



# 変異体遺伝子ライブラリ

高多様性 | 低多様性 | 部位飽和



**創薬。**

**抗体工学、酵素工学。**

**タンパク質工学、タンパク質安定化。**



## **多様なアプリケーションの出発点となる、 変異体遺伝子ライブラリ**

Twist Bioscienceの高品質ライブラリを使用すると、可能性のあるさまざまな変異体を調べることで、ごく一部だけではなく、あらゆる候補タンパク質を同定することができます。当社は、お客様がこれ以上ない、ご要望通りのものだけを実際に提供し、これまで分子生物学の専門的知見のご提供、および製品開発に取り組んできました。

お客様のご要望通りのライブラリを作製するため、Twist Bioscience独自のシリコンベース合成プラットフォームを用いて、それぞれの変異体を1塩基ずつ書き込むためのオリゴヌクレオチド大規模並列合成を活用してきました。この技術により、部位の制限なく、下流の工程に影響を与えたくないモチーフ配列を排除し、お客様の決めた比率で望み通りの変異体を精密に合成することが可能になりました。精密に合成されたTwist Bioscienceの高品質なライブラリを使用することで、候補タンパク質を迅速に同定し、より高い成功率で合理化されたスクリーニングを実施することができます。

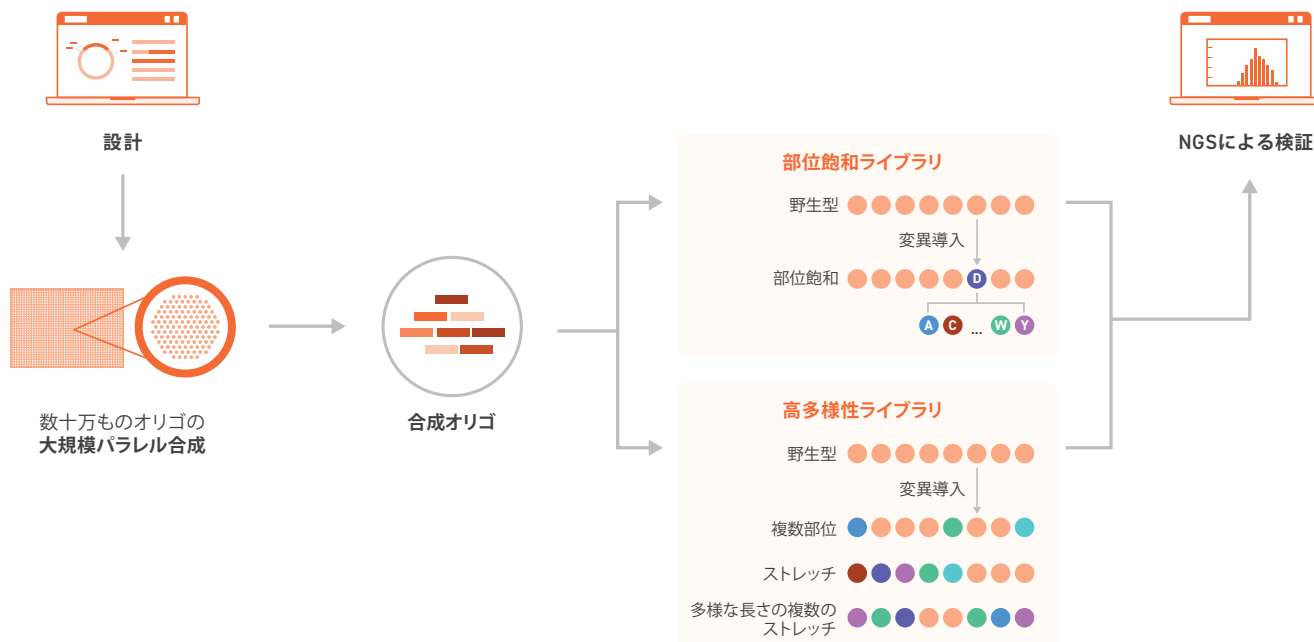
次世代シーケンス (NGS) による品質管理を含む、すべての工程を高品質かつクリーンに自社で行い、目的とする変異体すべてをご用意します。

# より多くの発見につながるテクノロジー

Twist Bioscience独自のオリゴ合成技術によって、ユニークなアプローチでライブラリを作製します。シリコンベース合成プラットフォームによって、高品質のオリゴプールが作製され、これらのオリゴを使用することで、ユーザー定義で完全にカスタマイズされた変異体遺伝子ライブラリをシングルチップ上に構築することができます。

