

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2017～2021

課題番号：17H06109

研究課題名（和文）血液脳関門通過性ヘテロ核酸の開発

研究課題名（英文）Development of heteroduplex oligonucleotide crossing the blood-brain barrier

研究代表者

横田 隆徳 (Yokota, Takanori)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授

研究者番号：90231688

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 133,100,000円

研究成果の概要（和文）：核酸医薬品は次世代医薬として注目されている。特に神経難病では、その開発が目覚ましい。一方で、核酸医薬品は全身投与では脳内に移行せず、髄腔内投与が必要である。そこで、血液脳関門（BBB）に高発現し、内在化する受容体であるグルコーストランスポーター1および4、トランスフェリン受容体に対する抗体を作製した。得られた抗体について、抗原への結合を確認したのに加え、細胞を用いた結合活性評価を行い、細胞上で標的となる受容体を認識することが確認された。また新たにLDL受容体を介する血液脳関門を通過するリガンドを取得し、それにより全身投与により中枢神経での遺伝子抑制効果を確認することに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

計算科学を活用しながらGlut1/4の細胞外に位置する領域を、新規方法で作製した融合タンパク質を設計し、その融合タンパク質を活用しながらの抗体取得を行っている。生体内において重要な役割を果たしているケースが多い多重膜貫通タンパク質に対する機能性抗体の取得が効率的に行えるようになると考えられ、極めて大きな波及効果が期待される。また全身投与でリガンド結合ヘテロ核酸の脳内移行および遺伝子抑制効果を確認しており、全身投与での中枢神経疾患への治療に一步近づいたと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Nucleic acid therapeutics are attracting attention as next generation pharmaceuticals following antibody drugs. Their development is particularly remarkable in neurological intractable diseases. However, nucleic acid therapeutics do not migrate into the brain by systemic administration and must be required intrathecally. Therefore, antibodies were produced against glucose transporter (Glut)1, Glut4, and transferrin receptors that are highly expressed and internalized in the blood-brain barrier (BBB). In addition to confirming binding to the antigens, the antibodies obtained were evaluated for binding activity using cells, and it was confirmed that they recognize the target receptors. In addition, a new ligand that crosses the LDL receptor-related BBB was obtained, and its gene suppression effect on the central nervous system was successfully confirmed by systemic administration.

研究分野：生体医工学・生体材料学

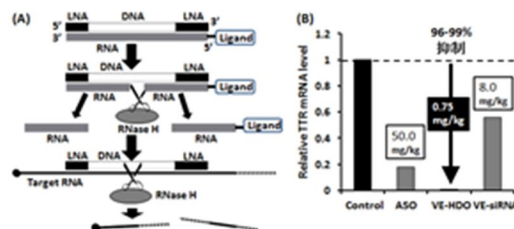
キーワード：血液脳関門 ヘテロ核酸 グルコーストランスポーター トランスフェリン受容体 抗体工学 神経変性疾患

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19

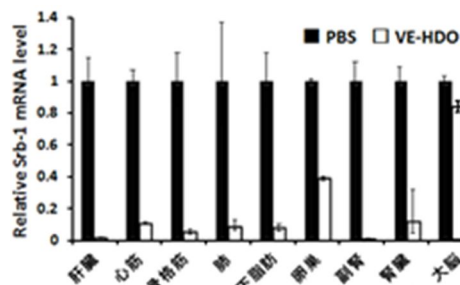
1. 研究開始当初の背景

核酸医薬は、抗体医薬では標的にできない細胞内の分子を制御できることから、次世代の分子標的医薬として期待されているが、有効性が不十分で肝臓以外の導入が困難であるためにその臨床応用は遅れている。我々は従来の核酸医薬であるアンチセンス核酸や siRNA とその分子構造、作用機構が異なる第 3 の核酸医薬である DNA/RNA 2 本鎖ヘテロ核酸を創生した。ヘテロ核酸は標的 RNA に結合するアンチセンスの主鎖と、これに相補的な RNA 鎖からなる非天然の 2 本鎖機能核酸である



