

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：34512

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07021

研究課題名(和文)次世代診断試薬創出プラットフォームの確立を目指す変異抗体選択法の抜本的改革

研究課題名(英文)Construction of innovative strategy for selecting improved antibody fragments as the platform generating next-generation diagnostic reagents

研究代表者

小林 典裕 (KOBAYASHI, NORIHIRO)

神戸薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：90205477

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：診断用抗体として遺伝子操作による改変抗体に期待が寄せられている。天然型抗体の可変部に様々な変異を導入して得られる多様な変異体のライブラリーの中から望みの抗原結合能を獲得した改良分子種を選択・単離することにより得られる。本研究では、その作製効率を飛躍的に高める新規な選択法「コロナレイプロファイリング(CAP)」の確立に成功した。その有効性は、コルチゾールやエストラジオールに対する変異scFvのライブラリーの検索により実証された。前者では野生型 scFvに比べ17-31倍、後者では最大372倍も親和力Kaが向上した変異体が効率よく得られ、これらを用いることでELISAが大幅に高感度化された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

遺伝子操作による改変抗体の有用性に期待が寄せられて久しい。しかし、現状では診断用抗体は今なおハイブリドーマ法により生産され、改変抗体はほとんど市場に出回っていない。研究代表者が開発したCAP法は、抗体ライブラリーに含まれる希少な改良型変異体の選択を飛躍的に効率化する。本研究は、改良型変異体の選択法として標準とされてきた「パンニング」の限界を示した点でも意義が大きい。CAP法は遺伝子操作による機能性分子創製の潜在力を開花させ、ハイブリドーマ抗体を超える優れた改変抗体の創製と実用化を促すだろう。ひいては、診断薬のみならず抗体医薬やワクチンの開発も活性化され、医療の進歩にも貢献するものと期待される。

研究成果の概要(英文)：Much attention has been paid to antibody mutants generated via genetic engineering, which are selected and isolated from “antibody libraries” composed of diverse molecules with a variety of mutations. In this study, we succeeded in developing a novel “clonal array profiling (CAP)” method that dramatically facilitates generation of antibody mutants with improved antigen-binding characteristics. We demonstrated the utility of the CAP method with the following successful applications: (1) we obtained scFv (single-chain Fv fragment) mutants specific to cortisol with 17-31-fold increased affinity constant (Ka) from libraries composed of scFv members with site-directed mutations or amino-acid insertion in their framework region 1 in the VH domain, and (2) we discovered a scFv mutant specific to estradiol with 372-fold enhanced Ka from a library of scFv members with site-directed mutations in the complementarity-determining region 3 in the VH domain.

