

研究タイトル：

新規抗体様ライブラリの設計と構築



氏名：吉永 圭介 / YOSHINAGA Keisuke E-mail: yoshinaga@kumamoto-nct.ac.jp

職名：准教授 学位：博士(工学)

所属学会・協会：日本免疫学会, 日本生化学会, 日本DDS学会, 日本比較免疫学会
日本ペプチド学会

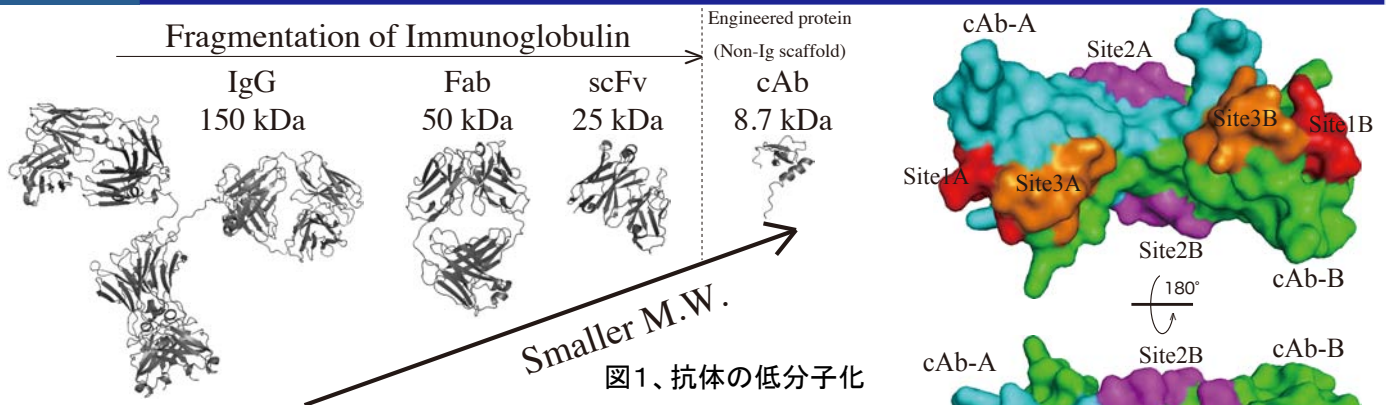
キーワード：抗体エンジニアリング, 抗体様タンパク, ファージディスプレイ法, 低分子抗体, ペプチド

技術相談

提供可能技術：

- ・抗体の工学的応用技術
- ・抗体および抗体様タンパクのライブラリ設計・構築
- ・ペプチドファージディスプレイライブラリの設計・構築
- ・モノクローナル抗体の改変技術(scFv化 など)
- ・遺伝子工学技術

研究内容： 非免疫グロブリン骨格を用いた新規抗体様タンパクの開発



【参考文献】

- 1: Yoshinaga, K. et al. (2008) *J. Biochem.*, **143**, 593-601.
- 2: 杉村和久、濱崎隆之、吉永圭介：ファージディスプレイとヒト抗体エンジニアリング *Dojin News*. **109**:1-7,(2004)
- 3: 杉村和久、吉永圭介 ほか：薬学研究最前線:Beyond Antibody という研究領域 *Pharma VISION NEWS*. **12**: 2-7. (2008)

抗体は、高い抗原特異性を有することから、物質の分離、精製、検出や診断に有用なツールである。しかしながら、抗体(免疫グロブリン IgG) は分子量が約150kDaと非常に大きいため、製造や取扱いのしにくさ、組織浸透性の悪さなどといった欠点がある。それらを解決するため、抗体の低分子化が世界中で行われており、主にIgG抗体の断片化によりおこなわれてきた(図1)。しかし、抗原結合部位の構造を維持するためにはscFvの25kDaが限界である。そこで、IgG抗体にとらわれず、IgGよりもはるかに低分子量のケモカイン(8.7kDa) タンパク質を遺伝子工学的に改変して、抗体のように目的の抗原に特異的に結合するタンパク質(Chemokine antibody: cAb)の開発をおこなっている。

設計したcAb タンパク(図2)は、抗原結合部位への変異導入によりライブラリ化され、バクテリオファージ表面に提示することで、目的の抗原に結合可能なクローンを迅速にスクリーニングすることが可能である。

提供可能な設備・機器：

名称・型番(メーカー)	
・DNAシーケンサー (Applied Biosystems 3500 genetic analyzer)	・エレクトロポレーション装置
・リアルタイムPCR (Takara Thermal Cycler Dice Real Time System II)	・ウェスタンブロットング法、ELISA法による検出システム
	・遺伝子工学に必要な設備(遠心機、電気泳動装置 など)
	・クリーンベンチ

Design and construction of novel antibody-like protein libraries.