ヘテロ核酸(HDO)の遺伝子抑制メカニズム(A)と有効性(B)
 細胞内に導入されたHDOは、RNase Hによって相補鎖RNAが切断され単鎖のASOとなり標的RNAに結合して遺伝子抑制を生じる(A)。ASOよりVE-HDOはより有効である(B)。

(PCT/JP2012/083180)。主鎖は両端に架橋型人工核酸である LNA を配し、中央部が天然の DNA にして、この 2 本鎖の中央部が DNA-RNA ヘテロ核酸であるため、この部分が細胞内のエンドヌクレアーゼである RNase H によって認識されて相補鎖 RNA が切断される。その結果、単独となった主鎖が標的の RNA に結合し、再び RNase H が標的 RNA を切断して遺伝子抑制効果を発揮する。すなわち、RNase H が相補 RNA 鎖と標的 RNA の切断の一人二役を果たすことにより、主鎖に影響を与えることなく相補鎖 RNA にデリバリーなどの機能分子を結合することが可能となった点が特徴の分子技術である(上図)。ヘテロ核酸の特徴である内在型のデリバリー分子として、我々の特許であるビタミン E (VE) をリガンド分子(PCT/JP2008/003523)として結合させることにより、静脈投与で従来の ASO の 10-1000 倍、VE 結合 siRNA (VE-siRNA) の約 100 倍(50%効果薬剤濃度(ED50)での比較)と肝臓の標的遺伝子抑制効果の飛躍的な上昇に成功し、低投与量(0.75mg/kg)でその抑制率 96-99%は現状の核酸医薬では最高水準である(上図)。

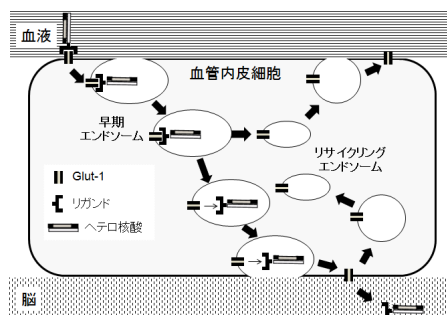


ヘテロ核酸の静脈投与による多臓器での遺伝子抑制
 50mg/kg投与後の標的RNAの発現レベル(control比)

2. 研究の目的

本研究では、ミセルではなくヘテロ核酸に血液脳関門を通過する抗体を結合させることを目的とする。抗体は血液脳関門に発現して、内在化に関連しているグルコーストランスポーター(Glut-1)等に対する抗体を、取得する。ヘテロ核酸と結合させて、よりシンプルで製剤として安定な分子構造として、なおかつエンドソーム内で pH 応答性に抗体への親和性を低下させるアミノ酸変異を導入(Nat Biotechnol 28:1203-7, 2010)することで、トランスサイトosisされたヘテロ核酸が高効率に Glut-1 から

離脱して脳内にデリバリーされる発展的な戦略を立てた。



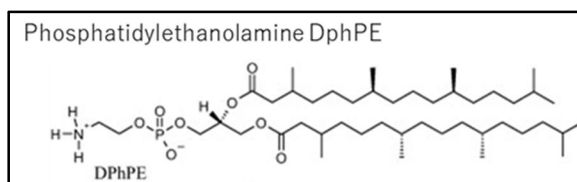
Glut-1結合ヘテロ核酸のBBBの通過機構

この分子技術を創生するに当たり、研究分担者の津本浩平博士は、抗原抗体相互作用を中心に種々の蛋白質相互作用において、ファージディスプレイ法あるいは部位特異的変異導入、熱力学的手法を中心とした分子間結合における特異性・親和性創出技術を持つ日本の第一人者である。これらのチームにより、血液脳関門通過性ヘテロ核酸の開発を試みる。

