

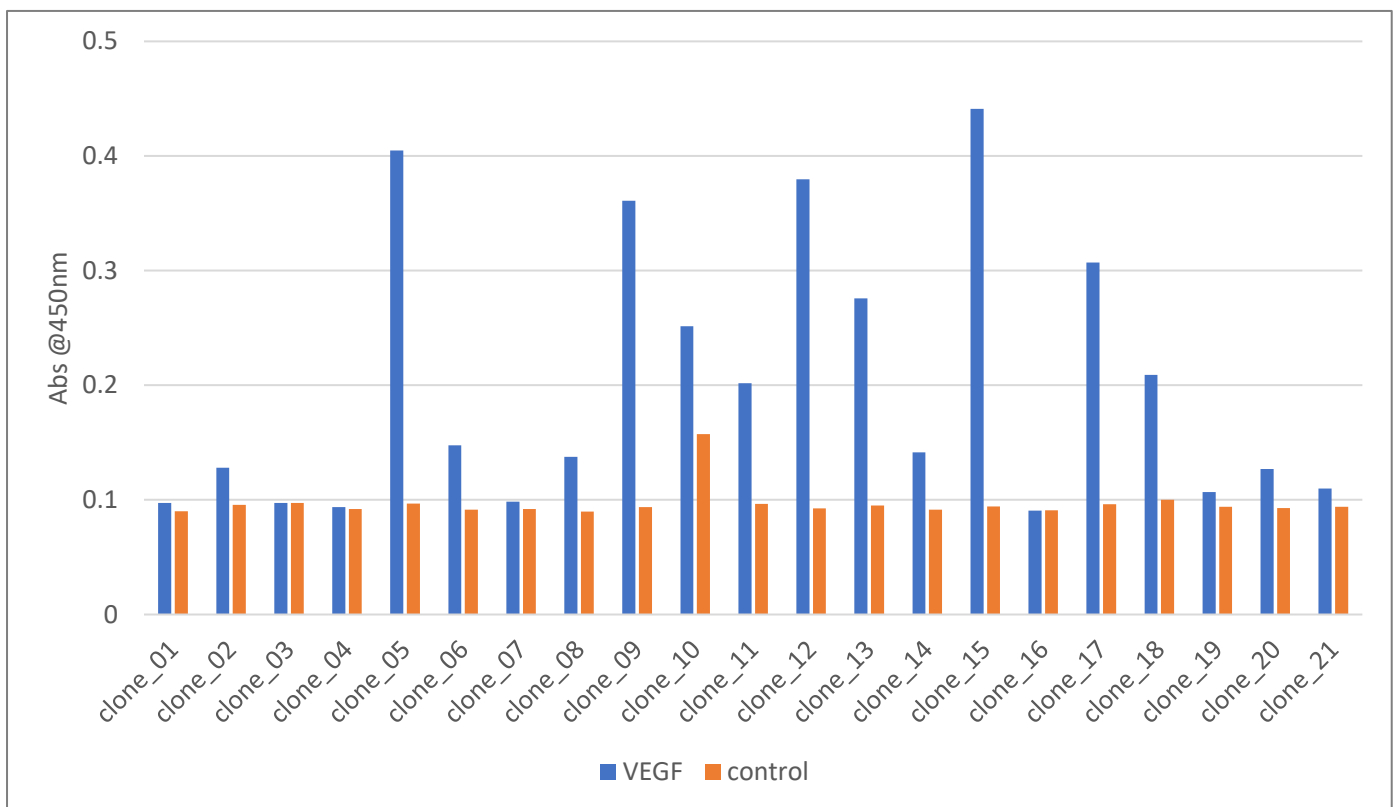
〈VHH 抗体のスクリーニング実施例 1（抗 VEGF 抗体）〉

当社では、独自にデザインした VHH 抗体の化学合成ライブラリーと大腸菌無細胞翻訳系を使用したディスプレイ法により、VHH 抗体のスクリーニングサービスを提供しております。今回、ヒト VEGF タンパク質を対象とした VHH 抗体のスクリーニングを行いましたので結果を紹介いたします。また、得られたクローンのうち、1 クローンについて、タンデムに二価として発現するようデザインしたコンストラクトも作製、一価の VHH 抗体との比較も行いました。

