fujii, Masayuki Inoue, Masahiro Hiram, and Kouhei Tsumoto	東京大新領域	How Protein Recognizes Ladder-like Polycyclic Ethers: Interactions between Ciguatoxin (CTX3C) Fragments and Its specific antibody 10C9.	<i>J. Biol. Chem.</i> Jul 11:283 (28):19 440-7	有	2008
135	津本浩平, 田中良和	東京大新領域	抗体: 結晶構造と熱力学が語るその緻密なアーキテクチャ.	たんぱく質結晶の新展開 (CMC 出版),	有	2008
136	Makabe K, Nakanishi T, Tsumoto K, Tanaka Y, Kondo H, Umetsu M, Sone Y, Asano R and Kumagai I	東京大新領域	Thermodynamic consequences of mutations in vernier zone residues of a humanized anti-human epidermal growth factor receptor murine antibody, 528.	<i>J Biol Chem.</i> 283 , 1156-1166	有	2008
137	Nakanishi T, Tsumoto K, Yokota A, Kondo H and Kumagai I	東京大新領域	Critical contribution of VH-VL interaction to reshaping of an antibody: the case of humanization of anti-lysozyme antibody, HyHEL-10.	<i>Protein Sci.</i> 17 , 261-270	有	2008
138	Tsumoto K, Yokota A, Tanaka Y, Ui M, Tsumuraya T, Fujii I, Kumagai I, Nagumo Y, Oguri H, Inoue M and Hiram M	東京大新領域	Critical contribution of aromatic rings to specific recognition of polyether rings. : The case of ciguatoxin CTX3C-ABC and its specific antibody 1C49	<i>J. Biol. Chem.</i> 283 , 12259-12266	有	2008
139	Ui M, Tanaka Y, Tsumuraya T, Fujii I, Inoue M, Hiram M, and Tsumoto K	東京大新領域	How protein recognizes ladder-like polycyclic ethers: Interactions between Ciguatoxin (CTX3C) fragments and its specific antibody 10C9.	<i>J. Biol. Chem.</i> 283 , 19440-19447	有	2008
140	Hattori T, Umetsu M, Nakanishi T, Tsumoto K, Ohara S, Abe H, Naito M, Asano R, Adschiri T and Kumagai I	東京大新領域	Grafting of material-binding function into antibodies: Functionalization by peptide grafting.	<i>Biochem. Biophys. Res. Comm.</i> 365 , 751-757	有	2008
141	Hamada D, Tsumoto K, Sawara M, Tanaka N, Nakahira K, Shiraki K and Yanagihara I	東京大新領域	Effect of an amyloidogenic sequence attached to yellow fluorescent protein.	<i>Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics</i> 72 , 811-821	有	2008
142	Wada Y, Ohta Y, Xu M, Tsutsumi S, Minami T, Inoue K, Komura D, Kitakami J, Oshida N, Papantonis A, Izumi A, Kobayashi M, Meguro H, Kanki Y, Mimura I, Yamamoto K, Mataka C, Hamakubo T, Shirahige K, Aburatani H, Kimura H,	東京大学・先端科学技術研究センター	A wave of nascent transcription on activated human genes.	<i>Proc Natl Acad Sci USA.</i> Oct 27:106 (43):18 357-61	有	2009

	Kodama T, Cook PR, Ihara S. 27:106(43):18357-61					
143	Tachibana K, Takeuchi K, Inada H, Yamasaki D, Ishimoto K, Tanaka T, Hamakubo T, Sakai J, Kodama T, Doi T.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>Regulation of the human SLC25A20 expression by peroxisome proliferator-activated receptor alpha in human hepatoblastoma cells.</u>	<i>Biochem Biophys Res Commun.</i> Nov 20 ;389(3):501-5	有	2009
144	Saito Y, Hamakubo T, Yoshida Y, Ogawa Y, Hara Y, Fujimura H, Imai Y, Iwanari H, Mochizuki Y, Shichiri M, Nishio K, Kinumi T, Noguchi N, Kodama T, Niki E.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>Preparation and application of monoclonal antibodies against oxidized DJ-1. Significant elevation of oxidized DJ-1 in erythrocytes of early-stage Parkinson disease patients.</u>	<i>Neurosci Lett.</i> Nov 6;465(1):1-5	有	2009
145	Hayashi I, Takatori S, Urano Y, Iwanari H, Isoo N, Osawa S, Fukuda MA, Kodama T, Hamakubo T, Li T, Wong PC, Tomita T, Iwatsubo T.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>Single chain variable fragment against nicastrin inhibits the gamma-secretase activity.</u>	<i>J Biol Chem.</i> Oct 9;284(41):27838-47	有	2009
146	Saeki R, Kondoh M, Kakutan H, Tsunoda S, Mochizuki Y, Hamakubo T, Tsutsumi Y, Horiguchi Y, Yagi K.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>A novel tumor-targeted therapy using a claudin-4-targeting molecule.</u>	<i>Mol Pharmacol.</i> Oct;76(4):918-26	有	2009
147	Minami T, Yano K, Miura M, Kobayashi M, Suehiro J, Reid PC, Hamakubo T, Ryeom S, Aird WC, Kodama T.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>The Down syndrome critical region gene 1 short variant promoters direct vascular bed-specific gene expression during inflammation in mice.</u>	<i>J Clin Invest.</i> Aug;119(8):2257-70. doi: 10.1172/JCI35738	有	2009
148	Komai T, Iwanari H, Mochizuki Y, Hamakubo T, Shinkai Y.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>Expression of the mouse PR domain protein Prdm8 in the developing central nervous system.</u>	<i>Gene Expr Patterns.</i> Oct;9(7):503-14	有	2009
149	Noritake J, Fukata Y, Iwanaga T, Hosomi N, Tsutsumi R, Matsuda N, Tani H, Iwanari H, Mochizuki Y, Kodama T, Matsuura Y, Bredt DS, Hamakubo T, Fukata M.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>Mobile DHHC palmitoylating enzyme mediates activity-sensitive synaptic targeting of PSD-95.</u>	<i>J Cell Biol.</i> Jul 13;186(1):147-60	有	2009
150	Takano K, Hasegawa G, Jiang S, Kurosaki I, Hatakeyama K, Iwanari H, Tanaka T, Hamakubo T, Kodama T, Naito M.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>Immunohistochemical staining for P1 and P2 promoter-driven hepatocyte nuclear factor-4alpha may complement mucin phenotype of differentiated-type early gastric carcinoma.</u>	<i>Pathol Int.</i> Jul;59(7):462-70	有	2009
151	Ishimoto K, Nakamura H, Tachibana K, Yamasaki D, Ota A, Hirano K, Tanaka T, Hamakubo T, Sakai J.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>Sterol-mediated regulation of human lipin 1 gene expression in hepatoblastoma cells.</u>	<i>J Biol Chem.</i> Aug 14;284(33):22195-205	有	2009

	Kodama T, Doi T.					
152	Wakabayashi K, Okamura M, Tsutsumi S, Nishikawa NS, Tanaka T, Sakakibara I, Kitakami J, Ihara S, Hashimoto Y, Hamakubo T, Kodama T, Aburatani H, Sakai	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>The peroxisome proliferator-activated receptor gamma/retinoid X receptor alpha heterodimer targets the histone modification enzyme PR-Set7/Setd8 gene and regulates adipogenesis through a positive feedback loop.</u>	<i>J. Mol Cell Biol.</i> Jul;29(13):35-44-55	有	2009
153	Minegishi Y, Iwanari H, Mochizuki Y, Horii T, Hoshino T, Kodama T, Hamakubo T, Gotoh N.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>Prominent expression of FRS2beta protein in neural cells and its association with intracellular vesicles.</u>	<i>FEBS Lett.</i> Feb 18;583(4):807-14. Epub 2009 Jan 31	有	2009
154	Takegoshi S, Jiang S, Ohashi R, Savchenko AS, Iwanari H, Tanaka T, Hasegawa G, Hamakubo T, Kodama T, Naito M.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>Protein expression of nuclear receptors in human and murine tissues.</u>	<i>Pathol Int.</i> Feb;59(2):61-72	有	2009
155	Suzuki N, Tsumoto K, Hajicek N, Daigo K, Tokita R, Minami S, Kodama T, Hamakubo T, Kozasa T.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>Activation of leukemia-associated RhoGEF by Galpha13 with significant conformational rearrangements in the interface.</u>	<i>J Biol Chem.</i> Feb 20;284(8):5000-9. Epub 2008 Dec 12		2009
156	Wakabayashi K, Okamura M, Tsutsumi S, Nishikawa NS, Tanaka T, Sakakibara I, Kitakami J, Ihara S, Hashimoto Y, Hamakubo T, Kodama T, Aburatani H, S	東京大学・先端科学技術研究センター	The peroxisome proliferator-activated receptor gamma/retinoid X receptor alpha heterodimer targets the histone modification enzyme PR-Set7/Setd8 gene and regulates adipogenesis through a positive feedback loop.	<i>Molecular and Cellular Biology.</i> Jul;29(13):35-44-55	有	2009
157	Kazawa T, Kawasaki T, Sakamoto A, Imamura M, Ohashi R, Jiang S, Tanaka T, Iwanari H, Hamakubo T, Sakai J, Kodama T, Naito M.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>Expression of liver X receptor alpha and lipid metabolism in granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-induced human monocyte-derived macrophage.</u>	<i>Pathol Int.</i> Mar;59(3):152-60	有	2009
158	Minegishi Y, Iwanari H, Mochizuki Y, Horii T, Hoshino T, Kodama T, Hamakubo T, Gotoh N.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>Prominent expression of FRS2beta protein in neural cells and its association with intracellular vesicles.</u>	<i>FEBS Lett.</i> Feb 18;583(4):807-14	有	2009
159	Takegoshi S, Jiang S, Ohashi R, Savchenko AS, Iwanari H, Tanaka T, Hasegawa G, Hamakubo T, Kodama T, Naito M.	東京大学・先端科学技術研究センター	Protein expression of nuclear receptors in human and murine tissues.	<i>Pathol Int.</i> Feb;59(2):61-72	有	2009

160	Okamura M, Kudo H, Wakabayashi K, Tanaka T, Nonaka A, Uchida A, Tsutsumi S, Sakakibara I, Naito M, Osborne TF, Hamakubo T, Ito S, Aburatani H, Yanagisawa M, Kodama T, Sakai	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>COUP-TFII acts downstream of Wnt/beta-catenin signal to silence PPARgamma gene expression and repress adipogenesis.</u>	<i>J. Proc Natl Acad Sci USA.</i> Apr 7;106(14):5819-24	有	2009
161	Sako K, Fukuhara S, Minami T, Hamakubo T, Song H, Kodama T, Fukamizu A, Gutkind JS, Koh GY, Mochizuki N.	東京大学・先端科学技術研究センター	Angiopoietin-1 induces Kruppel-like factor 2 expression through a phosphoinositide 3-kinase/AKT-dependent activation of myocyte enhancer factor 2.	<i>J Biol Chem.</i> Feb 27;284(9):5592-601	有	2009
162	Suzuki N, Tsumoto K, Hajicek N, Daigo K, Tokita R, Minami S, Kodama T, Hamakubo T, Kozasa T.	東京大学・先端科学技術研究センター	Activation of leukemia-associated RhoGEF by Galpha13 with significant conformational rearrangements in the interface.	<i>J Biol Chem.</i> Feb 20;284(8):5000-9	有	2009
163	Nakano K, Orita T, Nezu J, Yoshino T, Ohizumi I, Sugimoto M, Furugaki K, Kinoshita Y, Ishiguro T, Hamakubo T, Kodama T, Aburatani H, Yamada-Okabe H, Tsuchiya M.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>Anti-glypican 3 antibodies cause ADCC against human hepatocellular carcinoma cells.</u>	<i>Biochem Biophys Res Commun.</i> Jan 9;378(2):279-84	有	2009
164	Iwamoto, S., Nishimichi, N., Tateishi, Y., Sato, Y., Horiuchi, H., Furusawa, S., Sawamura, T. and Matsuda, H.	広島大学・大学院生物圏	Generation and characterization of chicken monoclonal antibodies against human	<i>LOX-1. mAbs,</i> 1:357-363,	有	2009
165	Fujita Y, Kakino A, Nishimichi N, Yamaguchi S, Sato Y, Machida S, Cominacini L, Delneste Y, Matsuda H, Sawamura T.	広島大学・大学院生物圏	Oxidized. LDL receptor LOX-1 binds to C-reactive protein and mediates its vascular effects.	<i>Clin Chem.</i> 55(2):285-294,	有	2009
166	Nishimichi, N., Higashikawa, F., Kinoh, H. H., Tateishi, Y., Matsuda, H. and Yokosaki, Y.	広島大学・大学院生物圏	Polymeric osteopontin employs integrin $\alpha 9 \beta 1$ as a receptor and attracts neutrophils by presenting a de novo binding site.	<i>J. Biol. Chem.</i> , 284 :14769-14776,	有	2009
167	Elazab, M.F.A., Fukushima, Y., Horiuchi, H., Matsuda, H. and Furusaa, S.	広島大学・大学院生物圏	Prolonged suppression of chick humoral immune response by antigen specific maternal antibody.	<i>J. Vet. Med. Sci.,</i> 71:417-424,	有	2009
168	Sakaguchi, S., Ishibashi, D. and Matsuda, H.	広島大学・大学院生物圏	Antibody-based immunotherapeutic attempts in experimental animal models of prion diseases.	<i>Expert Opin.</i> , 19:907-917,	有	2009
169	Magari, M., Aya, T., Ikeda, M., Todo, K.,	岡山大学	Enhancement of antibody production from a chicken B	<i>J. Biosci. Bioeng.</i>	有	2009

	Kanayama, N., Ohmori, H.		cell line, DT40 By reducing Pax5 expression.	107, 206-209. 2009		
170	Osada E, Shimizu Y, Akbar BK, Kanamori T, Ueda T.	東京大学新領域	Epitope mapping using ribosome display in a reconstituted cell-free protein synthesis system.	<i>J. Biochem</i> 145, 693-700	有	2009
171	Yoshitomi, M., Koshiba, T., Haga, H., Li, Y., Zhao, X., Cheng, D., Miyagawa, A., Sakashita, H., Tsuruyama T., Ueda, M., Wood, K., Sakaguchi S., Manabe, T., Tanaka, K., and Uemoto, S	京都大学再生医科学研究所	Requirement of protocol biopsy before and after complete cessation of immunosuppression following liver transplantation	<i>Transplantation</i> 87:606-614,	有	2009
172	Nagahama, K., Fehervari, Z., Oida, T., Ogawa, O., and Sakaguchi, S	京都大学再生医科学研究所	Differential control of alloantigen-specific regulatory T cells and effector T cells by anti-CD4 and other agents in establishing transplantation tolerance	<i>Int. Immunol</i> 21:379-391	有	2009
173	Miyara, M., Shima, T., Kitoh, A., Yoshioka, Y., Niwa, A., Taflin, C., Heike, T., Valeyre, D., Mathian, A., Nakahata, T., Yamaguchi T., Nomura, T., Wing, K., Ono, M., Amoura, Z., Gorochoy, G., and Sakaguchi, S	京都大学再生医科学研究所	Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4(+) T cells expressing the FoxP3 transcription factor	<i>Immunity</i> 30: 899-911,	有	2009
174	Ohkura, N. and Sakaguchi, S	京都大学再生医科学研究所	A novel modifier of regulatory T cells	<i>Nat Immunol</i> 10: 685-686,	有	2009
175	Duan F, Lin Y, Liu C, Engelhorn ME, Cohen AD, Curran M, Sakaguchi S, Merghoub T, Terzulli S, Wolchok JD, Houghton AN.	京都大学再生医科学研究所	Immune rejection of mouse tumors expressing mutated self	<i>Cancer Res</i> 69:3545-3553	有	2009
176	Liu, Z., Tian, S., Falo, L. D. Jr, Sakaguchi, S., and You, Z	京都大学再生医科学研究所	Therapeutic Immunity by Adoptive Tumor-primed CD4(+) T-cell Transfer in Combination With In Vivo GITR Ligation	<i>Mol Ther</i> 17:1274-81	有	2009
177	Piao J, Kamimura Y, Iwai H, Cao Y, Kikuchi K, Hashiguchi M, Masunaga T, Jiang H, Tamura K, Sakaguchi S, Azuma M	京都大学再生医科学研究所	Enhancement of T-cell-mediated anti-tumour immunity via the ectopically expressed glucocorticoid-induced tumour necrosis factor receptor-related receptor ligand (GITRL) on tumours	<i>Immunology</i> 127:489-99,	有	2009
178	Ito Y, Usui T, Kobayashi S, Iguchi-Hashimoto M,	京都大学再生医科学研	Gamma/delta T cells are the predominant source of	<i>Arthritis Rheum</i>	有	2009

	Ito H, Yoshitomi H, Nakamura T, Shimizu M, Kawabata D, Yukawa N, Hashimoto M, Sakaguchi N, Sakaguchi S, Yoshifuji H, Nojima T, Ohmura K, Fujii T, Mimori T	研究所	interleukin-17 in affected joints in collagen-induced arthritis, but not in rheumatoid arthritis	60:2294-2303		
179	Okamura T, Fujio K, Shibuya M, Sumitomo S, Shoda H, Sakaguchi S, Yamamoto K	京都大学再生医科学研究所	CD4+CD25-LAG3+ regulatory T cells controlled by the transcription factor Egr-2	<i>Proc Natl Acad Sci U S A</i> 106:13974-9,	有	2009
180	Sakaguchi, S., Wing, K., and Yamaguchi, T	京都大学再生医科学研究所	Dynamics of peripheral tolerance and immune regulation mediated by Treg	<i>Eur. J. Immunol</i> /39:2331-6,	有	2009
181	Kitoh, A., Ono, M., Naoe, Y., Ohkura, N., Yamaguchi, T, Yaguchi, H., Kitabayashi, I., Tsukada, T., Nomura, T., Miyachi, Y., Taniuchi, I., and Sakaguchi, S	京都大学再生医科学研究所	Indispensable role of Runx1/Cbf-1 complexes for <i>in vivo</i> suppressive function of FoxP3+ regulatory T cells	<i>Immunity</i> 31:609-620	有	2009
182	Sakaguchi S, Wing K, Onishi Y, Prieto-Martin P, Yamaguchi T	京都大学再生医科学研究所	Regulatory T cells: how do they suppress immune responses?	<i>Int. Immunol</i> 21:1105-11	有	2009
183	Onodera T, Jang MH, Guo Z, Yamasaki M, Hirata T, Bai Z, Tsuji NM, Nagakubo D, Yoshie O, Sakaguchi S, Takikawa O, Miyasaka M	京都大学再生医科学研究所	Constitutive expression of IDO by dendritic cells of mesenteric lymph nodes: functional involvement of the CTLA-4/B7 and CCL22/CCR4 interactions	<i>J. Immunol</i> 183:5608-5614	有	2009
184	津本浩平、宇井美穂子	東京大新領域	抗原抗体相互作用の熱力学的解析	特異性と親和性熱測定, 36 , 205-215	有	2009
185	Nagatoishi S, Tanaka Y, Kudou M and Tsumoto K.	東京大新領域	The interaction of hyperthermophilic TATA-box binding protein with single-stranded DNA is entropically favorable and exhibits a large negative heat capacity change at high salt concentration.	<i>Mol. Biosyst.</i> 5 , 957-961	有	2009
186	Motozono C, Yanaka S, Tsumoto K, Takiguchi M and Ueno T.	東京大新領域	Impact of intrinsic cooperative thermodynamics of peptide-MHC complexes on antiviral activity of HIV-specific cytotoxic T lymphocytes	<i>J. Immunol.</i> 182 , 5528-5536	有	2009
187	Sakamoto S, Jose M. M. Caaveiro, Sano E, Tanaka Y, Kudou M and Tsumoto K	東京大新領域	Contributions of interfacial residues of human Interleukin15 to the specificity and affinity for its private alpha-receptor.	<i>J. Mol. Biol.</i> 389 , 880-894	有	2009