研究分野：分析化学

キーワード：診断薬 抗体 一本鎖Fvフラグメント 遺伝子工学 フェージ提示

1. 研究開始当初の背景

研究代表者は、長年にわたり臨床バイオマーカーの免疫測定法の開発に携わってきた。とくに、診断試薬として働く特異抗体の自作に力点を置き、B 細胞ハイブリドーマ法で様々なバイオマーカーに対する抗体を調製してきた。しかし、目的とするマーカーに対する被免疫動物の免疫応答が弱く、細胞融合を何回繰り返しても実用的な抗体が得られない場合も少なくなかった。試験管内分子進化法による改良型人工抗体の創製は、こうした限界と不満を一挙に解決する斬新な方法論であった [1]。動物の「壁」を越えた人工抗体を創製して天然の抗体では不可能な検査法を確立することは、創造性が豊かで、かつ魅力的なテーマである。しかし、実際に実験を重ねるにつれ、「この方法論は未だ完成しておらず、動物由来の抗体を超えていない」ことを痛感し、選択プロセスに抜本的かつ独創的な改革が必要であることを確信するに至った。具体的な戦略について数年を要して構想を固め、「コロニーアレイプロファイリング (CAP) 法」の原理が有望と結論した。従来のパンニングで改良型クローンが効率よく得られない理由として、「様々な親和力を持つファージ抗体が限られた物質量の固定化抗原に競合的に反応する」可能性を重く考えた結果である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、試験管内分子進化法による改良型変異抗体の選択法を抜本的に改良し、真に実用的かつ革命的な機能性分子 (診断薬抗体) 創製に資することである。その実現には、ファージ抗体の「元」となる変異 *scFv* 導入大腸菌のライブラリーを、導入直後のクローンの多様性を損なわない状態で (クローン間の偏りを助長する 2 次培養を行わずに) ファージ抗体ライブラリーに変換し、パンニングで起こる過剰の「改悪ファージ」による淘汰を防ぐために、個々の変異 *scFv* 遺伝子導入大腸菌クローンについて個別にファージを産生させてその抗原結合能を精査する、いわばクローニングと選択を同時に行うことが重要と考えた。この条件を満たす方法として、CAP 法 (図) を独自に考案した [2]。すなわち、変異 *scFv* 遺伝子群を電気パルス法で効率よく大腸菌に導入した後、選択寒天培地上で必要最短時間の培養を行う(i)。生育したコロニーを、個別に、あらかじめ培地を分注した 96 穴マイクロプレートに移して培養し、*scFv* 提示 M13 ファージを産生させる(ii)。生成したファージの *scFv* が目的の抗原に特異的かつ十分な親和力を持つならば、あらかじめプレートに固定化しておいた抗原に結合する(iii)。プレートを洗浄した後、プレート上に捕捉されたファージに *Gaussia* ルシフェラーゼ (GLuc) 融合型抗 M13 ファージ *scFv* を反応させる (iv)。再びプレートを洗浄し、発光基質 (セレンテラジン) を加えて、微量のファージを高感度に検出する(v)。強い発光を示したウェルからファージを回収し、大腸菌に感染させて増量させたのち、提示されている *scFv* の抗原結合能を精査する。この原理は、自動コロニーピッキング装置などを導入して全自動化が可能であり、単純ではあるがそ

れゆえに頑健である。抗原への結合に際して共存するクローンによる干渉を完全に防ぐことができるため、巨大なライブラリーに埋没しているごく希少な改良型クローンも逃さずに単離できるものと期待される。なお、こうした発想に基づく研究例は国内外ともに見当たらない。

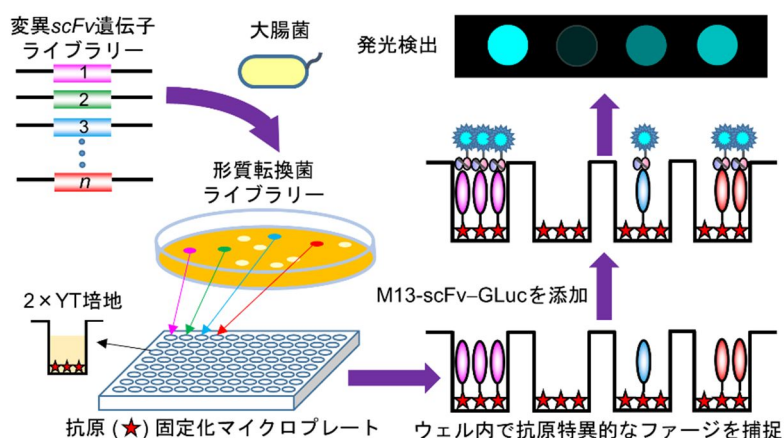


図 CAP 法の原理

3. 研究の方法

(1) GLuc 融合型抗ファージ scFv の調製

上記 CAP 法で用いる GLuc 融合型抗ファージ scFv (M13-scFv-GLuc) を以下のように調製した [2]。すなわち、VCSM13 ヘルパーファージをマウスに免疫し、ハイブリドーマ法によりモノクローナル抗ファージ抗体を作製した [3]。本抗体を scFv 化したのちその遺伝子を *GLuc* 遺伝子 [4] と overlap extension PCR により連結し、大腸菌に導入して目的の融合タンパク質を得た。さらに、最近より高感度な検出が可能と注目される NanoLuc luciferase (NLuc) との融合体 (M13-scFv-NLuc) も同様に作製した [5]。

(2) 変異 scFv 遺伝子ライブラリーの構築

CAP 法の有用性を評価するために、抗 CS および抗 E₂-scFv 変異体のライブラリーを以下のように構築した。

抗コルチゾール(CS)-scFv ライブラリー: 先に調製したマウス抗 CS 抗体の可変部遺伝子を連結した *CS-wt-scFv* 遺伝子を鋳型として error-prone PCR を行い、*scFv* の全長にランダム点変異を導入した [6]。他方、部位特異的な変異または挿入を持つ合成オリゴ DNA を用いて PCR を行い、V_H-FR1 へ変異を導入した [2,7]。

