

論文審査の要旨

報告番号	理工論 第 079 号	氏名	Md. Abdur Rafique
審査委員	主査	伊東 祐二	
	副査	内海 俊樹	橋本 雅仁

学位論文題目

Studies on design of single domain antibodies by Alpaca VHH phage library and high throughput sequencing to construct Fab antibody purification system
(Fab抗体精製システム構築のための高速配列解析とアルパカVHHファージライブラリを使った単ドメイン抗体の機能的デザインに関する研究)

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、次世代の抗体医薬品として注目されるFab抗体医薬品の精製技術の確立を目標に、アルパカ由来の低分子フラグメントVHH抗体ライブラリからの特異的なVHHの単離、最適化、さらには、それを固定化したFab抗体精製システムの開発を行ったものである。以下の全文6章より構成されている。

第1章は、本論文の研究背景であり、抗体医薬、特にFab抗体医薬の重要性とともに、本研究で用いるアルパカの重鎖抗体由来の抗原結合ドメインであるVHH並びにその単離技術としての抗体ファージライブラリを紹介した。

第2章では、Fab抗体を免疫したアルパカからVHHファージライブラリを構築し、バイオパニングと通常のスクリーニングによってFab特異的なVHHの単離に成功した。しかし、得られた抗体は、機能的に十分なVHHではないことを明らかにした。

第3章では、目的の機能を有するVHHクローンをVHHファージライブラリから単離するために、次世代シーケンサー (NGS) を用いた高速配列解析の手法を導入した。結果として、NGSの解析データから複数の候補となるVHH抗体を得ることに成功した。

第4章では、第3章で見出された抗Fab抗体の欠点である低親和性の改良を行った。エラーブローン技術によって構築された変異ライブラリを用いて、親和性成熟に必要なアミノ酸変異を見出し、最終的にそれらを組み合わせることで10倍程度の親和性の向上に成功した。

第5章では、最終的に最適化されたVHHを固定したカラムを用い、十分なFabの結合容量と容易な酸性溶出、アルカリ洗浄に対する耐性を持ったFab精製システムの構築を達成した。

第6章は、本論文を総括するとともに、今回、新たに構築されたFab精製システムの産業利用への展望について議論した。

以上、本論文は、Fab結合性のVHHを単離し、その最適化とともに、それを用いたFab抗体医薬品精製システムを構築した。このシステムは、次世代の抗体医薬品として期待されるFab抗体の精製法として、利用することが期待される。

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。