188	Suzuki N, Tsumoto K, Hajicek N, Daigo K, Tokita R, Minami S, Kodama T, Hamakubo T and Kozasa T.	東京大新領域	Activation of Leukemia-associated RhoGEF by Galpha 13 with significant conformational rearrangements in the interface.	<i>J. Biol. Chem.</i> 284 , 5000-5009	有	2009
189	Tamura I, Chiba J.	東京理科大基礎工学部	Production of antibodies against multipass membrane proteins expressed in human tumor cells using dendritic cell immunization.	<i>Biomed Biotechnol.</i> Apr 15	有	2009
190	Fujimoto A, Takatsuka S, Ishida I, Chiba J.	東京理科大基礎工学部	Production of human antibodies to native cytokine receptors using the genetic immunization of KM mice.	<i>Hum Antibodies.</i> ; 18(3):75-80.	有	2009
191	Akazawa YO, Saito Y, Hamakubo T, Masuo Y, Yoshida Y, Nishio K, Shichiri M, Miyasaka T, Iwanari H, Mochizuki Y, Kodama T, Noguchi N, Niki E.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>Elevation of oxidized DJ-1 in the brain and erythrocytes of Parkinson disease model animals.</u>	<i>Neurosci Lett.</i> Oct 15;483(3):201-5. Epub 2010 Aug 11.	有	2010
192	Kuwako K, Kakumoto K, Imai T, Igarashi M, Hamakubo T, Sakakibara S, Tessier-Lavigne M, Okano HJ, Okano H.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>Neural RNA-binding protein Musashi1 controls midline crossing of precerebellar neurons through posttranscriptional regulation of Robo3/Rig-1 expression.</u>	<i>Neuron.</i> Aug 12;67(3):407-21	有	2010
193	Seki M, Watanabe A, Enomoto S, Kawamura T, Ito H, Kodama T, Hamakubo T, Aburatani H.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>Human ROBO1 is cleaved by metalloproteinases and gamma-secretase and migrates to the nucleus in cancer cells.</u>	<i>FEBS Lett.</i> 2010 Jul 2;584(13):2909-15. Epub May 13	有	2010
194	Ishimoto K, Tachibana K, Hanano I, Yamasaki D, Nakamura H, Kawai M, Urano Y, Tanaka T, Hamakubo T, Sakai J, Kodama T, Doi T.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>Sterol-regulatory-element-binding protein 2 and nuclear factor Y control human farnesyl diphosphate synthase expression and affect cell proliferation in hepatoblastoma cells.</u>	<i>Biochem J.</i> Jul 15;429(2):347-57	有	2010
195	Uchida H, Kondoh M, Hanada T, Takahashi A, Hamakubo T, Yagi K.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>A claudin-4 modulator enhances the mucosal absorption of a biologically active peptide.</u>	<i>Biochem Pharmacol.</i> May 15;79(10):1437-44	有	2010
196	Suehiro J, Hamakubo T, Kodama T, Aird WC, Minami T.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>Vascular endothelial growth factor activation of endothelial cells is mediated by early growth response-3.</u>	<i>Blood.</i> Mar 25;115(12):2520-32	有	2010
197	Hiroaki Nagashima and Yasuhiko Masuho	東京理科大薬学部	Enhancement of antibody-dependent cellular cytotoxicity by tandem Fc multimerization.	<i>Yakugaku Zasshi</i> 130: 49-54	無	2010

198	Tahara, H., Ide, K., Basnet, N. B., Tanaka, Y., Matsuda, H., Takematsu, H., Kozutsumi, Y. and Ohdan, H.	広島大学・大学院生物圏	Immunological property of antibodies against <i>N</i> -glycolylneuraminic acid epitopes in cytidine monophospho- <i>N</i> -acetylneuraminic acid hydroxylase-deficient mice.	<i>J. Immunol.</i> , 15:184(6):326-3275,	有	2010
199	Inoue, N., Okamura, T., Kokubo, Y., Fujita, Y., Sato, Y., Nakanishi, M., Yanagida, K., Kakino, A., Iwamoto, S., Watanabe, M., Ogura, S., Otsui, K., Matsuda, H., Uchida, K., Yoshimoto, R. and Sawamura, T.	広島大学・大学院生物圏	LOX-1 index, a novel prediction biomarker for coronary heart disease and stroke.	<i>Clin. Chem.</i> , 56(4):550-558.	有	2010
200	Nakano, A., Inoue, N., Sato, Y., Nishimichi, N., Takikawa, K., Fujita, Y., Kakino, A., Otsui, K., Yamaguchi, S., Matsuda, H. and Sawamura, T.	広島大学・大学院生物圏	LOX-1 mediates vascular lipid retention under hypertensive state.	<i>J. Hypertens.</i> , 28(6):1273-1280,	有	2010
201	Matsumoto, T., Fujita, M., Sawamura, T., Kakino, A., Sato, Y., Matsuda, H., Nakanishi, M., Uchida, K., Nakae, I., Kanda, H., Yoshida, A., Miwa, K., Hayashi, H., Mitunami, K. and Horie, M.	広島大学・大学院生物圏	Pitavastatin reduces lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1 ligands in hypercholesterolemic humans.	<i>Lipid</i> , 45(4):329-335,	有	2010.
202	Kajita, M., Todo, K., Magari, M., Kanayama, N., Ohmori, H.	岡山大学	Conditional transformation of immunoglobulin mutation pattern from gene conversion into point mutation by controlling XRCC3 expression in the DT40 B cell line.	<i>J. Biosci. Bioeng.</i> 109, 407-410. 2010	有	2010
203	Kajita, M., Okazawa, T., Ikeda, M., Todo, K., Magari, M., Kanayama, N., Ohmori, H.	岡山大学	Efficient affinity maturation of antibodies in an engineered chicken B cell line DT40-SW by increasing point mutation.	<i>J. Biosci. Bioeng.</i> 110, 351-358. 2010	有	2010
204	Magari, M., Kanehiro, Y., Todo, K., Ikeda, M., Kanayama, M., Ohmori, H.,	岡山大学	Enhancement of hypermutation frequency in the chicken B cell line DT40 for efficient diversification of the antibody repertoire.	<i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i> 396, 353-358. 2010	有	2010
205	Ueda T, Kanamori T, Ohashi H	東京大学新領域	Ribosome display with the PURE technology	<i>Methods Mol. Biol.</i> 607, 219-225	有	2010
206	Hirono S, Yamaue H, Hoshikawa Y, Ina S, Tani M, Kawai M, Ushijima M, Matsuura M, Saiki Y, Saiura A, Yamamoto J, Miki	癌研究所	Molecular markers associated with lymph node metastasis in pancreatic ductal adenocarcinoma by genome-wide expression profiling.	<i>Cancer Sci.</i> 2009. 101(1):259-66.	有	2010

	Y, Noda T.					
207	Fujino T, Nomura K, Ishikawa Y, Makino H, Umezawa A, Aburatani H, Nagasaki K, Nakamura T.	癌研究所	Function of EWS-POU5F1 in sarcomagenesis and tumor cell maintenance.	<i>Am J Pathol.</i> 76(4):1973-82	有	2010
208	Ina S, Hirono S, Noda T, Yamaue H.	癌研究所	Identifying molecular markers for chemosensitivity to gemcitabine in pancreatic cancer: increased expression of interferon-stimulated gene 15 kd is associated with intrinsic chemoresistance.	<i>Pancreas</i> 39(4):473-85,	有	2010
209	津本浩平	東京大新領域	抗原抗体相互作用の熱力学的制御 生体機能関連	化学部会ニュースレター	無	2010
210	津本浩平、宇井美穂子	東京大新領域	相互作用の熱力学情報に基づく低分子リガンド設計	薬学雑誌	無	2010
211	Yanaka S, Sano E, Naruse N, Miura KI, Futatsumori-Sugai M, Caaveiro JM, Tsumoto K.	東京大新領域	Non-core region modulates interleukin-11 signaling activity: Generation of agonist and antagonist variants.	<i>J Biol Chem.</i> Dec 7, in press	有	2010
212	Yokoo N, Togashi T, Umetsu M, Tsumoto K, Hattori T, Nakanishi T, Ohara S, Takami S, Naka T, Abe H, Kumagai I, Adschiri T.	東京大新領域	Direct and Selective Immobilization of Proteins by Means of an Inorganic Material-Binding Peptide: Discussion on Functionalization in the Elongation to Material-Binding Peptide.	<i>J. Phys. Chem. B.</i> 114(1) , 480-486	有	2010
213	Yokota A., Tsumoto K., Shiroishi M., Nakanishi T., Kondo H., Kumagai I.	東京大新領域	Contribution of asparagine residues to the stabilization of a proteinaceous antigen-antibody complex: HyHEL-10-HEL	<i>J. Biol. Chem.</i> 285 , 7686-7696	有	2010
214	Saeko Yanaka, Motonori Kudou, Yoshikazu Tanaka, Takumi Sasaki, Sumiyo Takemoto, Atsuko Sakata Yukio Hattori, Tomoyuki Koshi, Shiro Futaki, Kouhei Tsumoto, and Toshihiro Nakashima	東京大新領域	Contribution of the flexible loop region to the function of Staphylococcal enterotoxin B (SEB)	<i>Protein Eng. Des. Select.</i> 23(5) , 415-421	有	2010
215	Futatsumori-Sugai M and Tsumoto K	東京大新領域	Signal peptide design for improving recombinant protein secretion in the baculovirus expression vector system	<i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i> 391(1) , 931-935	有	2010
216	Kunii R, Jiang S, Hasegawa G, Yamamoto T, Umezu H, Watanabe T, Tsuchida M, Hashimoto T, Hamakubo T, Kodama T, Sasai K, Naito M.	東京大学・先端科学技術研究センター	The predominant expression of <u>hepatocyte nuclear factor 4α</u> (HNF4 α) in thyroid <u>transcription factor-1</u> (TTF-1)-negative pulmonary <u>adenocarcinoma</u> .	<i>Histopathology.</i> Feb;58(3):467-476	有	2011

217	Kakutani H, Takahashi A, Kondoh M, Saito Y, Yamaura T, Sakihama T, Hamakubo T, Yagi K.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>A novel screening system for claudin binder using baculoviral display.</u>	<i>PLoS One.</i> Feb 14;6(2):e16611	有	2011
218	Saravanan G, Daigo K, Imae T, Hamakubo T.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>Visual observation of avidin-biotin affinity by fluorescent G4.5 poly(amidoamine) dendrimer.</u>	<i>Colloids Surf B Biointerfaces.</i> Mar 1;83(1):58-60. Epub 2010 Nov 2.	有	2011
219	Daigo K, Kawamura T, Ohta Y, Ohashi R, Katayose S, Tanaka T, Aburatani H, Naito M, Kodama T, Ihara S, Hamakubo T.	東京大学・先端科学技術研究センター	<u>Proteomic analysis of native hepatocyte nuclear factor-4α (HNF4α) isoforms, phosphorylation status, and interactive cofactors.</u>	<i>J Biol Chem.</i> Jan 7;286(1):674-86. Epub 2010 Nov 3	有	2011
220	Hiroaki Nagashima, Michiko Ootsubo, Mizuho Fukazawa, Sotaro Motoi, Shu Konakahara and Yasuhiko Masuho.	東京理科大薬学部	Enhanced antibody-dependent cellular phagocytosis by chimeric monoclonal antibodies with tandemly repeated Fc domains.	<i>J. Biosci Bioeng.</i> In press	有	2011
221	Hiroaki Nagashima, Kaname Kaneko, Ayaka Yamanoi, Sotaro Motoi, Shu Konakahara, Junya Kohroki and Yasuhiko Masuho.	東京理科大薬学部	TNF receptor II fusion protein with tandemly repeated Fc domains.	<i>J. Biochem.</i> In press	有	2011
222	Hiroaki Nagashima, Tomoya Teduka, Wakako Tsuchida, Hiroaki Maeda, Junya Kohroki and Yasuhiko Masuho.	東京理科大薬学部	Tandemly repeated Fc domain augments binding avidities of antibodies for Fc γ receptors, resulting in enhanced antibody-dependent cellular cytotoxicity.	<i>Molecular Immunol.</i> in press	有	2011
223	Mihoko Ui, Yoshikazu Tanaka, Takeshi Tsumuraya, Ikuo Fujii, Masayuki Inoue, Masahiro Hirama, and Kouhei Tsumoto	東京大新領域	Structural and Energetic Hot-Spots for the Interaction between a Ladder-like Polycyclic Ether and the Anti-Ciguatoxin Antibody 10C9Fab.	<i>Molecular BioSystems</i> Mar 1;7(3):793-8.	有	2011
224	Rahul S. Rajan, Kouhei Tsumoto, Masao Tokunaga, Hiroko Tokunaga, Yoshiko Kita and Tsutomu Arakawa	東京大新領域	Chemical and Pharmacological Chaperones: Application for Recombinant Protein Production and Protein Folding Diseases.	<i>Current Medicinal Chemistry</i> ;18(1):1-15.	有	2011
225	<u>Takatsuka S, Sekiguchi A, Tokunaga M, Fujimoto A, Chiba J.</u>	東京理科大基礎工学部	Generation of a panel of monoclonal antibodies against atypical chemokine receptor CCX-CKR by DNA immunization.	<i>J Pharmacol Toxicol Methods.</i> Dec 22.	有	2010

[学会・研究発表] 研究開発項目①「系統的な高特異性抗体創製技術」

番号	発表者	所属	発表内容	学会・研究名	発表年
001	Kanayama, N., Todo, K., Magari, M., Ohmori, H.	岡山大工学部	Molecular evolution system of antibodies and other proteins using AID-dependent hypermutation machinery in a chicken B cell line.	20 th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology. Kyoto, Japan	2006
002	藤堂景史、岡澤貴裕、池田美香、藤田梨紗子、曲正樹、金山直樹、大森斉	岡山大工学部	培養B細胞株を用いた新規 in vitro 抗体作製システムによるモノクローナル抗体の取得	第58回 日本生物工学会大会	2006
003	梶田真道、藤堂景史、曲正樹、金山直樹、大森斉	岡山大工学部	点突然変異と遺伝子変換の制御によるニワトリB細胞株DT40からの高性能抗体ライブラリの構築	第58回 日本生物工学会大会	2006
004	金山直樹、藤堂景史、岡澤貴裕、池田美香、藤田梨紗子、曲正樹、大森斉	岡山大工学部	In vitro antibody generation system using a hypermutating chicken B cell line	日本免疫学会総会	2006
005	Kanayama, N., Todo, K., Okazawa, T., Magari, M., Ohmori, H.	岡山大工学部	An in vitro antibody generation system using a hypermutating chicken B cell line.	GTCbio' s 2nd Modern Drug Discovery and Development Summit (Philadelphia, USA)	2006
006	油谷浩幸	東京大先端研	演題：ゲノム情報と医療への応用	第1回 KMU 研究推進セミナー（金沢）	2006
007	油谷浩幸	東京大先端研	Glypican-3 as a novel diagnostic and therapeutic target for hepatocellular carcinoma	Gordon Research Conference (Proteoglycans) (米国)	2006
008	Iijima, Anai, Kodama, Shibasaki	東京大先端研	Rugulation of phophoinositides in cell-cell adhesion.	Shinozaki-Narikawa, Kodama, Shibasaki	2006
009	浜窪隆雄	東京大先端研	Methodological Challenges of the Post-Genomic Era.	Nature Methods-FujiFilm Symposium (箱根)	2006
010	Toshiya Tanaka, Aoi Uchida, Takao Hamakubo	東京大先端研	PPARd Agonist Ameliorates Reactive Oxygen Species and Adipocytokine Production in White Adipose Tissue of Obese Mice Models	20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, Kyoto, Japan	2006

011	Kenji Ishimoto, Keisuke Tachibana, Mikako Sumitomo, Shiho Omote, Ikuko Hanano, Daisuke Yamasaki, Yuichiro Watanabe, Toshiya Tanaka, Takao Hamakubo, Juro Sakai, Tatsuhiko Kodama, Takefumi Doi	東京大先端研	Identification of human low-density lipoprotein receptor as a novel target gene regulated by liver X receptor alpha	20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, Kyoto, Japan	2006
012	Koichi Sumi, Toshiya Tanaka, Yasuyo Urashima, Kenta Magoori, Masashi Okamura, Takashi Maejima, Aoi Uchida, Noriaki Kojima, Hiroto Ohguchi, Hiroko Iwanari, Frank_J. Gonzalez, Takashi Minami, Takao Hamakubo, Tatsuhiko Kodama, Juro Sakai.	東京大先端研	Transcriptional regulation of the ABCG5/ABCG8 gene by HNF4 α and SHP.	20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, Kyoto, Japan	2006
013	Daisuke Yamasaki, Keisuke Tachibana, Natsuko Kawabe, Hitomi Nakamura, Kenji Ishimoto, Hiroyuki Kagechika, Hiroyuki Miyachi, Toshiya Tanaka, Juro Sakai, Tatsuhiko Kodama, Takefumi Doi.	東京大先端研	Analysis of the antiproliferative mechanism of PPAR α ligand on human tumor cell lines.	20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, Kyoto, Japan	2006
014	Keisuke Tachibana, Naohiko Anzai, Chihiro Ueda, Tatsuya Katayama, Takayoshi Kirino, Rika Takahashi, Daisuke Yamasaki, Kenji Ishimoto, Toshiya Tanaka, Takao Hamakubo, Yukihiko Ueda, Hiroyuki Arai, Juro Sakai, Tatsuhiko Kodama, Takefumi Doi.	東京大先端研	Peroxisome proliferator-activated receptor alpha up-regulates the PDZK1 gene expression via a PPRE in a human hepatoblastoma cell line	20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, Kyoto, Japan	2006
015	田中十志也, 酒井寿郎	東京大先端研	PPARd アゴニストのメタボリック シンドローム改善効果	第 27 回日本炎症・再生医学会, 東京	2006
016	Iguchi H and Sakai J	東京大先端研	Sox6 attenuates glucose stimulated insulin secretion by repressing pdx1 transcriptional activity and is down-regulated in	Keystone Symposia, Keystone, Vancouver, Canada	2006

			hyperinsulinemic obese mice		
017	Juro Sakai	東京大先端 研	SOX6 contributes to the pancreatic β -cell adaptation in Obesity & Metabolic syndrome.	20th IUBMB Congress of biochemistry and molecular biology and 11 th FAOBMB congress, "Aging and Diseases Metabolic syndrome, atherosclerosis and obesity", Kyoto	2006
018	Shinobu Takayasu, Takeshi Sakurai, Satoshi Iwasaki, Ryoichi X Ioka, Akihiro Yamanaka, Haruhisa Iguchi, Yuka Imamura, S Clay Williams, Yukio Ikeda, Hitoshi Teranishi, Iori Sakakibara, Kousaku Ohno, Saori Murakami, Naoshi Dohmae, Jian Xie, Toshihiro Suda, Toshiyuki Motoike, Takashi Ohuchi, Masashi Yanagisawa and Juro Sakai	東京大先端 研	G protein-coupled receptor GPR103: Purification of its native peptide ligand, a regulator of appetite, arousal, and blood pressure via the central nervous system.	ENDO2006, Boston, Massachusetts, USA	2006
019	浜窪隆雄		抗体医薬による統合的個別医療	「高分子」, 55(652), 334-337,	2006
020	浜窪隆雄		ポストゲノム時代における膜タンパク質解析法—ウイルスディスプレイと抗体作成	日本レーザー医学会誌, 26(4), 310-314,	2006
021	馬場基芳・鈴木将之・Rashid Ganeev・黒田寛人・尾崎恒之・浜窪隆雄・増田一之・林昌弘・先浜俊子・児玉龍彦・小笹徹		FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) 分光法における蛋白機能性の出現機構	日本レーザー医学会誌, 26(4), 315-320	2006
022	浜窪隆雄		ターゲットドプロテオミクス—高親和性抗体を用いた膜蛋白質複合体解析法	医学のあゆみ、Vol. 219 No. 9, 679-684,	2006
023	Yokosaki, Y., Higashikawa, F. and Kinoh, H.	国立循環器 病センター	Polymeric osteopontin is a potent chemoattractant for neutrophils mediated by integrins.	Gordon conference, Fibronectin, Integrins & Related molecules, Lucca, Italy	2007
024	Sawamura, T.	国立循環器 病センター	LOX-1 as a potential therapeutic target for cardiovascular disease.	13th World Congress of the ISHR,	2007

