

令和 2 年 6 月 16 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H02282

研究課題名(和文) 完全抗体をスーパー抗体酵素に変える革新的技術の開発

研究課題名(英文) Development of a new technology to convert a normal antibody into corresponding catalytic antibody

研究代表者

一三三 恵美 (HIFUMI, EMI)

大分大学・全学研究推進機構・教授

研究者番号：90254606

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 35,500,000円

研究成果の概要(和文)：近年、モノクローナルな抗体が複数の構造(多量体)をもつ、即ち構造多様性を有していることが明らかになった。これは、抗体医薬などのバイオ製品の製造において、解決すべき大きな問題である。研究期間前半は、抗体の構造多様性問題に取り組み、銅イオンを適切に使用することで、この課題を解決した。

次いで、研究期間後半では、抗体に酵素作用を持たせる手法の開発に集中した。その結果、「軽鎖の超可変領域(CDR)-3に存在するPro95(Kabat numbering)を欠失させれば、抗体軽鎖が酵素化する」という現象を見出した。この手法は、既存のモノクローナル抗体でも適用可能であり、所期の目標を完全に達成出来た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

タンパク質製剤に代表されるバイオ医薬品にはジェネリック医薬品は無く、バイオシミラー医薬品という。これはタンパク質では細かい構造までを含めると全く同じ製品が作れないからである。本研究で成し得た抗体の多様性構造の均一化は、特に産業上役に立つ成果である。

次いで、1975年以降、膨大な数で作製されてきたモノクローナル抗体の何割かに酵素作用を付与する画期的な手法を発見した。これは、新規な予防薬・医薬品に大きな間口を開くことになり、科学的にも産業的にも大きな意義を持つ。

研究成果の概要(英文)：In recent years, it has been recognized that one antibody has various kinds of structures. Namely, an antibody has the structural diversity, which has important meaning regarding how to produce the bio products such as antibody drugs possessing a uniform structure. In the first half of the research, we addressed the structural diversity problem of antibodies and solved this problem by using copper ions appropriately. This review article is read by a lot of scientists and engineers in the world.

Then, in the latter half of the research period, we focused on how to make antibodies having an enzymatic action. As a result, we found the epoch-making algorithm, in which the antibody light chain can be converted to the catalytic antibody by deleting Pro95 (Kabat numbering) in the hypervariable region (CDR)-3 of the antibody light chain. We also established that this can be applied as a universal technology, and we were able to achieve the goal planned initially, completely.

研究分野：生物学, 抗体工学, 酵素科学, 生体関連化学, バイオテクノロジー

キーワード：抗体医薬 抗体酵素 構造多様性 アルゴリズム 銅イオン プロリン 超可変領域 変異体

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

一二三らは、細胞融合法により得たモノクローナル抗体の軽鎖に抗原分解活性が存在することを見出し「スーパー抗体酵素」と名付けた。スーパー抗体酵素の活性サイトを推定し、「マウス由来」モノクローナル抗体から十数種類のスーパー抗体酵素を取得した。次いで、抗体酵素による世界初の動物実験を実施して、マウスの胃内に感染したピロリ菌の除去に成功した。

この研究をさらに発展させて、「ヒト由来」スーパー抗体酵素の開発に取り組み、狂犬病ウイルスやインフルエンザウイルス、がん細胞に対して効果を示す「完全ヒト型スーパー抗体酵素」の作製に成功した。

2. 研究の目的

抗体医薬研究は、米国において乳がん治療薬の抗 HER2 抗体(ハーセプチン)が開発されて以来、現在でも世界を席捲している研究テーマである。我が国では、2008 年以降に 22 種類の抗体医薬が承認されているにも関わらず、国産は少なく、今でも輸入大国である。

一方で、一二三らが開発を進めてきた「スーパー抗体酵素」は、抗原を特異的に分解出来る能力を持ち、抗体医薬や低分子医薬とは異なる機序で作用する機能性分子で、日本独自の技術として構築しつつある。世界では、1975 年以降、膨大な数のモノクローナル抗体が開発されているので、これらに酵素機能を付与してスーパー抗体酵素化すれば、どれほどの多くの、そして広い分野に応用出来るか図り知れない。

本研究では、一二三らの持つスーパー抗体酵素研究のノウハウを結集し、構造科学的知見をもとに「抗体をスーパー抗体酵素に変換する」ための日本独自の基盤技術の確立を目指した。

3. 研究の方法

当初計画では、X 線結晶構造解析によりスーパー抗体酵素や、モノクローナル抗体軽鎖の構造を決定し、基質認識サイトの解析や、酵素活性分子機構の解明を行う計画であった。しかしながら、抗体タンパクには構造多様性があり、そのサブユニットである軽鎖も同様の性質を示したことから、結晶化は困難を極めた。そこで、一部計画を変更して、構造多様性問題の解決に取り組み、前半の 2 年間でこの問題を解決した。