当社では分子生物学の専門家チームがこの新たなテクノロジーを用いて、精密さの劣る既存の方法で作製されたライブラリを凌駕する、高多様性変異体遺伝子ライブラリおよび部位飽和変異体遺伝子ライブラリを作製しています。

Twist Bioscienceでは、あらゆる変異体が不要なシーケンスバイアスや終止コドン、望ましくないモチーフ配列を除くようin-silicoで設計、選別しています。



●●● 「私たちが求めていたライブラリはかなり複雑でしたが、  
●●● 受け取ったライブラリを分析してみると完璧な出来で、設計通りのものを手にすることができました。」

●●● DR. SANDRINE MOUTEL  
●●● MANAGER OF TECHNOLOGY, INSTITUT CURIE  
●●● Recombinant Antibody Platform and TAb-IP Platform

# 有望な変異体を得られるライブラリ

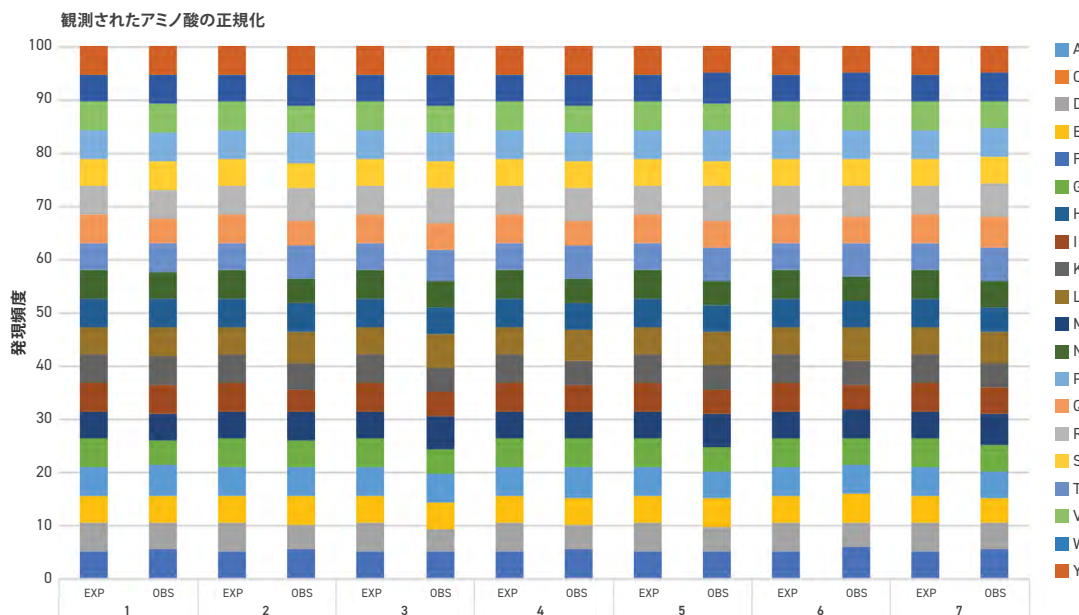
## 高多様性ライブラリ / Combinatorial Valiant Library

Twist Bioscienceの高多様性ライブラリは、安定性、結合親和性、酵素活性などの機能性がより優れたタンパク質を発現させる遺伝子変異体を作製するよう設計されています。ヒト化抗体ライブラリに代表される多様性に富んだライブラリに対し、当社の変異体導入カセットは単一または複数の骨格にシームレスに組み込むことができ、 $10^{10}$ を超える変異体を作製されます。

	縮重 (NNK/NNS)	TRIM/三量体制御	TWIST高多様性ライブラリ
配列バイアスの排除	×	×	○
利用可能なコドン数	32	20	64すべて
望ましくないモチーフの回避	×	×	○
コドン最適化	×	×	○
終止コドンの回避	×	○	○

