

遺伝子治療が抱えるプラスミドDNA精製の課題 アステラス製薬のグループ会社Audentes (米国)

遺伝子治療は一時期停滞していましたが、現在では治療手段のひとつとして高く評価されています。とりわけAAV(アデノ随伴ウイルス)は遺伝子を届ける「デリバリー・システム」として、これまでに高いポテンシャルを示してきました。昨今では神経筋の疾患、がんや視力障害における活躍が目立ちます。

解決すべき課題は残っていますが、AAVを利用した遺伝子治療の未来は明るく、新薬開発パイプラインへの期待が膨らんでいます。バイオタージのPhyPrep[®]は、ラージ・スケールのプラスミドDNAを自動で精製するシステムであり、新薬開発に向けた研究ワーク・フローの効率化を実現します。

Mark Champeはサンフランシスコの南に拠点を構える遺伝子治療の研究所を率いています。この研究所は以前Audentesという名で知られていましたが、現在は日本のアステラス製薬の傘下になっています。Audentesは、かつてX-linked myotubular myopathyのための遺伝子置換療法の開発をおこなっていました。X-linked myotubular myopathyは生まれながらに筋組織の形態に異常があり、筋力が弱く呼吸不全を認める病気です。この病気を患う少年の致死率は50%で、残りは日常生活を送るために人工呼吸器や車椅子を必要とします。

アステラス製薬が実施するX-linked myotubular myopathyの遺伝子治療の臨床試験は、罹患している数人の少年に著しい変化をもたらしました。その少年たちは人工呼吸器を外し、立ち上がり歩き、そしてボールを投げることができるようになりました。「これは遺伝子治療が、わたしたちにもたらす素晴らしい成果である。」とMark Champeは語ります。

「アステラス製薬の仲間となってから仕事量が増えてきている。」とMark Champeは語ります。彼らの研究パイプラインは、神経筋の疾患であるDuchenne muscular dystrophy、Friedrich's ataxiaやmyotonic dystrophyの治療を目指す遺伝子置換やスプライシング調節も含まれます。「わたしたちが直面する課題はスループットである。異なる多くのグループから莫大な数のプラスミドDNA精製の要求がある。そえゆえに、わたしたちは継続的にリクエストに応じていく必要がある。このプラスミドDNAの精製という単純作業は、わたしたちの貴重な時間をコンスタントに奪っていく。」とMark Champeは主張します。

プラスミドDNAは遺伝子治療にかかわらず、DNAワクチン、モノクローナル抗体、ウイルス・ベクターやmRNAワクチンなどの治療に欠かせない材料です。Mark Champe率いる研究グループではAAVベクターを遺伝子治療のために準備しています。興味ある遺伝子配列をウイルス・ゲノムをふくむプラスミドDNAに挿入します。これを別のグループにわたし、カプシド形成とウイルスの複製に必要なタンパク質を発現するも

のとAAV増殖を手助けするアデノ・ウイルス遺伝子を発現するもの、合計3つのプラスミドDNAを細胞へトランスフェクションします。この一連の作業により、感染した細胞内ではAAVベクター粒子が産生されます。この産物を回収し、つづいて動物やin vitro実験に利用します。



PhyPrep[®]の魅力はラージ・スケールのプラスミドDNAを自動で精製してくれること。空いた時間を有効活用できるのも大きなメリット。

Mark Champe率いる研究グループは、遺伝子治療の候補を絞りこんでいくため、およそ10mg(ギガ・スケール)の大容量のAAVプラスミドDNAを準備する必要があります。「これは、とても労力を要する作業であり、これまでに多くの時間を費やしてきた。くり返し強調するが、プラスミドDNAの精製は、わたしたちの貴重な時間をコンスタントに奪っていく単純作業である。」とMark Champeは語ります。

このワーク・フローを改善するためMark Champe率いる研究グループは、Biotageのラージ・スケールのプラスミドDNAを自動で精製するロボットの購入に踏み切りました。

Biotage PhyPrep[®]は、マニュアル・キットでプラスミドDNAを精製する際によく利用される陰イオン交換カラムを搭載し、負に帯電しているDNAを捉えます。サンプルの準備に関しては、マニュアル・キットと同じように遠心により大腸菌をペレットにし、アルカリ変性法にてタンパク質や染色体DNAを沈殿させます。

PhyPrep[®]を利用すれば、マニュアルでのプラスミドDNA精製を避けることができます。研究員は、このルーティン作業から解放されるだけでなく、その空いた時間を有効活用することができます。1-2時間後には精製されたプラスミドDNAを手に入れることができます。「マニュアル・キットでこのルーティン作業をおこなっていると、カラムにバッファーを満たすため、何度も戻る必要があり、その他の重要な実験の足枷になっていた。」とMark Champeは語ります。

Mark ChampeらはPhyPrep[®]を利用し生産性を上げるため、システムの条件検討を数回おこないました。今日では多くの研究者がPhyPrep[®]を利用し、プラスミドDNAを自動で精製しています。PhyPrep[®]導入後は、1日におこなうギガ・プレップの回数が2回から8回に増え、生産性が向上し遺伝子治療の候補をいち早く開発パイプラインに載せられるようワークフローが改善しました。

