

**1S-Dp07 1細胞から得られる形態情報を用いた品質評価**

○加藤 竜司  
(名大院・創薬科学)  
kato-r@ps.nagoya-u.ac.jp

細胞培養の有史以来、細胞の形は極めて重要な細胞の特性・状態を推し量るインジケータとして利用されている。特に再生医療製品の製造においては、細胞の形の観察は細胞品質のメンテナンス方法として最も効率的かつ現実的な手法として全ての細胞において行われている。近年では、細胞から得られる形態に関する情報の活用は、高度な画像処理技術との組合せ解析によってバイオイメージング・インフォマティクスなどの分野でも広がりがつつある。特に、High Content Analysis (HCA)などの創薬探索研究においては、1細胞から得られる情報はその形だけに留まらず、細胞内小器官内の状態や局在など極めて高度化しつつある。筆者らは、顕微鏡画像から得られる細胞の形の情報の測定と解析によって、時には遺伝子解析よりも早期に細胞品質の変化やポテンシャルを評価できることを示してきている。本講演では、高度化しつつある細胞画像の解析から得られる形態情報量の利点と欠点に注目しながら、品質管理における画像情報の活用方法について述べる。

**Informatic quality assessment using morphology of single cells**

○Ryuji Kato  
(Grad. Sch. Pharm. Sci., Nagoya Univ.)

**Key words** cell morphology, single cell, quality assessment

**1S-Ep01 マイクロ抗体：進化分子工学による抗体様分子標的ペプチドの創出**

○藤井 郁雄  
(阪府大院・理)  
fujii@b.s.osakafu-u.ac.jp

近年、分子標的医薬として抗体が注目されているが、研究開発が進むにつれ、その限界も明らかにされてきている。抗体医薬には、以下のような問題点が指摘されている。1) ヒトに対する抗原性を下げるため、ヒト化等が必要である。2) 抗体は、多数のジスルフィド結合を含む巨大タンパク質であるため、細胞内に導入したり、細胞内で機能させたりすることができず、細胞内のタンパク質をターゲットとすることができない。3) 現在の抗体医薬はそのほとんどがモノクローナル抗体であるために生産に膨大なコストを必要とする。さらに、4) 抗体医薬の開発や生産には、特許の制限が複雑に絡み合っている。これらの問題点は、抗体の基本構造に起因するものである。そこで、イムノグロブリン構造を利用せず、目的の標的タンパク質に対して特異的に結合する抗体様物質の開発研究が始まっている。われわれは、抗体様物質としてヘリックス・ループ・ヘリックス構造をもつ分子標的ペプチドの開発を行っている。すなわち、分子進化工学の主要技術である細胞表面提示ライブラリー法を駆使し、立体構造規制ペプチドライブラリーから標的タンパク質に結合するペプチドをスクリーニングする。得られるペプチドは、強固な立体構造をもつため生体内の酵素分解に対しても安定であり（血清中半減期：15日）、低分子量（分子量：4000～5000）であるにもかかわらず抗体と同等の高い結合活性（Kd値：数nM）をもつ。そこで、この立体構造規制ペプチドを「マイクロ抗体」と名付けた。これまでに、マイクロ抗体のファージ表面提示ライブラリーならびに酵母表面提示ライブラリーを構築し、疾患関連タンパク質に対してスクリーニングを行い、高結合活性分子標的ペプチドの獲得に成功している。

抗体タンパク質は、安定なβ-ストランド構造を土台分子として持ち、この土台分子の上に6本のCDR領域（ループ構造）を持つ。CDR部分のアミノ酸を多様に変化させることにより抗体ライブラリーが形成され、免疫により、このライブラリーから抗原に高い特異性と強い結合活性をもつ抗体タンパク質が選別される。そこで、このような性質を模倣するためには、土台分子としてヘリックス・ループ・ヘリックス構造を有するペプチドを分子設計した。このペプチドは3つの領域で構成される(1) 14アミノ酸残基からなる構造支持領域、(2) グリシン7残基からなるループ、(3) 同じく14アミノ酸残基からなるライブラリー領域。2つのヘリックスは、内側に存在する8つのLeu基の疎水相互作用および側面のGlu基（とLys基（Lys22, Lys29）の静電相互作用により寄り添い、安定なヘリックス・ループ・ヘリックス構造を形成する。一方、ヘリックス外側のアミノ酸は立体構造構築に関わっていない。したがって、外側のアミノ酸をさまざまなアミノ酸に置換することにより、マイクロ抗体の分子ライブラリーを構築することができる。本シンポジウムでは、まず、顆粒球コロニー刺激因子受容体（G-CSFR）に対するマイクロ抗体を例として、ヘリックス・ループ・ヘリックス構造ペプチドの分子設計およびその立体構造規制の重要性を解説するとともに、ファージ表面提示ライブラリーによるマイクロ抗体のスクリーニングとして、細胞外タンパク質である血管内皮細胞増殖因子（VEGF）および細胞内タンパク質としてp52-HDM2について紹介する。

**MicroAntibodies: Generation of molecular-Targeting peptides by directed evolution of conformationally constrained peptide libraries**

○Ikuro Fujii  
(Grad. Sch. Sci., Osaka Pref. Univ.)

**Key words** peptide, antibody