抗エストラジオール(E₂)-scFv ライブラリー: 先に調製したマウス抗 E₂ 抗体の可変部遺伝子を連結した *E₂-wt-scFv* 遺伝子を鋳型として PCR を行い、*scFv* の H 鎖可変部ドメイン (V_H) の相補性決定部 (CDR) 3 に含まれる 95–100g 番の 15 アミノ酸のコードンのひとつを NNS 縮重コドンに置換した計 13 のサブライブラリーを作成した。また、連続する 3 つのアミノ酸 (100e-100g) 番のコードンを NNS 縮重コドンに置換したライブラリーを作成した [8]。

(3) 親和性成熟 scFv 変異体の選択

抗 CS-scFv 変異体の探索には、従来法であるパンニングと CAP 法を比較した [2]。抗 E₂-scFv 変異体の探索は CAP 法で行った [8]。

パンニング: 変異 *scFv* 遺伝子ライブラリーで形質転換した大腸菌 TG1 に KM13 ヘルパーファージを感染させ、変異 *scFv* 提示ファージのライブラリーを得た。これを、CS とウシ血清アルブミン (BSA) 結合体を固定化したポリスチレンチューブに反応させ、未反応物を洗浄したのち固相に残るファージを溶出し、TG1 に感染させて複製した。このサイクルを 3 回繰り返したのち、得られるファージをクローニングして抗原結合能を精査した。

CAP 法 (図): 変異 *scFv* 遺伝子ライブラリーで TG1 を形質転換し、寒天培地上で一晩培養した。生成するコロニーを、KM13 含有培地を分注した抗原固定化マイクロウェルに個別に接種し、25 °C で 45 時間振とう培養した。ウェルを洗浄後、抗原を介して固相上に捕捉された scFv 提示ファージに M13-scFv-GLuc (抗 CS-scFv の探索) または M13-scFv-NLuc (抗 E₂-scFv の探索) を結合させた。最後に、GLuc の基質であるセレンテラジンまたは NLuc の基質であるフリマジンを加え、発光検出した (図)。発光強度の強いウェルからファージを回収し、提示される scFv を「可溶性 scFv」に変換したのち、その抗原結合能を精査した。

(4) 競合 ELISA: 選択した scFv 変異体の免疫測定法における有用性を評価するために以下の ELISA を行った。すなわち、測定対象ハプテン (CS または E₂) の BSA 結合体を固定化しブロックエースでブロッキングした 96 ウェルマイクロプレートに、scFv およびハプテン標準品を加えて 4 °C で 2 時間 (CS) または 4 時間 (E₂) インキュベートした。プレートを洗浄後、ペルオキシダーゼ (POD) 標識抗 FLAG 抗体を反応させ、プレート上の POD 活性を *o*-フェニレンジアミンを色原体とする比色法で測定した。E₂ については、E₂ 標準品と scFv を 4 °C で 4 時間インキュベートしたのちその反応液を E₂-BSA 固定化プレートと反応 (37 °C で 15 分) させる逐次飽和型 ELISA も検討した。

4. 研究成果

(1) 親和性成熟抗 CS-scFv 変異体の探索

CAP 法とパンニングの比較 [2]

大腸菌 TG1 に、error-prone PCR でランダム点変異を導入した scFv 遺伝子を電気穿孔法で導入したのち、寒天培地上で一晩培養した。得られた形質転換菌コロニー 約 10,000 種 (コロニーライブラリーの約 3%) を CAP 法で検索した。わずか 2 回の施行により、変異導入の出発物質とした抗 CS-wt-scFv (K_a : $3.8 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$) から 30 倍以上高い K_a 値 ($>1 \times 10^{10}$) を示す変異体が 5 種得られた。これら変異体には、その H 鎖可変部枠組み配列 1 (V_H -FR1) に高頻度に変異が認められた。また、これらを用いる CS の競合 ELISA は、期待どおり、抗 CS-wt-scFv を用いる ELISA より 11–25 倍も高感度な用量作用曲線 (50% 阻害値の比較) を与えた。これら scFv 変異体は特異性も良好で、臨床検査試薬として有望と期待された。

