

講演番号：3D09-05

質疑応答日時、会場：3月17日 14:30～ ミーティングルーム D

無細胞タンパク質合成系を用いた COVID-19 感染患者由来単一 B 細胞からの抗 SARS-CoV-2 Spike ヒトモノクローナル抗体の取得

Acquisition of anti-SARS-CoV-2 Spike human monoclonal antibody from single B cells derived from COVID-19 infected patients using cell-free protein synthesis system

○木原 もなみ¹、児島 孝明¹、長谷 哲成²、上田 宏³、中野 秀雄¹ (¹名大院生命農、²名大院医、³東工大科学技術創成研究院)

○MONAMI KIHARA¹, TAKAAKI KOJIMA¹, TETSUNARI HASE², HIROSHI UEDA³, HIDEO NAKANO¹ (¹Nagoya Univ. Agr, ²Nagoya Univ. Med, ³IIR)

我々のグループでは、動物の末梢血や組織から B 細胞を単離し、1 細胞逆転写反応と PCR により得られた L 鎖と H 鎖の DNA フラグメントを、無細胞タンパク質合成系により Fab(fragment of antigen binding)として発現させ評価する、迅速なモノクローナル抗体取得技術である (Ecobody 法) を開発した。本研究では、この Ecobody 法により、ヒト B 細胞から迅速に抗原特異的なモノクローナル抗体を取得する技術開発を行っている。

新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の膜タンパク質であり、診断やワクチンに利用するための抗体のターゲットとして注目されている Spike タンパク質を抗原とした抗体の探索を行った。新型コロナウイルス感染患者から B 細胞を採取し、抗原結合ビーズを用いて抗原特異的な抗体を提示している B 細胞をセレクションした。一細胞ずつに単離したのち、逆転写 PCR と 2 段階の PCR を行うことで抗体遺伝子を獲得した。さらに無細胞タンパク質合成系を用い、ELSA により Spike タンパク質に対する結合能を確認した。

今後得られたヒトモノクローナル抗体の詳細な評価を行う予定である。

Our group has developed a rapid monoclonal antibody acquisition method (named Ecobody technology), in which antibody genes from isolated single B cells from peripheral blood or tissues of animals are amplified by single-cell reverse transcription and several rounds of PCR, followed by cell-free protein synthesis, resulting in a generation of Fab fragment in a very high-throughput manner.

In this study, antibodies were conducted against spike proteins, which are membrane proteins of novel coronaviruses and are attracting attention as targets for antibodies to be used in diagnosis and vaccines. B cells were collected from patients infected with human novel coronaviruses, and B cells presenting antigen-specific antibodies were selected using antigen-binding beads. After isolation of each cell, the antibody gene was obtained by reverse transcription PCR and two-step PCR. In addition, using a cell-free protein synthesis system, the binding ability to Spike protein was clarified by ELSA. We are going to evaluate the activity in detail by ELISA and to analyze the sequence in detail.

Monoclonal Antibody, cell-free protein synthesis system, SARS-CoV-2

発表責任者：木原もなみ (kihara.monami@e.mbox.nagoya-u.ac.jp)