

平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 補助事業名：創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業

(創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業)

2. 補助事業課題名：コムギ無細胞合成系による蛋白質生産支援・高親和抗体構築技術開発

3. 研究開発代表者：国立大学法人富山大学 大学院医学薬学研究部 (医学) 教授 村口 篤

4. 研究開発の成果

《支援》

1. ISAAC 法を用いたモノクローナル抗体作製の支援

リンパ球を 1 個ずつ捕獲できる「リンパ球チップ」と呼ばれるデバイスを用いて、抗原特異的抗体産生細胞を迅速かつ網羅的に検出し、1 個の抗体産生細胞からモノクローナル抗体を得ることができる ISAAC 法を用いて、ヒト及びマウスのリコンビナントモノクローナル抗体を作製する支援を行った。

平成 27 年度は、以下に示す 3 件の抗体作製支援を行った。

【支援 1】 ウイルスタンパク質に対する抗体

取得を行った。支援先研究者によって免疫されたマウス由来脾臓細胞を用いて、ISAAC 法により特異的抗体産生細胞の検出と回収を行い、10 種類以上の特異的抗体が得られ、支援先研究者にこれら抗体を提供した。

【支援 2】 自己免疫疾患 (X) の自己抗体の取得を行った。支援先研究者によって分離された自己免疫疾患患者由来末梢血リンパ球を用いて、ISAAC 法により特異的抗体産生細胞の検出と回収を行い、13 種類の特異的抗体が得られ、支援先研究者にこれら抗体を提供した。

【支援 3】 自己免疫疾患 (Y) の自己抗体の取得を行った。支援先研究者によって分離された自己免疫疾患患者由来末梢血リンパ球を用いて、ISAAC 法により特異的抗体産生細胞の検出と回収を行い、1 種類の特異的抗体が得られ、支援先研究者にこれら抗体を提供した。

また、これら案件と既に抗体が得られている支援案件を含めて計 4 件の抗体作製支援後のフォローアップを行った。

抗体作製支援の他に、既に得られている抗体の Fab 化抗体作製支援を行った。タンパク質の立体構造を解くために 3 種類の抗体を大量精製し、パパインで処理して Fab 化した抗体を作製し、支援先研究者に提供した。

2. ISAAC 法を用いた高親和型ウサギモノクローナル抗体作製の支援

平成 26 年度までに高度化研究として確立した ISAAC 法を用いた高親和型ウサギモノクローナル抗体作製技術を用いて、ウサギモノクローナル抗体作製の支援を行った。

平成 27 年度は、以下に示す 1 件の抗体作製支援を行った。

【支援 4】 タンパク質の作製支援を行った。支援先研究者によって作製されたタンパク質をウサギ

支援/ISAAC法によるモノクローナル抗体単離



実施した抗体作製支援一覧

	抗原	動物種	得られた抗体数
抗体作製支援 1	ウイルス	マウス	10種以上
抗体作製支援 2	自己抗原	ヒト	13種
抗体作製支援 3	自己抗原	ヒト	1種
抗体作製支援 4	タンパク質	ウサギ	10種以上

に免疫し、免疫終了後に末梢血リンパ球を分離した。この末梢血リンパ球を用いて ISAAC 法により特異的抗体産生細胞の検出と回収を行い、10 種類以上の特異的抗体が得られ、支援先研究者に抗体発現プラスミドを提供した。

また、この案件と既に抗体が得られている支援案件を含めて、計 2 件の抗体作製支援後のフォローアップを行った。

《高度化》

3. 結晶至適化高親和型 Fab の構築

X線結晶構造解析を行うための抗体を、簡便かつ大量に精製できるプロトコルを確立した。

抗体に様々な遺伝子改変を行い精製することで、従来と比較して簡便に調整できた。しかしながらこの方法では

抗体量が $1 \mu\text{g/ml}$ 以下と非常に少なく、X線結晶構造解析を行うために必要な数 10mg 以上の確保は困難であった。そこで、発現量を上げるために、従来の精製系に改良を加え、従来の精製系の100倍程度（数 $100 \mu\text{g/ml}$ 以上）を精製できる系を確立した。この簡便かつ大量の抗体を得ることができ、従来の方法で精製した抗体よりもはるかに迅速に共結晶が得られ、さらに、より高分解能の結果が得られる可能性が示された。

高度化／結晶至適化高親和型Fabの構築