一方、同一のライブラリー (100%) をファージ提示し、CS-BSA の固定化量およびファージの溶出条件の異なる 3 種のパンニングに付した。計 10 回の実験を行い、各 50 クローン (合計 500 クローン) を解析した結果、7 種の改良型 scFv を得た。しかし、 K_a の上昇は数倍程度にとどまり、しかもそれらの一次構造は CAP 法で得られたものとは全く異なるものであった。これらの変異 scFv を用いて競合 ELISA を行ったところ、3 種は抗 CS-wt-scFv より 1.2–2.3 倍高い感度を与えたが、その他ではむしろ感度が低下していた。

V_H -FR1 変異 scFv ライブラリーの CAP 法による探索 [7]

可変部を構成する枠組み配列 (FR) と相補性決定部 CDR のうち、抗原に対する親和力や特異性の発現に大きく寄与するのは CDR と考えられている。それゆえ、抗原結合能の改善を目的として部位特異的に変異を導入する場合、主に CDR が標的とされている。FR は β -シート構造を形成して CDR ループを支える土台を形成し、抗原と直接相互作用することは考えにくい。ところが上記のように、ランダム点変異ライブラリーから得られた高親和力変異体の多くについて、 V_H -FR1 にアミノ酸の置換または挿入が認められた。これは、 V_H -FR1 への変異導入が親和力の向上に効果的である可能性を示唆している。そこで、 V_H -FR1 特異的に変異を導入したライブラリーを作製し、高親和力抗体の獲得を試みた。抗 CS-wt-scFv の V_H -FR1 の N 末端 8 アミノ酸 (1–3 番、5–7 番、9、10 番) についてパターン化した置換を導入したライブラリー (lib I) と 6 番と 7 番のアミノ酸の間に 1–6 個の連続したランダムなアミノ酸を挿入したライブラリー (lib II) を作製し、CAP 法で検索した。その結果、 K_a が 15 倍以上増大した変異体が lib I からは 7 種、lib II からは 14 種も得られた。そのうち K_a が 1×10^{10} を上回った 7 種を用いて競合 ELISA を行ったところ、抗 CS-wt-scFv を用いる ELISA より 8.3–24 倍高感度な用量作用曲線が得られた。

(2) 親和性成熟抗 E_2 -scFv 変異体の探索 [8]

抗体の V_H -CDR3 は構造上多様性が極めて高く、抗原結合能の発現に重要な役割を演じる。しかし、その構造は生体内の免疫応答で高度に最適化されているため、遺伝子操作による「後加工」は結合能の低下を招くことがほとんどである。研究代表者は CAP 法の選択能力を抛り所としてあえて V_H -CDR3 内の 15 アミノ酸を系統的にランダム化し、親和性成熟 scFv を探索した。変異 scFv の集団をファージ提示し、親和性成熟変異体を CAP で検索することにより、 K_a を野生型 scFv のそれより 35 倍増大させる変異モチーフ (E100eN–I100fA–L100gQ) を見出した。この変異体の V_L ドメインに、先に研究代表者らが見出した変異モチーフ (I29V/L36M/S77G) を加えたところ、野生型 scFv より 372 倍も高い K_a ($3.2 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$) を示す変異体が得られた。この K_a 値は、これまでに報告された抗 E_2 抗体の結合定数として最高である。本変異体を用いて逐次飽和型の ELISA を行ったところ、極めて高感度な E_2 の定量 (検量線の IC50 値 4.5 pg/assay、検出限界 0.78 pg/assay) が可能であった。

以上、本研究で開発した CAP 法は、改良型 scFv の創製において期待通りの性能を発揮した。今後、様々な標的物質に対する高親和力変異抗体の創製を支援し、医学・薬学をはじめ幅広い研究領域に貢献するものと期待される。