構造多様性問題を解決したことで、各スーパー抗体酵素クローンの特徴を明確、かつ再現性良く検出出来るようになった。そこで、後半の 2 年間は、軽鎖遺伝子の種類やアミノ酸配列と酵素活性の関係を精査し、変異導入法によって軽鎖の酵素化に重要なアミノ酸残基の特定を進めた。

実際の検討内容と結果は、次項に示す。

4. 研究成果

各項の成果を述べる前に、共通する実験手法について纏める。

本研究で用いたヒト型抗体軽鎖タンパク(ヒト型軽鎖)は、健康人末梢血リンパ球由来ライブラリーから調製した。末梢血リンパ球より抽出した RNA から cDNA を合成し、kappa 型軽鎖全長を PCR 増幅させた。この時に使用した primer は、kappa 鎖を subgroup ごとに増幅出来るように設計したものである。増幅した軽鎖遺伝子は、pET20b(+)ベクターに組み込んで、大腸菌 BL21(DE3)pLysS を用いて発現させた。発現誘導には 10 μ M の IPTG を用い、18°C で約 20 時間の低温培養を行った。続いて菌体を回収し、超音波破碎して可溶性画分を調製し、一次精製として Ni-NTA カラムクロマトグラフィー(QIAGEN)を実施した。溶出には 30~300 mM のイミダゾールを用いた。続く二次精製は、TOSOH 製の SP-5PW カラムを用いるイオン交換クロマトグラフィーを行った。酸性条件下のクロマトグラフィーでは、50 mM 酢酸緩衝液(pH5.5)を用い、NaCl の gradient で軽鎖タンパクを溶出させた。塩基性条件下のクロマトグラフィーでは、50 mM Tris-HCl(pH8.0)を用い、素通り画分を採取した。必要に応じて実施したサイズ排除クロマトグラフィーでは、主に GE Healthcare の HiLoad 16/60 Superdex 200 prep grade カラムを用い、溶離液には PBS を使用した。精製後の軽鎖溶液は、150 mM NaCl を含む 20 mM Tris-HCl (pH8.5)に交換した後に限外濾過濃縮(Amicon ultra 10000, Millipore)し、PBS に交換、濾過滅菌して各種試験に使用した。

モノクローナル抗体軽鎖については、抗体産生細胞より mRNA を抽出後に合成した cDNA を用い、軽鎖配列に基づいて合成した primer で全長を PCR 増幅した。これ以降の pET20b(+)ベクターへの組み込み、発現、精製はヒト型軽鎖と同様である。

精製した軽鎖タンパクの酵素活性は、peptidyl-pNA 基質(ペプチド研究所)を用いる評価系と、抗原ペプチドに蛍光基と消光基を導入した FRET-peptide を用いる評価系で分析した。前者の場合は、200 μ M の peptidyl-pNA 基質に 10 μ M の軽鎖タンパクを反応させて、p-Nitroaniline の生成をモニターした。後者では、25~100 μ M の FRET-peptide に 5 μ M の軽鎖タンパクを反応させて、蛍光の上昇をモニターした。

(1)X 線結晶構造解析による基質認識、酵素活性分子機構の解明

方法：6 種類のクローンについて、X 線結晶構造解析のための結晶化を試みた。軽鎖は C 末端に重鎖との共有結合に用いる Cys が存在する。全長遺伝子を発現させると溶液中で dimer 化が起るため、構造を均一化させる目的で、この Cys を Ala に変えた monomer mutant を用いた。こ

れ以外にも、His-tag を切断するための Pre-scission site を導入した Construct や Fv-Clasp 化した Construct を作製し、得られた精製タンパクに対して結晶化条件の検討を重ねた。結晶を得ることが出来たクローンについては、Spring-8 BL32XU での X 線回折実験を行った。

結果：6 種類のクローンのうち、ヒト型軽鎖の#4 では、monomer mutant を用いることで非対称単位に 8 分子が存在することは明らかになった(業績 3)ものの、結晶性の改善が進まなかったことから、Fv-Clasp 化を試みた。2.6 Å の分解能で得られたのは、ドメインスワッピングを起こした 4 量体構造であった。同じくヒト型の H34 クローンでは、His-tag を残したままの Construct で微結晶を得ることが出来、9 Å の低分解能ではあるが、回折点を得た。T99 クローンは、核酸分解能を有するもので、monomer mutant を作製して 2.6 Å の分解能での構造決定に成功した。基質である核酸複合体の結晶構造解析を目指して、長さや配列を変えた短鎖 DNA との親和性を表面プラズモン共鳴により分析し、 $K_d=2.6 \mu\text{M}$ の親和性で結合するオリゴ DNA を見出した。この条件での結晶化を試みている。この T99 クローンは、抗原認識部位近傍に触媒三ツ組残基様構造を持つと推定されているものの、野生型では peptidase 活性を示さない。ところが、後述の軽鎖配列に基づいた抗体軽鎖の酵素化において作製した T99-P95 mutant は、peptidase 活性を示す。そこで、T99-P95 の monomer mutant についての結晶化を進め、2.0 Å の分解能での構造決定に成功した。

