

感染防御抗体治療によるパンデミック抑止への取り組み

ヴァンダービルト大学 メディカルセンター ワクチンセンター
Croweラボ 小児科准教授・研究部長
Robert Carnahan博士

使用機種

セルソーターSH800S

主な用途

感染防御抗体治療によるパンデミック抑止への取り組み



世界的ウイルス流行が発生した際の有効な医療対策の確保に取り組むヴァンダービルトワクチンセンターのRobert Carnahan博士にお話を伺った。そこでは、ケニアのリフトバレー熱曝露者や、リベリアやナイジェリアのエボラ生存者から、病原体に曝露されたドナーを探しだし、末梢血単核球を分離して病原体に対するB細胞の応答を可能な限り詳細に調べ、最終的にワクチンの補完に使用できる可能性のある抗体を特定し生産する試みを行っている。

「我々の研究の重要な柱の1つは、モデル系やin vitroモデリングではなく、実際のヒト免疫系に基づいた研究に全力を注ぐことです。」とCarnahan博士は語る。「ドナー由来のB細胞と、そこから産生される抗体を調べることで、抗体の感染防御の働きに必要な様々なことを知ることができます。」ワクチンセンターのチームは日々、最大限の迅速さと柔軟さを維持しながら可能な限り高品質な細胞をドナーから採取しているが、その時々での地域的にも世界的にも重大となり得る病原体に注力することもまた極めて重要である。この使命のためにチームは、パンデミック防止プラットフォーム(P3)事業に参加し、現時点で未対策のウイルスが大流行した場合の有効な医療対策に取り組む5機関の共同研究を主導している。P3事業は、対策の選択肢をわずか60日で提供することによって、死に至る恐れのあるウイルス性疾患の世界的流行を抑止することを目的としている。

この事業はアメリカ国防高等研究計画局(DARPA)による支援を受けて、新規・新興感染症に対し効果的に対処できる感染防御の抗体応答を可能な限り迅速に開発することを目指している。「世界的不安定を引き起こす要素は多数ありますが、そのうちの1つは、十分に封じ込め対策ができていない、予測不能な世界的なウイルスの爆発的流行です。発生すれば、我が国だけでなく、外交的にも危機を及ぼします。その影響は世界中に及ぶでしょう。」と、Carnahan博士は述べる。

アプローチ方法

「パンデミック初日に防御抗体を突き止めたとしても、初期対応で2,000回、20,000回分の量のタンパク質抗体を生産・検証するのは、60日以内には不可能と考えます。」そのためCarnahan博士と、ヴァンダービルトワクチンセンター所長のJames

Crowe博士は、5機関(ヴァンダービルト大学、感染症研究所、セントルイス・ワシントン大学、バス・イスラエル・ディコネス・メディカルセンター、およびラゴン研究所)の研究者からなる、核酸ベースのアプローチを採用する大規模な共同研究チームを率いている。このアプローチは、従来の方法と比べて、抗体生産と品質管理の所要時間を改善し、長期保存と備蓄を可能にする可能性がある。時間的制約が厳しい場合、鍵となるのは抗体の発見に要する時間を最小化することである、とCarnahan博士は説明する。

「このプロセスは長くても30-40日以内に実施しなければなりません。その下流ではin vitro妥当性試験、RNA材料の生産、そして最終的にはin vivo妥当性試験を行う必要があるからです。」課題は、プロセスの方法・技術の開発に多くの時間が費やされることである。チームは、ジカウイルス曝露者のドナー検体から始まり、現在は90日という短い発見段階の間に、ドナー検体から投与可能なRNAに到達することに重点を置いている。そのため、適切な技術の選択がワークフローの最適化に不可欠である。ドナーのB細胞を標識し、フローサイトメトリーを利用することは、このプロセスの第一段階であり、最初に適切な細胞を分離することが重要である。

「この鍵を握るのは、ソニーのセルソーティングシステムです。」と、Carnahan博士は述べている。

「ヒト検体からジカ熱応答性のB細胞を迅速に得ようとしていた時、ソニーは私たちの仕事に多大な貢献をもたらしました。ソニーのおかげで、私たちは課題を達成することができたのです。重要なことは分離した細胞は、最終的にシーケンスパイプラインに入り、求めている抗体の配列が得られる適切なものでなければならないということです。間違ったり手間取ったりすると、プロセス全体が影響を受けたり台無しになったりして、その結果、実際に数日

もしくは数週間の損失につながります。」この研究を、ソニーのシステムの2つの大きな特徴が支えている。システムの迅速さと、チップを用いたソーティングである。これらによって実験から実験への移行が素早くなり、迅速な細胞の回収と実験の最適化を行うことが可能になる。しかしソニー製セルソーターができるのはこれだけではない。