「PhyPrep[®]導入後もプラスミドDNAの質や量に関して一切の妥協はない。PhyPrep[®]では溶出液の塩濃度が低いのでアルコール沈殿する必要がなく、精製したプラスミドDNAをすぐに細胞へトランスフェクションできる点もおおきなアドバンテージである。さらに消耗品に関しては、洗浄やエンドキシン除去のバッファーは必要量を測らなければならないが、他は1回の精製に必要な量が分注し準備されているので、間違えることなく時間の節約にもなる。」とMark Champeは語ります。

「研究室に自動化システムがあることは、今日では目新しいことではありません。たとえばスモール・スケールまたは、インダストリアル・スケールのプラスミドDNA精製を自動でおこなう装置は実在する。しかしながら、前臨床研究の段階で必要なレベルのマキシからギガ・スケールの自動化システムはなく、今回のPhyPrep[®]が唯一無二の製品である。わたしはPhyPrep[®]を知ったときは、とても興奮した。なぜならば1980年代初頭の学生時代から30年以上もマニュアルでラージ・スケールのプラスミドDNAを精製してきたからだ。PhyPrep[®]が登場するごく最近までは、ほぼ同じような手法でずっと変わりなくこのルーティン作業をおこなってきた。」とMark Champeは語ります。

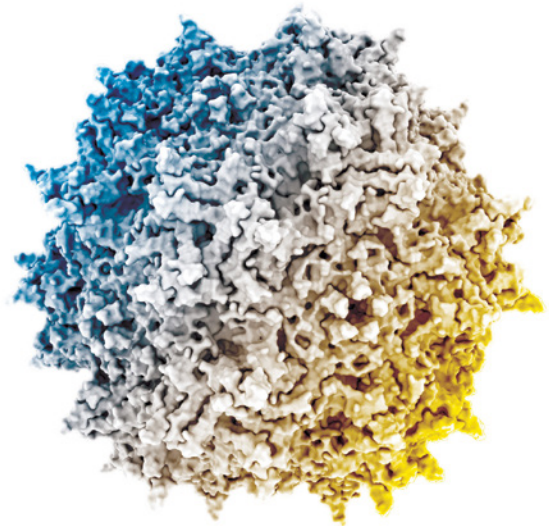
プラスミドDNAの精製はAAVを利用した遺伝子治療のなかでもコストのかかる材料のうちのひとつです。なぜならば毎回、細胞に2つまたは3つのプラスミドDNAを同時にトランスフェクションするからです。「このトランスフェクションのたびにラージ・スケールのプラスミドDNAの精製をマニュアルでおこなうのは、とても大変だった。」とMark Champeは語ります。臨床試験、または治療薬としてのAAVを作製するにはGMPグレードのプラスミドDNAが必要です。これを準備するためのコスト問題はチャレンジングであり、未だ解決していません。

バイオ医薬品であるモノクローナル抗体は、安定発現株を利用しています。「わたしたちだけでなく、世界中の研究者たちも同じように遺伝子治療用AAVの安定発現株を作製しようと試みている。しかしながら、現時点ではトランスフェクションの方がウィルスの収率が良いのが現状である。」とMark Champeは語ります。

その他のバイオ医薬品の製造コストの課題を解決することができれば、それはAAV遺伝子治療にとっても望みとなるでしょう。遺伝子治療は、おおくの人々の生活を改善することができるポテンシャルを秘めています。ひきつづきBiotage PhyPrep[®]はバイオ医薬品の開発に向けた研究ワーク・フローを改善しながら、遺伝子治療研究のさらなる発展を後押ししていきます。

Biotage[®]PhyPrepの詳細については、こちらから

https://www.biotage.co.jp/products_top/biomolecule-purification/phy-nexus-biotage-phyprep/



EUROPE
Main Office: +46 18 565900
Fax: +46 18 591922
Order Tel: +46 18 565710
Order Fax: +46 18 565705
order@biotage.com
Support Tel: +46 18 56 59 11
Support Fax: +46 18 56 57 11
eu-1-pointsupport@biotage.com

NORTH & LATIN AMERICA
Main Office: +1 704 654 4900
Toll Free: +1 800 446 4752
Fax: +1 704 654 4917
Order Tel: +1 800 446 4752
Order Fax: +1 704 654 4917
ordermailbox@biotage.com
Support Tel: +1 800 446 4752
us-1-pointsupport@biotage.com

JAPAN
Tel: +81 3 5627 3123
Fax: +81 3 5627 3121
jp_order@biotage.com
jp-1-pointsupport@biotage.com

CHINA
Tel: +86 21 68162810
Fax: +86 21 68162829
cn_order@biotage.com
cn-1-pointsupport@biotage.com

KOREA
Tel: +82 31 706 8500
Fax: +82 31 706 8510
korea_info@biotage.com
kr-1-pointsupport@biotage.com

INDIA
Tel: +91 11 45653772
india@biotage.com

Distributors in other regions are listed on www.biotage.com

PPS686-JP_h

© 2022 Biotage. All rights reserved. No material may be reproduced or published without the written permission of Biotage. Information in this document is subject to change without notice and does not represent any commitment from Biotage. E&OE. A list of all trademarks owned by Biotage AB is available at www.biotage.com/legal. Other product and company names mentioned herein may be trademarks or registered trademarks and/or service marks of their respective owners, and are used only for explanation and to the owners' benefit, without intent to infringe.