

## 27P-pm156

単一細胞レベルでの細胞内カルシウム応答時系列解析によるインフルエンザ高親和性ヒトモノクローナル抗体の取得

○池本 守<sup>1</sup>, 小野 仁<sup>2</sup>, 小澤 龍彦<sup>3</sup>, 森里 杏奈<sup>1</sup>, 朴 蓮荀<sup>1</sup>, 林 めぐみ<sup>1</sup>, 木下 耕史<sup>3</sup>, 門脇 慎一<sup>3</sup>, 田尻 和人<sup>3</sup>, 近藤 佐千子<sup>3</sup>, 袋谷 賢吉<sup>4</sup>, 守田 和樹<sup>2</sup>, 岸 裕幸<sup>3</sup>, 村口 篤<sup>3</sup>(<sup>1</sup>エスシーワールド, <sup>2</sup>協和メデックス, <sup>3</sup>富山大・医・免疫学, <sup>4</sup>富山大・工・知能情報)

【目的】一般的に B リンパ球は抗原に結合すると細胞内カルシウム濃度が一過性に上昇しその後緩やかに減少することが知られている。我々はこれまでにリンパ球マイクロアレイチップと呼ばれる細胞チップと解析装置(SC@Scanner)を開発し、この細胞応答を指標に抗原特異的 B リンパ球の同定を試みてきたが、測定時間が長く、経時変化を細かく追えないことが問題であった。今回我々は個々の B リンパ球の細胞内カルシウム濃度を 10 秒間隔で経時的に検出できるシステムを構築し、インフルエンザウイルスに対するヒトモノクローナル抗体の取得に応用した。

【方法】インフルエンザワクチン接種 9 日目の健康人ボランティアから末梢血リンパ球を回収し、インフルエンザ核タンパク質(NP)抗原特異的 B リンパ球の同定・単離を試みた。single cell RT-PCR 法により抗体遺伝子を取得後、発現ベクターに組み込み、哺乳動物細胞に導入して抗体タンパク質を発現させた。取得した抗体は、競合阻害 ELISA 法及び SPR 解析により、抗原結合特異性及び結合親和性の評価を行った。

【結果】A 型 6 種類、B 型 1 種類、合計 7 種類のインフルエンザ NP 抗原特異的抗体を取得した。その中には KD 値が  $10^{-11}$ (M)オーダーの高親和性抗体が含まれることがわかった。

【考察】単一細胞レベルでの細胞内カルシウム応答の時系列解析により抗原特異的ヒト B リンパ球を検出し、インフルエンザ高親和性ヒトモノクローナル抗体を作製することに成功した。本法は抗体創薬への応用として非常に有用であると思われる。