

## 学位論文の要旨

氏名

森 怜香

学位論文題目

親和性ペプチドを用いた部位特異的IgG抗体修飾法による  
免疫測定法の開発

本論文は、免疫測定系の感度上昇を目的に、新規の部位特異的な抗体修飾法であるCCAP法（Chemical conjugation by affinity peptide）を開発し、免疫測定法における抗体標識、抗体固定化への応用、およびその効果の検証に関する研究をまとめたものである。

第1章は、研究背景として、抗体について、体外診断薬に用いられる免疫測定法とその課題、抗体修飾法とその利用、先行研究であるCCAP法について、また、免疫測定法の対象とするIgE並びにCA19-9の重要性について、概要を記載した。

第2章は、先行研究であるヒトIgGに特異的なIgG結合ペプチド（IgG-BP）によるCCAP法を基に、マウスIgGへの部位特異的修飾に適用できる手法の開発を行った。抗体精製の結合リガンドとして利用されているStaphylococcus aureusのProtein A由来のペプチドZ34Cを改変させ、ヒトIgG、マウスIgG両方を修飾可能である新規CCAP法（CCAP-Z34C）の開発に成功した。

第3章では、CCAP-Z34C法に用いるペプチドの改良を行い、CCAP-Z33法を開発した。Z33ペプチドのデザインによって、ペプチド試薬調製時の工程の削減、及びペプチド合成収率の向上が可能となった。このZ33試薬を用いたマウスIgGの修飾条件を最適化するとともに、修飾抗体の修飾による抗原親和性への影響を検証した。

第4章は、CCAP-Z33法にて修飾を行ったマウスIgGを用いた免疫測定法への応用検討を行った。免疫測定法の中で最も一般的な方法であるELISA法と、体外診断薬において頻繁に使用されるラテックス凝集系の2つの方法にて、CCAP-Z33法で修飾した抗体を適用し、一般的な抗体修飾法であるランダムアミンカップリング法による修飾抗体との比較を行った。測定対象として、体外診断薬の測定用抗原として使用されている、IgEおよびCA19-9を用いた。結果として、CCAP法による修飾抗体を用いることで、測定感度の上昇や非特異反応の低減が確認された。

第5章は、免疫測定系におけるCCAP法の有用性や、今後の展望について述べるとともに、本研究を総括した。

## Summary of Doctoral Dissertation

Title of Doctoral Dissertation:

Development of Immunoassay by Site-specific Chemical Conjugation of IgG Antibodies  
Using Affinity Peptide

Name: Satoka Mori

This thesis mainly comprises the development of the novel site-specific antibody modification method, called the CCAP method (Chemical conjugation by affinity peptide), for increasing the sensitivity of the immunoassay through labeling and immobilization of antibody.

Chapter 1 describes the research background, summarizing the issues in the immunoassays used for *in vitro* diagnostics, and the antibody modification and introducing CCAP method developed previously and the antigens IgE and CA19-9 for immunoassay used in this study.

In Chapter 2, we developed a new antibody modification method which can be used for the modification mouse IgG, based on CCAP method developed previously by our groups using human IgG-specific affinity peptide (IgG-BP). By modifying Z34C peptide which was derived from Protein A of *Staphylococcus aureus* and used as an affinity ligand for IgG purification, we succeeded in the development CCAP method (CCAP-Z34C) which can modify both human and mouse IgG.

In Chapter 3, CCAP-Z34C was further improved to generate CCAP-Z33 for industrial use. By the design of Z33 peptide, we successfully reduced the steps of the peptide reagent preparations and increased the yield of the peptide synthesis. The reaction conditions of CCAP-Z33 peptide was optimized for mouse IgG and the influences of the modification on the antigen binding affinity was evaluated.

In Chapter 4, mouse IgG modified with CCAP-Z33 was applied for the immunoassay. Two methods, ELISA known as the most popular immunoassay and latex agglutination used frequently as a diagnosis assay were employed for the measurements of IgE and CA19-9. The antibodies modified with CCAP-Z33 were compared with the randomly modified antibodies by amine coupling method, indicating the increased sensitivity and the lower background in the assay of CCAP-modified antibodies.

Chapter 5 describes the usefulness and the future prospects of the CCAP method in immunoassay and summarizes this study.