

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	Construction of Multifunctional Temperature-responsive Protein Nanoparticles for Biomarker Detection
著者(和文)	WangGaoyang
Author(English)	Gaoyang Wang
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12214号, 授与年月日:2022年9月22日, 学位の種別:課程博士, 審査員:小島 英理,小倉 俊一郎,堤 浩,松田 知子,三重 正和
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12214号, Conferred date:2022/9/22, 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	WANG Gaoyang		
論文審査 審査員		氏名	職名		氏名	職名
	主査	小島 英理	教授	審査員	三重 正和	准教授
	審査員	小倉 俊一郎	准教授			
		堤 浩	准教授			
松田 知子		准教授				

### 論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「Construction of Multifunctional Temperature-responsive Protein Nanoparticles for Biomarker Detection (バイオマーカー検出のための多機能温度応答性タンパク質ナノ粒子の構築)」と題し、温度に応答してタンパク質ナノ粒子を形成する elastin-like polypeptide(ELP)とポリアスパラギン酸の融合タンパク質(ED)に抗体結合ドメインや発光酵素 (ルシフェラーゼ) を融合したタンパク質から構築した多機能温度応答性タンパク質ナノ粒子の有用性を示した内容であり、英文で書かれ五章より構成されている。

第一章「General Introduction」では、バイオマーカー検出におけるナノ粒子の重要性について概説した後、温度応答性ナノ粒子、中でも ELP からなる温度応答性ナノ粒子について、その特性について述べている。また、分子検出を目的とした ELP ナノ粒子の機能化例を示し、本研究の目的を述べている。

第二章「Construction of Luciferase and Antibody Displayed Nanoparticles for Detection」では、ED に抗体結合ドメインおよびルシフェラーゼ(Nluc)を融合した新規融合タンパク質を構築し、その粒子形成をはじめとした機能を評価している。構築した融合タンパク質は、温度に応答した粒子形成能、粒子形成後の抗体結合能および発光能を保持していることを示し、多機能温度応答性タンパク質ナノ粒子が形成されたことを明らかにしている。また、この融合タンパク質を用いた生体分子検出を行い、融合タンパク質を粒子化することによりモノマー状態よりも高感度な分子検出が可能であることを明らかにしている。

第三章「Construction of Luciferase and Aptamer Displayed Nanoparticles for Detection」では、一本鎖 DNA(ssDNA) と共有結合能を有する複製開始タンパク質(Rep)と ED, Nluc と ED の融合タンパク質(EDR および EDN)をそれぞれ構築し、DNA アプタマーおよび Nluc を提示した多機能温度応答性タンパク質ナノ粒子の形成と機能を評価している。DNA アプタマーは ED に融合した Rep を介して EDR に共有結合されることを示し、EDR, EDN, ED を様々な比率で混合し加熱することにより多機能タンパク質ナノ粒子が形成可能であることを評価している。また、構築した多機能温度応答性タンパク質ナノ粒子を用いて、がん細胞の高感度な検出が可能であることを明らかにし、DNA アプタマーを提示した多機能温度応答性タンパク質ナノ粒子が構築可能であること、およびその有用性について述べている。

第四章「Multifunctional Protein Nanoparticles for Tumor Detection」では、ED を基本骨格とした融合タンパク質が温度に応答して粒子とモノマー状態に可逆的に変化する特性を利用したがん細胞の捕捉検出が可能であることを評価している。ここでは ED に Nluc および Rep を融合した新規融合タンパク質(EDNR)を構築し、ビオチンが C 末端側のペプチド配列に修飾される融合タンパク質(EDNB)との混合、それに続く加熱により多機能タンパク質ナノ粒子が構築できることを示している。また、その多機能タンパク質ナノ粒子を室温から 4℃ に保つことによりモノマー状態の融合タンパク質に戻ることを示している。最後に、第三章で用いた DNA アプタマー、ビオチン、Nluc を提示したナノ粒子を構築し、がん細胞の捕捉検出を評価している。ビオチン-アビジン(Av)間の結合を利用して Av 結合磁気ビーズにナノ粒子を介して結合したがん細胞を捕捉・分離し、4℃ に保つことにより磁気ビーズから解離させることが可能であることを明らかにしている。

第五章「Conclusion and Outlook」では、第二章から第四章で得られた結果の総括、さらには今後の展望について述べている。

以上を要するに、本論文は遺伝子工学的手法を用いて構築した多機能温度応答性タンパク質ナノ粒子がバイオマーカー検出において有用であることを明らかにし、今後のバイオセンシング技術の発展に資する多くの知見を得たものであり、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。