

論文審査の要旨

報告番号	理工論 第 82 号	氏名	清瀬 紀彦
審査委員	主査	伊東 祐二	
	副査	隅田 泰生	新留 康郎
		有馬 一成	

学位論文題目 VIII抗体の抗体工学によるレジオネラ検出系の開発研究
(Development of immunoassay for *Legionella* through antibody engineering of VHH antibody)

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、次世代抗体として注目されているラクダ科動物重鎖抗体由来のアルパカVHH抗体の診断薬等での産業応用を目的とし、モデル抗原であるレジオネラのアルパカへの免疫と免疫VHHファージライブラリの構築、レジオネラ特異的VHHクローンの単離、性状解析、さらに抗体工学による多価化VHHを用いたレジオネラ検出アッセイの構築と高感度化手法を述べたもので、全文5章より構成されている。

第1章は、研究背景を述べており、次世代抗体として注目されているラクダ科動物の持つ重鎖抗体の抗原結合ドメイン由来のVHH抗体の特徴と、VHH抗体を取得するための方法であるファージライブラリの概要、モデル抗原として使用したレジオネラについて記載した。

第2章は、アルパカVHH免疫ライブラリの構築と、そこから得られるVHH抗体の機能の評価を行った。モデル抗原（レジオネラ菌体）のアルパカへの免疫を行い、免疫後のアルパカの末梢血リンパ球を用い、アルパカVHH免疫ファージライブラリを構築した。このライブラリから、VHH抗体の単離手法であるバイオパンニングによって、このレジオネラに対して特異的に結合するVHH抗体の単離を行い、その性状解析を行った。

第3章は、第2章で得られたVHH抗体について、2つの手法にてアッセイの高感度化へ向けた抗体工学を行った。1つ目の方法が、遺伝子工学を用いて、VHH抗体をリンカーで連結した2量体化であり、2つ目が、VHH抗体のC末端にシステイン残基を導入し、システイン残基を用いてVHH抗体を配向制御した状態でキャリアタンパク質とコンジュゲーションさせる多量体化法である。作製した各フォーマットのVHH抗体について、抗原との結合活性などの特性解析を行った。

第4章は、第2・3章で作製した各VHH抗体を用いてレジオネラ抗原検出に向けたELISA、イムノクロマト、ラテックス凝集検出法の構築について検討した。これら3つの検出アッセイにおける測定条件を、検出感度の向上に向け最適化した。最終的に、多量体化したVHHコンジュゲートを用いて、ラテックス凝集系によるレジオネラの高感度化検出システムの開発に成功した。

第5章は、診断薬等での産業応用を目指したアルパカVHH抗体の応用の方法論についてまとめ、本論文を総括した。

以上、本論文は、アルパカ由来のVHH抗体の臨床検査試薬としての産業応用に関する研究として、レジオネラ菌に対するVHH抗体の工学的改変に関する検討を通し、レジオネラ菌の高感度検出系の構築に成功した。これは、VHHによる抗原検出の高感度化の方法論を提案した意味で、VHH抗体の産業応用に大きく寄与する。

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。