

学力確認結果の要旨

報告番号	理工論 第 号 079	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

学力確認のための試験は、以下の要領で博士論文の発表会を行い、研究発表内容の質、発表状況、質疑応答の内容を総合的に審査した。発表会は、令和2年2月5日の16時10分より鹿児島大学理学部2号館211号室にて開催され、30分の博士論文内容の発表後、約30分間の諮問を含む質疑応答が行われた。具体的な質疑応答の内容の一部を以下に示す。

1) VHH抗体の親和性成熟において、親和性を向上するアミノ酸変異体を、どうして効率よく見出すことができたのか。

回答：VHH変異ライブラリから、親和性が向上するクローンの選別では、極めて長時間の洗浄を行うなど、厳しい条件の元でバイオパンニングを行ったことにより親和性の向上したクローンのみを濃縮できたことが一つの理由であり、もう一つは、変異ライブラリの作製の際に、VHHあたりに約1か所のアミノ酸変異が起きるように設計したことも、効率良く変異の特定に成功した理由である。

2) VHHタンパク質とVHH提示ファージで、Fab抗体と完全IgG抗体に対する反応性、結合性が違っているように見えるのは何故か。

回答：確かに、VHHタンパク質とVHH提示ファージでは、Fabに対しては同じように結合するものの、完全IgG抗体に対しては、特にVHH提示ファージの結合性が低くなっている。この理由として考えられるのは、ファージ上に提示したVHHでは、ファージ部分の立体障害の影響で、Fabの認識の場合よりもIgG抗体認識の場合がより大きく阻害されると考えている。

3) 最終的にデザインした抗Fab-VHHのエピトープはどこなのか。

回答：抗Fab-VHH抗体の得意性の確認の際に、CL κ に対する結合性を調べたが反応性がなかったため、少なくとも、CL κ ではないと考えられる。また、L鎖を持つIgG抗体を使って結合活性を調べたが、結合活性はなかった。このことは、H鎖のCH1がエピトープでないことを示唆している。そうすると、残りは、VHかVLドメインということになるが、VHの異なるIgGに対しても結合活性は残存することから考えると、可能性が高いのは、VL κ ドメインではないかと考えている。

4) 本研究で得られた最も興味深い結果は何と考えるか。

回答：次世代シーケンサーによる解析技術を使うと、極めて低い、例えば、0.1%以下の存在率のVHHクローンでも、候補抗体として見出すことができる。このような高感度で目的のクローンを特定できる手法自身、大変興味深く、このような手法を確立できたことは、本研究の重要な意義であると思っている。

5) このVHHを固定化したカラムは、何回繰り返し利用が可能か。

回答：本論文の実験では、最終的に最適化したVHHを固定化したカラムの繰り返し利用は、3回までで、3回のアルカリ処理後、コントロールのVHH抗体カラムの結合容量が50%程度まで低下したのに対し、最終的に最適化したVHHでは、80%程度までと低下率は小さくなった。これ以上の繰り返し実験は行っていないが、明らかにアルカリ耐性は向上しており、10回程度は使用できると考えている。

上記のように審査員から質問に対し、審査対象者は、適宜、適切な対応と回答・討論を行った。また、語学力については、専門に関する学術論文の英文和訳の課題を与え、適切な和訳がなされていることを確認した。よって、申請者が博士(理学)の学位を与えるに十分な学力と見識を有するものとして判定した。