

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	Development of HER2-targeting small proteins by immobilization of binding-peptides in scaffold proteins
著者(和文)	YIMCHUENWANAPORN
Author(English)	Wanaporn Yimchuen
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11559号, 授与年月日:2020年6月30日, 学位の種別:課程博士, 審査員:門之園 哲哉,近藤 科江,丸山 厚,小倉 俊一郎,堤 浩
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11559号, Conferred date:2020/6/30, 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	Wanaporn Yimchuen		
論文審査 審査員		氏名	職名		氏名	職名
	主査	門之園 哲哉	助教	審査員	堤 浩	准教授
	審査員	近藤 科江	教授			
		丸山 厚	教授			
小倉 俊一郎		准教授				

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「Development of HER2-targeting small proteins by immobilization of binding-peptides in scaffold proteins」と題し、英文で書かれ、6章より構成されている。

Chapter 1「General Introduction」では、抗がん剤として臨床応用されている抗体医薬の課題（低い組織浸透性と高い製造コスト）を克服するために、化学合成可能な小型の抗体代替分子の開発が望まれていることを紹介している。そこで本研究では、標的結合ペプチドを小型の足場タンパク質に組み込んで構造を固定化することにより、高性能な小型抗体代替分子 fluctuation-regulated affinity protein (FLAP) を創製する技術の確立を目的としたことを述べている。

Chapter 2「Identification of small protein scaffolds and grafting acceptor sites」では、MD シミュレーションによる、小型足場タンパク質の選択とペプチドの組み込みに適した領域 (GA サイト) の同定について述べている。化学合成可能な分子サイズであり、ジスルフィド結合の数が少ないヒト由来の 13 種類の足場タンパク質候補を構造データベースから選択し、MD シミュレーションにおける Root Mean Square Fluctuation (RMSF) 値を指標とする独自の方法で評価した結果、6 種類の足場タンパク質分子中に 13 ヶ所の GA サイトを見出している。

Chapter 3「Development of FLAPs using HER2-binding peptide derived from anti-HER2 monoclonal Abs」では、乳がんマーカー HER2 に結合する抗体医薬の情報から抽出した抗体由来 HER2 結合ペプチド (AbP) を組み込んだ FLAP (AbP-FLAP) の創製技術の確立について述べている。トラスツズマブおよびペルツズマブの結合エネルギー計算によって抽出した 5 種類の AbP を、Chapter 2 で同定した 13 ヶ所の GA サイトに組み込むことにより、65 種類の FLAP 候補分子をデザインしている。その中で、フィブロネクチン III (FN3) を足場タンパク質としてトラスツズマブ由来の AbP を組み込んだ 3 種類は、トラスツズマブと同じエプトープに強く結合する ($K_D = 270\text{-}350\text{ nM}$) ことを明らかにしている。

Chapter 4「Development of FLAPs by grafting HBP」では、ペプチドライブラリーのスクリーニングによって得られた HER2 結合ペプチド (HBP) を組み込んだ FLAP (HBP-FLAP) の創製技術の確立について述べている。ファージディスプレイライブラリーから同定した HBP を FN3 の GA サイトに組み込み、親和性成熟させることにより、HBP-FLAP ($K_D = 287\text{ nM}$) の創製に成功している。また、足場分子に組み込むことで、HBP のタンパク質分解耐性が大きく改善されることを見出している。

Chapter 5「Specific binding of FLAPs to HER2-overexpressing cells *in vitro* and *in vivo*」では、診断プローブとしての FLAP の有用性について述べている。AbP-FLAP と HBP-FLAP による免疫染色では、HER2 高発現細胞のみに結合することを示している。また、近赤外蛍光色素で標識した HBP-FLAP プローブは、マウスモデルにおいて HER2 発現腫瘍を 6 時間の半減期でイメージング出来ることを示している。

Chapter 6「Conclusion and prospect」では、本研究の結果を総括し、今後の展望について述べている。

以上を要するに、本論文は標的結合ペプチドを小型足場タンパク質に組み込むことで FLAP を創製する技術の確立し、標的発現がん細胞の検出に FLAP が利用できることを示し、抗体代替分子としての有用性を示しており、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、東工大リサーチポジトリ(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。