3. 研究の方法

Glut1の抗体に関しては様々な方法で行ったが困難を伴った。Glut1の細胞外領域に位置すると考えられてきたヘリックスを特異的に認識する抗体を取得するため、特殊な方法で融合タンパク質を作製し、ウサギおよびアルパカ免疫からファージディスプレイ法を活用したスクリーニングを行うことにより、抗体の取得を試みた。得られた抗体について、組み換えタンパク質として調製し、精製 Glut1 タンパク質に対する結合性を表面プラズモン共鳴法によって評価した。また、Glut4に対しても同様にして抗体スクリーニングを行い、融合タンパク質のヘリックス移植領域を特異的に認識する抗体の取得を試みた。Glut1については、従来細胞内に位置すると考えられてきた N 末端以外領域を認識する抗体についても取得を試み、細胞上での抗原認識について Flow cytometry にて解析した。加えてこれまでにマウスモデルにおいて BBB 透過のためのキャリアーとしての報告がある抗トランスフェリン受容体(TfR)抗体 8D3 について、配列情報より IgG フォーマットでの発現系を構築し、大量調製を試みた。これは Glut1 抗体の取得が非常に困難であったため、並行して試みた。低分子化抗体である VHH フォーマットの抗体を作製するため、組み換えタンパク質として調製した TfR をアルパカに免疫し、ファージディスプレイ法を活用したセレクションを行った。

動物実験では 以前に報告したグルコースミセル(Anraku et al. Nature commun)の系を用いて、1) 必要な投与前の絶食時間、2)ミセル投与と糖負荷の時間的關係について検討を行った。また Glut1 のみでなく脂質リガンドでも同様に Fasting や血糖コントロールで同様に脳内への取り込みが上昇するか併せて検討した。また Glut1 を介した内在化のメカニズム解析のため、電子顕微鏡による Glut1 の局在解析の確立を目指した。脳血管内皮細胞の 7 断面での GLUT1 シグナルの局在を解析した。神経難病である筋萎縮性側索硬化症の家族性 ALS の原因遺伝子である SOD1 に対して新たな配列のスクリーニングを Hela 細胞にて行った。200 配列をデザインして最適化を行い、in silico でオフターゲットを評価した。また現在の核酸医薬は(アンチセンス核酸や siRNA)は全身投与で脳内の遺伝子抑制効果を示さない。中枢神経疾患の場合は、髄腔内投与が必要である。そこで新たに LDL-R を介した脳

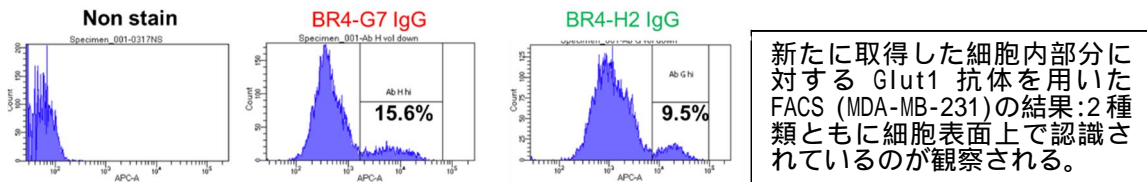


内移行のメカニズムに注目した。Phosphoethanolamine やその類縁体(左図)を結合させたヘテロ核酸にて全身投与での脳内で遺伝子抑制効果を示すリガンドの探索を並行して行った。

4. 研究成果

血液脳関門を超えてヘテロ核酸を脳内に運搬するため、血液脳関門 (BBB) に高発現する受容体である Glut1 および Glut4 の抗体が取得できた。得られた抗体について、組み換えタンパク質を用いた評価によって抗原への結合を確認したのに加え、細胞を用いた結合活性評価を行い、細胞上で標的となる受容体を認識することが確認された。表面プラズモン共鳴法によって評価した結果、サブ μM と比較的弱いながらも Glut1 タンパク質に結合することが示され、Glut1 の標的部位を認識する抗体の取得に成功した。また特に抗 Glut1 に関して、類似タンパク質との比較から定義されてきた細胞外 / 細胞内に位置する領域について、本研究によって 2 種類の本来的細胞内を認識する抗体を作製した。Flow

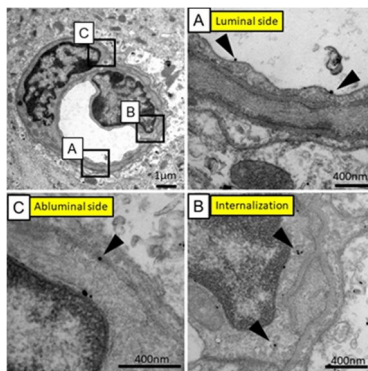
cytometry による解析の結果、これらの細胞上での抗原結合が確認された(下図)。これに



