The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Design of a biopanning process of phage display libraries based on kinetic studies
Author(s)	庄, 国強
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43382
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【35】

氏　　名	庄（つうぉん）　国強（くおちゃ）
博士の専攻分野の名称	博　士（工　学）
学　位　記　番　号	第　16568　号
学位授与年月日	平成13年11月28日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科応用生物工学専攻
学　位　論　文　名	Design of a biopanning process of phage display libraries based on kinetic studies （反応動力学に基づくファージディスプレイライブラリーのバイオパニングプロセスの設計）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　塩谷　捨明 （副査） 教　授　金谷　茂則　　教　授　室岡　義勝　　教　授　原島　　俊 助教授　近藤　明彦（神戸大学）　　教　授　卜部　　格 教　授　福井　希一　　教　授　小林　昭雄　　助教授　岸本　通雅

論　文　内　容　の　要　旨

本研究では、あるターゲットに対して特異的に結合するリガンドを効率良く単離するため、反応動力学モデルによる理論的な解析を行ない、モデルを元に設計した単離条件によって有用なリガンドを実際に単離できることを示し、更に、単離したリガンドの特性を簡便迅速に評価する方法を開発した。本論文は序論、第1章、第2章、第3章、及び総括から構成されている。

序論では本研究の背景をなす知見を概説し、本論文の目的と意義について述べた。即ち、ファージディスプレイシステムを用いてリガンドライブラリーを構築すれば、バイオパニングと呼ばれるアフィニティ選択によって特異的なリガンドを効率良く単離することができる。しかし、バイオパニング法は経験に基づいてその条件が設定されているため、一旦問題が生じると試行錯誤によって解決するしかなかった。そこで、このプロセスを理論的に解析し、問題の原因と対策を考察すると共に、効率の良い実験条件を設計した。

第1章では、バイオパニングのターゲット（抗原）分子の固相上での挙動を考慮した反応動力学モデルを構築し、リボヌクレアーゼA及びこれを認識する抗体を提示するファージを用いてモデルを検証した。モデルに基づくシミュレーションによって、従来のプロトコールでバイオパニングを行った場合に生じる主な問題の原因を定量的に考察し、更にその解決策を具体的に示した。

第2章では、第1章で構築したモデルを拡張し、産業的に有用な抗体の単離を行った。抗原抗体反応は様々な物質の検出及び定量に用いられているが、臨床検査等の産業的な用途においては、その感度だけでなく、迅速性が要求される。即ち、速やかに平衡に達する抗体が適しており、平衡達成に要する時間は主に抗体の会合速度定数に支配される。そこで、第1章で構築したモデルを拡張し、高い会合速度定数を持つ抗体を効率良くライブラリーから単離するための実験条件を理論的に導いた。更に、設計した条件で実際に抗体ライブラリーのバイオパニングを行い、高い会合速度定数を持つ抗体が得られることを実証した。

第3章では、抗体の会合速度定数を迅速簡便に測定する方法について述べた。即ち、抗原抗体反応の経時変化を記述する数式モデルに対して、酵素免疫測定法を用いて測定した抗原抗体反応の経時変化の実験データをカーブフィッティングすることによって、会合速度定数を求める方法を開発した。また、この方法によって測定した会合速度定数は、従来法によって求めた値と良く一致すること、及び、従来法では測定対象とする抗体の精製が必要であるのに対して、本測定法は粗精製の抗体試料にも適用が可能であることを示した。

論文審査の結果の要旨

ファージディスプレイシステムを用いて構築したライブラリーを用いれば、あるターゲットに特異的に結合する抗体等のリガンドを迅速にスクリーニングすることができる。しかし、その実施にはかなりのノウハウが必要であり、これをもたない研究者は問題が生じると試行錯誤による解決を余儀なくされ、研究を断念する場合も少なくない。これに対して本論文では、

(1)スクリーニングのプロセスを記述する数式モデルを構築し、実施にあたって生じる主な問題点の原因を定量的に解析し、その解決策を具体的に示している。

(2)構築したモデルを拡張し、産業上有用な高い会合速度定数を持つ抗体を単離するための条件を理論的に設計し、実験によって実証している。

(3)抗体の会合速度定数を迅速簡便に測定する方法を開発している。

以上のように、本論文は、基礎研究のみならず産業的に有用な、あるターゲットを特異的に認識するリガンドを効率良く単離するための理論を確立し、更にこれを実験によって実証している。本研究の成果は、今後のリガンドの研究及び応用に寄与するところが大きい。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。