(2)軽鎖タンパク(スーパー抗体酵素)が持つ構造多様性問題とその解決法

一般的には余り知られていないが、抗体には構造多様性が存在する。図 1 は、一二三らが作製したモノクローナル抗体 InfA-9、および本抗体タンパクから化学的手法により調製した軽鎖、重鎖の二次元電気泳動の結果である。8 M urea を用いる強い変性条件下であるにもかかわらず、重鎖(図 1 の H)や軽鎖(図 1 の L)の位置に、アミノ酸残基の修飾などで生じたと考えられる pI の異なるアイソフォームが多数検出されている。この現象は、乳がんに対する抗体医薬として知られるハーセプチン(Trastuzumab)でも報告されるなど(Dashnor Nebija *et al.*, *Int. J. Mol. Sci.*,15(4),2014) 一般的に認められる現象である。この現象は、大腸菌発現した軽鎖タンパクでも同様に認められており、構造解析のための結晶化を困難にするのは勿論のこと、実用化のためには克服すべき課題であることが明らかとなった。

方法：ライブラリー化した軽鎖クローンを前述の方法で発現・精製すると、高純度に精製出来ているにもかかわらず、二次精製の陽イオン交換クロマト

グラフィーにおいて、複雑な複数のピークが検出された。本研究を開始した当初、一次精製の Ni-NTA カラムクロマトグラフィーの後に、軽鎖タンパクの 1.25 eq の Cu イオンを添加してインキュベーションすることで解決出来ることが、明らかになりつつあった。本課題において、用いている軽鎖遺伝子の種類や体細胞変異の入り方の異なる種々のクローンについて調べたところ、全ての軽鎖クローンで共通する現象であったことから、軽鎖定常領域に起因する可能性がある判断し、これを単独で発現させて、性質を調べた。

軽鎖に対する銅イオンの効果を分析した時と同じ手法、即ち、一次精製後に異なる濃度の銅イオンを加えて 4°C で一晩のインキュベーション後、50 mM 酢酸緩衝液(pH 5.5) に交換して酸性

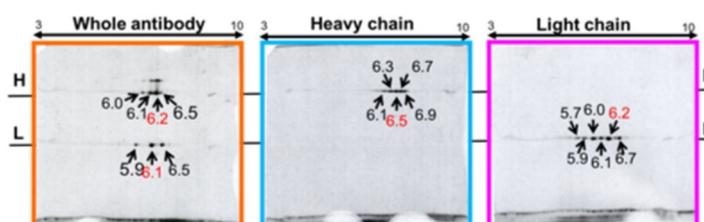


図 1 InfA-9 モノクローナル抗体の二次元電気泳動

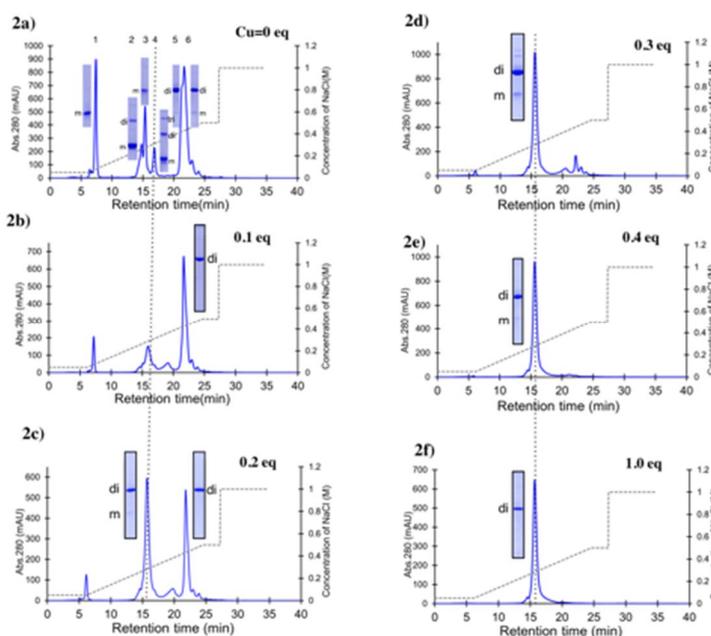


図 2 ヒト軽鎖定常領域ドメインの陽イオン交換クロマトグラム：一次精製後に添加する銅イオンを 0, 0.1 eq から 1.0 eq まで変化させた。

条件下の陽イオン交換クロマトグラフィーを実施した。

結果：銅イオン添加量を 0.1 eq から 1.0 eq まで変化させた場合の陽イオン交換クロマトグラムを図 2 に示した。銅イオン無添加では、表面電荷の異なるアイソフォームが少なくとも 6 種類存在することが明らかとなった。銅イオンの添加量増加に伴いアイソフォームの数は減少し、1.0 eq の添加で 1 本に集約された。これは、軽鎖全長で認められる現象と同等であり、銅イオンは軽鎖の異なる電荷を帯びた全長、および定常領域ドメインの均質化に大きく貢献することを示す結果である。これを 2 つの論文（業績 1, 2）と総説（業績 3）に纏めた。総説は多くの研究者に読まれている。