より Glut1 が従来の想定とは異なる向きでも細胞膜上に発現していることが示唆された。これは生体内における Glut1 の動態に新たな知見をもたらすもので、特筆すべき結果である。今後、この結果を踏まえて Glut1 の細胞内を認識する抗体をキャリアーとした脳内への分子運搬技術の開発へとつながることが期待され、世界中で試みられている抗体を活用した脳内への分子送達に関する研究に対して多大な波及効果をもたらすことが予期される。

BBB 透過のためのキャリアーとしての報告がある抗 TfR 8D3 について、配列情報より IgG フォーマットでの発現系を構築し、大量調製に成功した。これに加え、低分子化抗体である VHH フォーマットの抗体を作製するため、組み換えタンパク質として調製した TfR をアルパカに免疫し、ファージディスプレイ法を活用したセレクションにて、VHH 抗体についても取得に成功した。この抗体はヒト由来の TfR には結合せず、マウス由来の TfR を特異的に認識する VHH 抗体であり、ヒトに対しても作製中である。

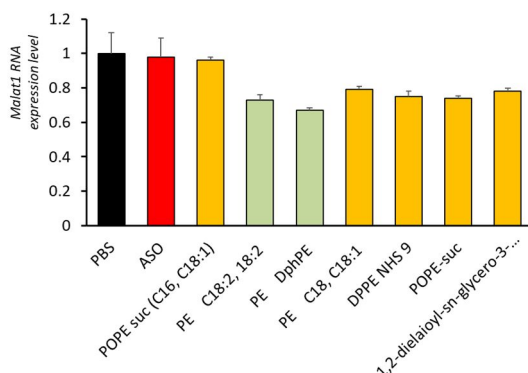
Glut1 の動態の解明のために 1) 必要な投与前の絶食時間、2) ミセル投与と糖負荷の時間的關係について検討を行った。その結果、1) 投与前に必要な絶食時間を特定した。2)



ミセル投与と糖負荷の適切なタイミングを見出した。また Glut1 のみでなく脂質リガンドでも同様に Fasting や血糖コントロールで同様に脳内への取り込みが上昇するか併せて検討した。24 時間絶食後に脂質リガンドつきヘテロ核酸を投与し、1 群では投与後 30 分後に 20% Glucose 投与、もう 1 群では未投与さらにもう 1 群では Free feeding で脳内での遺伝子抑制効果を比較検討した。比較した 3 群では明らかな効果の増強及び低下は見られなかった。これにより脂質リガンドであれば、食事の影響を受けずに脳内移行

が可能と考えられた。Glut1 を介した内在化のメカニズム解析のため、電子顕微鏡による Glut1 の局在解析を確立した。脳血管内皮細胞の 7 断面での GLUT1 シグナルの局在を解析した (Microscopy 掲載)。

また SOD1 に対する配列スクリーニングの結果、活性自体は他社と同等だがオフターゲットが少ないと考えられる配列が取得できた (特許申請準備中)。Glut1/4 の高次構造の關係で取得が困難であることから血液脳関門に発現している LDL が介する受容体に新たに注目し



た。Phosphoethanolamine (PE) は直接的および間接的に LDL の取り込みの際に、一緒に取り込まれることが知られている。また前述したようにグルコース標的リガンドのように、食事への影響が少ないことが考えられる。そこで各種 PE とその誘導体を中心に合成して、ヘテロ核酸に結合させ全身投与にて、その遺伝子抑制効果を検討した。従来報告されている