【試験】

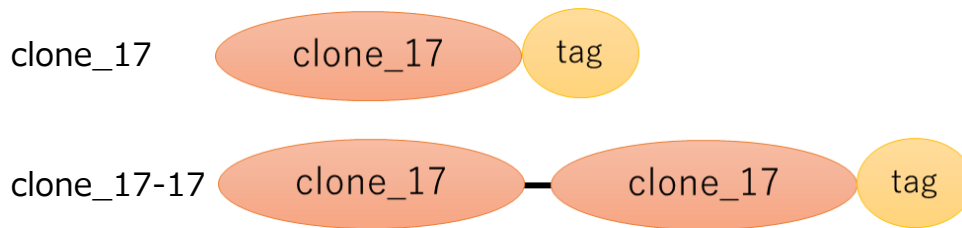
PeperoTech 社の Recombinant Human VEGF165 を磁気ビーズに固定化し、VHH 抗体のスクリーニングを 5 ラウンド実施いたしました。得られた遺伝子プールの一部から、21 クローンのプレビバチルス菌用発現ベクターを構築、プレビバチルス菌による VHH 抗体の発現試験を行いました。プレビバチルス菌では VHH 抗体を菌体外に分泌生産できるので、培養上清中に VHH 抗体が含まれます。

ELISA プレートに VEGF タンパク質を固相化（および、ネガティブコントロールとしてタンパク質非添加）し、各クローンの培養上清（VHH 抗体）を反応、次いで、VHH 抗体のタグに対する抗体で反応性を確認いたしました。結果を以下に示します。

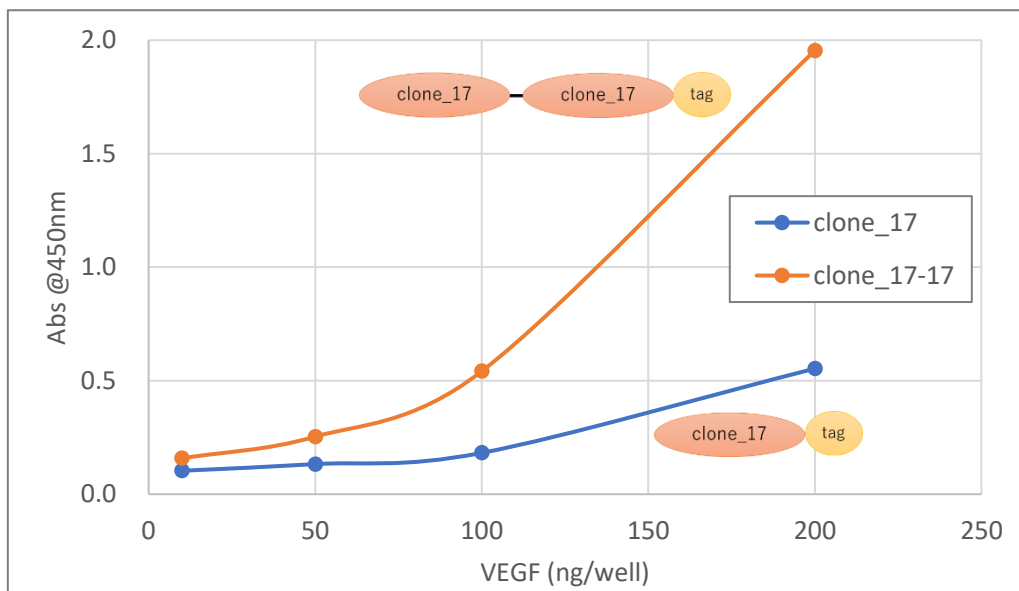


クローンごとに反応性が異なるものの、いくつかのクローンでコントロールに対し、顕著に反応性が高いクローンが得られました。生産性なども考慮し、clone_17 について、二量体化を行いました。

下図のように、clone_17 がタンデムに連結した発現ベクターを構築し、clone_17 と同様にプレビバチルス菌で二量体 VHH 抗体 (clone_17-17) を生産させました。



1 ウェル当たり 10ng、50ng、100ng、200ng の4条件で VEGF タンパク質を固相化し、clone_17、clone_17-17 の反応性を確認した結果が下図となります。



二量体化することで、検出感度が大きく上昇していることが確認できます。VHH 抗体を使用するメリットにはタンパク質工学的改変が容易であることがあります。本資料のように、同一抗体をタンデムに連結 (divalent) することや、別の抗体を連結 (bi-specific) するなど、高機能を付与することが容易に行うことができます。また、二価にしてもプレビバチルス菌での分泌生産ができるので、生産にかかるコストの削減も期待できます。

当社では、VHH 抗体の受託サービスを提供しておりますが、委受託だけでなく、VHH 抗体に関する共同研究、共同開発などにも適宜対応いたしますので、ご興味がある方は、ご相談ください。

VHH 抗体スクリーニングサービス情報は[こちら](#)