(3)抗体軽鎖を抗体酵素に変換するアルゴリズムの開発

方法：ヒト型軽鎖ライブラリークローンのアミノ酸配列に着目しながら、前項の構造均一化法による精製を行い、peptidyl-pNA 基質や FRET-peptide 抗原を用いる酵素活性試験を実施した。アミノ酸配列が僅かに異なるクローン間で酵素活性に差を認めたケースに於いては、変異導入によって分解活性に影響を及ぼしているアミノ酸残基を特定した(業績 4, 5)。

結果：ヒト型軽鎖の S35 クローンと S38 クローンは、体細胞変異を伴わないクローンで、分子モデリングによる構造予測の結果から

超可変領域(CDR)近傍に触媒三ツ組残基様構造を持つと推定された。全長 219 アミノ酸残基のうち、異なるのは CDR-3 領域の Pro95 (Kabat numbering) のみで、S35 は Pro95 を持つのに対して、S38 は持っていない。僅か 1 残基の違いでありながら、peptidase 活性試験には大きな差が現れた。図 3 に示す様に、Pro95 を持たない S38 は、Arg-pNA 基質や FRET-Aβ peptide や、Arg-pNA 基質を分解したのに対して、Pro95 を持つ S35 は分解しなかった。Pro95 は触媒三ツ組残基様構造の近傍に位置することから、S35 では Pro95 が活性サイトの作用を阻害しているものと推定された。

そこで次に、同じく触媒三ツ組残基様構造を持ちながら、peptidase 活性を示さない T99 クローンに着目した。このクローンはライブラリーの中で最も多くの体細胞変異を伴っているクローンである。

前述の S38 クローンの結果を参考に、Pro95 を削除した T99-P95 mutant を作製して、peptidase 活性試験を行った。すると、S38 の場合と同様に、T99-P95 mutant は Arg-pNA を分解したばかりか、FRET-Aβ peptide に対する分解活性も示した。この時の分解反応液の質量分析の結果から、Aβ 部分 peptide の配列中の、Gly-Ala 間のペプチド結合が切断され、続いて Lys-Gly 間と Ile-Gly 間が切断されることが明らかとなった(図 4)。この反応の動学的解析を行うと、図 5 に示す様に、Hanes-Woolf プロットが良好な直線関係を示し、この反応が Michaelis-Menten 式に従う酵素反応であることを確認した。この結果から得た解離定数 (Km) は 0.9×10^{-6} M、触媒反応定数 (kcat) は $4 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ であり、触媒効率 (kcat / Km) は $8.58 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ min}^{-1}$ となった。また、T99 P95 mutant の Aβ 1-40 peptide に対する分解反応を実施した。37°C で 1 hr のインキュベーションの後、反応液の質量分析を行うと、図 6 に示した様に、His¹⁴-Gln¹⁵ 間のペプチド結合が切断されることが分かった。

分子モデリングにより T99 クローンと T99-P95 mutant の酵素活性サイトの構造を予測する

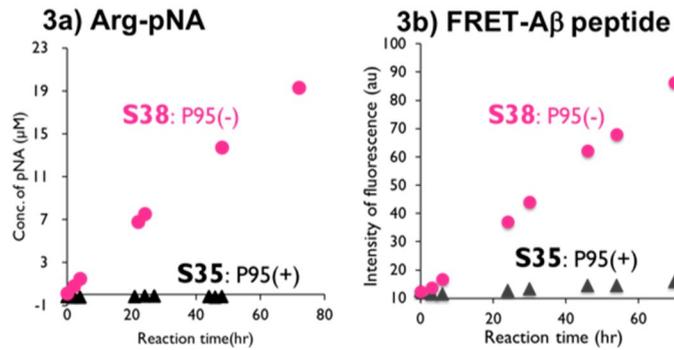


図 3 S35, および S38 クローンの peptidase 活性, 3a: Arg-pNA 基質に対する分解活性試験、3b: FRET-Aβ peptide に対する分解試験の結果