ように現在の核酸医薬は(アンチセンス核酸や siRNA)は全身投与で脳内の遺伝子抑制効果を示さない。今回の結果でも 1 本鎖アンチセンスでは全身投与で脳内に移行しないために遺伝子抑制効果を示さなかった。一方で各種、Phosphoethanolamine を結合させたヘテロ核酸では、遺伝子抑制効果を認めた。これらの結果を併せて、特許申請を行い、かつ Nature Biotechnology に掲載されている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計25件（うち査読付論文 25件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Nishi Rieko, Ohyagi Masaki, Nagata Tetsuya, Mabuchi Yo, Yokota Takanori	4. 巻 S1525-0016
2. 論文標題 Regulation of activated microglia and macrophages by systemically administered DNA/RNA heteroduplex oligonucleotides	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecular Therapy	6. 最初と最後の頁 103-4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ymthe.2022.02.019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yamada Akane, Nishida Yoichiro, Wake Kenjiro, Nakamura Ayako, Sakamaki Yuriko, Kuwahara Hiroya, Uchihara Toshiki, Yokota Takanori	4. 巻 71
2. 論文標題 Serial ultrathin sections to identify ultrastructural localization of GLUT1 molecules in vesicles in brain endothelial cells?correlative light and electron microscopy in depth	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Microscopy	6. 最初と最後の頁 124 ~ 131
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jmicro/dfac005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nagata Tetsuya, Dwyer Chrissa A. Frank, Seth Punit P., Rigo Frank, Yokota Takanori	4. 巻 39
2. 論文標題 Cholesterol-functionalized DNA/RNA heteroduplexes cross the blood?brain barrier and knock down genes in the rodent CNS	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Biotechnology	6. 最初と最後の頁 1529 ~ 1536
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41587-021-00972-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Ohyagi Masaki, Nagata Tetsuya, Ihara Kensuke, Yoshida-Tanaka Kie, Nishi Rieko, Miyata Haruka, Abe Aya, Mabuchi Yo, Akazawa Chihiro, Yokota Takanori	4. 巻 12
2. 論文標題 DNA/RNA heteroduplex oligonucleotide technology for regulating lymphocytes in vivo	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 0-0
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-26902-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ikeuchi Emina, Kuroda Daisuke, Nakakido Makoto, Murakami Akikazu, Tsumoto Kouhei	4. 巻 11
2. 論文標題 Delicate balance among thermal stability, binding affinity, and conformational space explored by single-domain VHH antibodies	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 0-0
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-98977-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Asami Yutaro, Nagata Tetsuya, Yoshioka Kotaro, Kunieda Taiki, Yoshida-Tanaka Kie, Bennett C. Frank, Seth Punit P., Yokota Takanori	4. 巻 29
2. 論文標題 Efficient Gene Suppression by DNA/DNA Double-Stranded Oligonucleotide In Vivo	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Therapy	6. 最初と最後の頁 838 ~ 847
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ymthe.2020.10.017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ono Daisuke, Asada Ken, Yui Daishi, Sakaue Fumika, Yoshioka Kotaro, Nagata Tetsuya, Yokota Takanori	4. 巻 23
2. 論文標題 Separation-related rapid nuclear transport of DNA/RNA heteroduplex oligonucleotide: unveiling distinctive intracellular trafficking	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Therapy - Nucleic Acids	6. 最初と最後の頁 1360 ~ 1370
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.omtn.2020.11.022	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ishii Misaki, Nakakido Makoto, Caaveiro Jose M.M., Kuroda Daisuke, Okumura C.J., Maruyama Toshiaki, Entzminger Kevin, Tsumoto Kouhei	4. 巻 296
2. 論文標題 Structural basis for antigen recognition by methylated lysine-specific antibodies	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 100176 ~ 100176
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA120.015996	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Akiba Hiroki, Tamura Hiroko, Caaveiro Jose M M, Tsumoto Kouhei	4. 巻 170
