

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	Development of target-binding small proteins using antibody-guided design and screening
著者(和文)	SeeKyra Chantal Tiu
Author(English)	Kyra See
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12111号, 授与年月日:2021年9月24日, 学位の種別:課程博士, 審査員:門之園 哲哉,近藤 科江,北尾 彰朗,小倉 俊一郎,堤 浩
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12111号, Conferred date:2021/9/24, 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	See Kyra Chantal Tiu		
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			
		北尾 彰朗	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 target-binding small proteins using antibody-guided design and screening」と題し、英文で書かれ、4章より構成されている。

Chapter 1「General introduction」では、がんをはじめとする様々な疾患に対して標的に結合する抗体が治療薬（抗体医薬）として利用されているが、抗体は分子量が大きいため組織浸透性が低いこと、複雑な構造を持つため製造コストが高いこと、標的への結合力が強すぎるため応用が限られること、などの課題があることを紹介している。また、これらの課題を克服するために小型の抗体代替分子の開発が進められているが、小型骨格タンパク質から作成する多数の変異体で構成されるライブラリー（ $\sim 10^{12}$ 種類）の中から標的結合力を有する変異体を同定する必要があるため、開発効率が悪いことが述べられている。そこで本研究では、抗体の構造および結合特異性を利用したライブラリーデザインとスクリーニングにより、小型抗体代替分子の1種である fluctuation-regulated affinity protein (FLAP)を効率よく創製するための技術の確立を目的としたことを述べている。

Chapter 2「Identification of a HER2-binding FLAP through computational screening」では、乳がんマーカーHER2に結合する抗体医薬トラスツズマブの構造を利用した小型HER2抗体代替分子D-FLAPの創製を実施している。トラスツズマブの結合エネルギー計算によってHER2結合残基を有する2つのペプチドを抽出し、骨格タンパク質FN3の2か所のループに組み込むことにより、80種類の変異体からなる小さなライブラリーをデザインしている。MDシミュレーションでこれらの構造を予測してトラスツズマブの構造と比較し、HER2結合残基の構造がよく似ている変異体を同定して結合力を測定することにより、D-FLAP ($K_D = 58$ nM)の創製に成功したことを述べている。

Chapter 3「Identification of a CD25-binding FLAP through antibody-guided mammalian display screening」では、Monoclonal Antibody-Guided Peptide Identification and Engineering (MAGPIE)と名付けたペプチドスクリーニング技術の開発を行っている。MAGPIEシステムでは抗原と抗体代替ペプチド候補を哺乳類細胞膜上で結合させ、結合特異性を誘導するための抗体（ガイド抗体）を競合的に反応させることにより、ガイド抗体と同じ結合特異性を有するペプチドを選別することが可能である。そこで実際に活性化T細胞マーカーCD25に結合する抗体医薬ダクリズマブから小型CD25抗体代替分子Zif-FLAPを創製することにより、MAGPIEシステムの有用性が示されている。また、創製された3種類のZif-FLAPは、いずれもCD25に特異的に強く結合する ($K_D = 31-37$ nM)と述べている。

Chapter 4「Conclusion and prospects」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、本論文は抗体の構造および結合特異性を基にデザインしたライブラリーとスクリーニング法によりFLAPを効率よく創製する技術の確立し、抗体医薬の小型代替分子の開発における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。