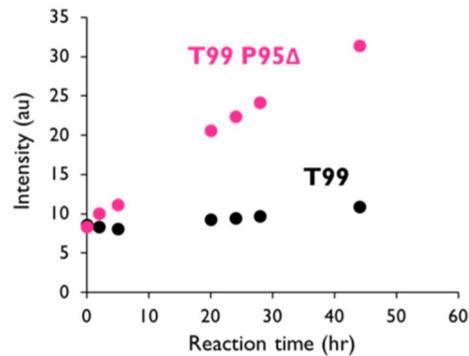


図 4 T99, および T99P95 mutant の peptidase 活性と、FRET-Aβ peptide の切断部位

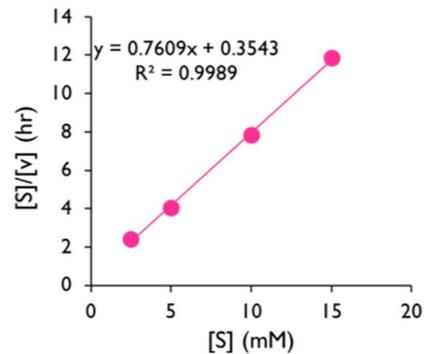


図 5 T99P95 mutant による FRET-Aβ 分解反応の Hanes-Woolf プロット

と、触媒三ツ組残基様構造を構成する Ser27a (O) と His93 (N) の間の距離は、T99 では 7.46 Å、T99-P95Δ mutant では 6.20 Å で、それ程変化が見られない。これに対して、T99-P95Δ mutant の Asp1 のカルボキシル基は、His93 のアミノ基に向き、His93 (N) と Asp1 (O) の間の距離は、T99 の 12.26 Å から T99-P95Δ mutant の 6.21 Å にと大きく変化すると推定され、この大きな構造変化が T99-P95Δ mutant が酵素機能を獲得した要因のひとつと考えられた。両クローンの monomer mutant を用いた X 線結晶構造解析の結果から、His93-Asp1 が触媒残基である可能性が示唆されており、これらの残基への変位導入や複合体の結晶構造解析などを進めている。

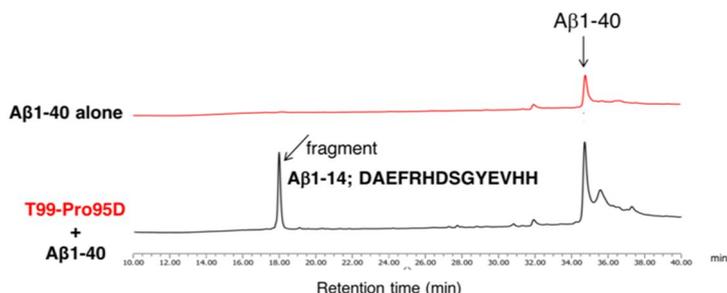


図 6 T99P95 mutant による Ab1-40 peptide 分解断片の解析

S35 と S38、および T99 と T99-P95 mutant の結果を受けて、T99 と同じ配置で触媒三ツ組残基様構造を持ち、Pro95 を持ちながらも Arg-pNA に対する分解活性を示す #7TR クローンに対して、Pro95 の変異導入を行った。すると、作製した #7TR-P95 mutant は、もとの #7TR よりも高分解活性を示した。

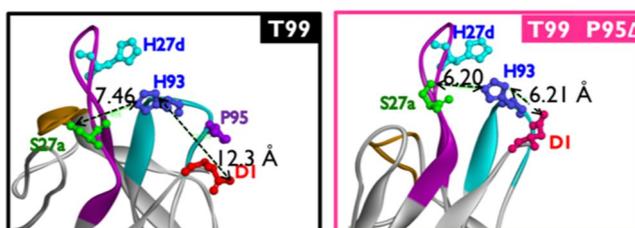


図 7 分子モデリングによる T99 と T99-P95Δ mutant の構造予測

配置で触媒三ツ組残基様構造を持ち、Pro95 を持ちながらも Arg-pNA に対する分解活性を示す #7TR クローンに対して、Pro95 の変異導入を行った。すると、作製した #7TR-P95 mutant は、もとの #7TR よりも高分解活性を示した。

また、もともと Pro95 を欠損し、FRET-PD1 peptide に対する分解活性を有する H34 クローンに Pro95 を挿入した mutant では、同 peptide に対する分解活性が大きく低下した。

これらの結果から、潜在的な触媒三ツ組残基様構造を持つヒト kappa 型軽鎖 (Subgroup II に分類されるヒト kappa 型軽鎖) において、酵素活性の発現と Pro95 は密接に関係することが明らかとなった。この Pro95 は、体細胞変異の入りやすい CDR-3 領域にあって、高く保存されている

アミノ酸残基であることから、ヒトの subgroup II kappa 型軽鎖は、分子進化の過程において、Pro95 を挿入することによって、酵素機能を封印し、分子認識に特化する方向に進んだのかも知れない。これらの結果は、Science Advances に掲載され (業績 5) review の段階で major finding と称された。

一方、マウスの抗体について目を向けると、IMGT database を用いた解析の結果、上述の着目すべき配列を持つモノクローナル抗体の存在率は 40% 近いことが分かった。これは、ヒト型軽鎖で想定される頻度の 5% と比べて、遙かに大きい。現在、マウス型抗体の Pro95 削除による酵素化実験や、X 線結晶構造解析の結果に基づいた酵素活性サイトの同定を進めている。

以上、研究開始初期段階に問題となった「軽鎖タンパクの構造多様性問題」に取り組み、これを解決したことで、「抗体を酵素化する」という新しい技術確立することが出来た。この手法は当初計画よりもむしろ簡便、かつ抗体に対する適用範囲の広いものであり、想定外の成果であった。

