

学位論文の要旨

氏名

宮崎 誠生

学位論文題目

産業応用を目指したアルパカ由来VHH抗体に関する研究

本論文は、次世代抗体として注目されているラクダ科動物重鎖抗体由来のアルパカVHH抗体の産業応用を目的とし、アルパカVHHファージライブラリの構築と評価、ナイーブライブラリ及び免疫ライブラリを用いたモデル抗原に対する特異的VHHクローンの単離、性状解析、さらに新しい抗体の同定・単離手法として、次世代シーケンサーを利用した方法の開発を行ったものである。

第1章は、次世代抗体として注目されているラクダ科動物の持つ重鎖抗体の抗原結合ドメイン由来のVHH抗体の特徴とVHH抗体を取得するための方法であるファージライブラリの概要について記載した。

第2章は、アルパカVHHナイーブライブラリの構築と、そこから得られるVHH抗体の評価を行った。免疫をしていないアルパカの末梢血リンパ球を使用し、ナイーブVHHライブラリ構築した。いくつかのモデル抗原に対する特異的VHH抗体の単離を試み、発現した抗体の結合特性を含めた性状についてまとめた。

第3章は、アルパカVHH免疫ライブラリの構築とそこから得られるVHH抗体の評価を行った。モデル抗原のアルパカへの免疫を行い、免疫後のアルパカの抹消血リンパ球を用い、アルパカVHH免疫ファージライブラリを構築した。このライブラリから、通常のVHH抗体の単離手法であるバイオパンニングによって、このモデル抗原に対して特異的に結合するVHH抗体の単離を行い、その性状解析を行った。

第4章は、次世代シーケンサーを利用した抗原特異的なVHH抗体の単離手法の開発について検討した。第3章で構築した免疫ライブラリを使用し、バイオパンニング並びにその前後で得られるVHH抗体の配列を次世代シーケンサーで網羅的に読むことにより、極めて迅速にかつ多様な抗原特異的VHH抗体の単離が可能な手法を開発した。

第5章は、産業応用を目指したアルパカVHH抗体の利用に向け、その単離法と得られたVHH抗体の性状についてまとめ、本論文を総括した。

Summary of Doctoral Dissertation

Title of Doctoral Dissertation:

Studies on Alpaca VHH Antibodies for Industrial Applications

Name: Miyazaki Nobuo

This thesis mainly comprises the isolation and the characterizations of alpaca VHH antibody which have been remarked as a next-generation antibody. In particular, this paper described the constructions and evaluations of alpaca VHH phage libraries, the isolations and characterizations of VHH clones specific to model antigens from the naïve library and immune phage library. In addition, this paper developed a new isolation method of antigen-specific VHH clones by employing the next generation sequencing (NGS).

Chapter 1 described the features of camelid VHH antibodies which has been attracting attention as a next-generation antibody and summarized the phage library technology to isolate VHH antibody.

Chapter 2 described the construction and evaluation of alpaca VHH naive library. Specifically, I isolated VHH antibodies specific to antigens from alpaca naive library and discussed the features of the isolated VHH antibodies.

Chapter 3 described the construction and evaluation of alpaca VHH immune library. I constructed the VHH phage library from the blood of animals immunized with antigen. From the library, I isolated the specific VHH clones by biopanning method and characterized the binding properties of them.

In Chapter 4, we developed the new isolation method of VHH antibodies from the phage library by using biopanning method combined with NGS. I identified the model antigen-specific VHH antibodies by reading the VHH sequences in the libraries with NGS and comparing them before and after biopanning. This method provided the new way to identify the highly diverged antigen-specific VHH antibodies very rapidly.

In Chapter 5, the results of this study were summarized and discussed in the point of view for industrial applications of them.