

低分子二重特異性抗体の機能改変を目指したブレビバチルス菌表面提示

(東京農工大院工¹) ○中原 維新¹・大室 朋海¹・浅野 竜太郎¹

Surface display on *Brevibacillus* for functionalization of small bispecific antibodies (¹Graduate School of Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology) ○Ishin Nakahara,¹ Tomomi Omuro,¹ Ryutaro Asano¹

Surface display technologies are expected to isolate functional proteins with high productivity. We recently have established a surface display technology using *Brevibacillus* which has a high secretion ability of recombinant protein and no harmful endotoxin. Here, we tried to apply this surface display technology to functionalization of small bispecific antibodies with high cytotoxicity by crosslinking ability between T cells and cancer cells.

We constructed expression vectors for small bispecific antibodies with a C terminal LPETG sequence which is recognized by peptide transferase, Sortase A. After transformation of *Brevibacillus*, expression and display were confirmed by Western blotting and flow cytometry. We are now trying to evaluate binding ability of displayed antibody using both fluorescent-labeled target antigens, and are planning to the functionalization of small bispecific antibodies by random mutagenesis and surface display technology.

Keywords : *Brevibacillus*; Screening; Surface display; bispecific antibody

細胞表面提示法を用いた目的タンパク質のスクリーニングは、提示効率も加味されるため、細胞外への高い生産性との相関が期待される。我々は、グラム陽性菌であるため有毒なエンドトキシンを有さず、また組換えタンパク質の細胞外への分泌能に優れたブレビバチルス菌を用いた細胞表面提示法を確立してきた。本研究では、T細胞とがん細胞を架橋することで特異的な抗腫瘍効果を発揮する低分子二重特異性抗体の機能改変を目指し、ブレビバチルス菌表面提示法の適用を試みた。

低分子二重特異性抗体のC末端側にペプチド転移酵素 Sortase A によってペプチドグリカンとの共有結合の形成が期待される LPETG 配列を付加させた発現ベクターを構築した。ブレビバチルス菌を形質転換し、ウェスタンブロッティングで発現を確認後、フローサイトメトリーにより表面に提示されていることを確認した。現在、蛍光標識した二重特異性抗体が認識するそれぞれの抗原を用い、提示させた抗体の結合能評価を進めている。今後は、低分子二重特異性抗体の親和性向上を目指した変異導入およびスクリーニングへと進める予定である。

