

## 論文審査の要旨

報告番号	理工研 第 459 号	氏名	Md. Kamrul Hasan Khan
審査委員	主査	伊東 祐二	
	副査	内海 俊樹	九町 健一

学位論文題目 Development of IgY Binding Peptide using T7 Phage Display Technology and its Applications for Antibody Purification  
(T7ファージ提示技術によるIgY結合ペプチドの開発と抗体精製への応用)

## 審査要旨

提出された学位論文及び論文目録等を基に学位論文審査を実施した。本論文は、ニワトリ抗体IgYに特異性を有するIgY結合ペプチドの同定と、それを使ったIgYの卵黄からの精製技術の確立に関するものであり、全文6章より構成されている。

第1章は序章であり、研究背景、特に、IgYの構造、機能、さらには産業利用の可能性についてまとめた。

第2章では、ペプチドライブラリを提示するT7ファージ提示法の概要と、ジスルフィド結合を分子内に有するランダムペプチドライブラリの構築手法について記載した。ランダム配列をコードするDNAを鋳型に、PCRによる増幅、T7ファージベクターへの組み込みを行い、大腸菌感染によるライブラリの構築を行い、最後に、構築したライブラリの多様性と質について評価した。

第3章では、構築したライブラリから、バイオパンニングという単離手法を用い、IgYに特異的に結合するファージクローンを単離し、そのファージのDNA解析から、IgYに結合するペプチドの配列を特定した。得られた配列をもとに調製した合成ペプチドを使った結合活性評価により、得られたペプチドが、IgYへの親和性リガンドとして機能することを明らかにした。

第4章では、IgY精製への応用に向け、ニワトリ卵黄からの脂質除去を含む卵の前処理法についての検討を行い、2つの以前開発されていた除脂質法に比べ、簡便かつ高純度でIgYの分画が得られる方法を見出した。

第5章では、IgY結合ペプチドを固定化したカラムを使って、第4章で検討した卵黄の前処理法で調製したIgY分画からのIgYの精製を試みた。結果として、卵黄から高純度かつ高収率でのIgYの精製に成功した事から、IgY結合ペプチドを用いた新たなIgY精製法を確立したと結論した。

第6章では、本研究の結果をまとめるとともに、本法の有用性について、他法との比較を交え、産業的な観点から議論し、本論文を総括した。

以上、本論文は、ニワトリIgY抗体に特異的に結合するペプチドを、T7ファージ提示法により構築したランダムペプチドライブラリから、初めて単離することに成功しただけでなく、そのペプチドを用いた新たな高効率でのIgYの精製法を確立した点において、極めて優れた成果であり、今後、この精製システムを用いたIgYが、検出試薬や診断薬など種々の産業応用されていることが期待できる。

よって、審査委員会は博士(理学)の学位論文として合格と判定する。