機器の専門家でなくとも、簡単に操作できるセルソーター

セルソーターSH800Sの利点として、Carnahan博士は次のように付け加えた。

「これまでは、セルソーターを扱えるようになるためには、より高度な専門知識が必要でした。しかしセルソーターSH800Sを使用する場合、機器操作においてオペレーションの専任者は必ずしも必要なく完全にフローサイトメトリーの専門家でなくても、科学的に多くの洞察をもつ研究者を、専門家に変えることができます。例えば、抗体産生量・有無のわからないヘテロな細胞集団の中で、高産生細胞から非産生細胞および低産生細胞を取り除くというプロセスを、フローサイトメトリーの専門知識をほとんど持っていない研究者が、実行できるようになる技術が必要だったのです。」

迅速さの重要性

開発プロセスを完全に制御し続けることは、非常に重要であり、簡素化されたワークフロー内では機器の迅速さが鍵となる。

「パンデミックに対応するということを考えれば、迅速さは本当に重要になります。」とCarnahan博士は言う。

「そこで偶然に頼るわけにはいきません。制約なく利用可能で、私たちのやりたいことをやってくれると確信できる機器が必要でした。その意味で、私たちはソニーを選びました。」

エキサイティングな未来

「抗体の配列に関しては、調整や改変によって半減期が90日の抗体が得られるなど、新しい発見があります。適切な投与量にすると、中和抗体が180日またはそれ以上の期間、有効な防御水準に保たれるようになると私たちは考えています。したがって特に季節性ウイルスの場合には期待が持てます。」とCarnahan博士は言う。

ワクチンセンターの主な焦点は、いかにして抗体がワクチン設計プロセスに補完的役割を果たすのか、ということである。

セルソーターSH800S

簡単セットアップ・小型化を実現した“日本発”セルソーター
・96/384シングルセルソート(SPモデル/384はオプション)
・目的に応じてオリフィスサイズを選択できるディスパーザルソーティングチップ
・直感に訴えるユーザーフレンドリーなソフトウェア



抗体の方が承認過程がはるかに単純で、明快であり安全性プロファイルも優れている可能性がある。

「私たちはワクチンと抗体を一緒に開発するというアイデアが気に入っています。世界的なパンデミックについて、考えてみてください。初期対応で、有効だが効果を表すのに数週間から数か月かかるワクチンを投与するだけでなく、数時間のうちに効果を表し半減期が長い感染防御抗体を同時に投与できたら素晴らしいと思いませんか。つまり、ワクチンによって長期免疫が誘導されるまで、即時の感染防御を提供するのです。私たちはこのアイデアに非常に興奮しています。」と、Carnahan博士は締めくくった。

更に詳細を知りたい方は

専門家であるヴァンダービルトメディカルセンターワクチンセンターのPavlo Gilchuk博士とMatt Goff博士にセルソーターSH800Sシステムを最大限に活用するための内部情報を尋ねた。

・研究に特に有用なチップはどの種類ですか？

現在、100 μmと130 μmの両方のチップを使用しています。メモリーB細胞、形質芽球、および形質細胞のバルクソーティングには、通常130 μmのチップを使用しています。実験の設定条件検討を複数回、複数のサンプルを用いて繰り返し、細胞の生存率と純度を最適化することが大切です。

・ソーティング前後において、特別なバッファの使用や留意点はありますか？

実験系や細胞種類に依存しますが、B細胞のシーケンス解析に用いるソーティング前/後サンプルには低タンパク濃度のバッファ(PBS/0.04% BSA)を日常的に使用しています。ハイブリドーマも初代B細胞も、培地中に直接ソーティングしています。

・機能解析など、ソート後はどのようなアッセイを実施しているのですか？

1. 抗原特異的モノクローナル抗体産生を評価するための、シングルセルソートされたハイブリドーマ株の上清による抗原ELISA
2. ソートしたヒトB細胞サブセットのNGSおよび10x Genomics Chromiumシーケンス解析
3. ソートしたメモリーB細胞のin vitro培養、および上清を用いた抗原結合ELISAによる抗原特異的抗体産生の評価
4. 組換え発現後のモノクローナル抗体の、結合能や中和能、およびin vivo動物試験アッセイを含む機能試験

発行元

ソニーイメージングプロダクツ&ソリューションズ(株)
ライフサイエンス営業部

〒243-0014 神奈川県厚木市旭町 4-14-1

TEL : 0120-667-010

FAX : 0120-388-060

E-mail : cytometry@sony.com

URL : <http://www.sony.co.jp/LS>