			Bologna,		
025	Sawamura, T.	国立循環器病センター	LOX-1 is Involved in high fat diet-induced arterial lipid-deposition in SHR-SP.	13th World Congress On Heart Disease (The international Academy of Cardiology) , Vancouver,	2007
026	Yokosaki, Y., Higashikawa, F. and Kinoh, H.	広島大学・大学院生物圏	Polymerization of osteopontin enhances its biological activity.	Gordon conference, Small integrin binding-proteins, Biddeford, ME, USA	2007
027	横崎恭之、東川史子、喜納裕美	広島大学・大学院生物圏	トランスグルタミナーゼ2はオステオポンチンを重合し好中球の遊走を惹起する	ワークショップ、拡大する21世紀のトランスグルタミナーゼ研究、日本分子生物学会、横浜	2007
028	Yokosaki, Y., Higashikawa, F. and Kinoh, H.	国立循環器病センター	Polymeric osteopontin is a potent chemoattractant for neutrophils mediated by integrins. Gordon conference,	Fibronectin, Integrins & Related molecules, April 22-27, , Lucca, Italy	2007
029	Sawamura, T.	国立循環器病センター	LOX-1 as a potential therapeutic target for cardiovascular disease.	XIX World Congress of the ISHR, Bologna, June,	2007
030	Sawamura, T.	国立循環器病センター	LOX-1 is Involved in high fat diet-induced arterial lipid-deposition in SHR-SP. 2007.	13th World Congress On Heart Disease (The international Academy of Cardiology) , Vancouver, July,	2007
031	Yokosaki, Y., Higashikawa, F. and Kinoh, H.	国立循環器病センター	Polymerization of osteopontin enhances its biological activity. Gordon conference,	Small integrin binding-proteins, August 5-10, Biddeford, ME, USA	2007
032	横崎恭之、東川史子、喜納裕美	国立循環器病センター	トランスグルタミナーゼ2はオステオポンチンを重合し好中球の遊走を惹起する、ワークショップ、拡大する21世紀のトランスグルタミナーゼ研究	日本分子生物学会、横浜	2007
033	曲正樹、綾高広、藤堂景史、金山直樹、大森齊	岡山工学部	ニワトリ培養B細胞株 DT40-SWを用いる invitro 抗体作製システムの開発：Pax5 発現抑制による抗体産生の増強	第59回 日本生物工学会大会	2007
034	岡澤貴裕、藤堂景史、梶田真道、曲正樹、金山直樹、大森齊	岡山工学部	ニワトリ培養B細胞株 DT40-SWを用いる invitro 抗体作製システムの開発：抗原特異的クローンのセルソーターによる効率的	第59回 日本生物工学会大会	2007

			単離		
035	金広優一、曲正樹、藤堂景史、金山直樹、大森斉	岡山大工学部	ニワトリ培養B細胞株 DT40-SWを用いる in vitro 抗体作製システムの開発： 変異導入の促進による迅速な抗体ライブラリーの構築	第 59 回に本生物工学会大会	2007/9
036	Ohmori, H., Todo, K., Magari, M., Kanayama, N.	岡山大工学部	An efficient in vitro antibody generation system using a hypermutating chicken B cell line.	13th International Conference on Human Antibodies and Hybridomas (Milano, Italy)	2007
037	岡澤貴裕、藤堂景史、梶田真道、曲正樹、金山直樹、大森斉	岡山大工学部	ニワトリ培養B細胞株 DT40-SWを用いる in vitro 抗体作製システムの開発：抗原特異的クローンのセルソーターによる効率的単離	第 59 回 日本生物工学会大会	2007
038	手塚智也、伊沢賢一、長島弘明、興梠順也、増保安彦	東京理科大薬学部	Fc 多量体化による高活性抗体	日本薬学会 127 回年会	2007
039	川上和美、長島弘明、興梠順也、増保安彦	東京理科大薬学部	化学的二量体化抗体の抗腫瘍活性	日本薬学会 127 回年会	2007
040	宇井美穂子、田中良和、円谷健、藤井郁雄、井上將行、平間正博、津本浩平	東京大新領域	X 線結晶構造解析による抗シガトキシン抗体の分子認識機構の解明	第 10 回バイオテクノロジー部会シンポジウム 早稲田大学国際会議場	2007
041	宇井美穂子、田中良和、円谷健、藤井郁雄、井上將行、平間正博、津本浩平	東京大新領域	抗シガトキシン抗体の分子認識機構：結晶構造と熱力学	第 22 回生体機能関連化学シンポジウム 東北大学多元物質科学研究所	2007
042	田中良和、三堀麻理子、工藤基徳、津本浩平	東京大新領域	アルギニンの示す蛋白質凝集抑制効果：作用機序と応用	第 22 回生体機能関連化学シンポジウム 東北大学多元物質科学研究所	2007
043	宇井美穂子、田中良和、円谷健、藤井郁雄、井上將行、平間正博、津本浩平	東京大新領域	抗シガトキシン抗体 10C9 Fab の構造学的・熱力学的解析	日本生物物理学会 第 45 回年会 パシフィコ横浜	2007
044	瀬尾秀宗、市川久詞、針谷直人、李東輝、土屋京子、太田邦史（東大・総合文化研究科）、橋本修一	カイオム・バイオサイエンス	新規 in vitro モノクローナル抗体作製法・ADLib®システムによる迅速・効率的・網羅的な抗体作製ソリューションの開発	第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会（横浜）	2007
045	橋本修一、山谷仁志、笹沼麻貴、浅川美奈子、吉田章子、太田邦史、瀬尾秀宗	カイオム・バイオサイエンス	新規 in vitro モノクローナル抗体作製法・ADLib®システムによる治療用抗体作製ソリューションの開発	第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会（横浜）	2007
046	Masaaki Fujiwara	カイオム・バイオサイエンス	The ADLib® System: Alternative Diversity for Therapeutic Antibody Design	Antibody Engineering, IBC conference (San Diego)	2007

047	油谷 浩幸	東京大先端研	ゲノム情報を用いたがん診断および治療への展開	がん特定領域研究合同シンポジウム (東京)	2007
048	油谷 浩幸	東京大先端研	ゲノム情報と医療	第 19 回 Young Oncologist Conference (和歌山)	2007
049	油谷 浩幸	東京大先端研	Genomic strategy for personalized cancer treatment	The 6th Annual Meeting of Japanese Society of Medical Oncology (Fukuoka)	2007
050	Shinozaki-Narikawa, Kodama, Shibasaki	東京大先端研	Cooperation of phosphoinositides and BAR domain proteins in endosomal tubulation.	Dynamic Interplay Between Cytoskeletal and Membrane Systems	2007
051	Kenji Daigo, Takeshi Kawamura, Satoshi Katayose, Toshiya Tanaka, Tatsuhiko Kodama, Takao Hamakubo	東京大先端研	HIGH-RESOLUTION TARGETED PROTEOMICS OF ENDOGENOUS NUCLEAR RECEPTOR COMPLEX USING HIGH-QUALITY IMMUNOMAGNETIC BEADS	Cold Spring Harbor Laboratory Mechanisms of Eukaryotic Transcription Meeting (Cold Spring Harbor, NY)	2007
052	浜窪隆雄	東京大先端研	バキュロウイルスディスプレイ法を用いた高親和性抗体の作製とターゲットドプロテオミクスの応用	第 4 回千葉疾患プロテオミクス研究会 (千葉大学西千葉キャンパス)	2007
053	浜窪隆雄	東京大先端研	抗体作製技術の現状と展望	第 10 回ヒューマンサイエンス総合研究ワークショップ (国際研究交流会館 (国立がんセンター内))	2007
054	浜窪隆雄	東京大先端研	バキュロウイルス発現系の開発系と膜蛋白質特異抗体の作製技術	タンパク質生産・精製技術最前線セミナー (横浜ランドマークタワー25F)	2007
055	太期健二、川村猛、片寄聡、田中十志也、児玉龍彦、浜窪隆雄	東京大先端研	高親和性抗体結合低非特異吸着磁性ビーズを用いた内在性 HNF4 α 複合体のショットガンプロテオミクス解析	第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会 (パシフィコ横浜)	2007
056	先浜俊子、佐藤敬人、北村俊雄、児玉龍彦、浜窪隆雄	東京大先端研	Baculovirus Display 系を用いた膜蛋白質相互作用検出法とその応用	第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会 (パシフィコ横浜)	2007

057	Koichi Sumi, Toshiya Tanaka, Aoi Uchida, Kenta Magoori, Riuko Ohashi, Hiromi Kudo, Insook Kim, Makoto Naito, Frank J. Gonzalez, Takao Hamakubo, Tatsuhiko Kodama, and Juro Sakai	東京大先端研	Cooperative interaction between Hepatocyte Nuclear Factor 4a and GATA transcription factors Regulates ATP-binding cassette sterol transporters ABCG5 and ABCG8	Keystone Symposia, Steamboat Springs, Colorado, USA	2007
058	Keisuke Tachibana, Naohiko Anzai, Chihiro Ueda, Tatsuya Katayama, Takayoshi Kirino, Rika Takahashi, Daisuke Yamasaki, Kenji Ishimoto, Toshiya Tanaka, Takao Hamakubo, Yukihiko Ueda, Hiroyuki Arai, Juro Sakai, Tatsuhiko Kodama and Takefumi Doi	東京大先端研	Identification of a functional peroxisome proliferator-activated receptor responsive element (PPRE) in the human PDZK1 gene promoter	Keystone Symposia, Steamboat Springs, Colorado, USA	2007
059	山崎大典, 河邊奈津子, 中村仁美, 橋 敬祐, 岡田欣晃, 石本憲司, 宮地弘幸, 影近弘之, 田中十志也, 酒井寿郎, 児玉龍彦, 土井健史	東京大先端研	ヒト肝癌由来細胞株における核内受容体 PPAR α リガンド応答遺伝子の解析	日本薬学会 第127年会, 富山	2007
060	田中十志也, 大口裕人, 児玉龍彦, 酒井寿郎	東京大先端研	Hepatocyte nuclear factor 4a (HNF4 α) による Type 1 Iodothyronine Deiodinase (D1) の発現制御機構	第80回日本内分泌学会学術総会, 東京	2007
061	岡村将史, 田中十志也, 児玉龍彦, 酒井寿郎	東京大先端研	Chicken ovalbumin upstream promoter-transcription factors (COUP-TFs) による脂肪細胞分化抑制についての検討	第80回日本内分泌学会学術総会, 東京	2007
062	寿見孝一, 田中十志也, 内田あおい, 馬郡健太, 児玉龍彦, 酒井寿郎	東京大先端研	Hepatocyte Nuclear Factor 4a (HNF4a) と GATA との協調作用による ATP-binding cassette G5 および G8 (ABCG5, ABCG8) の発現調節機構	第80回日本内分泌学会学術総会, 東京	2007
063	南茂隆生, 山縣和也, 田中十志也, 児玉龍彦, 福井健司, 宮川潤一郎, 下村伊一郎	東京大先端研	マウス胎発生過程における HNF-4a, HNF-1a, HNF-1b の発現様式の検討	第80回日本内分泌学会学術総会, 東京	2007
064	若林賢一, 堤修一, 岡村将史, 田中十志也, 児玉龍彦, 酒井寿郎, 油谷浩幸	東京大先端研	3T3-L1 脂肪細胞分化系における PPAR γ 標的遺伝子の探索研究	第1回日本エビジェネティクス研究会年会, 大阪	2007
065	KOICHI SUMI, TANAKA TOSHIYA, UCHIDA AOI, MAGOORI KENTA, KUDO HIROMI, NAITO MAKOTO, GONZALEZ FRANK J., HAMAKUBO TAKAO, KODAMA	東京大先端研	Cooperative interaction between Hepatocyte Nuclear Factor 4 and GATA transcription factors Regulates ATP-binding cassette sterol transporters	第39回日本動脈硬化学会, 大阪	2007

	TATSUHIKO, SAKAI JURO		ABC5 and ABC8		
066	Keisuke Tachibana, Tatsuya Katayama, Chihiro Ueda, Mikako Sumitomo, Masayuki Tagami, Kenji Ishimoto, Daisuke Yamasaki, Toshiya Tanaka, Takao Hamakubo, Juro Sakai, Tatsuhiko Kodama, Satoshi Obika, Takeshi Imanishi and Takefumi Doi	東京大先端研	Antisense activity of 2',4'-BNA targeted to PPAR gamma in THP-1 and HCT116 cells.	第5回国際核酸化学シンポジウム, 東京	2007
067	山崎大典、中村仁美、河邊奈津子、田子秀典、橋敬祐、石本憲司、宮地弘幸、田中十志也、酒井寿郎、児玉龍彦、土井健史	東京大先端研	フェノフィブラートによる肝癌細胞 (Huh7) の増殖抑制に関する遺伝子の網羅的発現解析	第30回日本分子生物学会年回, 第80回日本生化学会大会, 合同大会, 横浜	2007
068	河邊奈津子、山崎大典、中村仁美、橋敬祐、石本憲司、田中十志也、酒井寿郎、児玉龍彦、土井健史	東京大先端研	核内受容体 PPARα リガンドによるヒト乳癌細胞株の増殖抑制効果の分子機構解析	第30回日本分子生物学会年回, 第80回日本生化学会大会, 合同大会, 横浜	2007
069	Iori Sakakibara, Makoto Ishii, Takahiro Fujino, Clay Williams, Hiroyuki Aburatani, Masashi Yanagisawa, and Juro Sakai	東京大先端研	Acetyl-CoA Synthetase 2 Deficiency Leads to Metabolic Abnormalities under Ketogenic Conditions.	Endocrine Society's 89th Annual Meeting, Toronto, Ontario, Canada	2007
070	酒井寿郎	東京大先端研	ケトン体代謝をになうアセチル Co-A 合成酵素欠損マウス抗肥満効果の分子基盤の解析	第80回日本内分泌学会, 東京	2007
071	榊原伊織、酒井寿郎	東京大先端研	アセチル Co-A 合成酵素 2 型遺伝子欠損マウスの表現型解析	第80回日本内分泌学会, 東京	2007
072	増田一之、柴崎芳一、小笹徹、児玉龍彦、浜窪隆雄		“リガンド結合依存型三量体 G タンパク質活性化と RGS”	第30回日本分子生物学会年回・第80回日本生化学会大会 合同大会 12月13日 パシフィコ横浜	2007
073	先浜俊子、佐藤敬人、北村俊雄、児玉龍彦、浜窪隆雄		“Baculovirus Display 系を用いた膜蛋白質相互作用検出法とその応用”	Baculovirus Display 系を用いた膜蛋白質相互作用検出法とその応用年 12月13日 パシフィコ横浜	2007
074	太期健二、川村猛、片寄聡、田中十志也、児玉龍彦、浜窪隆雄		“高親和性抗体結合低非特異吸着磁性ビーズを用いた内在性 HNF4α 複合体のショットプロテオミクス解析”	第30回日本分子生物学会年回・第80回日本生化学会大会 合同大会 パシフィコ横浜	2007
075	浜窪隆雄		“バキュロウイルス発現系の開発系と膜蛋白質特異抗体の作製技術”	タンパク質生産・精製技術最前線セミナー” 横浜ランド	2007

				マークタワー25F	
076	浜窪隆雄		“抗体作製技術の現状と展望”	第10回ヒューマンサイエンス総合研究ワークショップ 国際研究交流会館 (国立がんセンター内)	2007
077	浜窪隆雄	千葉大学西 千葉キャンパス	“バキュロウイルスディスプレイ法を用いた高親和性抗体の作製とターゲットドプロテオミクスの応用” 第4回千葉疾患プロテオミクス研究会年		2007
078	Kenji Daigo, Takeshi Kawamura, Satoshi Katayose, Toshiya Tanaka, Tatsuhiko Kodama, Takao Hamakubo		“High-resolution targeted proteomics of endogenous nuclear receptor complex using high-quality immunomagnetic beads”	Cold Spring Harbor Laboratory Mechanisms of Eukaryotic Transcription meeting Spring Harbor, NY	2007
079	浜窪隆雄、太期健二、児玉龍彦		バイオマーカーと抗体チップ	科学と生物 Vol. 45, No. 8, 533-538	2007
080	Kajsa Wing, Paz Prieto-Martin, Yasushi Onishi, Takashi Nomura, Shimon Sakaguchi	京都大学再生医科学研究所	The role of CTLA-4 specifically for CD4+Foxp3+ regulatory T cells in vivo	World Immune Regulation Meeting-II	2008
081	Makoto Miyara, Tomoko Shima, Akihiko Kitoh, Yumiko Yosioka, Akira Niwa, Cecile Taflin, Toshio Heike, Dominique Valeyre, Alexis Mathian, Zahir Amoura, Tatsutoshi Nakahata, Tomoyuki Yamaguchi, Takashi Nomura, Kajsa Wing, Guy Gorochoy, Masahiro Ono, Shimon Sakaguchi	京都大学再生医科学研究所	Functional delineation and differentiation dynamics of FoxP3-expressing subpopulation of CD4+ T cell in humans	World Immune Regulation Meeting-II	2008
082	鬼頭昭彦、小野昌弘、直江吉則、矢口浩子、大倉永也、北林一生、塚田俊彦、野村尚史、宮地良樹、谷内一郎、坂口志文	京都大学再生医科学研究所	Foxp3+制御性T細胞の生体内抑制機能には Runx complex が必須である	第18回 Kyoto T Cell Conference	2008
083	前田伸治、秋月修治、橋本求、野村尚史、坂口教子、坂口志文	京都大学再生医科学研究所	TCR シグナル伝達の補正による SKG マウス自己免疫性関節炎の発症抑制	第18回 Kyoto T Cell Conference	2008
084	山口智之、岸歩美、坂口志文	京都大学再生医科学研	oxp3による免疫制御のメカニズム/ How does Foxp3 control Treg	第38回日本免疫学会学術集会	2008