## バイアスのない正確な変異導入

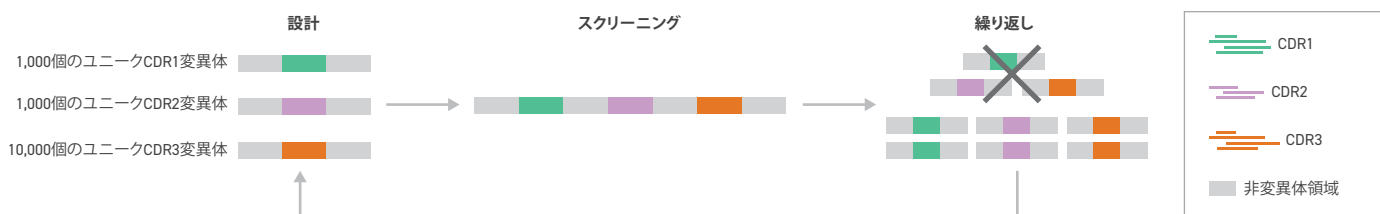
配列バイアスや不要なモチーフ配列を除去し、広範囲に精密な変異導入をした高多様性ライブラリのご利用により、効率的に抗体やその他のタンパク質のスクリーニングが行えます。広範囲な配列空間を探索する際に、無駄な配列を含まない精密なライブラリを使用することで、何度も繰り返されるスクリーニングに時間を浪費することなく、目的とする機能を持った候補タンパク質を迅速に得ることができ、より重要な研究に時間を使えるようになります。Twist Bioscienceのライブラリは不要な終止コドンを含まないため、未成熟ポリペプチドの発現や目的配列の欠失を心配する必要がありません。



**アプリケーション例:** CDR-H3は抗体構造の多様性に大きく関与し、抗原結合に極めて重要です。高多様性ライブラリは、NNKやTRIMなど他の技術で頻繁に発生するバイアスを排除します。このカセットの多様性により、遺伝子変異空間のより包括的な調査が可能になります。

## ユーザー定義CDRライブラリ

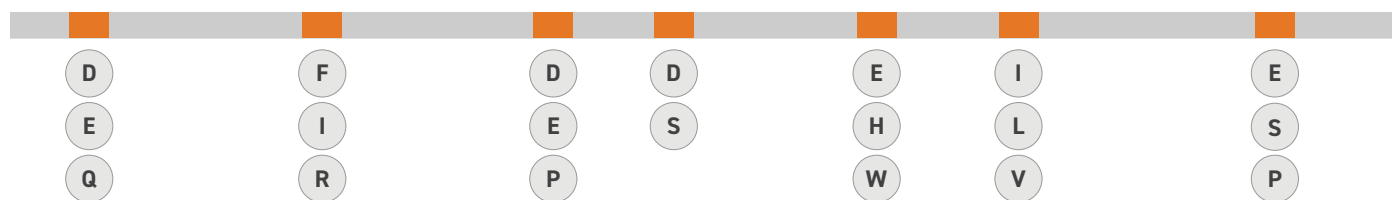
Twist Bioscienceの超多様性ライブラリでは、ユニークなCDR (相補性決定領域) 配列の変異体を組み合わせることができます。それぞれのCDRは不要な終止コドンや制限酵素認識配列が含まないようにコドンが最適化されています。機械学習はすでに、抗体ライブラリの分析やより高水準の親和性や特異性などにつながるようなユニークCDRの組み合わせを特定するためのツールとして用いられており、科学研究に不可欠な要素となっています。Twistの超並列DNA合成により機械学習により予測された候補配列のライブラリを合成することで、配列空間の探索を精密に行うことができます。すべてのライブラリがNGSを用いて品質管理されているため、ネガティブデータは機能改善につながらない変異を特定するために用いることができ、次のライブラリ設計の際にそれらを削除することができます。



## 低多様性ライブラリ / SOLD (Spread Out Low Diversity) Library

Twist Bioscienceの低多様性ライブラリは、複数の点変異を同時に導入し組み合わせたライブラリとなり、タンパク質とその周辺環境の関連性を調べることができる、タンパク質工学や酵素エンジニアリングなどに効果的なツールです。これにより、多様性を持たせつつ、必要な配列のみのライブラリを用いることで、時間や費用を効果的に使うことができます。

当社の低多様性ライブラリは、NNK、トリヌクレオチド変異導入 (TRIM)、error prone PCR、ランダム突然変異誘発、DNA シャッフリングなど既存の変異導入法に比べ、正確で費用対効果の高いライブラリです。低多様性ライブラリは、コンビナトリアル変異体ライブラリ (CVL) とは異なり、低多様性ライブラリ (SOLD Library) によって複数の変異を同時に調べることができます。