< 主な業績 >

1. A novel method of preparing the mono-form structure of catalytic antibody light chain. E. Hifumi, S. Matsumoto, H. Nakashima, S. Itonaga, M. Arakawa, Y. Katayama, R. Kato, T. Uda, *FASEB J.*, **30**, 895-908(2016). (doi:10.1096/fj.15-276394)
2. Role of the constant region domain in the structural diversity of human antibody light chains, E. Hifumi, H. Taguchi, R. Kato, T. Uda, *FASEB J.*, **31**, 1668-1677(2017). (doi: 10.1096/fj.201600819R)
3. Structural diversity problem of antibodies and catalytic antibody light chains and the solving method, E. Hifumi, H. Taguchi, R. Kato, M. Arakawa, Y. Katayama, T. Uda, **Chapter 10**, (pp231-257) *Antibody Engineering*, 2018, Edited by Thomas Boldicke (InTech publishers) DOI: 10.5772/65238
4. New technologies to introduce a catalytic function into antibodies ~A unique human catalytic antibody light chain showing degradation of β -amyloid molecule along with the peptidase activity~ Hifumi, E., Taguchi, H., Toorisaka, E., Uda, T. *FASEB Bioadvances*. **Vol.1**(2), 93-104(2018). (doi.org/10.1096/fba.1025)
5. A new algorithm to convert a normal antibody into the corresponding catalytic antibody. Hifumi, E., Taguchi, H., Tsuda, H., Minagawa, T., Nonaka, T., Uda, T. *Science Advances*, **6**(13), eaay6441(2020).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Hifumi Emi, Taguchi Hiroaki, Tsuda Haruna, Minagawa Tetsuro, Nonaka Tamami, Uda Taizo	4. 巻 6
2. 論文標題 A new algorithm to convert a normal antibody into the corresponding catalytic antibody	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/sciadv.aay6441	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 Hifumi Emi, Taguchi Hiroaki, Toorisaka Eiichi, Uda Taizo	4. 巻 1
2. 論文標題 New technologies to introduce a catalytic function into antibodies: A unique human catalytic antibody light chain showing degradation of α -amyloid molecule along with the peptidase activity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 FASEB BioAdvances	6. 最初と最後の頁 93 ~ 104
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1096/fba.1025	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 E. Hifumi, H. Taguchi, R. Kato, T. Uda	4. 巻 31
2. 論文標題 Role of the constant region domain in the structural diversity of human antibody light chains.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 FASEB J	6. 最初と最後の頁 1668-1677
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1096/fj.201600819R	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 Y. Katayama, T. Ohgi, Y. Mitoma, E. Hifumi, N. egashira	4. 巻 408
2. 論文標題 Detection of influenza virus by a biosensor based on the method combining electrochemiluminescence on binary SAMs modified Au electrode with an immunoliposome encapsulating Ru (II) complex	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Anal Bioanal Chem	6. 最初と最後の頁 5963-5971
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00216-016-9587-8	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 Y. Yamada, M. Hiraki, N. Matsugaki, R. Kato, T. Senda	4. 巻 -
2. 論文標題 In-situ data collection at the photon factory macromolecular crystallography beamlines	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 AIP Conf. Proc	6. 最初と最後の頁 0500231-0500234
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) http://dx.doi.org/10.1063/1.4952943	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50件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 8件)