		研究所	suppression?		
085	Kitoh Akihiko, Ono Masahiro, Naoe Yoshinori, Yaguchi Hiroko, Ohkura Naganari, Kitabayashi Issei, Tsukada Toshihiko, Nomura Takashi, Miyachi Yoshiki Taniuchi Ichiro, Sakaguchi Shimon	京都大学再生医科学研究所	Runx 複合体は CD4+FoxP3+制御性 T 細胞の生体内抑制活性に必須である/ Runx complexes are required for CD4+FoxP3+ regulatory T-cell function in vivo	第 38 回日本免疫学会学術集会	2008
086	Prieto-Martin Paz, Wing Kajs, Yamaguchi Tomoyuki, Nomura Takashi, Sakaguchi Shimon	京都大学再生医科学研究所	CTLA-4 expression on Foxp3+ regulatory T cells plays a key role in tumor immunity and autoimmunity	第 38 回日本免疫学会学術集会	2008
087	野村尚史、秋月修治、前田伸治、橋本求、斉藤隆、坂口教子、坂口志文	京都大学再生医科学研究所	TCR シグナル不全による制御性 T 細胞分化障害と自己免疫病の発症・Autoimmune disease caused by Treg insufficiency due to defective TCR signaling	第 38 回日本免疫学会学術集会	2008
088	橋本求、廣田圭司、吉富啓之、前田伸治、寺平晋、野村尚史、坂口教子、岩倉洋一郎、三森経世、坂口志文	京都大学再生医科学研究所	SKG マウスの関節炎発症における dectin-1 依存的、非依存的な経路の解析 /Dectin-1-dependant and -independent pathway for the induction of arthritis in SKG mice	第 38 回日本免疫学会学術集会	2008
089	前田伸治、田中聡、廣田圭司、橋本求、寺平晋、秋月修治、野村尚史、上田龍三、坂口教子、坂口志文	京都大学再生医科学研究所	TCR シグナル伝達の補正による SKG マウス自己免疫性関節炎の発症抑制/Rescue of autoimmune arthritis in SKG mice by normalization of TCR signal transduction	第 38 回日本免疫学会学術集会	2008
090	Yoshinaga Ito, Takashi Usui, Shio Kobayashi, Mikiko Iguchi, Hiromu Ito, Hiroyuki Yoshitomi, Takashi Nakamura, Motomu Hashimoto, Noriko Sakaguchi, Shimon Sakaguchi Tuneyo Mimor	京都大学再生医科学研究所	T 細胞はコラーゲン誘発性関節炎局所における主要な Il-17 産生細胞である/Gamma delta T cells are the predominant Il-17-producing cells in affected joint of collagen-induced arthritis	第 38 回日本免疫学会学術集会	2008
091	荒川明子、小野昌弘、藤井弘子、中村元信、坂口志文、宮地良樹	京都大学再生医科学研究所	円形脱毛症患者の制御性 T 細胞減少/Altered frequency of regulatory T cells in alopecia areata patient	第 38 回日本免疫学会学術集会	2008
092	Shimon Sakaguchi	京都大学再生医科学研究所	he Role of Natural Regulatory T Cells in Autoimmunity,	12 th International Conference on Lymphocyte Activation and Immune Regulation	2008

093	Shimon Sakaguchi	京都大学再生医科学研究所	Role of regulatory T cells in tolerance and autoimmunity	EurAPS International Symposium on Molecular Background of Tolerance and Autoimmunity	2008
094	Shimon Sakaguchi	京都大学再生医科学研究所	Regulatory T cells for self-tolerance and immune homeostasis	13 th Congress of the Asia Pacific League of Association for Rheumatology (APLAR2008)	2008
095	Shimon Sakaguchi	京都大学再生医科学研究所	Regulatory T cells for immune tolerance and homeostasis	The 11 th Kyoto University International Symposium 2008 Frontier Bioscience in Modern Medicine	2008
096	Shimon Sakaguchi	京都大学再生医科学研究所	Keynote Lecture: Regulatory T cells for immune tolerance and homeostasis,	International Conference on Regulatory T Cells and Clinical Application in Human Diseases	2008
097	横崎恭之、西道教尚、松田治男、喜納裕美、川本英子.	広島大学・大学院生物圏	オステオポンチンのスプライスバリエーションの生物活性の違い.	宮崎サイエンスキャンプ宮崎	2008
098	乙井一典、井上信孝、藤田佳子、沢村達也	広島大学・大学院生物圏	血栓形成過程における LOX-1 の意義	第 81 回日本薬理学会年会、横浜・パシフィコ横浜	2008
099	井上信孝、中野厚史、藤田佳子、沢村達也	国立循環器病センター	動脈硬化初期病変としての血管内脂肪沈着における LOX-1 の意義—SHRSP ラットを用いた検討—	第 81 回日本薬理学会年会、横浜・パシフィコ横浜	2008
100	佐藤優子、西道教尚、中野厚史、瀧川健司、井上信孝、松田治男、沢村達也.	広島大学・大学院生物圏	ニワトリ抗 ApoB 抗体によるマウス血中の LOX-1 リガンド活性測定	第 81 回日本薬理学会年会、横浜・パシフィコ横浜	2008
101	西道教尚、佐藤優子、中野厚史、瀧川健司、井上信孝、堀内浩幸、古澤修一、沢村達也、松田治男	広島大学・大学院生物圏 国立循環器病センター	抗ヒト、マウスアポリポタンパク質 B (ApoB) 特異的ニワトリモノクローナル抗体の樹立およびその活用	日本農芸化学会 2008 年会、名古屋	2008
102	岩元真、西道教尚、立石能子、佐藤優子、堀内浩幸、古澤修一、沢村達也、松田治男、	広島大学・大学院生物圏 国立循環器病センター	酸化 LDL 受容体 (LOX-1) 特異的ニワトリモノクローナル抗体の樹立	日本農芸化学会 2008 年会、名古屋	2008
103	立石能子、西道教尚、堀内浩幸、古澤修一、松田治男	広島大学・大学院生物圏	ニワトリ・マウスキメラ抗体の作製とマウスにおけるキメラ抗体の免疫原性	日本農芸化学会 2008 年会、名古屋	2008

104	横崎恭之、西道教尚、松田治男、喜納裕美、川本英子	広島大学・大学院生物圏国立循環器病センター	オステオポンチンのスプライスバリエーションの生物活性の違い	宮崎サイエンスキャンプ	2008
105	乙井一典、井上信孝、藤田佳子、沢村達也	国立循環器病センター	血栓形成過程におけるLOX-1の意義	第81回日本薬理学会年会 横浜・パシフィコ横浜	2008
106	井上信孝、中野厚史、藤田佳子、沢村達也	国立循環器病センター	動脈硬化初期病変としての血管内脂肪沈着におけるLOX-1の意義—SHRSPラットを用いた検討—	第81回日本薬理学会年会 横浜・パシフィコ横浜	2008
107	佐藤優子、西道教尚、中野厚史、瀧川健司、井上信孝、松田治男、沢村達也	広島大学・大学院生物圏	ニワトリ抗ApoB抗体によるマウス血中のLOX-1リガンド活性測定	第81回日本薬理学会年会 横浜・パシフィコ横浜	2008
108	西道教尚、佐藤優子、中野厚史、瀧川健司、井上信孝、堀内浩幸、古澤修一、沢村達也、松田治男	広島大学・大学院生物圏国立循環器病センター	抗ヒト、マウスアポリポタンパク質B (ApoB) 特異的ニワトリモノクローナル抗体の樹立およびその活用	日本農芸化学会 2008年会 名古屋	2008
109	岩元真、西道教尚、立石能子、佐藤優子、堀内浩幸、古澤修一、沢村達也、松田治男	広島大学・大学院生物圏国立循環器病センター	酸化LDL受容体 (LOX-1) 特異的ニワトリモノクローナル抗体の樹立	日本農芸化学会 2008年会名古屋	2008
110	立石能子、西道教尚、堀内浩幸、古澤修一、松田治男	広島大学・大学院生物圏国立循環器病センター	ニワトリ・マウスキメラ抗体の作製とマウスにおけるキメラ抗体の免疫原性	日本農芸化学会 2008年会名古屋	2008
111	岩元真、西道教尚、立石能子、佐藤優子、堀内浩幸、古澤修一、沢村達也、松田治男	広島大学・大学院生物圏国立循環器病センター	酸化LDL受容体 (LOX-1) 特異的ニワトリモノクローナル抗体の樹立および機能解析	第31回日本分子生物学会年会 神戸 (12月)	2008
112	金山直樹、曲正樹、梶田真道、金広優一、藤堂景史、大森 齊	岡山大学工学部	変異導入能力を有する培養B細胞株を用いた invitro 抗体作製システムの高機能化	日本分子生物学会 年会・日本生化学会 大会合同大会	2008
113	手塚智也、元井崇太郎、大坪美知子、小林栄治、長島弘明、興相順也、増保安彦	東京理科大学薬学部	Fc多量体化抗体による単球・マクロファージ系細胞からのケモカイン産生誘導増強	日本薬学会 128回 年会	2008
114	神谷由香里、中野雄一、谷口いつ子、興相順也、増保安彦	東京理科大学薬学部	抗βcatenin抗体の細胞内導入	日本薬学会 128回 年会	2008
115	長田江里子、アクバルピントン、金森崇、清水義宏、上田卓也	東京大学新領域	リポソームディスプレイを用いた抗体のエピトープマッピング系の開発	BMB2008	2008
116	金森崇、大橋広行、清水義宏、上田卓也	東京大学新領域	PURE Ribosome Displayを用いた効率的な scFv の選択法の開発	BMB2008	2008
117	宇井美穂子、田中良和、円谷 健、藤井郁雄、井上将行、平間正博、津本浩平	東京大新領域	抗体10C9が示すポリエーテル系海洋毒素シガトキシン認識機構	第10回生命化学研究会シンポジウム・熊本 (2008) - つくる生命化学 - 未来への展望 - 熊本大学 工学部 百周年記念館	2008

118	宇井美穂子、田中良和、円谷 健、藤井郁雄、井上将行、平間正博、津本浩平	東京大新領域	抗シガトシキン抗体による合成環状エーテル抗原の認識機構	SORST ジョイントシンポジウム 「有機合成力」 -そのダイナミズム コクヨホール	2008
119	工藤基徳、三堀麻理子、田中良和、津本浩平	東京大新領域	タンパク質の構造に与えるアルギニンの効果	第 89 回 日本化学会春期年会 立教大学	2008
120	Kenji Daigo, Takeshi Kawamura, Satoshi Katayose, Toshiya Tanaka, Tatsuhiko Kodama, and Takao Hamakubo	東京大先端研	Functional proteomics of endogenous HNF4 α complex revealed the heterodimerization of HNF4 α and HNF4 γ in HepG2 cells	Keystone Symposia, Nuclear Receptors: Orphan Brothers Whistler Resort, Whistler, British Columbia)	2008
121	Toshiya Tanaka, Hiroto Ohguchi, Aoi Uchida, Kenta Magoori, Insook Kim, Hiromi Kudo, Takeshi Sasaki, Timothy F. Osborne, Frank J. Gonzalez, Takao Hamakubo, Tatsuhiko Kodama, and Juro Sakai.	東京大先端研	Hepatocyte Nuclear Factor 4a contributes to thyroid hormone homeostasis by cooperatively regulating the type1 Iodothyronine Deiodinase gene with GATA4 and Kruppel-like transcription factor 9	Keystone Symposia, Whistler, British Columbia, Canada	2008
122	Jen-Chieh Chuang, Ji-Young Cha, Toshiya Tanaka, Juro Sakai, and Joyce J. Reppa	東京大先端研	Identification and characterization of HNF4a/HNF4g heterodimers in beta-cells of the mouse endocrine pancreas	Jen-Chieh Chuang, Ji-Young Cha, Toshiya Tanaka, Juro Sakai, and Joyce J. Reppa	2008
123	Juro Sakai	東京大先端研	Deficiency of mitochondrial acetyl-CoA synthetase (AceCS 2) a KLF15 target gene impairs ketone body metabolism and develops hyperketonemia under low glucose diet.	International Symposium on the Biology of the Krüppel-like factors, Tokyo, Japan	2008
124	Kenji Daigo, Takeshi Kawamura, Satoshi Katayose, Toshiya Tanaka, Tatsuhiko Kodama, and Takao Hamakubo		“Functional proteomics of endogenous HNF4 α complex revealed the heterodimerization of HNF4 α and HNF4 γ in HepG2 cells”	Keystone Symposia, Nuclear Receptors: Orphan Brothers Whistler Resort, Whistler, British Columbia	2008
125	吉岡弓子、小野昌弘、小西郁生、坂口志文	京都大学再生医科学研究所	Control of T cell differentiation and cytokine production by an axis made by a set of morphogens	第 39 回日本免疫学会総会学術集会	2009
126	坂口志文、宮良亮	京都大学再	Functional delineation and	第 39 回日本免疫学会	2009

		生医科学研究 所	differentiation dynamics of FoxP3-expressing subpopulation of human CD4+ T cells	会総会学術集会	
127	山口智之、坂口志文	京都大学再 生医科学研 究所	IL-2 低産生 CTLA-4 高発現の活 性化 T 細胞は免疫抑制活性を持 つ	第 39 回日本免疫学 会総会学術集会	2009
128	秋月修治、坂口教子、藤森 千尋、前田伸治、伊藤能永、 橋本求、野村尚史、斎藤隆、 三森経世、坂口志文	京都大学再 生医科学研 究所	TCR シグナル不全による制御性 T 細胞異常と自己免疫病の発症	第 39 回日本免疫学 会総会学術集会	2009
129	前田伸治、田中聡、廣田圭 司、藤森千尋、野村尚史、 秋月修治、橋本求、伊藤能 永、坂口教子、坂口志文	京都大学再 生医科学研 究所	正常 ZAP-70 の発現量操作による 自己免疫性関節炎の誘導	第 39 回日本免疫学 会総会学術集会	2009
130	坂口志文	京都大学再 生医科学研 究所	制御性 T 細胞による免疫応答制 御	JOINT FORUM	2009
131	Shimon Sakaguchi	京都大学再 生医科学研 究所	Biology and function of regulatory T Cells Regulatory	T cells and Cancer Immunotherapy	2009
132	坂口志文	京都大学再 生医科学研 究所	制御性 T 細胞による免疫応答制 御	日本免疫治療学研 究会学術集会	2009
133	Shimon Sakaguchi	京都大学再 生医科学研 究所	Manipulation of Treg for Anti Tumor Therapy	KEYSTONE SYMPOSIA: Regulatory T Cells	2009
134	Shimon Sakaguchi	京都大学再 生医科学研 究所	CTLA-4-dependent mechanism of Treg-mediated in vivo and in vitro suppression	WORLD IMMUNE REGULATION MEETING-III	2009
135	Shimon Sakaguchi	京都大学再 生医科学研 究所	T cell signaling, regulatory T cells and autoimmunity	Tolerance and Development. The Foundation des Treilles	2009
136	梶田真道、曲正樹、藤堂景 史、金山直樹、大森齊	岡山大工学 部	DT40-SW を用いる invitro 抗体 作製システムの高機能化：変異 様式の転換による高性能抗体作 製	日本生物工学会大 会	2009
137	金山直樹、小島聡史、 藤井忍、北村幸一、 井上和恵、岡山展久、松田 修一、藤堂景史、 曲正樹、大森齊	岡山大工学 部	変異能力を有するニワトリ B 細 胞株を用いた抗体の親和性成 熟:DT40-SW を用いたマウスモノ クローナル抗体の改変	日本分子生物学会 年会	2009
138	小島聡史、藤井忍、 北村幸一、井上和恵、 岡山展久、松田修一、藤堂	岡山大工学 部	変異能力を有するニワト リ B 細胞株を用いた抗体の親和 性成熟：外来の抗体可変部遺伝	日本分子生物学会 年会	2009

	景史、曲正樹、 金山直樹、大森齊		子のDT40-SWにおける発現・改良系の構築		
139	塩谷尚志、河口徳一、菅原稔、長崎光一、磯村実、牛嶋大、松浦正明、三木義男、野田哲生	癌研究所	乳がんと膵がんに関連するヒトがん幹細胞の分子学的特性解析	第 68 回日本癌学会 学術総会	2009
140	和田悠作、松浦正明、菅原稔、牛嶋大、宮田敏、長崎光一、三木義男、野田哲生	癌研究所	GeneChip Exon Array を用いた新規融合遺伝子探索方法の開発	第 32 回日本分子生 物学会年会	2009
141	長田江里子、アクバルピン タン、金森崇、清水義宏、 上田卓也	東京大学新 領域	リボソームディスプレイ法を用いた抗体のエピトープマッピング系の開発	第 9 回日本蛋白質 科学学会年会	2009
142	金紅蓮、福田奈那、金森崇、 上田卓也	東京大学新 領域	PURE Ribosome Display を用いた scFv 選択法の改良	第 82 回日本生化学 会大会	2009
143	福田奈那、金紅蓮、大橋広 行、金森崇、上田卓也	東京大学新 領域	Efficient selection of scFv using PURE Ribosome Display	第 32 回分子生物学 学会年会	2009
144	坂口志文	京都大学再 生医科学研究 所	関節リウマチと T 細胞異常	第 98 回日本病理学 会総会	2009.
145	Shimon Sakaguch	京都大学再 生医科学研究 所	Suppression Mechanisms of Foxp3 ⁺ Regulatory T Cells	FOCIS2009	2009
146	Shimon Sakaguchi	京都大学再 生医科学研究 所	Regulatory T cells for immune tolerance and homeostasis towards their clinical use.	TWINCORE-Symposiu m Infection Research and Beyond	2009
147	Shimon Sakaguchi	京都大学再 生医科学研究 所	T cell signaling, regulatory T cells and self-tolerance	International Conference on Immune Tolerance	2009
148	Shimon Sakaguchi	京都大学再 生医科学研究 所	Regulatory T cells for immune tolerance and tumor immunity	International Symposium on Immunotherapy and immunodeficiency	2009
149	橋本求、廣田圭司、吉富啓 之、前田伸治、寺平晋、秋 月修治、Prieto-Martin Paz, 野村尚史、坂口教子、 高橋実、藤田貞三、三森経 世、坂口志文	京都大学再 生医科学研究 所	補体による Th-17 依存性自己免 疫性関節炎の制御	第 39 回日本免疫学 会総会学術集会	2009
150	浜窪隆雄		「がん治療に向けた抗体分子デ ザイン」	情報計算化学生物 学会 第 304 回研究講演 会、東京、/12/18	2009
151	横崎恭之、西道教尚、松田 治男	広島大学・大 学院生物圏 国立循環器 病センター	Blockade of post-translational acquirement of chemotactic property of Osteopontin.	BIT Life science International Congress of Antibodies March 24, 北京	2010
152	沢村達也	国立循環器	LOX-1, the oxidized LDL	Basic Research	2010

		病センター	receptor, in cardiovascular dysfunction	Seminar and Related Meetings Houston America 5.31-6.2,	
153	澤村達也	国立循環器病センター	CRP in LOX-1 Biology Workshop on C-Reactive	Birmingham America, June 3	2010
154	金山直樹、井上和恵、岡山展久、山崎権也、金広優一、松田修一、串田健、池田美香、曲正樹、大森齊	岡山大工学部	ヒト型キメラ抗体を発現するニワトリB細胞株の樹立と応用	日本分子生物学会年会	2010
155	Shimoji T, Nagasaki K, Isomura M, Miki Y, Matsuura M, Noda T.	癌研究所	Molecular analysis for the differential diagnosis of cartilaginous tumors	8th Joint Conference of the American Association for Cancer Research and the Japanese Cancer Association, Waikoloa Hawaii, USA	2010
156	Development of detection method for novel fusion gene using GeneChip Exon Array	癌研究所	Wada Y, Matsuura M, Sugawara M, Ushijima M, Miyata S, Nagasaki K, Miki Y, Noda T.	8th Joint Conference of the American Association for Cancer Research and the Japanese Cancer Association, Waikoloa Hawaii, USA	2010
157	和田悠作、松浦正明、菅原稔、牛嶋大、宮田敏、長崎光一、三木義男、野田哲生	癌研究所	Gene Chip Exon array を用いた新規融合遺伝子探索方法の開発	第 69 回日本癌学会 学術総会	2010
158	元井崇太郎、水野裕貴、手塚智也、長島弘明、興相順也、小中原收、増保安彦	東京理科大学薬学部	タンデム Fc 型改変抗体による サイトカインとケモカインの産生誘導	日本薬学会 130 回 年会	2010
159	大坪美知子、深澤瑞紀、元井崇太郎、長島弘明、小中原收、増保安彦	東京理科大学薬学部	タンデム Fc 型改変抗体のがん細胞貪食促進活性	日本薬学会 130 回 年会	2010
160	伊藤悠美、金森崇、上田卓也	東京大学新領域	ナノリポ蛋白質粒子を用いた再構成型無細胞膜蛋白質合成系の確立	第 10 回日本蛋白質科学会年会	2010
161	浜窪隆雄		「肝がん治療用抗 Robo1 抗体の分子デザイン」	BMB学会、第 18 会場 神戸国際展示場、神戸 2010/12/09	2010
162	松原主典、庄屋雄二、立石能子、松田治男	広島大学・大学院生物圏国立循環器病センター	リンパ管新生モデルを用いたリンパ管新生抑制物質の検討	日本農芸化学会	2011 年会 (3 月) (発表予定)
163	水野裕貴、深澤瑞紀、長島弘明、興相順也、小中原收、増保安彦	東京理科大学薬学部	タンデム Fc 型改変抗体のサイトカイン・ケモカイン産生誘導と制がん活性	日本薬学会 131 回 年会	2011

