OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Comprehensive epitope analysis based on DECODE method
Author(s)	原田, 頌子
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/76617
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　原田　頌子　）	
論文題名	Comprehensive epitope analysis based on DECODE method （DECODE法による包括的エピトープ解析）

論文内容の要旨

抗体は、抗原に対する高い標的特異性と結合能を有するため、基礎研究において免疫染色法、ELISA法、ウェスタンブロット法（WB）に利用されている。さらに、医療においても病理診断における免疫組織染色、インフルエンザ検査や妊娠検査といった臨床検査薬として幅広く活用されている。市販抗体検索サイトであるライフサイエンスデータプロバイダーCiteAbによれば現在400万個以上の市販抗体が存在し、2011年時点における市場規模は16億米ドルである(Baker, 2015)。また近年では抗体医薬品の開発が目覚ましく、1986年に最初の治療用モノクローナル抗体が商品化されて以来、2014年時点で47種類のモノクローナル抗体製品が米国・欧州において治療薬として承認され、2020年には約70種類のモノクローナル抗体の承認が見込まれており、世界全体での市場規模は約1,250億ドルになると予測されている(Ecker, Jones, & Levine, 2015)。

このように基礎研究や医療において、抗体は我々にとって不可欠なツールとなった。しかしながら、市販抗体の性質については十分詳細に検証・提示されることなく販売されており、用いる抗体の最適な使用条件を決定するためには、様々な条件（抗体濃度、バッファー条件（pH、塩濃度）、温度、時間）を検討し、最も特異性の高い条件を決定する必要がある。しかし、多くの実験で多種多様な抗体を使用するため、すべてにおいて最適な条件を探索することは困難であり、実際にはメーカーが提示する情報や先行文献、経験的な知見を基に実験条件の選択を行っている。そのため、抗体を使用した実験結果の再現性・信頼性が低く、研究室や実験者によって実験結果のばらつきが生じており、それにより長い研究期間や多額の研究費を浪費するといった深刻な問題について、多くの研究者が警鐘を鳴らしている(Michel, Wieland and Tsujimoto, 2009; Hattori et al., 2013; Baker, 2015)。さらに、病理診断において各病理研究室間で免疫染色プロトコールの統一化と再現性の確保がなされないことに危機感が高まっている(Köbel et al., 2019)。例えば、新規膵臓癌マーカーの探索を行っていた研究チームが購入したELISA用市販抗体が、記載された標的タンパク質ではなく別のタンパク質に結合しており、研究期間・費用ともに大きな損失が出たという報告がある(Ioannis Prassas et al., 2013)。一方、免疫組織染色では生物試料を分解から保護し、構成成分である核酸やタンパク質を安定化させるためホルマリン固定が行われることが一般的であるが、ホルムアミドによってアミンが不可逆的なメチレン架橋を形成することが報告されており完全な免疫賦活化が難しい(Metz et al., 2004)。よって、同一のタンパク質を標的とする場合でも染色結果が異なる場合があるが、特性評価なしにこの原因追及は困難である。

これまでも、網羅的に抗体の有効性を使用前に評価する重要性が説かれ、WBや組織マイクロアレイなどを駆使した抗体染色の検証が試みられてきた(Berglund, L. et al.,2008; Bordeaux et al., 2010; Egelhofer et al., 2011)) 。ところが、これら既存の手法のスループットでは、検証実験そのものに非常に時間が掛かり、複数の抗体に対して包括的な特性評価を行うことは容易ではない。

上記の問題を解決するために、私は、市販抗体について網羅的かつ詳細に特性の情報を得ることが出来る、ハイスループット抗原特性評価方法を開発した。本手法により、一週間に約100抗体の特性評価を可能にした。本手法を用いて、市販抗体165個（モノクローナル抗体148個、ポリクローナル抗体17個）に対する特性評価に成功した。本研究で得られた抗体特性に関する情報は、これまで経験的に行われてきた抗原抗体反応条件の最適化に、科学的な根拠を提供するものである。このような抗体の詳細な情報がユーザーに提供されるようになることで、研究室間を超えて抗体染色プロトコールが統一化され、実験結果の再現性が向上すると考えられる。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（原田　頌子）		
論文審査担当者	（職）	氏　名
主 査	教授	柳田　敏雄
副 査	招へい教授	上田　泰己
副 査	教授	近藤　滋
副 査	招へい教授	泰地　真弘人
副 査	教授	長澤　丘司

論文審査の結果の要旨

原田頌子氏は博士課程における研究テーマとして、市販抗体について網羅的かつ詳細に特性の情報を得ることが出来る、ハイスループット抗原特性評価方法を開発した。

医療や化学産業において抗体は広く利用されているが、市販抗体の性質については十分詳細に検証・提供されていない。理由は、これまでの手法では特性決定にかかる時間、労力が大きいからである。したがって、最適な抗体の実験条件決定は、経験的な知見に依存していた。このことは、特性決定する簡単かつ迅速な手法を開発できれば、医療及び医学研究に大きく貢献できる事を意味する。

原田氏は、これまでのどの手法よりも100倍程度スループットが向上した、新しい抗原特性評価手法を開発した。本手法は非常に汎用性が高く、博士課程の研究においても、これまでに未知であった抗原特性を決定することに成功した。本研究で得られた抗体特性に関する情報は、これまで経験的に行われてきた抗原抗体反応条件の最適化に、科学的な根拠を提供するものであり、研究データは、この手法が社会実装可能な、極めて有用な技術であることを示している。

以上より、原田頌子氏の研究は、博士授与に値するものと考える。