1. 発表者名 小林淳, 吉田尚史, 有森貴夫, 高木淳一, 一二三恵美, 宇田泰三, 加藤龍一
2. 発表標題 Fv-clasp化した抗体酵素の結晶構造と絶対分子量から推定した溶液構造
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 佐土原万実, 秋吉裕子, 宇田泰三, 一二三恵美
2. 発表標題 軽鎖型抗体酵素の精製方法と酵素活性
3. 学会等名 第56回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤杜一, 宇田泰三, 一二三恵美
2. 発表標題 Subgroup(III)に属する抗体軽鎖の酵素機能の探索
3. 学会等名 第56回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 一二三恵美, 津田春菜, 皆川哲郎, 田口博明, 宇田泰三
2. 発表標題 抗体を酵素に変換するアルゴリズムの開発
3. 学会等名 第29回バイオ・高分子シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 一二三恵美, 田口博明, 津田春菜, 皆川哲郎, 野中玲実, 宇田泰三
2. 発表標題 抗体に酵素作用を持たせる手法(第6報)
3. 学会等名 第13回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宇田泰三, 田口博明, 渡辺万由子, 野中玲実, 一二三恵美
2. 発表標題 免疫チェックポイントPD1分子を分解するヒト型抗体酵素
3. 学会等名 第13回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小林淳, 一二三恵美, 宇田 泰三, 加藤 龍一
2. 発表標題 抗体を酵素化する変異導入
3. 学会等名 第92回日本生化学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hifumi Emi, Yuko Akiyoshi, Uda Tizo
2. 発表標題 Development of algorithms to introduce a catalytic function into normal antibodies.
3. 学会等名 The 12th ECCE(European Congress of Chemical Engineering) & 5th ECAB(European Congress of Applied Biotechnology) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kato Ryuichi, Tanabe Mikio, Yamada Yusuke, Hiraki Masahiko, Senda Toshiya
2. 発表標題 Improvements of a fully automated protein crystallization and monitoring system
3. 学会等名 13th International Conference on Biology and Synchrotron Radiation (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kato Ryuichi, Hiraki Masahiko, Yamada Yusuke, Tanabe Mikio, Senda Toshiya
2. 発表標題 Improvements of an automated crystallization and observation system and in situ X-ray diffraction experiment for LCP crystallization
3. 学会等名 International Symposium on Diffraction Structural Biology 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤龍一, 平木雅彦, 山田悠介, 田辺幹雄, 千田俊哉
2. 発表標題 全自動結晶化観察システムの機能向上と外部利用
3. 学会等名 日本結晶学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 皆川哲郎, 野中玲実, 田口博明, 宇田泰三, 一二三恵美
2. 発表標題 PD-1分子を分解する軽鎖型抗体酵素
3. 学会等名 第26回生物工学会九州支部
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 津田春菜, 皆川哲郎, 野中玲実, 田口博明, 宇田泰三, 一二三恵美
2. 発表標題 変異導入による抗体軽鎖の酵素化
3. 学会等名 第26回生物工学会九州支部
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 一二三恵美, 田口博明, 野中玲実, 宇田泰三
2. 発表標題 抗体を抗体酵素に変換するアルゴリズム
3. 学会等名 第100春季日本化学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野中玲実, 佐土原万実, 宇田泰三, 一二三恵美
2. 発表標題 ヒト型抗体酵素#7TRのキャラクタリゼーション
3. 学会等名 第100春季日本化学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Emi Hifumi, Yuko Akiyoshi, and Taizo Uda
2. 発表標題 The structural diversity and biological meaning of antibody
3. 学会等名 Experimental Biology 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Taizo Uda, Yuko Akiyoshi, Hiroaki Taguchi, and Emi Hifumi
2. 発表標題 A unique method for antibody to possess the catalytic function (3rd report)
3. 学会等名 Experimental Biology 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐土原万美, 秋吉裕子, 宇田泰三, 一二三恵美
2. 発表標題 軽鎖型抗体酵素の精製方法と酵素活性
3. 学会等名 第55回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤杜一, 秋吉裕子, 田口博明, 宇田泰三, 一二三恵美
2. 発表標題 軽鎖型抗体酵素#7TRクローンの生化学的性質
3. 学会等名 第55回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 一三三恵美, 秋吉裕子, 通阪栄一, 田口博明, 加藤龍一, 宇田泰三
2. 発表標題 抗体に酵素作用を付与する一手法
3. 学会等名 第28回バイオ・高分子シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 清水 美里, 宇田 泰三, 一三三 恵美
2. 発表標題 核酸分解能を示すヒト型抗体軽鎖クローン
3. 学会等名 第70回日本生物工学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宇田泰三, 秋吉裕子, 田口博明, 一三三恵美
2. 発表標題 ヒト型抗体酵素(軽鎖) #7シリーズの特徴と酵素活性サイト
3. 学会等名 第70回日本生物工学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡辺 万由子, 秋吉 裕子, 田口 博明, 宇田 泰三, 一三三 恵美
2. 発表標題 ヒト型抗体軽鎖Subgroup I における酵素活性に関する検討
3. 学会等名 第70回日本生物工学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宇田泰三, 増永修士, 一二三恵美
2. 発表標題 抗体に酵素作用を持たせる方法 (第3報)
3. 学会等名 第12回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉田尚史, 宇田泰三, 有森貴夫, 高木淳一, 一二三恵美, 加藤龍一
2. 発表標題 トリプシン様ペプチダーゼ活性をもつ抗体酵素のX線結晶構造解析
3. 学会等名 日本結晶学会 2018年度年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山田悠介, 田辺幹雄, 尾関雅弘, 菅原隆広, 千田俊哉, 加藤龍一
2. 発表標題 Photon Factoryにおける膜タンパク質結晶構造解析パイプライン
3. 学会等名 日本結晶学会 2018年度年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加藤龍一
2. 発表標題 放射光施設における結晶化スクリーニングの自動化
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小祝 孝太郎, 月本 準, 東 哲也, 加藤 龍一, Leonard M.G. Chavas, 千田 俊哉, 伊藤 孝司, 湯本 史明
2. 発表標題 哺乳動物細胞を用いた細胞内結晶化法