164	深澤瑞紀、水野裕貴、大坪美知子、長島弘明、興相順也、小中原收、増保安彦	東京理科大学薬学部	タンDEM Fc型改変抗体の抗体依存性貪食活性および抗腫瘍活性評価	日本薬学会 131 回 年会	2011
165	金子要、長島弘明、山野井彩香、元井崇太郎、小中原收、興相順也、増保安彦	東京理科大学薬学部	多量体化 Fc と II 型 TNF 受容体細胞外ドメインとの融合体	日本薬学会 131 回 年会	2011

【新聞・マスコミ・その他 発表】 研究開発項目①「系統的な高特異性抗体創製技術」

番号	会社名	内容	掲載物	掲載日
001	東京理科大学	「薬学会 東京理科大学 Fc 部分を多量体化することで抗体の ADCC 活性を 100 倍弱増強」の見出しで発表された。	日経バイオテック	2007 年 4 月 9 日
002	東京理科大学	「東京理科大学 抗体医薬の活性 100 倍に遺伝子を改変 根元部分長く」の見出しで発表された。	日経産業新聞	2007 年 11 月 14 日
003	京都大学再生医科学研究所	平成 19 年度「上原賞」受賞者決定	読売新聞	2008 年 3 月 20 日
004	京都大学再生医科学研究所	免疫細胞活性化へのタンパク質を発見「がん療法に道	京都新聞	2008 年 7 月 8 日
005	京都大学再生医科学研究所	免疫制御細胞 世界で初めて特定	産経新聞	2008 年 9 月 10 日
006	京都大学再生医科学研究所	慶応医学賞に京大の坂口氏	京都新聞	2008 年 10 月 3 日
007	京都大学再生医科学研究所	免疫強化、がん消滅 京大がマウス実験成功	産経新聞	2008 年 10 月 10 日
008	京都大学再生医科学研究所	免疫反応抑制に仕組み解明 制御性 T 細胞マウスで実験	京都新聞	2008 年 10 月 10 日
009	京都大学再生医科学研究所	免疫反応を強化→がん細胞消滅	産経新聞	2008 年 10 月 10 日
010	京都大学再生医科学研究所	免疫細胞を 2 種に分類	産経新聞	2009 年 5 月 22 日
011	京都大学再生医科学研究所	制御リンパ球は 2 種類	京都新聞	2009 年 5 月 22 日
012	京都大学再生医科学研究所	免疫制御の細胞 目印発見	朝日新聞	2009 年 5 月 26 日
013	東京大学先端科学センター、自然科学研究機構	脳膜タンパク質 DHHHC 2, 3 の抗体作製により、自然科学研究機構 生理学研究所 深田正紀教授との共同研究として	JST よりプレスリリース	2009 年 7 月 13 日

	構			
014	京都大学再生医 科学研究所	免疫制御、難病治療に道	日経産業新聞	2009年8月7日
015	京都大学再生医 科学研究所	生命科学の両雄、世界リード	日本経済新聞	2009年10月29日
016	京都大学再生医 科学研究所	免疫疾患の治療に情熱	京都新聞	2009年11月2日
017	癌研究会	カイオム 抗がん剤抗体 癌研と作製	日経産業新聞	2010年2月
018	カイオム・バイオ サイエンス	カイオム 抗がん剤抗体 癌研と作製	日経産業新聞	2010年2月22日
019	カイオム・バイオ サイエンス	カイオム・バイオサイエンス、癌研と抗腫瘍抗 体作製の共同研究開始	Biotechnology Japan	2010年2月22日
020	カイオム・バイオ サイエンス	カイオムと癌研究会が膜タンパク質に対する 抗体作製で共同研究を開始	カイオム・バイオ サイエンス プレスリリース	2010年2月22日
021	カイオム・バイオ サイエンス	バイオベンチャーで革命 抗体の効率的製造 方法を確立	毎日新聞	2011年1月6日

特許、論文、外部発表等の件数（内訳）

区分 年度	国内	外国	PCT*出願	査読付き	学会発表	その他外部発表 (プレス発表等)
H18FY	2件	0件	0件	3件	29件	0件
H19FY	11件	4件	2件	18件	33件	5件
H20FY	7件	1件	0件	11件	33件	0件
H21FY	11件	0件	0件	9件	30件	10件
H22FY	3件	0件	0件	27件	44件	10件

[知的所有権]

研究開発項目②「高効率な抗体分離精製技術」

番号	出願者	出願番号	国内 外国 PCT	出願日	状態	名称	発明者
001	独立行政 法人産業 技術総合 研究所	特願 2006-276468	国内	2006/10/10	出願済	タンパク質の配向制御 固定化に適したタンパ ク質及びその製造方法	巖倉 正寛、広田 潔 憲、曾田 裕行、皿良 剛、有賀 由樹子、山 子 知織
002	国立大学 法人 東北大学	PCT/JP2006/ 320571	PCT	2006/10/16	出願済	高機能性二重特異性抗 体	熊谷 泉、浅野竜太郎
003	独立行政 法人産業 技術総合 研究所	特願 2007-057791	国内	2007/3/7	出願済	タンパク質の配向制御 固定化に適したタンパ ク質	巖倉 正寛、広田 潔 憲、曾田 裕行、皿良 剛、有賀 由樹子、山 子 知織
004	独立行政 法人産業 技術総合 研究所	特願 2007-059175	国内	2007/3/8	出願済	タンパク質の配向制御 固定化に適したタンパ ク質を固定化した担体	巖倉 正寛、広田 潔 憲、曾田 裕行、皿良 剛、有賀 由樹子、山 子 知織
005	独立行政 法人産業 技術総合 研究所	特願 2007-059204	国内	2007/3/8	出願済	タンパク質の配向制御 固定化に適したタンパ ク質を設計する方法	巖倉 正寛、広田 潔 憲、曾田 裕行、皿良 剛、有賀 由樹子、山 子 知織
006	独立行政 法人産業 技術総合 研究所	特願 2007-112175	国内	2007/04/20	出願済	リジン及びシステイン 残基を含まないタンパ ク質	巖倉 正寛、広田 潔 憲、曾田 裕行、皿良 剛、高橋 尚、有賀 由 樹子、山子 知織
007	独立行政 法人産業 技術総合 研究所研 究所	特願 2007-112218	国内	2007/04/20	出願済	アミノ末端1箇所配 向制御固定化された固 定化タンパク質	巖倉 正寛、広田 潔 憲、曾田 裕行、皿良 剛、高橋 尚、山子 知 織、有賀 由樹子
		PCT/JP2008/ 057481	PCT	2008/04/17	出願済		
		米国 12/596600	米国	2009/10/19	出願済		
008	独立行政 法人産業 技術総合 研究所	特願 2007-123812	国内	2007/05/08	出願済	リジン及びシステイン 残基を含まないタンパ ク質の製造方法	巖倉 正寛、広田 潔 憲、曾田 裕行、皿良 剛、高橋 尚、有賀 由 樹子、山子 知織
009	独立行政 法人産業 技術総合 研究所	米国 11/758629	米国	2007/06/05	出願済	配向制御したタンパク 質の固定化方法および それを利用したタンパ ク質の整列固定化方法	巖倉 正寛、広田 潔 憲
010	独立行政 法人産業 技術総合 研究所	PCT/JP2007/ 069722	米国	2007/10/10	出願済	タンパク質の配向制御 固定化に適したタンパ ク質及び当該タンパク 質の固定化担体	巖倉 正寛、広田 潔 憲、曾田 裕行、皿良 剛、有賀 由樹子、山 子 知織

		米国 12/443623	米国	2007/10/10	出願済		巖倉 正寛、広田 潔 憲、曾田 裕行、皿良 剛、高橋 尚、有賀 由 樹子、山子 知織
011	独立行政 法人産業 技術総合 研究所	特願 2007-272442	国内	2007/10/19	出願済	安定な変異型タンパク 質の製造方法	本田 真也、澤田 義 人、松丸 裕之
		PCT/JP2008/ 068861	PCT	2008/8/5	出願済		
012	独立行政 法人産業 技術総合 研究所	特願 2007-291872	国内	2007/11/09	出願済	極微小タンパク質およ びその結晶	本田 真也、秋葉 俊 彦、石村 美雪、大石 郁子、小田原 孝行、 原田 一明
013	独立行政 法人産業 技術総合 研究所	特願 2007-293726	国内	2007/11/12	出願済	安定な抗体結合性タン パク質	本田 真也、松丸 裕 之、渡邊 秀樹、大石 郁子、馮 延文
014	独立行政 法人産業 技術総合 研究所	特願 2007-316752	国内	2007/12/07	出願済	変異型タンパク質のア ミノ酸配列設計方法お よび装置	本田 真也、澤田 義 人
015	独立行政 法人産業 技術総合 研究所 島津製作 所	特願 2007-336879	国内	2007/12/27	出願済	タンパク質アレイ基板	広田 潔憲、巖倉 正 寛、檜山 哲夫、阿久 根 智、松尾 拓平
016	独立行政 法人産業 技術総合 研究所	(国内) 特願 2008-044609 (2007-31675 2 に基づく 優先権主張)	(国際) 未	2008/2/26	出願済	変異型タンパク質のア ミノ酸配列設計方法お よび装置	本田 真也、澤田 義 人
017	独立行政 法人産業 技術総合 研究所	特願 2008-129342	国内	2008/5/16	出願済	弱酸性域での解離特性 を改良した抗体結合性 タンパク質及び抗体捕 捉剤	本田 真也、渡邊 秀 樹、松丸 裕之、馮 延 文
018	独立行政 法人産業 技術総合 研究所	特願 2008-254189	国内	2008/9/30	出願済	弱酸性域での易解離性 を向上したプロテイン A 変異型タンパク質及 び抗体捕捉剤	本田 真也、松丸 裕 之、馮 延文、渡邊 秀 樹、大石 郁子
019	独立行政 法人産業 技術総合 研究所	特願 2009-007538 (2008-12934 2 に基づく 優先権主張)	国内	2009/2/16	出願済	弱酸性域での解離特性 を改良した抗体結合性 タンパク質及び抗体捕 捉剤	本田 真也、渡邊 秀 樹、松丸 裕之、馮 延 文
020	独立行政 法人産業 技術総合 研究所 株式会社 島津製作 所	特願 2008-301503	国内	2008/11/26	出願済	分注方法	巖倉 正寛、広田 潔 憲、藤井 英彦、濱崎 勇二

021	独立行政 法人産業 技術総合 研究所	特願 2008-305285	国内	2008/11/28	出願済	モノリスゲルを用いた タンパク質アレイ用検 出および解析システム	広田 潔憲、巖倉 正 寛、水口 博義
022	独立行政 法人産業 技術総合 研究所	特願 2008-305352	国内	2008/11/28	出願済	タンパク質アレイを用 いた検出および解析方 法	広田 潔憲、巖倉 正 寛、藤井 英彦、濱崎 勇二、阿久根 智、檜 山 哲夫、今井 克行
023	独立行政 法人産業 技術総合 研究所	特願 2009-290887	国内	2009/12/22	出願済	固体化タンパク質	巖倉 正寛、広田 潔 憲
024	独立行政 法人産業 技術総合 研究所	特願 2009-291152	国内	2009/12/22	出願済	固定化タンパク質の製 造方法	巖倉 正寛、広田 潔 憲
025	独立行政 法人産業 技術総合 研究所	特願 2009-291032	国内	2009/12/22	出願済	固定化タンパク質作製 用活性化担体	巖倉 正寛、広田 潔 憲
026	独立行政 法人産業 技術総合 研究所	特願 2009-129895	国内	2009/5/29	出願済	シアノシステインを介 した切断の自動反応装 置	巖倉 正寛
027	独立行政 法人産業 技術総合 研究所	特願 2009-104625	国内	2009/04/23	出願済	液体クロマトグラフィ ーを用いたタンパク質 分離精製装置	巖倉 正寛 皿良 剛
028	A G C エ スアイテ ック	特願 2009-147990	国内	2009/6/22	出願済	新規なプロテインA固 定化担体の製造方法	野村 育代、宮原 浩 嘉、井上 真樹
029	独立行政 法人産業 技術総合 研究所	特願 2010-015416	国内	2010/01/27	出願済 (優先 権)	液体クロマトグラフィ ーを用いたタンパク質 分離精製装置	巖倉 正寛 皿良 剛
030	独立行政 法人産業 技術総合 研究所	特願 2010-080203	国内	2010/3/31	出願済	液体クロマトグラフィ ー装置	巖倉 正寛
031	独立行政 法人産業 技術総合 研究所 株式会社 京都モノ テック	特願 2010-101201	国内	2010/04/26	出願済	溶液中のイムノグロブ リン量の測定方法	巖倉 正寛 水口博義 大崎 隆
032	独立行政 法人産業 技術総合 研究所 株式会社 京都モノ テック	特願 2010-150314	国内	2010/6/30	出願済	固定化タンパク質およ び固定化タンパク質作 製用活性化担体	巖倉 正寛 水口博義 大崎 隆

実用新案

研究開発項目②「高効率な抗体分離精製技術」

番号	出願人	出願番号		出願日	状態	名称	発明人
	独立行政 法人産業 技術総合 研究所 株式会社 京都モノ テック	(国内) 実願 2008-00817 9	(国際) 未	2008/11/ 21	登録	抗体精製用チップ	水口 博義、巖倉 正 寛、広田 潔憲

[論文・文献発表]

研究開発項目②「高効率な抗体分離精製技術」

番号	発表者	所属	タイトル	発表誌名、ページ番号	査読	発表年
001	巖倉正寛、曾田裕行、広田潔憲、本田真也	独立行政法人産業技術総合研究所	【依頼総説】バイオロジカルズ製造の最適化を目指して：テラーメイド精製技術プラットフォーム	ケミカルエンジニアリング	無	2006
002	Shiroishi M, Kuroki K, Ose T, Rasubala L, Shiratori I, Arase H, Tsumoto K, Kumagai I, Kohda D, Maenaka K	東北大学	Efficient leukocyte Ig-like receptor signaling and crystal structure of disulfide-linked HLA-G dimer	<i>J Biol Chem</i> , 281(15), 10439-10447	有	2006
003	Asano R, Sone Y, Makabe K, Tsumoto K, Hayashi H, Katayose Y, Unno M, Kudo T, Kumagai I	東北大学	Humanization of the bispecific epidermal growth factor receptor x CD3 diabody and its efficacy as a potential clinical reagent.	<i>Clin Cancer Res</i> 12(13), 4036-4042	有	2006
004	Shiroishi M, Kuroki K, Rasubala L, Tsumoto K, Kumagai I, Kurimoto E, Kato K, Kohda D, Maenaka K	東北大学	Structural basis for recognition of the nonclassical MHC molecule HLA-G by the leukocyte Ig-like receptor B2 (LILRB2/LIR2/ILT4/CD85d)	<i>Proc Natl Acad Sci USA</i> 103(44), 16412-16417	有	2006
005	熊谷 泉, 林 洋毅, 浅野 竜太郎	東北大学	抗 EGF レセプター・抗 CD3 二重特異性抗体の抗腫瘍作用	臨床免疫	無	2006
006	大政健史	大阪大学	「工業動物細胞」のゲノム解析 10g/l へ向けたチャレンジ	化学と生物 vol. 45, No. 1, pp. 9-11	無	2007
007	大政健史、奥村一夫	大阪大学 / 東洋紡績	「抗体医薬の生産技術 -実プロセスの紹介と今後の展望-」	「抗体医薬の最前線」シーエムシー出版 (分担執筆)	無	2007
008	Watanabe H, Tsumoto K, Taguchi S, Yamashita K, Doi Y, Nishimiya Y, Kondo H, Umetsu M, Kumagai I	東北大学	A human antibody fragment with high affinity for the surface of biodegradable plastic	<i>Bioconjugate Chem</i> 18(3), 645-651	有	2007
009	Shiroishi M, Tsumoto K, Tanaka Y, Yokota A, Nakanishi T, Kondo H, Kumagai I	東北大学	Structural consequences of mutations in interfacial Tyr residues of a protein antigen-antibody complex. The case of HyHEL-10-HEL	<i>J Biol Chem</i> 282(9), 6783-6791	有	2007
010	Asano R, Watanabe Y, Kawaguchi H, Fukazawa H., Nakanishi T, Umetsu M, Hayashi H, Katayose Y,	東北大学	Highly effective recombinant format of a humanized IgG-like bispecific antibody for cancer immunotherapy with	<i>J Biol Chem</i> 282(38), 27659-27665	有	2007

	Unno M, Kudo T, Kumagai I		retargeting of lymphocytes to tumor cells.			
011	中西 猛, 熊谷 泉	東北大学	抗体ライブラリー技術の現状と今後の展望	細胞工学	無	2007
012	熊谷 泉, 浅野竜太郎, 中西 猛	東北大学	抗体ドメインの積み木細工による高機能化と医用への展開	抗体医薬の最前線	無	2007
013	<u>Yamamoto S, Nakamura M, Tarmann C, Jungbauer A.</u>	山口大学	Retention studies of DNA on anion-exchange monolith chromatography:	<i>J. Chromatography A</i> , 9;1144(1):155-60	有	2007
014	Wen-Yih Chen, Ming-Shen Lin, Po-Hsun Lin, Pei-Shun Tasi, Yung Chang and Shuichi Yamamoto	山口大学	Studies of the interaction mechanism between single strand and double-strand DNA with hydroxyapatite by microcalorimetry and isotherm measurements	<i>Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects</i> , Volume 295, Issues 1-3, Pages 274-283	有	2007
015	W-Yih Chen, Z-C.Liu, L.P.Hsun, C-I.Fang, Shuichi Yamamoto	山口大学	The hydrophobic interactions of the ion-exchanger resin ligands with proteins at high salt concentrations by adsorption isotherms and isothermal titration calorimetry"	<i>Separation and Purification Technology</i> , Volume 54, , Pages 212-219	有	2007
016	Shuichi Yamamoto, Sachie Fujii, Noriko Yoshimoto and Parvin Akbarzadehlaleh	山口大学	Effect of Protein Conformational Changes on Separation Performance in Chromatography: Unfolded and PEGylated proteins	<i>Journal of Biotechnology</i> vol.132 ,pp .196-201	有	2007
017	Yamamoto, S., Hakoda, M., Oda, T., Hosono, M.	山口大学	Rational method for designing efficient separations by chromatography on polystyrene-divinylbenzene resins eluted with aqueous ethanol	<i>Journal of Chromatography A</i> , 1162 , pp. 50-55	有	2007
018	Ishihara, T., Kadoya, T., Yamamoto, S	山口大学	Application of a chromatography model with linear gradient elution experimental data to the rapid scale-up in ion-exchange process chromatography of proteins	<i>Journal of Chromatography A</i> , 1162 , pp. 34-40,	有	2007
019	Arakawa T, Tsumoto K, Kita Y, Chang B and Ejima D	東京大新領域	Biotechnology applications of amino acids in protein	<i>Amino Acids</i> 33, 587-605	有	2007

			purification and formulations			
020	Tsumoto K, Ejima D, Senczuk A.M, Kita Y and Arakawa	東京大新領域	T Effects of salts on protein-surface interactions: applications for column chromatography.	<i>J Pharmaceut. Sci.</i> 96, 1677-1690	有	2007
021	Tsumoto K, Ejima D, Nagase K and Arakawa T.	東京大新領域	Arginine improves protein elution in hydrophobic interaction chromatography. The cases of human interleukin-6 and activin-A	<i>J. Chromatogr. A</i> 1154, 81-86	有	2007
022	Arakawa T, Tsumoto K, Nagase K and Ejima D	東京大新領域	The effects of arginine on protein binding and elution in hydrophobic interaction and ion-exchange chromatography.	<i>Protein Expr. Purif.</i> 54, 110-116	有	2007
023	T, Ejima D, Tsumoto K, Obeyama N, Tanaka Y, Kita Y and Timasheff S.N.	東京大新領域	Suppression of protein interactions by arginine: A proposed mechanism of arginine effects.	<i>Biophys Chem.</i> 127, 1-8	有	2007
024	Ejima D, Tsumoto K, Fukada H, Yumioka R, Nagase K, Arakawa T and Philo J.S.	東京大新領域	Effects of acid exposure on the conformation, stability, and aggregation of monoclonal antibodies.	<i>Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics</i> 66, 954-962	有	2007
025	T. Arakawa, J.S. Philo, D. Ejima and K. Tsumoto	東京大新領域	Aggregation Analysis of Therapeutic Proteins, Part 2. Analytical Ultracentrifugation and Dynamic Light Scattering.	<i>BioProcess International</i> 5(4), 36-47	有	2007
026	T. Arakawa, J.S. Philo, D. Ejima and K. Tsumoto	東京大新領域	Aggregation Analysis of Therapeutic Proteins, Part 3 Principles and Optimization of Field-Flow Fractionation (FFF)	<i>BioProcess International</i> 5(11), 52-70	有	2007
027	S HONDA, T AKIBA, Y S KATO, Y SAWADA, M SEKIJIMA, M ISHIMURA, A OOISHI, H WATANABE, T ODAHARA and K HARATA	独立行政法人産業技術総合研究所	Crystal Structure of a Ten-Amino Acid Protein	<i>JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY</i> 130(46), 15327-15331	有	2008.
028	大政健史	大阪大学	Chinese hamster ovary (CHO)細胞のBACライブラリー構築とその活用	日本生物工学会誌 vol.86 No.8 p.393-395	無	2008
029	Hattori T, Umetsu M, Nakanishi T, Tsumoto K, Ohara S, Abe H, Naito M, Asano R, Adschiri T,	東北大学	Grafting of material-binding function into antibodies Functionalization by peptide grafting	<i>Biochem Biophys Res Commun</i> 365(4),	有	2008