Name	Keisuke YOSHINAGA	E-mail	yoshinaga@kumamoto-nct.ac.jp
Status	Associate Professor		
Affiliations	JSI (Japan Society of Immunology), JBS (Japanese Biochemical Society) JPS (Japanese Peptide Society), Japan Society of Drug Delivery System JADCI (Japanese Association for Developmental and Comparative Immunology)		
Keywords	Antibody Engineering, Phage display library, Domain antibody, Scaffold, Peptide		
Technical Support Skills	• Design and construction of antibody-like protein library. • Design and construction of peptide displaying phage library. • Antibody engineering (Construction of scFv from mAb, etc.). • Genetic engineering.		

Research Contents

Development of novel non-Immunoglobulin scaffold antibody library.

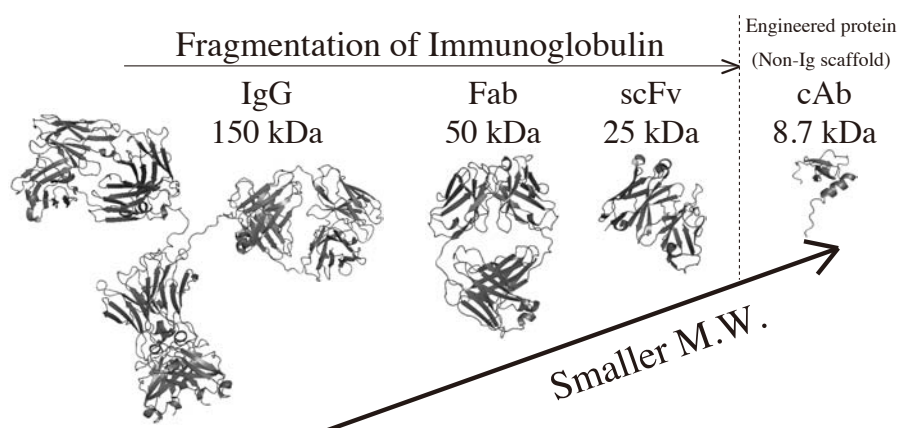


Fig.1 Molecular downsizing of antibody.

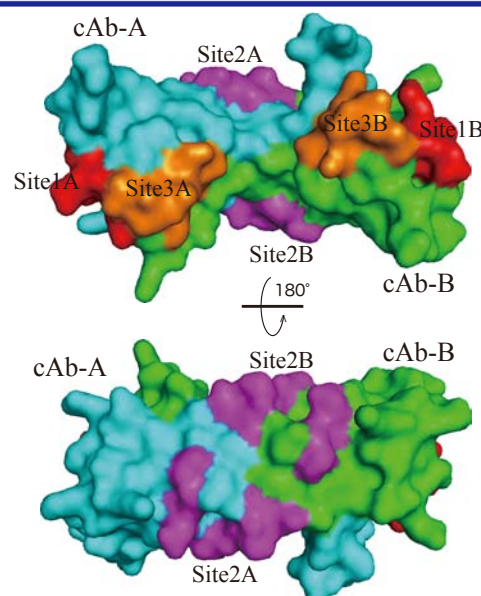


Fig.2 Dimer structure model of cAb.

Antibody is a most successful binding molecule for various applications. However, with increasing application in research, biotechnology and medical therapy, it has become obvious that antibodies suffer from some fundamental disadvantages. Immunoglobulins (Igs) are rather large molecules, thus limiting tissue penetration and comparatively difficult to manufacture. To overcome its problems, we designed a newly engineered binding protein cAb (Chemokine antibody) derived from CC-Chemokine scaffold.

We confirmed that soluble cAb protein was effectively expressed in culture supernatant and cAb protein was displayed on the M13 phage surface in accessible form to antigens.

The cAb proteins may be useful for varying applications as “smaller antibody”.

- 【References】
- 1: Yoshinaga, K. *et al.* (2008) *J. Biochem.*, **143**, 593-601.
 - 2: Sugimura, K., Yoshinaga, K. *et al.* (2004) *Dojin News*. **109**:1-7.(Japanese)
 - 3: Sugimura, K., Yoshinaga, K. *et al.* (2008) *Pharma VISION NEWS*. **12**: 2-7.(Japanese)

Available Facilities and Equipment

DNA sequencer (Applied Biosystems 3500 genetic analyzer)	ELISA system
Real Time PCR (Takara Thermal Cycler Dice Real Time System II)	Western Blotting system
Equipment for genetic engineering (centrifuge, electrophoresis, etc.)	Clean bench
Electroporator (Bio Rad Micropulser)	