

博士學位論文

内容の要旨

および

審査の結果の要旨

人間生活学研究科

第 16 号

平成 31 年 3 月

徳島文理大学

はしがき

この冊子は、学位規則(昭 28 年 4 月 1 日 文部省令第 9 号)第 8 条による公表を目的として、本学において博士の学位を授与した者の「論文内容の要旨および論文審査の結果の要旨」を収録したものである。

(学位記番号)

(氏名)

(論文題目)

乙第 7 号

渡 辺 敏 弘

免疫複合体転移法による超高感度酵素免疫測定法の開発とその高感度化機序の解明

氏名	わたなべとしひろ 渡辺敏弘	
本籍	北海道	
学位の種類	博士(学術)	
学位記番号	乙第7号	
学位授与年月日	平成31年 3月15日	
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当	
学位論文の題目	免疫複合体転移法による超高感度酵素免疫測定法の開発と その高感度化機序の解明	
論文審査委員	(主査) 教授 石堂一巳	
	(副査) 教授 坂井隆志	(副査) 教授 橋田誠一

論文の内容要旨

超高感度イムノアッセイ技術として、免疫複合体転移酵素免疫測定法（以下、ICT-EIA）が知られている。ICT-EIAは、通常のイムノアッセイと同様に固相上にサンドイッチ型免疫複合体を形成した後、免疫複合体を固相から切り離し、新たな固相に移し替えるという操作を特徴とする測定法である。

本研究では、ICT-EIAの自動化および実用化を目的として、まず始めに、ICT-EIAによるイムノアッセイの高感度化レベルおよび高感度化メカニズムを明らかにすることを目的とした。サイトカイン3項目のICT-EIAを構築し、同じ試薬を用いたサンドイッチEIA（以下、従来法）との性能比較を行った。ICT-EIAは従来法の約100倍高感度であった。ICT-EIAでは、特異シグナルは従来法の31%程度に減少してしまうものの、非特異シグナルは0.35%まで抑制できており、著明なバックグラウンドシグナルの抑制により高感度化が達成できていることが明らかとなった。

次に、ICT-EIAのさらなる高感度化を目的として、PEGスペーサーを用いた抗体試薬の有用性検証を行った。ICT-EIAに用いる捕捉抗体の作製では、Fab' に比較的大きい分子であるBSAを結合させるが、このことがICT-EIAの特異シグナルを減少させる一因となっている可能性が考えられたため、Fab' とBSAの結合部位にPEGスペーサーを導入した試薬を作製したところ4項目の測定系において特異シグナルが増大し、感度が向上する結果が得られた。

最後に、ICT-EIAの別法について検討した。ICT-EIAの免疫複合体を固相から切り離す反応には、DNPおよび抗DNP抗体による抗原抗体反応が用いられるが、代わりに、ジスルフィド結合の還元反応を用いたICT-EIAを構築したところ、両者の高感度化レベルはほぼ同等であることを確認できた。

一連の研究において、免疫複合体転移法の機序、そして、イムノアッセイの高感度化における非特異シグナル抑制の重要性を明らかにし、実用化に目途を付けることができた。

論文審査結果の要旨

超高感度イムノアッセイ技術として知られている免疫複合体転移酵素免疫測定法（以下、ICT-EIA）の高感度化メカニズムを明らかにするとともに、ICT-EIAの自動化および実用化のためのさらなる高感度のための抗体試薬の有用性検証などの基礎研究が行われている。

論文審査会を兼ねた公開発表会において、パワーポイントを用いた論文発表を行った。目的、方法、結果、考察ともに明確であった。また、質疑応答も良く理解し、十分な対応と返答が行われた。

学位論文においても、目的、方法、結果、考察ともに明瞭に記載されており、この分野における専門分野の学識も十分あることが伺える。また、文献の引用も適切であり、英語論文も明確に作成されており、語学力や関連分野に対する知識も十分と思われる。

雑誌に掲載された英語論文（*J. Immunolog. Method.* 459; 76-80, 2018）も、すでに海外雑誌に引用されており、この論文の評価が高いことを証明している。

以上のことから、博士の学位に値すると判断した。