	Kumagai I			751-757		
030	Makabe K, Nakanishi T, Tsumoto K, Tanaka Y, Kondo H, Umetsu M, Sone Y, Asano R, Kumagai I	東北大学	Thermodynamic consequences of mutations in Vernier zone residues of a humanized anti-human epidermal growth factor receptor murine antibody, 528	<i>J Biol Chem</i> 283(2), 1156-1166	有	2008
031	Nakanishi T, Tsumoto K, Yokota A, Kondo H, Kumagai I	東北大学	Critical Contribution of VH-VL Interaction to Reshaping of an Antibody: The case of humanization of anti-lysozyme antibody, HyHEL-10	<i>Protein Sci</i> 17(2), 261-270	有	2008
032	Tsumoto K, Yokota A, Tanaka Y, Ui M, Tsumuraya T, Fujii I, Kumagai I, Nagumo Y, Oguri H, Inoue M, Hiramata M	東北大学	Critical contribution of aromatic rings to specific recognition of polyether rings. The case of ciguatera toxin CTX3C-ABC and its specific antibody 1C49	<i>J Biol Chem</i> 283(18), 12259-12266	有	2008
033	Sogo T, Kawahara M, Tsumoto K, Kumagai I, Ueda H, Nagamune T	東北大学	Selective expansion of genetically modified T cells using an antibody/interleukin-2 receptor chimera	<i>J Immunol Meth</i> 337(1), 16-23	有	2008
034	熊谷 泉, 浅野竜太郎	東北大学	リンパ球とがん細胞を認識するヒト型化二重特異性抗体,	<i>Drug Delivery System</i> 23(5), 518-525	無	2008
035	Asano R, Sone Y, Ikoma K, Hayashi H, Nakanishi T, Umetsu M, Katayose Y, Unno M, Kudo T, Kumagai I	東北大学	Preferential heterodimerization of a bispecific diabody based on a humanized anti-EGFR antibody 528	<i>Protein Eng Des Sel</i> 21(10), 597-603	有	2008
036	Asano R, Kawaguchi H, Watanabe Y, Nakanishi T, Umetsu M, Hayashi H, Katayose Y, Unno M, Kudo T, Kumagai I	東北大学	Diabody-based recombinant formats of humanized IgG-like bispecific antibody with effective retargeting of lymphocytes to tumor cells.	<i>J Immunother</i> 31(8), 752-761	有	2008
037	Umetsu M, Hattori T, Kikuchi S, Muto I, Nakanishi T, Watanabe H, Kumagai I	東北大学	Nanoparticles with affinity for biopolymer - Bioassisted room-temperature selective multistacking of inorganic particles on biopolymer film -	<i>J Mater Res</i> 23(12), 3241-3246	有	2008
038	Watanabe H, Nakanishi T, Umetsu M, Kumagai I	東北大学	Human Anti-gold Antibodies: BIOFUNCTIONALIZATION OF GOLD NANOPARTICLES AND SURFACES WITH ANTI-GOLD ANTIBODIES.	<i>J Biol Chem</i> 283(51), 36031-36038	有	2008
039	村上聖, 山本修一	山口大学	抗体医薬培養精製工程のモデル化と最適化	抗体医薬の最前線(単行本)、シーエムシー出版, 第23章(分担執筆),	無	2008

				pp. 259~271		
040	Noriko Yoshimoto, Y. Nishijima, P. Akbarzadehlaleh, S. Fujii, M. Abe and S. Yamamoto	山口大学	Micro-Plate Based Monolithic Ion-Exchange Chromatography for High Throughput Protein Purification Process Design.	<i>Journal of Chemical Engineering of Japan</i> Vol. 41, pp. 200 -205	有	2008
041	山本修一	山口大学	バイオ医薬品のクロマトグラ フィー分離プロセス	分離技術 Vol. 38, , pp. 194- 200	無	2008
042	Nakakido M, Tanaka Y, Mitsuhoori M, Kudou M, Ejima D, Arakawa T and Tsumoto K.	東京大新領 域	Structure-based analysis reveals hydration changes induced by arginine hydrochloride.	<i>Biophys. Chem.</i> 137, 105-109	有	2008
043	Abe R, Kudou M, Tanaka Y, Arakawa T and Tsumoto K.	東京大新領 域	Immobilized metal affinity chromatography in the presence of arginine.	<i>Biochem. Biophys. Res. Commun.</i> 381, 306-310	有	2009
044	Y SAWADA, S HONDA.	独立行政法 人産業技術 総合研究所	ProSeg: a database of local structures of protein segments	<i>JOURNAL OF COMPUTER-A IDED MOLECULAR DESIGN</i> 23(3), 163-169	有	2009
045	Watanabe H, Matsumaru H, Ooishi A, Feng Y, Odahara T, Suto K, Honda S.	独立行政法 人産業技術 総合研究所	Optimizing pH-response of affinity between Protein G and IgG Fc: How electrostatic modulations affect protein-protein interactions	<i>JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY</i> 2 84(18), 12373-1238 3	有	2009
046	本田真也	独立行政法 人産業技術 総合研究所	タンパク質のミニマルデザイ ン：スーパーシニョリンの構 造とゆらぎ	生物物理 49, 126-129	有	2009
047	大政健史 他	大阪大学	タンパク質医薬品生産宿主と しての Chinese hamster ovary (CHO)細胞ゲノム解析 —特に 染色体の変化について—	ソフトウェ アバイオロ ジー第8巻、 pp. 11-13	無	2009
048	Omasa T, Cao Y, Park JY, Takagi Y, Kimura S, Yano H, Honda K, Asakawa S, Shimizu N and Ohtake H	大阪大学	Bacterial artificial chromosome library for genome-wide analysis of Chinese hamster ovary cells	<i>Biotech Bioeng</i> Volume 104, No. 5, pp. 986-994	有	2009
049	熊谷 泉, 浅野竜太郎	東北大学	次世代抗体医薬の分子設計	ケミカルエ ンジヤリ ング 54(1), 65-71	無	2009
050	浅野竜太郎, 熊谷 泉	東北大学	がん免疫療法への応用研究を目 指した抗体-diabody-	バイオ医薬 の開発技術 とシーズ	無	2009

				151-161		
051	Ose T, Kuroki K, Matsushima M, Maenaka K, Kumagai I	東北大学	Importance of the hydrogen bonding network including Asp52 for catalysis, as revealed by Asn59 mutant hen egg-white lysozymes	<i>J Biochem</i> 146(5), 651-657	有	2009
052	Shuichi Yamamoto, Noriko Yoshimoto, Yukiko Nishizumi	山口大学	Theoretical background of monolithic short layer ion-exchange chromatography for separation of charged large biomolecules or bioparticles	<i>Journal of Chromatography A</i> , Vol. 1216, pp. 2612-2615	有	2009
053	Shuichi Yamamoto, Noriko Yoshimoto, Christina Tarmann, Alois Jungbauer	山口大学	Binding site and elution behavior of DNA and other large biomolecules in monolithic anion-exchange chromatography	<i>Journal of Chromatography A</i> , Vol. 1216, pp. 2616-2620	有	2009
054	Nakakido M, Kudou M, Arakawa T, and Tsumoto K.	東京大新領域	To be excluded or to bind, that is the question: Arginine effects on proteins	<i>Curr. Pharm. Biotechnol.</i> 10, 415-420	有	2009
055	Futatsumori-Sugai M, Abe R, Watanabe M, Kudou M, Yamamoto T, Ejima D, Arakawa T, and Tsumoto K.	東京大新領域	Utilization of an arginine-elution method for FLAG-tag chromatography	<i>Protein Expr Purif.</i> 67, 148-155	有	2009
056	曾田裕行	独立行政法人産業技術総合研究所	蛋白質医薬品製造技術の動向-抗体医薬を中心に-(第1編 第2章)	「抗体医薬のための細胞構築と培養技術」シーエムシー出版(分担執筆)	無	2010
057	広田潔憲、曾田裕行、巖倉正寛	独立行政法人産業技術総合研究所	抗体医薬品におけるテーラーメイド精製技術を目指した新規アフィニティ精製リガンド開発(第6編 第6章)	「抗体医薬のための細胞構築と培養技術」シーエムシー出版(分担執筆)	無	2010
058	渡邊 秀樹、本田 真也	独立行政法人産業技術総合研究所	分子デザインによる抗体精製用蛋白質プロテインGの安定性およびpH応答性の論理的改変	<i>BIO INDUSTRY</i> 27(12), 72-78	無	2010
059	巖倉正寛、広田潔憲、本田真也	独立行政法人産業技術総合研究所	バイオ医薬の製造技術について考える-連載の開始にあたり-	<i>PHARM TECH JAPAN</i> 26(12), 29-33	無	2010
060	大政健史 他	大阪大学/徳島大学	「細胞培養の始まりと意義」 「新しいDNAチップ“3D-Gene”を用いた解析法とその応用」 「細胞培養におけるカイネティ	「抗体医薬のための細胞構築と培養技術」シー	無	2010

			ックス—培養方法および解析方法を中心に—」	エムシー出版(分担執筆、監修)		
061	Wook-Dong Kim、大政健史 他	大阪大学	「バイオシミラー生産における課題および今後の展開—主として細胞株構築、培養プロセス構築の観点から—」	「バイオシミラー医薬品の開発状況および今後の展開」情報機構(分担執筆)	無	2010
062	Wook-Dong Kim、大政健史 他	大阪大学	動物細胞による医薬品タンパク質生産	「酵素利用技術体系」エヌ・ティー・エス(分担執筆)	無	2010
063	大政健史	大阪大学/ 徳島大学	タンパク質の品質管理機構を応用した生産性向上手法	日本生物工学会誌 Vol. 88, No. 12, pp. 649-651	無	2010
064	大政健史	大阪大学/ 徳島大学	動物細胞を用いたタンパク質生産—そのポテンシャルは如何ほどか—	酵素工学ニユース Vol. 64 pp. 26-30	無	2010
065	大政健史 他	大阪大学/ 徳島大学	生産細胞の品質保証について考える—はたしてゲノム解析はパンドラの匣か—	<i>PHARM TECH JAPAN</i> vol. 26, No. 13, pp. 95-102	無	2010
066	大政健史	大阪大学	動物細胞による医薬品タンパク質生産の現状	化学と生物 vol. 48, No. 4, pp. 255-262	無	2010
067	Omasa T, Kim W.D. Onitsuka M	大阪大学/ 徳島大学	Cell engineering and cultivation of Chinese hamster ovary (CHO) cells	<i>Current Pharmaceutical Biotechnology</i> vol. 11, pp. 233-240	有	2010
068	Park JY, Yamatani M, Wadano S, Takagi Y, Honda K, Omasa T and Ohtake H	大阪大学	Effects of palindrome structure on <i>Dhfr</i> amplification in Chinese hamster ovary cells	<i>Process Biochem</i> Vol. 45, pp. 1845-1851	有	2010
069	Park JY, Takagi Y, Yamatani M, Honda K, Asakawa S, Shimizu N, Omasa T, and Ohtake H	大阪大学	Identification and analysis of specific chromosomal region adjacent to exogenous <i>Dhfr</i> -amplified region in Chinese hamster ovary cell genome	<i>J Biosci Bioeng</i> Vol. 109, Number 5, pp. 504-511	有	2010
070	Kim WD, Tokunaga M, Ozaki H, Ishibashi T, Honda K, Kajiura H, Fujiyama K,	大阪大学/ 東北大学/ 東洋紡バイ	Glycosylation pattern of humanized IgG-like bispecific antibody produced by	<i>Applied Microbiol Biotechnol</i>	有	2010

	Ryutaro Asano R, Kumagai I, Omasa T, and Ohtake H	オロジックス	recombinant CHO cells	Volume 85, pp. 535-542		
071	Omasa T, Furuichi K, Iemura T, Katakura Y, Kishimoto M, and Suga K	大阪大学	Enhanced antibody production following intermediate addition based on flux analysis in mammalian cell continuous culture	<i>Bioprocess Biosys Eng</i> Volume 33, No. 1 pp. 117-125	有	2010
072	Hattori T, Umetsu M, Nakanishi T, Togashi T, Yokoo N, Abe H, Ohara S, Adschiri T, Kumagai I	東北大学	High-affinity anti-inorganic-material antibody generation by integrating graft and evolution technologies: The potential of antibodies as biointerface molecules	<i>J Biol Chem</i> 285(10), 7784-7793	有	2010
073	Yokota A, Tsumoto K, Shiroishi M, Nakanishi T, Kondo H, Kumagai I	東北大学	Contribution of asparagine residues to the stabilization of a proteinaceous antigen-antibody complex: HyHEL-10-HE	<i>J Biol Chem</i> 285(10), 7686-7696	有	2010
074	Asano R, Ikoma K, Kawaguchi H, Ishiyama Y, Nakanishi T, Umetsu M, Hayashi H, Katayose Y, Unno M, Kudo T, Kumagai I	東北大学	Application of the Fc fusion format to generate tag-free bi-specific diabodies	<i>FEBS J</i> 277(1), 477-487	有	2010
075	Yokoo N, Togashi T, Umetsu M, Tsumoto K, Hattori T, Nakanishi T, Ohara S, Takami S, Naka T, Abe H, Kumagai I, Adschiri T	東北大学	Direct and Selective Immobilization of Proteins by Means of an Inorganic Material-Binding Peptide: Discussion on Functionalization in the Elongation to Material-Binding Peptide	<i>J Phys Chem B</i> 114(1), 480-486	有	2010
076	Badran A, Asano R, Nakayama M, Watanabe Y, Nakanishi T, Umetsu M, Hayashi H, Katayose Y, Unno M, Kumagai I	東北大学	Target cell-restricted apoptosis induction by 528scFv-TRAIL fusion protein specific for human EGFR and expressed in <i>Escherichia coli</i>	<i>Int J Oncol</i> 36(5), 1229-1234	有	2010
077	Kumagai I, Asano R, Nakanishi T, Hashikami K, Tanaka S, Badran A, Sanada H, Umetsu M	東北大学	Integration of PEGylation and refolding for renaturation of recombinant proteins from insoluble aggregates produced in	<i>J Biosci Bioeng.</i> 109(5), 447-452	有	2010

			bacteria–Application to a single-chain Fv fragment			
078	Umetsu M, Nakanishi T, Asano R, Hattori T, Kumagai I	東北大学	Protein–protein interactions and selection: generation of molecule–binding proteins on the basis of tertiary structural information	<i>FEBS J</i> 277(9), 2006–2014	有	2010
079	Ibii T, Kaieda M, Hatakeyama S, Shiotsuka H, Watanabe H, Umetsu M, Kumagai I, Imamura T	東北大学	Direct immobilization of gold–binding antibody fragments for immunosensor applications	<i>Anal Chem</i> 82(10), 4229–4235	有	2010
080	Asano R, Ikoma K, Sone Y, Kawaguchi H, Taki S, Hayashi H, Nakanishi T, Umetsu M, Katayose Y, Unno M, Kudo T, Kumagai I	東北大学	Highly enhanced cytotoxicity of a dimeric bispecific diabody, the hEx3 tetrabody	<i>J Biol Chem</i> 285(27), 20844–20849	有	2010
081	Kubota T, Matsushita T, Niwa R, Kumagai I, Nakamura K	東北大学	Novel anti–Tn single–chain Fv–Fc fusion proteins derived from immunized phage library and antibody Fc domain	<i>Anticancer Res</i> 30(9), 3397–3405	有	2010
082	Sasajima Y, Iwasaki R, Tsumoto K, Kumagai I, Ihara M, Ueda H	東北大学	Expression of antibody variable region–human alkaline phosphatase fusion proteins in mammalian cells	<i>J Immunol Methods</i> 361(1–2), 57–63	有	2010
083	Uchida H, Chan J, Goins WF, Grandi P, Kumagai I, Cohen JB, Glorioso JC	東北大学	A double mutation in glycoprotein gB compensates for ineffective gD–dependent initiation of herpes simplex virus type 1 infection.	<i>J Virol</i> 84(23), 12200–12209	有	2010
084	M. Abe Akbarzadehlaleh, M. Hamachi, .Yoshimoto, Yamamoto	山口大学	Interaction mechanism of mono–PEGylated proteins in electrostatic interaction chromatography	<i>Bio technology Journal</i> Vol. 5, pp. 477 –483	有	2010
085	Kouhei Tsumoto, Daisuke Ejima, Tsutomu Arakawa	東京大新領域	Review:Small molecule pharmacological chaperones: From thermodynamic stabilization to pharmaceutical drugs	<i>BBA</i> , 1764, 1677–1687	有	2006
086	Motonori Kudou; Daisuke Ejima; Haruna Sato; Ryosuke Yumioka; Tsutomu Arakawa; and Kouhei	東京大新領域	Refolding single–chain antibody (scFv) using lauroyl–L–glutamate as a solubilization detergent and	<i>Protein Exp. Purif.</i> in press	有	2010

