

## 29【P2】I-384

分子シャペロン共発現系を利用した変異型 E-カドヘリンに対する一本鎖抗体の単離  
○藩守 一郎<sup>1</sup>, 真鍋 貴行<sup>1</sup>, 伊藤 文昭<sup>1</sup>, 奥井 理予<sup>2</sup>, 高柳 淳<sup>2</sup>, 清水 信義<sup>2</sup> (<sup>1</sup> 摂南  
大薬,<sup>2</sup> 慶應大医)

【目的】ヒト型一本鎖抗体 (scFv) をファージ表面に発現させたファージ提示型 scFv ライブラリは、動物に免疫することなく短時間でヒトの抗体を得ることが可能であり、抗体医薬などへの利用が期待されている。我々は、レパートリーの豊富な高品質のファージ提示型 scFv ライブラリを作製しており、本研究では、このライブラリを利用して、浸潤性胃癌で高頻度に見られるエキソン9欠失変異型 E-カドヘリンに対する scFv の単離を試みた。

【方法・結果】エキソン9を欠失した変異型 E-カドヘリンに反応する scFv を得るため、エキソン8と10の結合部から生じるアミノ酸配列 (変異型 E-カドヘリンペプチド) に結合するファージをファージライブラリから単離した。ELISA を用いて変異型 E-カドヘリンペプチドに高い結合能を示すファージクローンを選択し、得られたクローンを大腸菌 HB2151 に感染させ、scFv の発現をイムノプロット法により調べた。scFv の発現は不溶性画分と可溶性画分に認められたが、大部分は不溶性画分に封入体として回収された。そこで、不溶性画分を 6M グアニジン塩酸塩で可溶化後、透析により巻き戻しを試みたところ、変異型 E-カドヘリンペプチドに特異的に結合する scFv を得ることができた。また、シャペロン GroEL、GroES およびシャペロン関連因子とされる FkpA、SkpA をコードしたプラスミドを構築し、大腸菌 HB2151 に導入後、ファージクローンを感染させたところ可溶性画分中の scFv の発現量の増加が認められた。

【まとめ】不溶性画分を用いて巻き戻し操作を行うことにより、変異型 E-カドヘリンペプチドを特異的に認識する scFv が得られた。また、分子シャペロン共発現系を用いることにより多量の scFv を可溶性画分に回収することができた。