2. 論文標題 Epitope-dependent thermodynamic signature of single-domain antibodies against hen egg lysozyme	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Biochemistry	6. 最初と最後の頁 623 ~ 629
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jb/mvab082	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Akiba Hiroki, Tamura Hiroko, Caaveiro Jose M M, Tsumoto Kouhei	4. 巻 32
2. 論文標題 Computer-guided library generation applied to the optimization of single-domain antibodies	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Protein Engineering, Design and Selection	6. 最初と最後の頁 423 ~ 431
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/protein/gzaa006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akiba Hiroki, Takayanagi Kensuke, Kusano-Arai Osamu, Iwanari Hiroko, Hamakubo Takao, Tsumoto Kouhei	4. 巻 25
2. 論文標題 Generation of biparatopic antibody through two-step targeting of fragment antibodies on antigen using SpyTag and SpyCatcher	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biotechnology Reports	6. 最初と最後の頁 e00418 ~ e00418
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.btre.2020.e00418	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akiba Hiroki, Takayanagi Kensuke, Kusano-Arai Osamu, Iwanari Hiroko, Hamakubo Takao, Tsumoto Kouhei	4. 巻 25
2. 論文標題 Generation of biparatopic antibody through two-step targeting of fragment antibodies on antigen using SpyTag and SpyCatcher	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biotechnology Reports	6. 最初と最後の頁 e00418 ~ e00418
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.btre.2020.e00418	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kondo Hiroko X., Kiribayashi Ryo, Kuroda Daisuke, Kohda Jiro, Kugimiya Akimitsu, Nakano Yasuhisa, Tsumoto Kouhei, Takano Yu	4. 巻 9
2. 論文標題 Effects of a remote mutation from the contact paratope on the structure of CDR-H3 in the anti-HIV neutralizing antibody PG16	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 19840
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-56154-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akiba Hiroki, Tamura Hiroko, Kiyoshi Masato, Yanaka Saeko, Sugase Kenji, Caaveiro Jose M. M., Tsumoto Kouhei	4. 巻 9
2. 論文標題 Structural and thermodynamic basis for the recognition of the substrate-binding cleft on hen egg lysozyme by a single-domain antibody	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 15481
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-50722-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Eguchi Akihiro, Nakakido Makoto, Nagatoishi Satoru, Kuroda Daisuke, Tsumoto Kouhei, Nagamune Teruyuki, Kawahara Masahiro	4. 巻 116
2. 論文標題 An epitope directed antibody affinity maturation system utilizing mammalian cell survival as readout	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biotechnology and Bioengineering	6. 最初と最後の頁 1742 ~ 1751
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/bit.26965	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nariai Yuko, Kamino Hiroki, Obayashi Eiji, Kato Hiroaki, Sakashita Gyosuke, Sugiura Tomoko, Migita Kiyoshi, Koga Tomohiro, Kawakami Atsushi, Sakamoto Kazuma, Kadomatsu Kenji, Nakakido Makoto, Tsumoto Kouhei, Urano Takeshi	4. 巻 663
2. 論文標題 Generation and characterization of antagonistic anti-human interleukin (IL)-18 monoclonal antibodies with high affinity: Two types of monoclonal antibodies against full-length IL-18 and the neopeptide of inflammatory caspase-cleaved active IL-18	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Archives of Biochemistry and Biophysics	6. 最初と最後の頁 71 ~ 82
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.abb.2019.01.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamashita Takefumi, Mizohata Eiichi, Nagatoishi Satoru, Watanabe Takahiro, Nakakido Makoto, Iwanari Hiroko, Mochizuki Yasuhiro, Nakayama Taisuke, Kado Yuji, Yokota Yuki, Matsumura Hiroyoshi, Kawamura Takeshi, Kodama Tatsuhiko, Hamakubo Takao, Inoue Tsuyoshi, Fujitani Hideaki, Tsumoto Kouhei	4. 巻 27
