



“Rationalization of in-vitro maturation”: Combining phage display with NGS for the discovery of potent antibody variants

Use case: argenx

argenxは、重度の自己免疫疾患やがんに苦しむ患者のための抗体ベースの医薬品を開発している世界的な免疫学企業です。

本use caseでは、in silicoの新たな抗体探索方法について説明を行います。

ファージディスプレイ法で選択された抗マウスサイトカインVH配列を用いた、従来のラマNGS免疫VHライブラリーのスクリーニングにより、より強力な抗サイトカイン変異体の探索と、in vitroマチュレーションプロセス合理化のための残基同定が可能になりました。

Antibody-Extractor™を使用して、選択したVH配列で補強されたライブラリーのスクリーニングを実行したところ、6倍強力なラマ抗マウスサイトカイン抗体が発見され、探索のタイムラインが大幅に短縮されました。

The situation

抗体探索チームは、ファージディスプレイ法で発現した抗体のみに焦点を当て、ライブラリーの多様性の重要な部分を見逃していることがよくあります。すなわち、強力な抗体は豊富には存在しない、またはファージディスプレイ法で正しく発現されていないため、見逃される可能性があります。

The challenge

目的は、常に免疫ライブラリーの多様性の可能性を最大限に活用することです。しかし、多数のクローンの処理は、人的および技術的リソースによって制限されます。ファージディスプレイ法の特異性と、NGSライブラリーの多様性の両方を活用する方法はあるのでしょうか？

The solution

AbnomXでは、特定のバインダーを選択するためのファージディスプレイ法と、バインダー変異体を特定するためのNGSを組み合わせた、実用的なリード生成プロセスをお勧めします。

NGSライブラリーに含まれる膨大な情報を利用して、いわゆるin vitroマチュレーションプロセスを実行することができます。

このプロセスは、ファージディスプレイ法の配列解析から始まります。まずAntibody-Extractorの機能モジュール「Annotator」は、VHのCDRとフレームワーク領域にアノテーション付けを行い、冗長性を取り除きます。次に「Abaligner」では、VHのマルチプルアラインメントを実行し、VHファミリーの同定のためにアラインメントをCDR3の長さでソートします。

次に、免疫ライブラリーのNGS解析を行います。「Abcluster」を使用すると、VHはCDR3のIDと長さに基づいてクラスター化され、これにより高発現のVHファミリーの概要とライブラリーの多様性を知ることができます。次に使用する「Abquery」では、ファージディスプレイ法で選択されたVHを使用してライブラリーのスクリーニングを行い、ライブラリーからいくつかの変異体の抽出を行います。

その結果抽出された変異体は、ファージディスプレイ法で選択されたバインダーより、強力な有効性を示しました。

そしてここで、抽出されたすべての変異体において、「ホットスポット」のWu-Kabat変動性の計算を行い、潜在的な変異残基を強調表示します。そしてここから、実際のin-vitroマチュレーションによるデザインが始まります。特定のターゲット残基に対して、ランダムに突然変異を誘発させ、 2.1×10^9 におよぶライブラリーを構築します。

Main findings

Use Case: argenx



Conclusions

Antibody-Extractor の機能モジュール「Abquery」は、40,000のVHより3つの変異体を抽出しましたが、これらは親クローンと比較して、3つすべてのVH変異体で、強力な有効性が認められました。特定残基の変異誘発によって、ファージディスプレイ法で選択されたVHと比較し、最大6倍の効力を有するVHを生成することができました。

またライブラリー内で、最も頻繁にみられたVHファミリーは、ファージディスプレイ法で選択されたものではありませんでした。

in vitroマチュレーションに適したホットスポットを見つけることは、抗体探索プロセスにおける困難なステップではありますが、Antibody-Extractorプラットフォームによって、これが容易に実行できるようになります。



抗体免疫レパトアのNGS解析は、天然に存在する変異体の探索とホットスポット部位の特定の新しい機会を研究者に提供することで、ファージディスプレイ法による抗体セレクションを補完します。

免疫インフォマティクスは、抗体探索において重要な役割を果たします。

What makes Antibody-Extractor so special?

Antibody-Extractor™は、完全統合されたクロストークモジュールを備えており、優れたユーザーエクスペリエンスを提供します。効果的なユーザーインターフェースを通じて、高速なアルゴリズムを用いたワークフローを構築ことができ、またデータの入出力ステップは直感的に操作が可能なおうえ、多数のデータフォーマットと互換性も持ちます。これにより、研究者は大幅な時間の節約と、抗体探索における高品質なデータを得ることが可能になります。

Why Choose AbnomX

抗体探索プロセスを改善または加速させたい企業や機関にとって、20年以上の歴史をもつAbnomXは理想的なパートナーです。AbnomXは、絶間なく進化し続けるソフトウェアプラットフォームを通じて、研究開発の生産性と品質を劇的に向上させます。世界をリードする製薬会社、バイオテクノロジー企業、および革新的なライフサイエンス研究機関が、AbnomXを信頼しています。

さらに詳しい内容は弊社HPにて紹介しております。

<https://filgen.jp/> 

About AbnomX

AbnomXは、実用的な免疫インフォマティクス企業であり、免疫学分野における革新的な企業や機関の研究者たちの信頼できるアドバイザーです。

ウェブサイト：<https://www.abnomx.com>

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

© 2020 AbnomX. All rights reserved. All trademarks are the property of AbnomX and its subsidiaries unless otherwise specified. CO20002-JP

フィルジェン 株式会社



代理店

【お問い合わせ】 バイオインフォマティクス部

TEL : 052-624-4388 FAX : 052-624-4389

メール : biosupport@filgen.jp URL : <https://filgen.jp/>