<引用文献>

- [1] Gibney E., Van Noorden R., Ledford H., Castelveccchi, D., Warren M. *Nature*, 562, 176 (2018).
- [2] Kiguchi Y., Oyama H., Morita I., Morikawa M., Nakano A., Fujihara W., Inoue Y., Sasaki M., Saijo Y., Kanemoto Y., Murayama K., Baba Y., Takeuchi A., Kobayashi N. *Sci. Rep.*, 10, 14103 (2020).
- [3] Kiguchi Y., Oyama H., Morita I., Katayama E., Fujita M., Narasaki M., Yokoyama A., Kobayashi N. *Biol. Pharm. Bull.*, 41, 1062–1070 (2018).
- [4] Oyama H., Morita I., Kiguchi Y., Miyake S., Moriuchi A., Akisada T., Niwa T., Kobayashi N. *Anal. Chem.*, 87, 12387–12395 (2015).
- [5] Oyama H., Kiguchi Y., Morita I., Miyashita T., Ichimura A., Miyaoka H., Izumi A., Terasawa S., Osumi N., Tanaka H., Niwa T., Kobayashi N. *Anal. Chim. Acta*, 1161, 238180 (2021).
- [6] Oyama H., Morita I., Kiguchi Y., Morishita T., Fukushima S., Nishimori Y., Niwa T., Kobayashi N. *Biol. Pharm. Bull.*, 40, 2191–2198 (2017).
- [7] Kiguchi Y., Oyama H., Morita I., Nagata Y., Umezawa N., Kobayashi N. *Sci. Rep.*, 11, 8201 (2021).
- [8] Kobayashi N., Kato Y., Oyama H., Taga S., Niwa T., Sun P., Ohtoyo M., Goto J. *Steroids*, 73, 1485–1499 (2008).
- [9] Morita I., Kiguchi Y., Nakamura S., Yoshida A., Kubo H., Ishida M., Oyama H., Kobayashi N. *Biol. Pharm. Bull.*, in press.
- [10] Oyama H., Kiguchi Y., Morita I., Yamamoto C., Higashi Y., Taguchi M., Tagawa T., Enami Y., Takamine Y., Hasegawa H., Takeuchi A., Kobayashi N. *Sci. Rep.*, 10, 4807 (2020).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kiguchi Yuki, Oyama Hiroyuki, Morita Izumi, Morikawa Mai, Nakano Asuka, Fujihara Wakana, Inoue Yukari, Sasaki Megumi, Saijo Yuki, Kanemoto Yuki, Murayama Kaho, Baba Yuki, Takeuchi Atsuko, Kobayashi Norihiro	4. 巻 10
2. 論文標題 Clonal array profiling of scFv-displaying phages for high-throughput discovery of affinity-matured antibody mutants	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 14103
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-71037-3	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Morita Izumi, Oyama Hiroyuki, Kiguchi Yuki, Oguri Akari, Fujimoto Natsumi, Takeuchi Atsuko, Tanaka Rie, Ogata Jun, Kikura-Hanajiri Ruri, Kobayashi Norihiro	4. 巻 190
2. 論文標題 Immunochemical monitoring of psilocybin and psilocin to identify hallucinogenic mushrooms	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis	6. 最初と最後の頁 113485 ~ 113485
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jpba.2020.113485	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Oyama Hiroyuki, Kiguchi Yuki, Morita Izumi, Yamamoto Chika, Higashi Yuka, Taguchi Miku, Tagawa Tatsuya, Enami Yuri, Takamine Yuriko, Hasegawa Hanako, Takeuchi Atsuko, Kobayashi Norihiro	4. 巻 10
2. 論文標題 Seeking high-priority mutations enabling successful antibody-breeding: systematic analysis of a mutant that gained over 100-fold enhanced affinity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 4807
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-61529-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ohta Mitsuhiro, Fujinami Aya, Oishi Katsutaka, Kobayashi Norihiro, Ohnishi Katsunori, Ohkura Naoki	4. 巻 16
2. 論文標題 Ashitaba (Angelica Keiskei) Exudate Prevents Increases in Plasminogen Activator Inhibitor-1 Induced by Obesity in Tsumura Suzuki Obese Diabetic Mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Dietary Supplements	6. 最初と最後の頁 331 ~ 344
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/19390211.2018.1458366	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kiguchi Yuki, Oyama Hiroyuki, Morita Izumi, Nagata Yasuhiro, Umezawa Naoko, Kobayashi Norihiro	4. 巻 11