2. 論文標題 Affinity Improvement of a Cancer-Targeted Antibody through Alanine-Induced Adjustment of Antigen-Antibody Interface	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Structure	6. 最初と最後の頁 519 ~ 527.e5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.str.2018.11.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshida Kouhei, Kuroda Daisuke, Kiyoshi Masato, Nakakido Makoto, Nagatoishi Satoru, Soga Shinji, Shirai Hiroki, Tsumoto Kouhei	4. 巻 9
2. 論文標題 Exploring designability of electrostatic complementarity at an antigen-antibody interface directed by mutagenesis, biophysical analysis, and molecular dynamics simulations	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 4482
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-40461-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawade Raiji, Akiba Hiroki, Entzminger Kevin, Maruyama Toshiaki, Okumura C J, Tsumoto Kouhei	4. 巻 31
2. 論文標題 Roles of the disulfide bond between the variable and the constant domains of rabbit immunoglobulin kappa chains in thermal stability and affinity	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Protein Engineering, Design and Selection	6. 最初と最後の頁 243 ~ 247
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/protein/gzy008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyabe Kazuhiro, Yamashita Takefumi, Abe Yoshito, Akiba Hiroki, Takamatsu Yuichiro, Nakakido Makoto, Hamakubo Takao, Ueda Tadashi, Caaveiro Jose M. M., Tsumoto Kouhei	4. 巻 57
2. 論文標題 Tyrosine Sulfation Restricts the Conformational Ensemble of a Flexible Peptide, Strengthening the Binding Affinity for an Antibody	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 4177 ~ 4185
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.8b00592	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fukunaga Atsushi, Maeta Shingo, Reema Bajaj, Nakakido Makoto, Tsumoto Kouhei	4. 巻 15
2. 論文標題 Improvement of antibody affinity by introduction of basic amino acid residues into the framework region	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemistry and Biophysics Reports	6. 最初と最後の頁 81 ~ 85
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrep.2018.07.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akiba Hiroki, Ikeuchi Emina, Ganbat Javkhlán, Fujikawa Hiroki, Arai-Kusano Osamu, Iwanari Hiroko, Nakakido Makoto, Hamakubo Takao, Shimomura Yutaka, Tsumoto Kouhei	4. 巻 204
2. 論文標題 Structural behavior of keratin-associated protein 8.1 in human hair as revealed by a monoclonal antibody	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Structural Biology	6. 最初と最後の頁 207 ~ 214
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jsb.2018.08.011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamashita Takefumi, Mizohata Eiichi, Nagatoishi Satoru, Watanabe Takahiro, Nakakido Makoto, Iwanari Hiroko, Mochizuki Yasuhiro, Nakayama Taisuke, Kado Yuji, Yokota Yuki, Matsumura Hiroyoshi, Kawamura Takeshi, Kodama Tatsuhiko, Hamakubo Takao, Inoue Tsuyoshi, Fujitani Hideaki, Tsumoto Kouhei	4. 巻 27
2. 論文標題 Affinity Improvement of a Cancer-Targeted Antibody through Alanine-Induced Adjustment of Antigen-Antibody Interface	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Structure	6. 最初と最後の頁 519 ~ 527.e5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.str.2018.11.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nariai Yuko, Kamino Hiroki, Obayashi Eiji, Kato Hiroaki, Sakashita Gyosuke, Sugiura Tomoko, Migita Kiyoshi, Koga Tomohiro, Kawakami Atsushi, Sakamoto Kazuma, Kadomatsu Kenji, Nakakido Makoto, Tsumoto Kouhei, Urano Takeshi	4. 巻 663
2. 論文標題 Generation and characterization of antagonistic anti-human interleukin (IL)-18 monoclonal antibodies with high affinity: Two types of monoclonal antibodies against full-length IL-18 and the neopeptide of inflammatory caspase-cleaved active IL-18	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Archives of Biochemistry and Biophysics	6. 最初と最後の頁 71 ~ 82