	Tsumoto.		arginine as a refolding additive.			
087	Kudou M, Yumioka R, Ejima D, Arakawa T, Tsumoto K.	東京大新領域	A novel protein refolding system using lauroyl-l-glutamate as a solubilizing detergent and arginine as a folding assisting agent.	<i>Protein Expr Purif.</i> in press,	有	2010
088	Rahul S. Rajan, Kouhei Tsumoto, Masao Tokunaga, Hiroko Tokunaga, Yoshiko Kita and Tsutomu Arakawa	東京大新領域	Chemical and Pharmacological Chaperones: Application for Recombinant Protein Production and Protein Folding Diseases.	<i>Current Medicinal Chemistry</i> in press	有	2010
089	Tsumoto K, Arakawa T, Chen L.	東京大新領域	Step-Wise Refolding of Recombinant Proteins.	<i>Curr Pharm Biotechnol.</i> 11 (3) , 285-288	有	2010
090	Tsumoto K, Abe R, Ejima D, Arakawa T.	東京大新領域	Non-Denaturing Solubilization of Inclusion Bodies.	<i>Curr Pharm Biotechnol.</i> 11 (3) , 309-312	有	2010
091	Ryota Abe, Jose M. M. Caaveiro, Motonori Kudou and Kouhei Tsumoto	東京大新領域	Solubilization of Membrane Proteins with Novel N-Acylamino Acid Detergents.	<i>Mol. Biosyst.</i> 6 , 677-679	有	2010
092	Yumioka R, Tsumoto K, Arakawa T and Ejima D.	東京大新領域	Screening of effective column rinse solvent for Protein-A chromatography.	<i>Protein Exp. Purif.</i> 70 , 218-223	有	2010
093	広田潔憲、巖倉正寛	独立行政法人産業技術総合研究所	タンパク医薬の精製技術について考える -精製プロセスを構成する技術の俯瞰-	<i>PHARM TECH JAPAN</i> 27 (1)、63-75	無	2011
094	本田真也、有坂文雄、江島大輔	独立行政法人産業技術総合研究所	バイオ医薬の品質分析概論 前編	<i>PHARM TECH JAPAN</i> 27 (2)、259-267	無	2011
095	Asano R, Ikoma K, Shimomura I, Taki S, Nakanishi T, Umetsu M, Kumagai I	東北大学	Cytotoxic Enhancement of a Bispecific Diabody by Format Conversion to Tandem Single-chain Variable Fragment (taFv) THE CASE OF THE hEx3 DIABODY	<i>J Biol Chem</i> 286 (3), 1812-1818	有	2011
096	本田真也、有坂文雄、江島大輔	独立行政法人産業技術総合研究所	バイオ医薬の品質分析概論 後編	<i>PHARM TECH JAPAN</i>	無	印刷中

[学会・研究発表]

研究開発項目②「高効率な抗体分離精製技術」

番号	発表者	所属	発表内容	学会・研究名	発表年
001	巖倉正寛	独立行政法人産業技術総合研究所	【招待講演】DHFRの完全I残基変異ライブラリーの教えること	日本蛋白質科学会年会	2006
002	奥村一夫	東洋紡バイオロジックス(TBI)	バイオ医薬品製造技術の具体事例	ザルトリウス社主催「ダウンストリームテクノロジーフォーラム in Japan」	2006
003	本田真也	独立行政法人産業技術総合研究所	【招待講演】10アミノ酸の“タンパク質”、シニョリンの構造設計	日本蛋白質科学会年会	2006
004	熊谷 泉	東北大学	抗体工学の最近の進展	第6回日本蛋白質科学会年会	2006
005	浅野竜太郎, 川口博子, 熊谷 泉	東北大学	動物細胞発現系を用いて調製した新規二重特異性抗体の機能評価	第6回日本蛋白質科学会年会	2006
006	生駒桂子, 浅野竜太郎, 熊谷 泉	東北大学	動物細胞を用いたdiabody調製系の構築と新規組換え型二重特異性抗体の開発検討	第3回東北大学バイオサイエンスシンポジウム	2006
007	梅津光央, 熊谷 泉	東北大学	Fabrication of antibody with affinity for inorganic materials by CDR-grafting technique	Antibody Engineering Conference	2006
008	浅野竜太郎, 川口博子, 熊谷 泉	東北大学	Construction and characterization of effective recombinant IgG-like bispecific antibodies for cancer immunotherapy	Antibody Engineering Conference	2006
009	浅野竜太郎, 曾根由希子, 川口博子, 熊谷 泉	東北大学	In vivo efficacy of humanized diabody based on 528 mAb specific for EGFR antibody	20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress	2006
010	川口博子, 浅野竜太郎, 熊谷 泉	東北大学	Construction and characterization of novel recombinant bispecific antibodies for cancer Immunotherapy	20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress	2006
011	丸 喬光, 中西 猛, 浅野竜太郎, 熊谷 泉	東北大学	Affinity enhancement of the humanized anti-EGFR antibody fragment by phage display system	20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress	2006

012	熊谷 泉	東北大学	タンパク質フォールドの積木細工と医薬品への展開	第5回産学連携フォーラム in 仙台	2006
013	大政健史	大阪大学	新機能抗体生産技術へ向けたチャイニーズハムスター卵巣細胞ゲノム解析	大阪大学生命科学・生命工学シンポジウム	2006
014	浅野竜太郎, 曾根由希子, 川口博子, 熊谷 泉	東北大学	抗 EGFR 528mAb を用いたヒト型化 diabody の in vivo 効果	第5回産学連携フォーラム in 仙台	2006
015	生駒桂子, 浅野竜太郎, 熊谷 泉	東北大学	CHO 細胞を用いた diabody 調製系の構築と新規組換え型二重特異性抗体の開発検討	第5回産学連携フォーラム in 仙台	2006
016	中西 猛, 丸 喬光, 浅野竜太郎, 熊谷 泉	東北大学	ファージ提示法を用いたヒト型化抗 EGFR 抗体の親和性向上	第5回産学連携フォーラム in 仙台	2006
017	熊谷 泉	東北大学	抗体のエンジニアリング	第1回生体ナノマシン構造研究会	2006
018	熊谷 泉	東北大学	ファージ抗体を利用した相互作用解析と新機能抗体の創製	大阪大学蛋白質研究所セミナー	2006
019	熊谷 泉	東北大学	抗体分子からバイオインターフェイスへの展開	バイオジャパン 2006	2006
020	浅野竜太郎, 川口博子, 熊谷 泉	東北大学	ヒト型化抗体可変領域に基づく IgG 様二重特異性抗体の構築と機能評価	日本分子生物学会 2006 フォーラム	2006
021	生駒桂子, 浅野竜太郎, 熊谷 泉	東北大学	EGFR と CD3 を標的とした二重特異性 tandem scFv の構築と機能評価	日本分子生物学会 2006 フォーラム	2006
022	生駒桂子, 浅野竜太郎, 熊谷 泉	東北大学	Construction of novel effective recombinant antibodies for cancer immunotherapy	日本免疫学会総会	2006
023	熊谷 泉	東北大学	オープンセミナー基調講演「抗体のエンジニアリング」	第2回 北東北ナノメディカルクラスター研究会 ウィンターキャンプ	2006
024	Shuichi Yamamoto, Sachie Fujii, Noriko Yoshimoto and Parvin Akbarzadehlaleh	山口大学	"Effects of protein conformational changes on separation performance in electrostatic interaction chromatography: PEGylated proteins and unfolded proteins,	6TH European symposium on biochemical engineering science (ESBES6), Salzburg, Austria	2006
025	Shuichi Yamamoto, Sachie Fujii, Noriko Yoshimoto and Parvin Akbarzadehlaleh	山口大学	"Separation of protein variants by electrostatic interaction chromatography -Biorecognition mechanism as a function of pH	International Symposium on the Separation of Proteins, Peptides and Polynucleotides. (ISPPP) 2006, Innsbruck, Austria	2006
026	山本修一	山口大学	クロマトグラフィーにおける分子認識	化学工学会バイオ部会生物分離専門分科会セミナー 「分子認識と生物分離を考える」	2006

027	Shuichi Yamamoto, T. Ishihara	山口大学	Electrostatic interaction chromatography for separation of very similar proteins - effects of stationary and mobile phase properties	American Institute of Chemical Engineering, Annual meeting, San Francisco	2006
028	小林節夫	東洋紡バイオロジックス(TBI)	GMP 対応施設における抗体医薬製造について	第7回日本蛋白質化学会年会	2007
029	大政健史	大阪大学	チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞によるバイオ医薬品生産 -現状と課題-	第15回動物細胞工学シンポジウム	2007
030	大政健史	大阪大学	「工業動物細胞」によるバイオ医薬品生産 -現状と将来-	第7回日本蛋白質科学会年会	2007
031	徳永美和子、Kim Wookdong、奥村一夫、本田孝祐、大政健史、大竹久夫	大阪大学 / 東洋紡績	シアル酸特異的レクチンを用いた糖鎖末端シアル酸測定法	日本動物細胞工学会 2007 年度大会 (第20回大会)	2007
032	大政健史、大竹久夫	大阪大学	Chinese hamster ovary (CHO) 細胞のゲノム解析と応用	化学工学会第39回秋季大会	2007
033	澤田義人、本田真也	独立行政法人産業技術総合研究所	抗体精製用アフィニティリガンド設計のための代表ドメインデータセットの構築	ライフサイエンス分野融合会議	2007
034	松丸裕之、大石郁子、澤田義人、本田真也	独立行政法人産業技術総合研究所	抗体精製用アフィニティリガンドの合成と安定性の解析	ライフサイエンス分野融合会議	2007
035	大石郁子、澤田義人、本田真也	独立行政法人産業技術総合研究所	A T R / F T I R 法による抗体の凝集過程の解析	ライフサイエンス分野融合会議	2007
036	巖倉正寛	独立行政法人産業技術総合研究所	【招待講演】蛋白質の産業利用：シーズ探索型アプローチから問題解決型アプローチへの転換	日本蛋白質科学会年会	2007
037	本田真也	独立行政法人産業技術総合研究所	【招待講演】工業生産における薬剤タンパク質の分析技術	日本蛋白質科学会年会	2007
038	巖倉正寛	独立行政法人産業技術総合研究所	【招待講演】凝集抑制のための工学的デザイン	大阪大学蛋白研セミナー	2007
039	本田真也	独立行政法人産業技術総合研究所	【招待講演】薬剤蛋白質の凝集モニタリング	大阪大学蛋白研セミナー	2007
040	巖倉正寛	独立行政法人産業技術総合研究所	【招待講演】アフィニティクロマト開発に向けたリガンドタンパク質の再デザイン	第204回液体クロマトグラフィー研究懇談会例会	2007
041	巖倉正寛	独立行政法人産業技術総合研究所	【招待講演】アフィニティクロマト開発に向けたリガンドタンパク質の再デザイン	化学工学会第39回秋季大会	2007
042	大政健史	大阪大学	CHO (Chinese hamster ovary) 細胞の BAC ライブラリー構築とその活用	日本生物工学会、平成19年度大会	2007

043	Kim Wookdong、徳永美和子、Joon-Young Park、奥村一夫、本田孝祐、大政健史、大竹久夫	大阪大学 / 東洋紡績	Control of the heterogeneity of antibody glycosylation in Chinese hamster ovary cell cultivation : Construction of lectin binding assay for evaluation	Young Asian Biochemical Engineers' Community (YABEC) 2007 Seoul	2007
044	熊谷 泉	東北大学	アカデミアからの蛋白質製造の技術移管と効率的プロセス開発	第5回 トランスレショナルリサーチ研修会	2007
045	浅野竜太郎, 川口博子, 生駒桂子, 熊谷 泉	東北大学	がん標的治療薬を目指した組換え型 IgG 様二重特異性抗体の構築と機能評価	日本生化学会東北支部第73回例会・シンポジウム	2007
046	田中 翔, 浅野竜太郎, 熊谷 泉	東北大学	Tandem scFv 型二重特異性抗体の大腸菌発現系を用いた調整と機能評価	第7回日本蛋白質科学会年会	2007
047	田中 翔, 生駒桂子, 浅野竜太郎, 熊谷 泉	東北大学	高機能ヒト型化二重特異性抗体の大腸菌発現系を用いた調整と機能評価	第4回東北大学バイオサイエンスシンポジウム	2007
048	石山優奈, 生駒桂子, 浅野竜太郎, 熊谷 泉	東北大学	がん治療薬を目指した組換え型二重特異性抗体の高機能化の検討	第22回生体機能関連化学シンポジウム	2007
049	浅野竜太郎, 熊谷 泉	東北大学	Efficacy of Humanized IgG-like Bispecific Antibody Formats in Cancer Immunotherapy	Antibodies - Europe Engineering the Next Generation of Antibodies	2007
050	田原和浩, 浅野竜太郎, 熊谷 泉, 中西 猛	東北大学	Affinity Maturation of the Humanized Anti-EGFR Antibody Fragment by Phage Display	Antibodies - Europe Engineering the Next Generation of Antibodies	2007
051	浅野竜太郎, 生駒桂子, 熊谷 泉	東北大学	EGFR と CD3 を標的とした高機能な二重特異性抗体の形態	BMB2007	2007
052	石山優奈, 生駒桂子, 浅野竜太郎, 熊谷 泉	東北大学	がん治療を目指した IgG 様二重特異性抗体の高機能化	BMB2007	2007
053	田原和浩, 中西 猛, 浅野竜太郎, 熊谷 泉	東北大学	ファージ提示法を用いた高親和性 EGFR 特異的抗体の選択	BMB2007	2007
054	Shuichi Yamamoto	山口大学	Electrostatic interaction chromatography for separation of proteins and DNAs. -Effects of stationary and mobile phase properties on separation performance-	International symposium Biochromatography & nanobiotechnologies 2007	2007
055	山本修一	山口大学	バイオ医薬品のクロマトグラフィー分離プロセス:プラットフォーム技術とイノベーション	展望講演 化学工学会秋季大会 札幌	2007
056	Shuichi Yamamoto	山口大学	【キーノートレクチャー】 Chromatography for Bio- and Food-Production : Biorecognition and Engineering aspects	The Asia-Pacific Biochemical Engineering Conference (APBioChEC) 2007, Taipei, Taiwan	2007

057	本田真也	独立行政法人産業技術総合研究所	【招待講演】自律セグメントの最適化による低リスクのタンパク質改変	日本蛋白質科学会 年会	2008
058	松丸裕之、澤田義人、渡邊秀樹、大石郁子、馮延文、須藤恭子、新井宗仁、本田真也	独立行政法人産業技術総合研究所	安定な変異型タンパク質の配列を設計するソフトウェアの開発	日本蛋白質科学会 年会	2008
059	澤田義人、加藤有介、秋葉俊彦、関嶋政和、石村美雪、大石郁子、小田原孝行、原田一明、本田真也	独立行政法人産業技術総合研究所	スーパーシニョリンの結晶構造と構造ダイナミクス	日本蛋白質科学会 年会	2008
060	巖倉正寛	独立行政法人産業技術総合研究所	【招待講演】バイオ計測における標準化	第28回日本糖質学会 年会	2008
061	本田真也	独立行政法人産業技術総合研究所	スーパーシニョリンの構造ダイナミクス	タンパク質・ゲノム 構造勉強会	2008
062	巖倉正寛、広田潔憲、本田真也	独立行政法人産業技術総合研究所	【招待講演】 IMPROVEMENTS OF DOWNSTREAM PROCESS FOR BIOLOGICALS THROUGH RE-DESIGN OF AFFINITY LIGANDS	The 21st Annual and International Meeting of the Japanese Association for Animal Cell Technology	2008
063	巖倉正寛、広田潔憲、本田真也	独立行政法人産業技術総合研究所	【招待講演】 医薬品抗体精製技術開発：精製技術の高度化による高品質医薬品製造への貢献	日本薬学会第24 年回	2008
064	Kim Wookdong、徳永美和子、Joon-Young Park、石橋卓也、本田孝祐、大政健史、大竹久夫	大阪大学/ 東洋紡績	Lectin-binding assayによるシアル酸修飾測定方法の開発	日本農芸化学会 2008年度大会	2008
065	Takeshi Omasa, Yihua Cao, Joon-Young Park, Yasuhiro Takagi, Hidenori Yano, Kohsuke Honda, Shuichi Asakawa, Nobuyoshi Shimizu, and Hisao Ohtake	大阪大学	Analysis of the specific chromosomal region adjacent to the <i>DHFR</i> gene amplified in CHO DR 1000L-4N cell line	Cell Culture Engineering XI, Queensland, Australia	2008
066	Wook-Dong Kim, Miwako Tokunaga, Joon-Young Park, Kohosuke Honda, Takeshi Omasa, and Hisao Ohtake	大阪大学	Lectin-binding assay for evaluation of glycosylation in biopharmaceutical production	Cell Culture Engineering XI, Queensland, Australia	2008
067	大政健史	大阪大学	【招待講演】抗体医薬生産を支える「工業動物細胞」：細胞構築から培養までのエンジニアリング	バイオインダストリー協会 バイオエンジニアリング研究会 RTD	2008
068	大政健史	大阪大学	【招待講演】FISH (fluorescence <i>in situ</i> hybridization) 法のバイオ医薬品生産への応用	第15回 動物細胞工学シンポジウム	2008
069	徳永美和子、Kim Wookdong、石橋卓也、尾崎弘教、本田孝祐、大政健史、大竹久夫	大阪大学/ 東洋紡パイオロジックス	シアル酸特異的レクチンを用いた糖鎖末端シアル酸測定法	日本生物工学会、平成20年度大会	2008

070	大政 健史、大竹 久夫	大阪大学	タンパク質医薬品生産宿主としての CHO 細胞ゲノム解析とその応用 (シンポジウム講演)	化学工学会第 40 回 秋季大会	2008
071	Takeshi Omasa, Yihua Cao, Shuiichi Kimura, S. M. A. Haghparast, Yasuhiro Takagi, Kohsuke Honda and Hisao Ohtake	大阪大学	【招待講演】 Chinese Hamster Ovary Cells BAC library: Application to the characterization of CHO chromosomes	The thirteenth international biotechnology symposium and exhibition (IBS2008) Dalian, China	2008
072	Takeshi Omasa	大阪大学	Chinese hamster ovary (CHO) bacterial artificial chromosome (BAC) library -Its application in CHO genome analysis- (シンポジウム講演)	20 th annual and international meeting of Japanese Association for Animal Cell Technology (JAACT '08) Fukuoka, Japan	2008
073	Joon-Young Park, Yasuhiro Takagi, Hidenori Yano, Wook-Dong Kim, Kousuke Honda, Takeshi Omasa and Hisao Ohtake	大阪大学	Analysis of structure of the <i>Dhfr</i> gene-amplified chromosomal region in CHO DR1000L-4N cell line	14th Young Asian Biochemical Engineers' Community (YABEC) 2008, Tokyo, Japan	2008
074	Wook-Dong Kim, Miwako Tokunaga, Hiroyuki Ozaki, Joon-Young Park, Takuya Ishibashi, Kohsuke Honda, Takeshi Omasa, and Hisao Ohtake	大阪大学/ 東洋紡バイオロジックス	The glycosylation pattern of a humanized single-chain diabody produced by recombinant CHO cells	14th Young Asian Biochemical Engineers' Community (YABEC) 2008, Tokyo, Japan	2008
075	熊谷 泉	東北大学	【招待講演】次世代抗体医薬の分子設計	化学工学会 第 40 回秋季大会	2008
076	熊谷 泉	東北大学	【招待講演】次世代抗体創薬のバイオ工学を目指して	ゲノム創薬フォーラム第 11 回シンポジウム	2008
077	Mitsuyo Abe, Parvin Akbarzadehlaleh, Yuuki Sakaguchi, Noriko Yoshimoto, Shuichi Yamamoto	山口大学	Effects of mobile phase modulators on retention and separation of proteins in electrostatic interaction chromatography	7th European Symposium on Chemical Engineering Science (ESBES7), Faro, Portugal	2008
078	Mitsuyo Abe, Parvin Akbarzadehlaleh, Yukiko Nishizumi, Noriko Yoshimoto, Shuichi Yamamoto	山口大学	Binding and retention mechanism of PEGylated and non-PEGylated proteins in electrostatic interaction chromatography	International Symposium on the Separation of Proteins, Peptides and Polynucleotides (ISPPP 2008), Baden-Baden, Germany	2008