2. 論文標題 The VH framework region 1 as a target of efficient mutagenesis for generating a variety of affinity-matured scFv mutants	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 8201
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-87501-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Oyama Hiroyuki, Kiguchi Yuki, Morita Izumi, Miyashita Takayuki, Ichimura Akiyoshi, Miyaoka Hiroko, Izumi Aki, Terasawa Sayaka, Osumi Natsumi, Tanaka Hiroki, Niwa Toshifumi, Kobayashi Norihiro	4. 巻 1161
2. 論文標題 NanoLuc luciferase as a suitable fusion partner of recombinant antibody fragments for developing sensitive luminescent immunoassays	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Analytica Chimica Acta	6. 最初と最後の頁 238180
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.aca.2020.12.055	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Morita Izumi, Kiguchi Yuki, Oyama Hiroyuki, Takeuchi Atsuko, Tode Chisato, Tanaka Rie, Ogata Jun, Kikura-Hanajiri Ruri, Kobayashi Norihiro	4. 巻 13
2. 論文標題 Derivatization-assisted enzyme-linked immunosorbent assay for identifying hallucinogenic mushrooms with enhanced sensitivity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Analytical Methods	6. 最初と最後の頁 3954 ~ 3962
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d1ay01157j	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計14件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 木口 裕貴、大山 浩之、森田 いずみ、小林 典裕
2. 発表標題 VH-FR1へのアミノ酸挿入による抗コルチゾールscFvの試験管内親和性成熟
3. 学会等名 第70回日本薬学会関西支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大山 浩之、木口 裕貴、森田 いずみ、丹羽 俊文、小林 典裕
2. 発表標題 高感度な発光ELISAを目的とするscFv融合用レポーター酵素の比較検討
3. 学会等名 第70回日本薬学会関西支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 梅澤 直子、永田 泰大、木口 裕貴、大山 浩之、森田 いずみ、小林 典裕
2. 発表標題 H鎖FR1へのアミノ酸挿入による高親和力抗コルチゾールscFvの創製
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 永田 泰大、梅澤 直子、木口 裕貴、大山 浩之、森田 いずみ、小林 典裕
2. 発表標題 H鎖FR1のアミノ酸置換による高親和力抗コルチゾールscFvの創製
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山 浩之、福田 千紘、井上 あやめ、森田 いずみ、木口 裕貴、小林 典裕
2. 発表標題 CDR内チロシン置換の抗 9-テトラヒドロカンナビノールscFv抗原結合能への影響
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Oyama H., Morita I., Kiguchi Y., Kobayashi N.
2. 発表標題 In vitro affinity maturation of anti-cortisol antibodies to develop sensitive immunoassays
3. 学会等名 European Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 I. Morita, H. Oyama, R. Tanaka, R. Kikura-Hanajiri, N. Kobayashi.
2. 発表標題 Generation of monoclonal antibodies for on-site analysis of psilocin and psilocybin in hallucinogenic mushrooms
3. 学会等名 European Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 VL49番システインの置換による抗コルチゾールscFvの抗原結合能の変化
2. 発表標題 木口 裕貴、大山 浩之、森田 いずみ、村山 佳穂、小林 典裕
3. 学会等名 日本薬学会 第140年会 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大山 浩之、森田 いずみ、木口 裕貴、吉田 武美、上田 宏、小林 典裕
2. 発表標題 試験管内親和性成熟を目的とする抗メタンフェタミン硫酸抱合体一本鎖Fvフラグメントの創製
3. 学会等名 日本法中毒学会第38年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木口 裕貴、大山 浩之、森田 いずみ、竹内 敦子、小林 典裕
2. 発表標題 ナンセンス変異を持つscFv遺伝子産物の構造および機能解析
3. 学会等名 日本分析化学会第68年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木口 裕貴、大山 浩之、森田 いずみ、大澤 愛、小林 典裕
2. 発表標題 幻覚性キノコのオンサイト同定を目指す抗シロシピンscFvの試験管内親和性成熟
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大山 浩之、山越 悠可、池田 あさひ、森田 いずみ、木口 裕貴、小林 典裕
2. 発表標題 ストレプトアビジン結合ペプチド融合scFvを用いる抗体固定化ELISA系の開発
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	大山 浩之	神戸薬科大学・薬学部・准教授	
	(OYAMA HIROYUKI)		
	(80572966)	(34512)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	森田 いずみ (MORITA IZUMI) (20299085)	神戸薬科大学・薬学部・講師 (34512)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関