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.abb.2019.01.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshida Kouhei, Kuroda Daisuke, Kiyoshi Masato, Nakakido Makoto, Nagatoishi Satoru, Soga Shinji, Shirai Hiroki, Tsumoto Kouhei	4. 巻 9
2. 論文標題 Exploring designability of electrostatic complementarity at an antigen-antibody interface directed by mutagenesis, biophysical analysis, and molecular dynamics simulations	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 4482
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-40461-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計20件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 、金田生穂、長門石暁、黒田大祐、中木戸誠、カ アペイロホセ、津本浩平
2. 発表標題 Thermodynamic, kinetic and computational analyses of the recognition mechanism of an antibody to a flexible protein antigen
3. 学会等名 情報計算化学生物学会2019年大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 黒田大祐、津本浩平
2. 発表標題 コンピューター技術を用いた抗体立体構造予測と分子設計
3. 学会等名 第19 回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金田生穂、長門石暁、中木戸 誠、黒田大祐、津本浩平
2. 発表標題 熱力学・速度論に基づく抗Shh 抗体の抗原結合様式解析
3. 学会等名 第19 回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 樋渡隼人、黒田大祐、中木戸誠、津本浩平
2. 発表標題 物理化学測定と分子シミュレーションを用いた抗体親和性成熟過程の解析
3. 学会等名 第19 回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 住川太一、中木戸誠、黒田大祐、津本浩平
2. 発表標題 足場蛋白質Adhiron に移植した ヘリックスの構造解析
3. 学会等名 第19 回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 、木 下清晶、森千夏、中木戸誠、黒田大祐、津本浩平
2. 発表標題 ヒト化VHH 人工合成ライブラリー構築を目指した合成ヒト化VHH の物性機能解析
3. 学会等名 第19 回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中木戸 誠、石井 美咲、黒田 大祐、Caaveiro MM Jose、奥村 繁、丸山 俊明、Entzminger Kevin、津本 浩平
2. 発表標題 7.Molecular dissection of antigen recognition by methylated lysine specific antibodies
3. 学会等名 第19 回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takanori Yokota
2. 発表標題 New Stage of DNA/RNA Heteroduplex Oligonucleotide
3. 学会等名 AsianTIDES: Oligonucleotide & Peptide Therapeutics (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takanori Yokota
2. 発表標題 Systemically administered DNA/RNA heteroduplex oligonucleotides that can efficiently regulate CNS Genes
3. 学会等名 EuroTIDES (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 横田隆徳
2. 発表標題 核酸医薬とは何か
3. 学会等名 第37回日本神経治療学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山崎太一、長門石 暁、中木戸 誠、ホセ カアベイロ、三室 仁美、津本 浩平
2. 発表標題 1. リステリア菌感染におけるE-cadherin-InIA間相互作用を阻害する低分子及びVHHの探索
3. 学会等名 第18回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 河上 恵理, 黒田 大祐, 中木戸 誠, 津本 浩平
2. 発表標題 2.分子シミュレーションと物理化学的解析による安定化抗体の設計
3. 学会等名 18回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森 千夏, 中木戸 誠, 長門石 暁, 津本 浩平
2. 発表標題 シングルドメイン抗体を用いたインターロイキンのシグナル制御
3. 学会等名 第91回 日本生化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 石井 美咲, 中木戸 誠, 奥村 繁, 丸山 俊昭, Kevin Entzinger, 津本 浩平
2. 発表標題 メチル化リジン特異的抗体のメチル基認識機構の解析
3. 学会等名 第91回 日本生化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山本 晃一, 森 千夏, 黒田 大祐, 中木戸 誠, 長門石 暁, 津本 浩平
2. 発表標題 凝集性予測シミュレーションに基づくVHH抗体の物性改善
3. 学会等名 第41回 分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 桑原宏哉, 安楽泰孝, 福里優, 石井武彦, 新田佳子, 松本有, 藤加珠子, 宮田完二郎, 内田智士, 仁科一隆, 長田健介, 位高啓史, 水澤英洋, 片岡一則, 横田隆徳
2. 発表標題 血液脳関門を効率的に通過する脳へのドラッグデリバリーシステムの開発
3. 学会等名 第36回日本神経治療学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 横田隆徳
2. 発表標題 血液脳関門を高効率に通過を可能にした新規の薬剤送達技術の開発
3. 学会等名 第30回日本神経免疫学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroya Kuwahara, Yasutaka Anraku, Kazunori Kataoka, Takanori Yokota
2. 発表標題 An efficient drug delivery system across the BBB by utilizing Glycemic control.
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 横田隆徳
2. 発表標題 ヘテロ2 本鎖核酸の開発
3. 学会等名 遺伝子デリバリー研究会、第17 回夏季セミナー（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 横田隆徳
2. 発表標題 ヘテロ2 本鎖核酸の開発
3. 学会等名 創薬薬理フォーラム 第25 回シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	永田 哲也 (Nagata Tetsuya) (50362976)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・プロジェクト 准教授 (12602)	
研究分担者	宮田 完二郎 (MIYATA Kanjiro) (50436523)	東京大学・大学院工学系研究科(工学部)・准教授 (12601)	
研究分担者	津本 浩平 (TSUMOTO Kouhei) (90271866)	東京大学・大学院工学系研究科(工学部)・教授 (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------