

# 抗体スクリーニング技術の開発

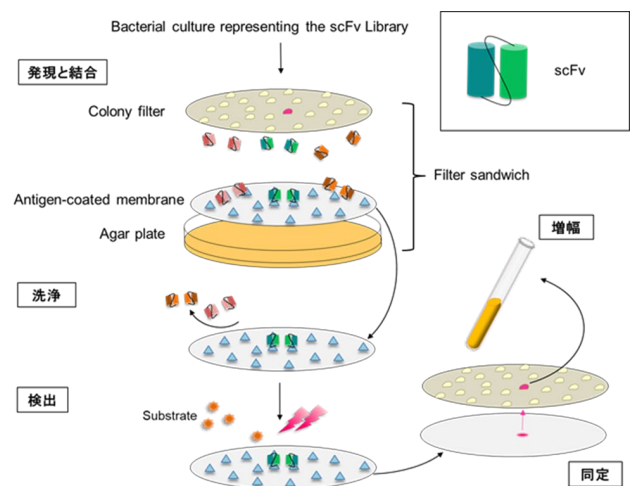
生体材料研究グループ・羽生義郎

## 研究のねらい

- モノクローナル抗体は、研究・診断・医薬にとって必須のタンパク質である。高精度な測定、高感度な診断、多様な疾患に対応する医薬に対して、高い親和性・特異性を持つモノクローナル抗体が求められている。
- 研究・医薬品の開発に対して、従来のハイブリドーマを用いた抗体作製法ではそのニーズ・スピードに対応できず、組換え技術を用いた抗体作製法が重要となっている。
- 本研究で開発したスクリーニング技術により、迅速に多くの陽性クローンを同定することが可能となり、より高機能のモノクローナル抗体の樹立が可能となった。

## 新規技術の概要と特長

多様性の確保された抗体遺伝子ライブラリーは、モノクローナル抗体の効率的スクリーニングに不可欠である。スクリーニングには、抗体重鎖及び軽鎖の可変領域を連結した一本鎖抗体(scFv)を用いる。一本鎖抗体ライブラリー作製には、抗体のもつ膨大な多様性のため、遺伝子上に欠損・変異・挿入が発生し、ライブラリーの規模が縮小してしまうという問題があった。λエクソヌクレアーゼを用いた遺伝子連結法を開発し、多様性の確保された一本鎖抗体遺伝子ライブラリーの作製に成功した。抗体ライブラリーを大腸菌に発現させ、抗原親和性の高い抗体を発現する大腸菌クローンを同定し、陽性クローンを決定するコロニーアッセイを用いるスクリーニング法は、ファージディスプレイ法等に比べて、偽陽性が少ないという利点がある。しかし、抗体発現が大腸菌にとり大きな負担となり、溶菌等が起こり、その効率は低かった。大腸菌のストレスとなり発現阻害を引き起こし、コンタミの原因ともなるリフト工程を不要とし、抗体のリーク発現を抑制することによる溶菌を回避し、発現誘導を自動的に開始することにより発現誘導時期・強度をより確実に制御し、確実なコロニー形成を可能とする等の開発を行い、簡便かつ迅速に高活性の抗体を再現性良くスクリーニング可能な新たなコロニーアッセイを開発した。



アガープレート、抗原コート膜、親水性フィルターを重ね、フィルター上に抗体遺伝子ライブラリーを含む形質転換大腸菌を播種し、コロニーを形成させ、コロニーサイズが最適になったところで、最適なタイミングで、scFvの発現開始を自動で誘導する。

## 期待される連携・応用分野

- ・モノクローナル抗体の樹立
- ・ターゲットに結合するたんぱく質のスクリーニング
- ・抗体の発現技術
- ・組換え抗体の作製

## 関連特許および文献

- ・ Y. Hanyu, Y. Komeiji and M. Kato Potentiating Antigen-Specific Antibody Production with Peptides Obtained from In Silico Screening for High-Affinity against MHC-II Molecules 24(16) 2949-2959, 2019
- ・ M. Kato and Y. Hanyu Single-step colony assay with autoinduction of scFv expression for the screening antibody libraries *BioTechniques* Vol.66, 194-197, 2019
- ・ 登録 6004423号 ; 遺伝子連結法およびそれを用いた単鎖抗体作製方法