

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	抗PEG抗体アッセイに向けたセロオリゴ糖集合体の設計と構築
Title(English)	
著者(和文)	杉浦開
Author(English)	Kai Sugiura
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京科学大学, 報告番号:甲第318号, 授与年月日:2025年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:芹澤 武,穴戸 厚,戸木田 雅利,田中 祐圭,澤田 敏樹
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Institute of Science Tokyo, Report number:甲第318号, Conferred date:2025/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	要約
Type(English)	Outline

抗 PEG 抗体アッセイに向けたセロオリゴ糖集合体の設計と構築

物質理工学院 応用化学系 応用化学コース 博士後期課程三年 杉浦開

我々の健康および生命を守るためにポリエチレングリコール (PEG) 修飾医薬品は不可欠な医薬品となりつつある。しかしながら、近年、PEG 修飾医薬品によって抗 PEG 抗体の産生が誘導されることや、PEG 修飾医薬品を投与されたことがない健常者が自然抗体として抗 PEG 抗体を保有していることが明らかになってきた。抗 PEG 抗体は投与された PEG 修飾医薬品に結合することによって、PEG 修飾医薬品の薬効の低下ならびに副作用を引き起こす。それらの問題に適切に対処するためには、抗 PEG 抗体の結合特性を分析することが必要不可欠である。これまでに、酵素結合免疫吸着測定 (ELISA) 法が抗 PEG 抗体の結合特性の分析に広く用いられてきた。しかしながら、PEG や抗 PEG 抗体を吸着 (固相化) させるための固相担体としてマイクロプレートを用いた典型的な ELISA 法においては、マイクロプレートに対するタンパク質の非特異的な吸着を抑制するためにブロッキング操作ならびに界面活性剤を使用した洗浄操作が行われ、それらは ELISA の検出シグナルを低下させる可能性がある。タンパク質が非特異吸着しない固相担体に PEG やオリゴエチレングリコール (OEG) を固相化することができれば、ブロッキング操作ならびに界面活性剤を使用した洗浄操作を行わない ELISA 法に基づいて抗 PEG 抗体をより精密にアッセイできると期待される。本研究では、タンパク質の非特異的な吸着量が極めて少ないセロオリゴ糖集合体を固相担体として利用することで、シンプルな ELISA 法により抗 PEG 抗体を分析できることを見出した。

第一章「序論」では、本論文の背景と目的について述べた。

第二章「酵素触媒重合法により構築した OEG 導入セロオリゴ糖集合体による抗 PEG 抗体の識別」では、OEG 導入セロオリゴ糖集合体を利用することで、ブロッキングならびに界面活性剤を使用した洗浄操作を行わない ELISA 法により、抗 PEG 抗体を結合特異性に基づいて識別できることを見出した。エチレングリコールユニット数が2、4、6、および8の OEG をもつセロオリゴ糖集合体を酵素触媒重合法によりそれぞれ調製した。OEG 導入セロオリゴ糖集合体に対するタンパク質の吸着量が極めて少ないことが明らかになったことから、ブロッキング操作ならびに界面活性剤を使用した洗浄操作を行わない ELISA 法による抗 PEG 抗体アッセイを実施した。その結果、適切な OEG 鎖をもつセロオリゴ糖集合体を利用することで、特定の抗 PEG 抗体を特異的に検出することができた。さらに、血清共存下で抗 PEG 抗体を定量検出することができた。

第三章「酵素触媒重合法とポスト機能化法により構築したセロオリゴ糖集合体を用いる抗 PEG 抗体のアッセイ」では、設計可能なセロオリゴ糖集合体が抗 PEG 抗体のアッセイに有用であることを見出した。酵素触媒重合法により構築したクリック反応性セロオリゴ糖集合体に、エチレングリコールユニット数が3、7、11、および23の OEG 鎖を、導入率を制御しながら導入した。OEG 導入集合体を用いた ELISA 法により、結合特異性の異なる3種類の抗 PEG 抗体をそれぞれ検出することができた。とりわけ、15-2b 抗 PEG 抗体については、これまで受け入れられてきた結合特異性とは異なる結合特異性を明らかにした。また、OEG 鎖長や OEG 導入率に応じて、抗 PEG 抗体の検出量は異なった。これらの検出量の違いは、OEG の鎖長あるいは導入率によって変化した OEG 鎖のコンフォメーションや隣接した OEG 鎖の排除体積効果によるものであると考えられた。導入率に応じた OEG 鎖のコンフォメーション変化は全原子分子動力学シミュレーションにより支持された。さらに、血清共存下でそれぞれの抗 PEG 抗体を定量検出することができた。

第四章「結論および今後の展望」では、本論文の結論と今後の展望について述べた。