

27AB-am058

細胞内可溶性発現抗体を鋳型としたイントラボディライブラリの構築と評価

○井阪 亮^{1,2}, 長野 一也^{1,2}, 森 宣瑛^{1,2}, 永野 貴士^{1,2}, 向井 美穂^{1,2}, 大須賀 絵理^{1,2}, 竹谷 苑子^{1,2}, 芳賀 優弥^{1,2}, 鎌田 春彦^{1,2,3}, 角田 慎一^{1,2,3}, 堤 康央^{1,2,3} (¹阪大院薬, ²医薬基盤健康栄研, ³阪大 MEI セ)

【背景・目的】抗体医薬の台頭により、難治性疾患の治療成績は向上し、世界の医薬品売上高 Top10 の半数を抗体医薬が占めている。一方で、現在上市または臨床試験されている450以上の抗体医薬を精査すると、その標的分子は35種類程度でしかなく、抗体医薬の治療標的は枯渇したとも言われている。これは、抗体が本来細胞外で機能する分子のため、抗体医薬の標的が細胞膜や可溶性たんぱく質に限局されることが一因である。従って、抗体の適用範囲を細胞外から細胞内にまで拡大できれば、上記の課題を解決でき、細胞内抗体療法の開発が期待される。しかし、抗体の殆どは、細胞内の還元的環境下で構造を維持できずに不溶化してしまうことがネックとなり、実現していない。その点、当研究室ではこれまでに、細胞内で可溶性に発現するクローンを取得している。そこで本検討では、当該クローンを鋳型に、抗体の抗原認識に重要な CDR3 を他のアミノ酸に網羅的に改変した合成抗体ライブラリを構築し、イントラボディ創製基盤としての有用性を検証した。

【方法・結果・考察】当研究室で見出した、細胞内で可溶性に発現可能な抗体クローンを鋳型として、VL と VH の CDR3 の長さ(4-7 残基)に多様性をもたせつつ、他の 20 種類のアミノ酸にランダム化した VH・VL ライブラリをそれぞれ作製した。次に、VL・VH ライブラリを assembly PCR により連結させることで、一本鎖抗体ライブラリを調製し、ファージミドベクターへライゲーション後、大腸菌を形質転換させることで、26 億もの抗体レパートリーからなるファージ合成抗体ライブラリを構築した。現在、ライブラリ中の各クローンを細胞内で発現させたうえで、可溶性と不溶性画分に分け、発現特性を解析している。今後は、様々な細胞内疾患関連たんぱく質に対して抗体を取得し、イントラボディとしての性能を解析することで、イントラボディライブラリとしての品質を評価する予定である。