

# 26PB-am009

独自に構築した非免疫ヒト型ファージ抗体ライブラリの品質評価

○三里 一貴<sup>1</sup>, 角田 慎一<sup>1,2,3</sup>, 長野 一也<sup>1,2</sup>, 向 洋平<sup>1,2</sup>, 鎌田 春彦<sup>1,2,3</sup>, 東阪 和馬<sup>2</sup>, 吉岡 靖雄<sup>2</sup>, 堤 康央<sup>1,2,3</sup> ( <sup>1</sup>医薬基盤研, <sup>2</sup>阪大院薬, <sup>3</sup>阪大 MEI セ)

【背景・目的】非免疫ヒト型ファージ抗体ライブラリは、数十億以上ものヒト型抗体レパートリーを発現するファージで構成されるライブラリであり、多様な抗原に対する抗体を、*in vitro* の選択操作(パンニング)によって、1~2 週間で取得が可能である。そのため、抗体を利用した基礎研究はもとより、抗体医薬品開発においても極めて有用なツールとなる。我々の研究室では、これまでに 130 億種類もの多様性を有する非免疫ヒト型 scFv ファージ抗体ライブラリを独自に作製し、各種モデル抗原を用いて本ライブラリの品質評価を行ってきた(日本薬学会第 134 年会にて発表)。しかし、実際に抗体を用いた基礎研究や抗体医薬品開発に汎用的に用いるためには、さまざまなタイプの抗原(蛋白質、ペプチドなど)を用いた検証が必要である。そこで本研究では、本ライブラリの有用性評価を目的に、新たな抗原に対する抗体の取得を試みた。本発表では、一例としてパーキンソン病の原因蛋白質として知られている  $\alpha$ -シヌクレインを用いた際の抗体取得の結果を発表する。

【方法・結果・考察】抗原をイムノチューブに固相化し、パンニングを 3 回繰り返した。パンニングを重ねるに従って、回収されるファージの量は約 5000 倍程度に増大し、 $\alpha$ -シヌクレインに対する親和性クローンの濃縮が確認できた。濃縮したファージをモノクローン化し、ELISA による抗原結合性の評価と scFv のシークエンス解析を実施した結果、8 種類の scFv 抗体を得ることができた。現在、得られた抗体蛋白質を精製し、各種特性評価を実施中である。我々は、これまでに本ライブラリを用いることで、従来のハイブリドーマ法などで取得困難であった抗原に対しても抗体が取得可能であることを確認している。現在、より多種類の抗原に対する抗体取得を通じて本ライブラリの有用性の評価を行っている。将来的に、我々の研究室で構築した独自の非免疫ヒト型ファージ抗体ライブラリが日本発の抗体医薬品開発に貢献できることを期待したい。