

29【P2】 I -385

ヒト型一本鎖抗体ライブラリを利用した抗ペプチド抗体のスクリーニング

○奥井 理予¹, 高柳 淳¹, 伊藤 文昭², 清水 信義¹(¹慶應大医,²摂南大薬)

我々は従来法の欠点を克服し、安定でレパトリー数の多いファージ提示型ヒト型一本鎖抗体ライブラリの簡易作製システムを開発した。ライブラリの作製には、生体内に存在しないレパトリーを合成するため、ヒト末梢血、リンパ節および脾臓 cDNA を鋳型として2段階 PCR 法を用い、免疫グロブリン遺伝子超可変領域のシャッフリングを行った。これを VH・VL 別々の非発現型ファージミドベクターに挿入し、それぞれ 10^5 以上の独立クローンからなる一次ライブラリを作製した。一次ライブラリをファージに変換した後、Cre-lox 組換え系によって 10^{11} 以上のレパトリーをカバーする一本鎖抗体ライブラリを作製した。さらに、膨大なレパトリーの中からアフィニティーの高い一本鎖抗体を効率よく単離するため、スクリーニングの詳細な条件検討を行った。その結果、低コピープラスミドの利用および低温での培養によって、極めて安定なスクリーニングシステムを完成した。

本研究では、このライブラリを用いて、多数の抗原ペプチドに対して特異的な一本鎖抗体をハイスルー・プットで効率よく迅速にスクリーニングできるシステムの開発を目指している。そのために複数の抗原ペプチドをビーズ上に結合させた「ペプチドビーズ」に対してスクリーニングを行った。現在、各候補クローンについて性状解析を進めている。

この抗体ライブラリから単離されたモノクローナル抗体はヒト型であるため、診断だけでなく治療にも応用可能であり、今後の研究開発に強力なツールになると考えている。