079	Shuichi Yamamoto, Shintaro Higuma, Yuuki Sakaguchi, Tomohiko Yoshitake, Noriko Yoshimoto	山口大学	Binding mechanism of proteins and DNAs in electrostatic interaction chromatography -Ion exchange chromatography and hydroxyapatite chromatography-	American Institute of Chemical Engineering Annual Meeting, Philadelphia,	2008
080	Shuichi Yamamoto	山口大学	<Invited lecture > Do chromatography models help you understand, design, operate and validate your purification process?	<Invited lecture> The 21st Annual and International Meeting of Japanese Association for Animal Cell Technology (JAACT 2008), Fukuoka	2008
081	水口博義	京都モノテック	「超高速分析用一体型シリカカラムの開発と抗体精製への応用」	BioJapan 2008 「ビジネスパートナーリングプレゼンテーション」(横浜 パシフィコ横浜)	2008
082	大崎 隆、水口博義	京都モノテック	Preparation of monolithic silica columns for purification of various antibodies (postar)	HPLCKyoto2008, Kyoto, Japan	2008
083	Hidehiiko Fujii	島津製作所	Analysis of Protein Spot on a Thin Gel	International Mini-Symposium Monolith chromatography in biopharmaceutical purification process, Kyoto, Japan	2008
084	Nakakido Makoto, Tanaka Yoshikazu, Mitsuori Mariko, Kudou Motonori, Ejima Daisuke, Kita Yoshiko, Arakawa Tsutomu, Tsumoto Kouhei	島津製作所	Structural-based analyses reveals hydration changes induced by arginine hydrochloride.	BMB2008、神戸	2008
085	安部良太・工藤基徳・津本浩平	島津製作所	アルギニン存在下での金属アフィニティークロマトグラフィー	第8回日本蛋白質科学会年会、船堀	2008
086	巖倉正寛	独立行政法人産業技術総合研究所	【招待講演】高効率な抗体分離精製技術の開発	バイオエンジニアリング研究会講演会	2009
087	松丸裕之、澤田義人、渡邊秀樹、大石郁子、馮延文、須藤恭子、新井宗仁、本田真也	独立行政法人産業技術総合研究所	安定な変異型タンパク質の配列を設計するソフトウェアの開発	産業用酵素シンポジウム	2009
088	本田真也	独立行政法人産業技術総合研究所	【招待講演】短鎖ペプチドの foldability と evolvability	タンパク質の進化・進化学に関するシンポジウム	2009

089	本田真也	独立行政法人産業技術総合研究所	安定な変異型タンパク質の設計技術および抗体結合性タンパク質プロテインGへの応用	第8回 国際医薬品原料・中間体展	2009
090	本田真也	独立行政法人産業技術総合研究所	【招待講演】治療用抗体の効率的精製を目的としたFc結合蛋白質の改良	第9回日本蛋白質科学会年会	2009
091	渡邊秀樹、松丸裕之、大石郁子、馮延文、小田原孝行、須藤恭子、本田真也	独立行政法人産業技術総合研究所	結合界面への静電反発導入によるpH感受性リガンドの合理設計	第9回日本蛋白質科学会年会	2009
092	本田真也	独立行政法人産業技術総合研究所	タンパク質分子間相互作用のpH応答性の改善	2009年度「タンパク質・ゲノム構造」勉強会	2009
093	巖倉正寛	独立行政法人産業技術総合研究所	【招待講演】アフィニティ・リガンド開発の現状：クロマト状況を反映したリガンド・アレイとその検出装置開発	第17回「バイオロジカルズ(タンパク医薬)製造技術研究会」	2009
094	本田真也	独立行政法人産業技術総合研究所	【招待講演】タンパク質のミニマムデザイン	第2回国際高等研究所フェロー研究会	2009
095	大政 健史	大阪大学	蛋白質医薬品生産への応用を目指したCHO細胞のゲノム解析(シンポジウム講演)	日本農芸化学会 2009年度大会	2009
096	尾崎弘教、Kim Wookdong、徳永美和子、朴 俊映、石橋卓也、本田孝祐、大政健史、大竹久夫	大阪大学/東洋紡バイオロジックス	遺伝子組換え CHO 細胞で生産されたヒト型 single-chain diabody-Fc (scDb-Fc) の糖鎖構造解析	日本農芸化学会 2009年度大会	2009
097	Kim Wookdong、尾崎弘教、徳永美和子、川口央、田丸敬次郎、本田孝祐、大政健史、大竹久夫	大阪大学	Chinese hamster ovary 細胞を用いて生産された single chain diabody-Fc の糖鎖構造解析	日本動物細胞工学会 2009年度大会 (第22回大会)	2009
098	尾崎 弘教、金 昱東、徳永美和子、石橋 卓也、本田孝祐、大政 健史、大竹 久夫	大阪大学/東洋紡バイオロジックス	Chinese hamster ovary (CHO) 細胞を用いたヒト型化 single-chain diabody-Fc の生産と糖鎖構造解析	日本生物工学会 平成 21 年度大会	2009
099	Wook-Dong Kim, Miwako Tokunaga, Hiroyuki Ozaki, Takuya Ishibashi, Kohsuke Honda, Takeshi Omasa, and Hisao Ohtake	大阪大学/東洋紡バイオロジックス	Evaluation for the heterogeneity of glycosylation in single-chain diabody-Fc fusion protein produced by CHO cell line	21th Meeting of the European Society for Animal Cell Technology (ESACT2009), Dublin, Ireland	2009
100	Takeshi Omasa	大阪大学	Production of novel therapeutic antibody in Chinese hamster ovary cells	International Symposium on Bioprocess and Biosystems Engineering 2009 (ISBBE2009) Shanghai, China	2009
101	Takeshi Omasa, Miyuki Yamatani, Shuiichi Kimura, Yihua Cao, Joon Young Park, Kohsuke Honda, and Hisao Ohtake	大阪大学	【Key note 講演】 Bacterial artificial chromosome library for genome-wide analysis of Chinese hamster ovary cells	9th Asia-Pacific Biochemical Engineering Conference 2009 Kobe, Japan	2009

102	Wook-Dong Kim, Miwako Tokunaga, Hiroyuki Ozaki, Kohsuke Honda, Takeshi Omasa, and Hisao Ohtake	大阪大学	N-Glycan structure of humanized IgG-like bispecific antibody produced by recombinant Chinese hamster ovary cells	9th Asia-Pacific Biochemical Engineering Conference 2009 Kobe, Japan	2009
103	Takeshi Omasa, Wook-Dong Kim, Hiroyuki Ozaki, and Hisao Ohtake	大阪大学	The glycosylation pattern of humanized IgG-like antibody produced by suspension culture of recombinant CHO cells	15th Young Asian Biochemical Engineers' Community (YABEC) 2009, Xiamen, China,	2009
104	Asano R, Kumagai I	東北大学	【招待講演】 Highly effective recombinant formats of humanized bispecific antibody for cancer immunotherapy	HOKKAIDO UNIVERSITY MAHIDOL UNIVERSITY Joint Symposium	2009
105	熊谷 泉	東北大学	【招待講演】 フォールドに基づくタンパク質工学 一次世代抗体医薬への展開	第8回医薬・バイオセミナー	2009
106	熊谷 泉	東北大学	【招待講演】 タンパク質フォールドの組換えと次世代抗体医薬	NMR構造生物学研究会第38回ワークショップ	2009
107	Shuichi Yamamoto, Mareto Hosono, Noriko Yoshimoto	山口大学	Process design of stepwise elution chromatography on the basis of iso-resolution curve	PREP 2009: 22nd International Symposium, Exhibit and Workshops on Preparative/Process Chromatography, Philadelphia	2009
108	S. Yamamoto, S. Higuma, N. Yoshimoto,	山口大学	<Invited lecture > Analysis of retention mechanism of proteins and DNAs in hydroxyapatite chromatography	<Invited lecture > 5th Conference on Hydroxyapatite and Related products, Rottach-Egern, Germany	2009
109	Noriko Yoshimoto, Shintaro Higuma, Yukiko Nisizumi, Hirotaka Higuchi, and Shuichi Yamamoto	山口大学	Characterization of the retention properties of proteins and DNAs in hydroxyapatite chromatography	Asia Pacific Biochemical Engineering Conference 2009 (APBioChEC '09), Kobe, Japan	2009
110	水口博義	京都モノテック	Monolith for purification processes of biopharmaceuticals	Biochemical Engineering Conference (APBioChEC) 2009, Kobe, Japan	2009

111	Hidehiiko Fujii	島津製作所	High-throughput ligand screening by spotting technology with monolith	9th Asia-Pacific Biochemical Engineering Conference 2009 (APBioChEC09) (口頭発表)	2009
112	安部良太・工藤基徳・津本浩平	島津製作所	Arg存在下の金属キレートクロマトグラフィーとその応用	日本化学会第90春季年会、日本大学船橋キャンパス	2009
113	巖倉正寛	独立行政法人産業技術総合研究所	Development of a "chromatography-array" system for high throughput screening and optimization of affinity ligands	PEPTALK2010	2010
114	巖倉正寛、広田潔憲	独立行政法人産業技術総合研究所	In situ observation of ligand-array interacting with IgG at chromatographic conditions	PEPTALK2010	2010
115	広田潔憲、巖倉正寛、大崎 隆、水口博義	独立行政法人産業技術総合研究所	Monolithic silica spin columns for affinity purification of antibodies	PEPTALK2010	2010
116	巖倉正寛、大崎 隆、水口博義、広田潔憲	独立行政法人産業技術総合研究所	抗体精製用モノリスシリカスピンカラム	第9回産総研・産技連LS-BT合同研究発表会	2010
117	本田真也	独立行政法人産業技術総合研究所	【招待講演】Rational Design of Ligand Protein That Ensures Optimum pH-Response in Affinity Purification of Antibody	2nd Annual International Congress of Antibodies	2010
118	広田潔憲、巖倉正寛	独立行政法人産業技術総合研究所	タンパク質とリガンドの相互作用をハイスループットでその場観察できるタンパク質アレイシステムの開発	第10回日本蛋白質科学会年会	2010
119	広田潔憲、本田真也、巖倉正寛	独立行政法人産業技術総合研究所	【招待講演】抗体医薬品のためのテーラーメイド精製技術開発	化学工学会 第42回秋季大会	2010
120	本田真也	独立行政法人産業技術総合研究所	【招待講演】抗体医薬の精製工程：抗体結合タンパク質の安定性と親和性の向上	医薬品・医療機器・化粧品セミナー	2010
121	馮 延文、大石 郁子、本田真也	独立行政法人産業技術総合研究所	A systematic approach for analyzing protein formulation stability	第48回日本生物物理学会	2010
122	本田真也	独立行政法人産業技術総合研究所	【招待講演】抗体/バイオ医薬品の精製工程～精製コスト改善にむけたプロテインA代替リガンドの開発～	技術情報協会 セミナー	2010

123	Takeshi Omasa	大阪大学	【招待講演】 Next generation cell engineering for the production of biologics	the 3 rd International Scientific Forum organized by Advanced Medical Research Center Yokohama, Kanagawa, Japan	2010
124	大政健史	大阪大学	【招待講演】 翻訳後修飾と細胞培養プロセス	第18回「バイオロジカルズ(タンパク医薬)製造技術研究会	2010
125	川口央、金 昱東、尾崎弘教、本田孝祐、大政健史、大竹久夫	大阪大学	組換え CHO 細胞を用いて生産された single-chain diabody 抗体の糖鎖構造解析	化学工学会関西支部第8回最先端バイオテクノロジー発表会	2010
126	Haghparsat Seyed Mohammad Ali、曹 溢華、本田 幸祐、大政 健史、大竹 久夫	大阪大学	Clonal variability and chromosome instability in Chinese hamster ovary cell lines	化学工学会第75年会	2010
127	川口 央、尾崎 弘教、キム ウッドン、本田 孝祐、大政 健史、大竹 久夫	大阪大学	Chinese hamster ovary 細胞由来 β -galactosyl- α 2,6sialyltransferase 遺伝子のクローニングと発現	日本農芸化学会 2010 年度大会	2010
128	Takeshi Omasa, Joon Young Park, Miyuki Yamatani, Souhei Wadano, Yasuhiro Takagi, Kohsuke Honda, and Hisao Ohtake	大阪大学	The genomic structure of exogenous <i>Dhfr</i> amplicon and its application in CHO gene amplification	Cell Culture Engineering XII, Banff, Alberta, Canada	2010
129	Wook-Dong Kim, Hiroyuki Ozaki, Takeshi Omasa, Hisao Ohtake, and Ishibashi Takuya	大阪大学	Enhancement of sialylation in biopharmaceuticals production by overexpression of CHO beta-Galactoside alpha 2,6-Sialytransferase	Cell Culture Engineering XII, Banff, Alberta, Canada	2010
130	Takeshi Omasa	徳島大学	Chinese hamster ovary cell genome: impact on cell engineering (シンポジウム講演)	23 th Annual and international meeting of Japanese Association for Animal Cell Technology (JAAC '10)	2010
131	Masayoshi Onitsuka, Wook-Dong Kim, Hiroyuki Ozaki, Akira Kawaguchi, Kohsuke Honda, Hisao Ohtake and Takeshi Omasa	徳島大学/ 大阪大学	Improvement of glycosylation pattern of humanized IgG-like bispecific antibody produced by recombinant CHO cells	23 th Annual and international meeting of Japanese Association for Animal Cell Technology (JAAC '10)	2010
132	大政 健史	徳島大学	プロセスイノベーションを目指した「工業動物細胞」の開発(シンポジウム講演)	化学工学会第42回 秋季大会	2010

133	大政 健史	徳島大学	「工業動物細胞」の開発を目指したセルエンジニアリング（シンポジウム講演）	第3回化学工学3支部合同徳島大会	2010
134	川口 央、キム ウッドン、尾崎 弘教、徳永美和子、本田 孝祐、大政 健史、大竹 久夫	徳島大学 / 大阪大学	CHO beta-galactosyl-alpha2,6sialyltransferase 発現 CHO 細胞を用いた組換え抗体生産	日本生物工学会、平成22年度大会	2010
135	Takeshi Omasa	徳島大学	【招待講演】Physical mapping of CHO cell genome	The 5 th International Conference on Geomics (iCG-V), Shenzhen, China	2010
136	浅野竜太郎、熊谷 泉、	東北大学	【招待講演】ドメイン組換えに基づく次世代治療抗体創製に向けて	第10回日本蛋白質科学会年会	2010
137	熊谷 泉、	東北大学	【招待講演】次世代抗体医薬開発のフロンティア	第313回CBI学会研究講演会	2010
138	Shuichi Yamamoto	山口大学	Optimization of stepwise elution chromatography on the basis of iso-resolution curve concept	ACS 239th National Meeting, San Francisco No. 229	2010
139	Koji Nishimura, Noriko Yoshimoto, Shuichi Yamamoto	山口大学	Design of stepwise elution chromatography on the basis of iso-resolution curve	American Institute of Chemical Engineering Annual Meeting, Salt Lake City	2010
140	渡邊秀樹、松丸裕之、大石 郁子、馮延文、小田原孝行、本田真也	独立行政法人産業技術総合研究所	pH感受性リガンドの合理設計	第10回産総研・産技連LS-BT合同研究発表会	2011
141	川口 央、鬼塚正義、大政 健史	徳島大学 / 大阪大学	CHO 細胞におけるヒト型シアル酸修飾を目指して（シンポジウム講演）	第24回日本動物細胞工学会シンポジウム	2011
142	大政健史	徳島大学	【招待講演】バイオ医薬品生産における課題—蛋白質医薬品からワクチンまで	化学工学会関東支部 第6回ホットな話題の講習会	2011

【新聞・マスコミ・その他 発表】 研究開発項目②「高効率な抗体分離精製技術」

番号	会社名	内容	掲載物	掲載日
001	独立行政法人産業技術総合研究所・AGC エスアイテック	「抗体医薬を効率抽出／産総研とASC-SI／修飾分子で新技術」の見出しで発表された。	フジサンケイビジネスアイ	2007/9/11
002	独立行政法人産業技術総合研究所・AGC エスアイテック	「抗体医薬精製クロマトグラフィー用高結合能力ビーズ／産総研などが開発」の見出しで発表された。	日刊工業新聞	2007/9/11
003	独立行政法人産業技術総合研究所・AGC エスアイテック	「抗体医薬品／たんぱく質効率精製／産総研とASC エスアイテック／専用粒子を開発」	日経産業新聞	2007/9/13

004	大阪大学	「抗体医薬 飛躍への研究課題(下)」の見出しで発表された。	日経産業新聞	2007/11/22
005	独立行政法人産業技術総合研究・(株)京都モノテック	「スピнкаラム型キット／2分で抗体精製」の見出しで報道された。	化学工業日報新聞	2009/1/23
006	独立行政法人産業技術総合研究・(株)京都モノテック	「短時間で抗体精製／スピнкаラム型キット開発」の見出しで報道された。	化学工業日報新聞	2009/1/27
007	独立行政法人産業技術総合研究・(株)島津製作所・(株)京都モノテック	「たんぱく質迅速選定 産総研・島津など 薄膜を活用」の見出しで報道された。	日経産業新聞	2009/10/2
008	独立行政法人産業技術総合研究・(株)島津製作所・(株)京都モノテック	「たん白アレイ解析システム 抗体医薬精製に対応 NEDO など開発」の見出しで報道された。	化学工業日報新聞	2009/10/2
009	(独)新エネルギー・産業技術総合開発機構、(株)島津製作所、(独)産業技術総合研究所、(株)京都モノテック、(財)バイオインダストリー協会	たん白アレイ解析システム 抗体医薬精製に対応 NEDO など開発 (上のバイオジャパン 2009 の記事)	化学工業日報	2009/10/2
010	(独)新エネルギー・産業技術総合開発機構、(株)島津製作所、(独)産業技術総合研究所、(株)京都モノテック、(財)バイオインダストリー協会	たんぱく質迅速選定 産総研・島津など 薄膜を活用 (上のバイオジャパン 2009 の記事)	日経産業新聞	2009/10/2
011	独立行政法人産業技術総合研究・(株)京都モノテック	「新機能抗体創製技術開発プロジェクト モノリスシリカスピнкаラム」のタイトルでパネル掲示、試作品展示、試供品配布。	バイオジャパン 2009	2009/10/7～9
012	独立行政法人産業技術総合研究・(株)島津製作所・(株)京都モノテック	「新機能抗体創製技術開発プロジェクト タンパク質アレイ解析システム」のタイトルでパネル掲示	バイオジャパン 2009	2009/10/7～9
013	独立行政法人産業技術総合研究	「タンパク質を安定化するアミノ酸配列設計ソフトウェア」のタイトルで Web マッチングシステムに登録	バイオジャパン 2009	2009/10/7～9

014	独立行政法人産業技術総合研究	「プロテイン G 変異体」のタイトルで Web マッチングシステムに登録	バイोजアパン 2009	2009/10/7~9
015	(独)新エネルギー・産業技術総合開発機構、(株)島津製作所、(独)産業技術総合研究所、(株)京都モノテック、(財)バイオインダストリー協会	新機能抗体創製技術開発プロジェクト タンパク質アレイ解析システム	バイोजアパン 2009(パシフィコ横浜)の NEDO ブースで展示	2009/10/7 ~ 2009/10/9
016	独立行政法人産業技術総合研究	「分子をデザインしてタンパク質の安定性と親和性を向上 - 産業技術総合研究所」の見出しで報道された。	Bio Impact (Web 版)	2010/3/17
017	独立行政法人産業技術総合研究	「産総研、分子をデザインしてタンパク質を改変し安定性と親和性を向上させることに成功」の見出しで報道された。	日経ネット (Web 版)	2010/3/17
018	独立行政法人産業技術総合研究	「たんぱく質親和性向上/分子デザイン技術活用/産総研抗体医薬のコスト減」の見出しで報道された。	日刊工業新聞	2010/3/18
019	独立行政法人産業技術総合研究	「産総研、分子デザイン技術でたんぱく質の安定性と親和性向上」の見出しで報道された。	日刊工業新聞 (Web 版)	2010/3/18
020	独立行政法人産業技術総合研究	「抗体精製のたんぱく質/分子デザインで改良/産総研」の見出しで報道された。	日経産業新聞	2010/3/18
021	独立行政法人産業技術総合研究	「プロテイン G 改変/産総研が生体分子デザイン技術/抗体薬精製コスト減に道」の見出しで報道された。	化学工業日報新聞	2010/3/18
022	京都モノテック	抗体精製用シリカモノリスピンカラム『Ex-Pure』の製品化		2010/11/5

契約管理番号 06990416-0 06990417-0