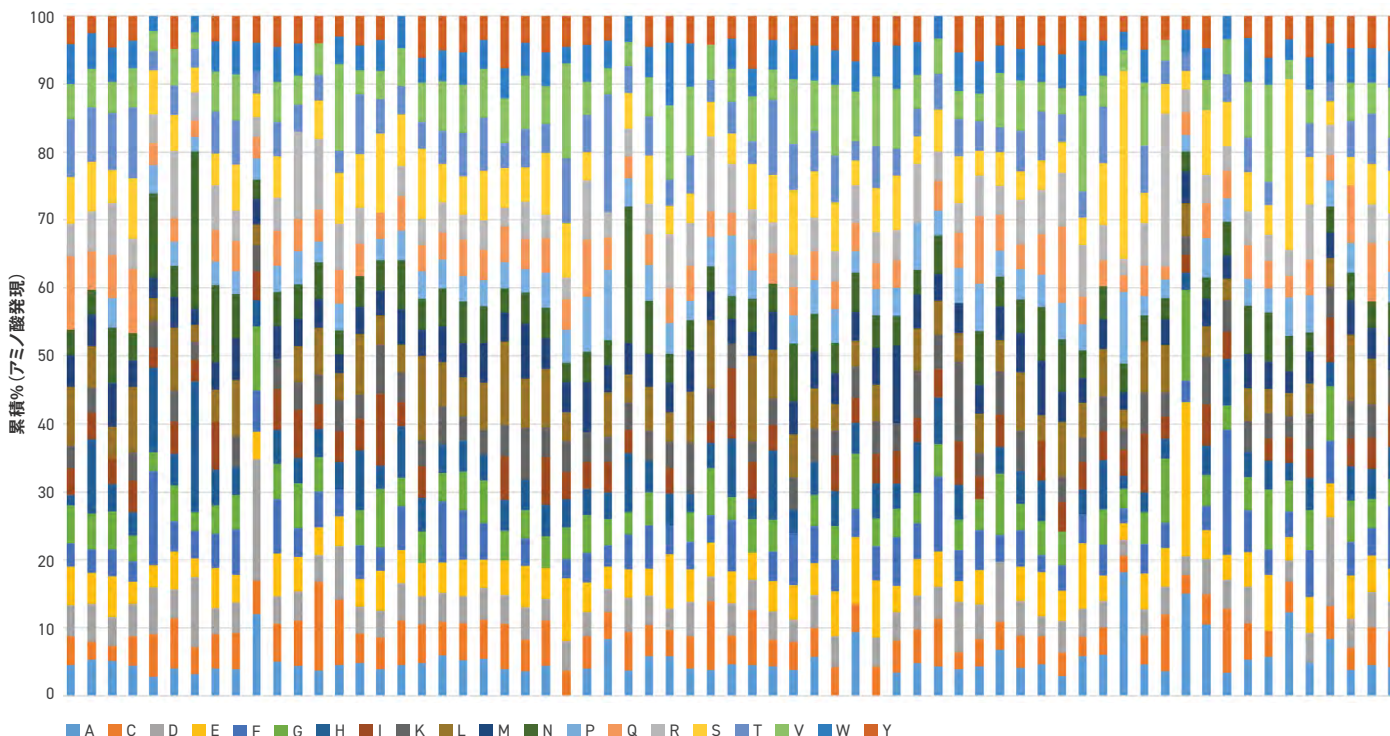


## 部位飽和変異体ライブラリ / Site Saturation Variant Library

Twist Bioscienceの部位飽和ライブラリはタンパク質の構造活性相関の研究に有用です。部位飽和ライブラリでは目的とする変異体の99%を作製できており、1チューブにすべての変異体が入ったプール型とオプションで変異導入部位ごとにプールされたサブプール型の納品形態が選べます。

	エラーブローンPCR	縮重 (NNK/NNS)	TWIST部位飽和 変異体ライブラリ
配列バイアスの排除	×	×	○
利用可能なコドン数	不明	32	64すべて
望ましくないモチーフの回避	×	×	○
コドン最適化	×	×	○
終止コドンの回避	×	○	○

