

二量体化モチーフと巻き戻し法を利用した二重特異性抗体の調製法の開発

(東農工大工¹) 廣野 琳子¹・○北山 友香¹・熊谷 泉¹・浅野 竜太郎¹

Development of a preparation method of functional bispecific antibodies using dimerization motif and refolding procedure (¹*Faculty of Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology*) Linko Hirono¹, ○Yuka Kitayama², Izumi Kumagai¹, Ryutaro Asano¹

Bispecific antibodies (BsAbs) consisting of two different antibodies can be applied to cancer therapies by designing to cross-link cancer cells and immuno cells. However, because the function of BsAbs is dependent on the combination of antibody clones, development of their rapid screening technology is required.

Here, we focused on SARAH motif [1], a dimerization motif with intermolecular disulfide bond. We fused each SARAH motif to two different single-chain fragment variables (scFvs). BsAb prepared from bacterial insoluble fraction through a refolding procedure after mixing stoichiometrically two scFvs under denaturing conditions showed cancer growth inhibition effects as expected.

Keywords : dimerization motif; small bispecific antibodies; refolding procedure

二重特異性抗体 (BsAb) は、2 種類の抗体を組み合わせで創出される人工抗体であり、がん細胞と免疫細胞を架橋するように設計することで、がん治療に応用することができる。しかしながら、用いる抗体の組み合わせに応じて活性が変化し得るため、機能的な BsAb の取得にはこれらを迅速にスクリーニングする技術が求められている。一方、一本鎖抗体 (scFv) を大腸菌で組換え発現させる際、しばしば不溶性画分からの巻き戻し法を用いた調製が余儀なくされる。そこで我々は、巻き戻し法を用いた機能的な BsAb のスクリーニング手法の開発を目指し、ジスルフィド結合を介してヘテロ二量体を形成する SARAH モチーフに注目した[1]。

まず、異なる 2 種類の一本鎖抗体 (scFv) に、システインの導入位置が異なる SARAH モチーフをそれぞれ融合させた発現ベクターを構築した。続いて、大腸菌発現系を用いて不溶性画分から変性条件下で個々に精製した後、等量混合し、巻き戻し操作を行った。得られた二重特異性抗体を評価した結果、期待するがん細胞傷害活性を有することが確認された (Fig. 1)。

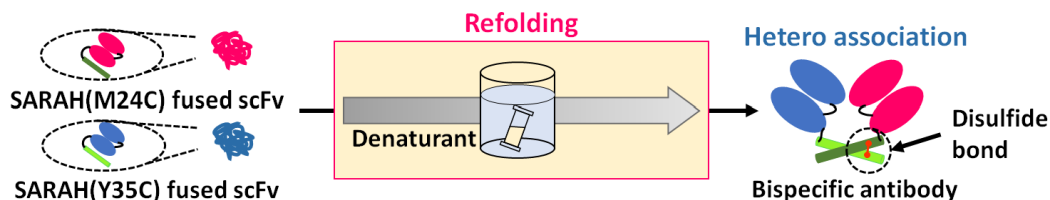


Figure 1. Preparation of BsAbs by integrating a SARAH motif and refolding

[1] Arimori *et al.*, *Structure.*, 25, 1611-1622 (2017)