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroaki Taguchi, Iida Yuki, Mao Oba, Yoshio Fujita, Emi Hifumi, Taizo Uda
2. 発表標題 Discovery of antibody light chains capable of hydrolyzing tau protein using fluorescence-quenched substrate
3. 学会等名 第10回国際ペプチドシンポジウム, 第55回ペプチド討論会. (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宇田泰三, 田口博明, 一二三恵美
2. 発表標題 Tauペプチドを分解するヒト型抗体軽鎖
3. 学会等名 第99日本化学会春季年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 一二三恵美, 秋吉裕子, 宇田泰三
2. 発表標題 抗体に酵素作用を持たせる方法 (第5報)
3. 学会等名 第99日本化学会春季年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 渡辺万由子、秋吉裕子、宇田泰三、一二三恵美
2. 発表標題 ヒト型抗体酵素#4クローンの構造均一化および生化学的性質に関する研究
3. 学会等名 第54回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 一二三恵美、秋吉裕子、糸永省吾、中島弘貴、宇田泰三
2. 発表標題 抗体酵素の構造多様性を解決する一方法
3. 学会等名 第27回バイオ・高分子シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Taizo Uda, Emi Hifumi
2. 発表標題 Structural diversity problem and a novel method obtaining the mono-form structure for human antibody light chains.
3. 学会等名 28th Annual conference of the European Society for Biomaterials (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Emi Hifumi, Mitsue Arakawa, Taizo Uda
2. 発表標題 Human catalytic antibody light chains inhibiting the infection of influenza virus
3. 学会等名 28th Annual conference of the European Society for Biomaterials (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 宇田泰三、秋吉裕子、田口博明、一二三恵美
2. 発表標題 ヒト型抗体酵素のペプチダーゼ活性と α -amyloid分解能(1)
3. 学会等名 2017年日本化学会中国・四国支部大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 清水美里、秋吉裕子、宇田泰三、一二三恵美
2. 発表標題 ヒト型抗体酵素の核酸分解活性に関する基礎的研究
3. 学会等名 2017年日本化学会中国・四国支部大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroaki Taguchi, Yasuhiro Ishihara, Yoshio Fujita, Emi Hifumi, Taizo Uda
2. 発表標題 Development of fluorescence-quenched substrate for discovering antibodies capable of hydrolyzing tau protein.
3. 学会等名 第54ペプチド討論会・日本ペプチド学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 一二三恵美、秋吉裕子、田口博明、宇田泰三
2. 発表標題 抗体に酵素作用を持たせる方法(1)
3. 学会等名 第24回日本生物工学会九州支部沖縄大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 一二三恵美、秋吉裕子、宇田泰三
2. 発表標題 抗体鎖の構造多様性と生物学的意味
3. 学会等名 日本化学会第98春季年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 宇田泰三、秋吉裕子、田口博明、一二三恵美
2. 発表標題 抗体に酵素作用を持たせる方法(II)
3. 学会等名 日本化学会第98春季年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 一二三恵美、渡辺万由子、秋吉裕子、宇田泰三
2. 発表標題 多様性構造を有する抗体の意義と構造均一化法
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小祝孝太郎、月本準、東哲也、真板宣夫、山田悠介、平木雅彦、加藤龍一、Leonard M. G. Chavas、千田俊哉、伊藤孝司、湯本史明
2. 発表標題 ヒトタンパク質の哺乳動物を用いた細胞内結晶化
3. 学会等名 第17回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 加藤龍一
2. 発表標題 全自動大規模結晶化ロボットの開発
3. 学会等名 第3回 筑波大学-KEK連携セミナー
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山田 悠介、松垣 直宏、引田 理英、平木 雅彦、加藤 龍一、千田 俊哉
2. 発表標題 PFタンパク質結晶構造解析ビームラインによる構造生物学研究支援
3. 学会等名 ConBio2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小祝 孝太郎、月本 準、東 哲也、真板 宣夫、山田 悠介、平木 雅彦、加藤 龍一、千田 俊哉、Chavas Leonard、伊藤 孝司、湯本 史明
2. 発表標題 ヒトタンパク質の哺乳動物細胞を用いた細胞内結晶化
3. 学会等名 ConBio2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 廣瀬晶子, 元橋朋子, 増永修士, 宇田泰三, 一二三恵美
2. 発表標題 ヒト型抗体酵素による核酸分解能と細胞傷害性
3. 学会等名 第53回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 吉田 圭汰, 宇田 泰三, 一二三 恵美,
2. 発表標題 抗インフルエンザ活性を有する抗体酵素T99 クローンの核酸分解 能
3. 学会等名 第53 回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 宇田泰三, 秋吉裕子, 一二三恵美
2. 発表標題 抗体軽鎖の構造均一化法と安定化法
3. 学会等名 日本化学会第97春季年会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 一二三恵美, 渡辺万由子, 宇田泰三
2. 発表標題 ヒト型抗体酵素#4クローンの酵素学的および生化学的性質に関する研究
3. 学会等名 日本化学会第97春季年会
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 Emi Hifumi, Hiroaki Taguchi, Ryuichi Kato, Mitsue Arakawa, Yoshiki Katayama, Taizo Uda	4. 発行年 2018年
2. 出版社 InTech publishers	5. 総ページ数 26
3. 書名 Antibody Engineering	

1. 著者名 Emi Hifumi、Mitsue Arakawa、Taizo Uda	4. 発行年 2017年
2. 出版社 Bentham Science Publishers	5. 総ページ数 32
3. 書名 Frontiers in clinical drug research - Anti infectives	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 抗体kappa型軽鎖及びその製造方法	発明者 一 二三恵美、宇田泰 三	権利者 日本科学技術振 興機構
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-136403	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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	加藤 龍一 (Kato Ryuichi) (50240833)	大学共同利用機関法人高エネルギー加速器研究機構・物質構造科学研究所・准教授 (82118)	
研究 協力者	宇田 泰三 (Uda Taizo)		
連携 研究者	田口 博明 (Taguchi Hiroaki) (20549068)	鈴鹿医療科学大学・薬学部・教授 (34104)	