部位飽和変異体ライブラリにより、スクリーニングアッセイにおいてタンパク質の配列空間を効率的にサンプリングすることができます。下図は、65種類の部位における変異体 (1部位につき19種類の変異体) を持つTwist部位飽和変異体ライブラリから得られたデータです。バーは、異なるアミノ酸部位を示しており、色ごとに観測された変異体の発現頻度を示しています。すべての変異体は予想通りの比率で発現しています。

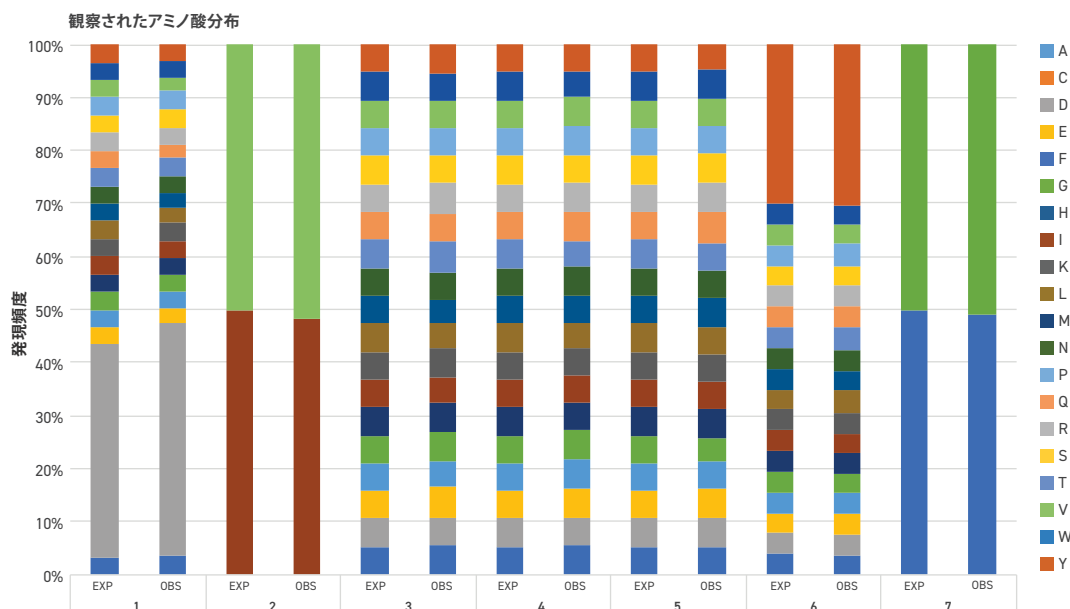


# 安定した品質

Twistでは、分子生物学に関する専門知識を活用して、変異体ライブラリを正確かつ効率的に作製しています。当社の単一塩基制御アプローチにより、モチーフ配列を排除することでスクリーニングプロセスの混乱を回避し、高多様性ライブラリをご提供可能です。当社は、目的とする変異体をお客様自身が決めた比率で備えた、比類のない品質かつフルカスタマイズのライブラリをご用意します。

下図はその品質の代表例としてCVLの結果を示しています。7つの連続するアミノ酸部位における変異体が作製され、各部位で予想通りの変異体が見られ、ほぼすべてが目的とする比率になっています。

- 1位と6位では、野生型アミノ酸がそれぞれ40% (1位) と30% (6位) となるよう求められました。残りの18種のアミノ酸すべてが3.3%程度となるよう求められました。
- 3位から5位では、19種のアミノ酸残基すべてが求められ、実際にすべて5.3%であることが観察されました。



Twist Bioscienceのシリコンベースプラットフォームにより、1塩基単位でライブラリをカスタマイズすることができます。変異体の多様性を正確にとらえることができるため、重要な変異体を見落とすことなく、変異体空間を包括的にスクリーニングすることが可能です。

- ● ● 「Twistのサービスの利用は・・・素晴らしい経験でした・・・(Twistの) サポートは目を見張るばかりでした。最初の検証のための選択を行いました、とても期待できるものでした・・・」
- ● ● **DR. AHUVA NISSIM**
- ● ● PROFESSOR IN ANTIBODY AND THERAPEUTIC ENGINEERING,
- ● ● QUEEN MARY UNIVERSITY OF LONDON



すべての発見に  
**TWIST** 高品質ライブラリ

[library@twistbioscience.com](mailto:library@twistbioscience.com)  
[twistbioscience.com](http://twistbioscience.com)

#WeMakeDNA

