

## 論文審査の要旨

報告番号	理工研 第403号	氏名	村岡 純子
審査委員	主査	伊東 祐二	
	副査	内海 俊樹	橋本 雅仁
		有馬 一成	
<p>学位論文題目      ファージライブラリ法による抗原特異的ブタ単鎖抗体の単離          および特性解析に関する研究          (Study on Isolation and Characterizations of Antigen-specific Porcine Antibodies          Using Single Chain Antibody Phage Libraries)</p> <p>審査要旨</p> <p>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、産業特に医用にとって有用な抗体を作製するため、免疫動物としてのブタの利用可能性について検討することを目的に、ファージディスプレイ法を用いた単鎖ブタ抗体ライブラリの構築とライブラリからの抗体の単離、さらには単離されたブタ単鎖抗体の特性解析を検討したもので、全文5章より構成されている。</p> <p>第1章は、序章であり、ガンや自己免疫疾患に治療薬として注目されている抗体医薬品の特徴およびその抗体作製方法の現状について述べるとともに、本研究の手法であるファージディスプレイ法の位置付けを示し、その利点について考察した。</p> <p>第2章は、ブタの免疫動物としての有用性を明らかにするため、ブタ抗体遺伝子配列上の特徴を解析した。即ち、抗体遺伝子データベースからの、ブタ、ヒト、マウスを含めた数種の動物の抗体の可変領域の遺伝子・アミノ酸配列を比較し、系統解析を通して、ブタ抗体のVH可変領域の配列が、ヒト抗体のVH3遺伝子と高い相同性を持つこと、このことによりブタ抗体のヒト化が容易となる根拠を明らかにした。</p> <p>第3章では、ファージディスプレイ法を用いた抗原特異的ブタ単鎖抗体の単離とその特性評価を行っている。即ち、抗原（ヒト血清アルブミン）を免疫したブタの血液リンパ球由来のcDNAを基に、ブタ抗体の重鎖（VH）と軽鎖（VL）の遺伝子をPCR法によって増幅し、更にそれをリンカーで連結した単鎖Fv抗体遺伝子を合成した後、ファージミドベクターに組み込むことによって、単鎖Fv抗体ファージライブラリを構築した。このファージライブラリから、パンニング法によって、9種の抗原特異的抗体を持つファージを単離し、更に大腸菌に発現させた単鎖Fv抗体の結合特異性、結合親和性等の性質を検討した。</p> <p>第4章は、得られたヒト血清アルブミン特異的ブタ単鎖Fvの抗原認識の特徴について記述した。得られた数種類の単鎖Fv抗体のVLを他の抗体のVLと交換しても、抗原特異性は維持することから、ブタ抗体においても、他の生物種と同じく、VHが抗原の認識に主要な役割を演じていることが分かった。さらに、ヒト由来のVLとの交換においても、同様に抗原特異性や親和性を維持したことから、ブタ抗体のVLとヒトのVLは交換可能なペアであることが分かった。</p> <p>第5章は、本論文の総括である。</p> <p>以上、本論文は、抗原免疫によるブタを用いたファージライブラリからの抗原特異的抗体の単離と特性解析に関する研究であり、今後のブタ抗体の医療への利用に向け、重要な方法論を提案した。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。</p>			