

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,宍戸 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)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

(博士課程)

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第		号	学位申請者氏名	杉浦 開	
論文審査 審査員		氏名	職名		氏名	職名
	主査	芹澤 武	教授	審査員	澤田 敏樹	准教授
	審査員	宍戸 厚	教授			
		戸木田 雅利	教授			
	田中 祐圭	准教授				

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は、「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」と題し、抗ポリエチレングリコール (PEG) 抗体をアッセイするためのセロオリゴ糖集合体を設計ならびに構築することを目的としている。オリゴエチレングリコール (OEG) を導入したセロオリゴ糖集合体が酵素触媒重合法やポスト機能化法を駆使して設計、構築され、それらを用いた酵素結合免疫吸着測定 (ELISA) 法により、各種の抗 PEG 抗体が特徴付けされている。本論文は全四章から構成され、日本語で書かれている。

第一章「序論」では、本論文の背景と目的について述べている。

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、酵素触媒重合法を利用して OEG 導入セロオリゴ糖集合体を構築し、それらを用いた ELISA 法により抗 PEG 抗体をアッセイすることを目的としている。セロデキストリンホスホリラーゼを触媒とした酵素触媒重合法により、エチレングリコールユニット数が 2、4、6、および 8 の OEG を表面にもつセロオリゴ糖集合体をそれぞれ構築している。いずれの OEG 導入セロオリゴ糖集合体も緩衝液中に良く分散し、それら表面に対する血清タンパク質の非特異的な物理吸着の量が極めて少ないことを明らかにしている。エチレングリコールユニット数が 4、6、および 8 の OEG を導入したセロオリゴ糖集合体を用いた ELISA 法により、末端メトキシ基とそれに結合した 3 個のエチレングリコールユニットを認識して結合するとされている抗 PEG 抗体を特異的に検出できることを明らかにしている。さらに、OEG 鎖長に応じて抗 PEG 抗体の検出量が変化することが明らかにされている。また、血清が共存する条件下で抗 PEG 抗体を定量的に検出でき、セロオリゴ糖集合体を固相担体として用いた ELISA 法が生体試料中の抗 PEG 抗体の分析に利用できる可能性が示唆されている。

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、酵素触媒重合法とポスト機能化法を利用して OEG が導入されたセロオリゴ糖集合体を構築し、それらを用いた ELISA 法により、結合特異性の異なる抗 PEG 抗体をそれぞれアッセイすることを目的としている。セロデキストリンホスホリラーゼを触媒とした酵素触媒重合法により、プロパルギル基を表面にもつセロオリゴ糖集合体を構築できることを明らかにしている。プロパルギル基をもつセロオリゴ糖集合体は緩衝液中に良く分散し、その表面に対する血清タンパク質の非特異的な物理吸着の量が極めて少ないことを明らかにしている。クリック反応に基づくポスト機能化により、エチレングリコールユニット数が 3、7、11、および 23 の OEG をセロオリゴ糖集合体表面に導入できることを明らかにしている。全原子分子動力学シミュレーションにより、OEG 鎖がセロオリゴ糖集合体表面に安定に提示されることが示唆されている。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できることを明らかにしている。さらに、クローン 15-2b 抗 PEG 抗体がメトキシ基と 7 個以上のエチレングリコールユニットをもつ OEG に結合することが見出されている。また、ポスト機能化により、OEG 導入率が 7、21、および 55 % の集合体を構築できることを明らかにしている。これら集合体を用いた ELISA 法により、抗 PEG 抗体の検出量は、OEG 導入率が 21 % の場合に最大となることを明らかにしている。この検出量の変化は OEG 鎖のコンフォメーションの違いによるものであると考えられ、全原子分子動力学シミュレーションにより、セロオリゴ糖集合体表面の OEG 鎖のコンフォメーションが評価されている。OEG 鎖のコンフォメーションは、導入率が高くなるにつれて伸長することが示唆されており、OEG 鎖の伸長による結合促進ならびに隣接した OEG 鎖の排除体積効果による結合阻害によって、抗 PEG 抗体の検出量が変化する機構を提案している。以上より、抗 PEG 抗体を感度よく検出するためには、OEG 導入率の制御が重要であることを明らかにしている。また、血清が共存する条件下であっても、結合特異性の異なる 3 種類の抗 PEG 抗体をそれぞれ定量的に検出できることを明らかにしている。

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ている。

これを要するに、本論文は酵素触媒重合法に基づいて設計ならびに構築した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明らかにしている。アンチバイオファウリングかつ設計可能なセロオリゴ糖集合体を固相担体として用いた ELISA 法が、PEG 修飾医薬による抗 PEG 抗体の産生や抗 PEG 抗体が PEG 修飾医薬に与える影響を調べるために利用できる可能性が示唆されており、工学上ならびに工業上貢献するところが大きい。よって本論文は、博士 (工学) の学位論文として十分な価値があるものと認められる。

注意: 「論文審査の要旨及び審査員」は、東京科学大学リサーチリポジトリ (T2R2) にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。