

**短い疎水性ペプチドタグを付加した Dengue Virus 由来エンベロープタンパク質第 3 ドメイン (ED3) の免疫原性及び物性の解析**

黒田研究室

学籍番号: 15251034

塩飽 祐佳里

**[背景・目的]**

ワクチン開発において、免疫増強剤であるアジュバントが使用されることがあるが、免疫系に悪影響を及ぼし、自己免疫疾患を誘発することが懸念されている。そのためアジュバントなどの添加物を加えずに免疫原性を高めることは重要であると考えられる。

また、タンパク質の会合によっても免疫原性の増加が引き起こされることが報告されている。当研究室では溶解性制御、会合体形成等のため短いペプチド (SCP; Solubility Controlling Peptide) タグが用いられている。3~7 残基のアミノ酸からなるため、タンパク質の機能を変化させることがない。先行研究で 3 型 Dengue Virus 由来 ED3 (D3ED3) に SCP タグを付加した変異体は D3ED3 野生型 (D3wt) と比較して粒子径と免疫原性が増加傾向にあった。

本研究では、SCP タグとしてイソロイシンを 5 残基付加した D3C5I を用い、会合状態と免疫原性を解析した。

**[手法]**

モデルタンパク質 D3ED3 の野生型 D3wt、及び D3ED3 に SCP タグとしてイソロイシン 5 残基を付加した D3C5I を用いた。物性の解析として動的光散乱 (DLS) 測定 (PBS バッファー (pH 7.4))、円偏光二色性 (CD) 測定 (PBS バッファー (pH 7.4)) などを行った。タンパク質濃度はいずれも 0.3 mg/mL で行った。また免疫応答実験として Jcl:ICR マウスに対して 1 週間ごとに 30  $\mu$ g (PBS バッファー (pH 7.4)) ずつ、計 5 回 (Dose①-1~5) 投与した。その後 D3C5I を投与したマウスについては 12 週目まで投与をせず、13, 14 週目に D3wt を投与した (Dose②-1~2)。得られた血清から抗 D3ED3 IgG 量を ELISA 法により測定した。

**[結果・考察]**

DLS 測定の結果、D3C5I が会合体を形成していた (図 1)。これは疎水性 SCP タグに起因した疎水性相互作用によるものと考えられる。また、免疫応答実験において、Dose①から、D3C5I は D3wt と比較して抗 D3ED3 IgG 産生量を約 3 倍に向上させた (図 2)。

Dose②の結果、2 回の投与で IgG 量が Dose①の 4 回目投与ほどにまで上昇した (図 3) ことより、D3C5I は D3ED3 の免疫記憶を誘導したといえる。本研究よりイソロイシン 5 残基を含む SCP タグは、ワクチン開発においてアジュバントなどの添加物を使用しない免疫原性増強法に有効と考えられる。

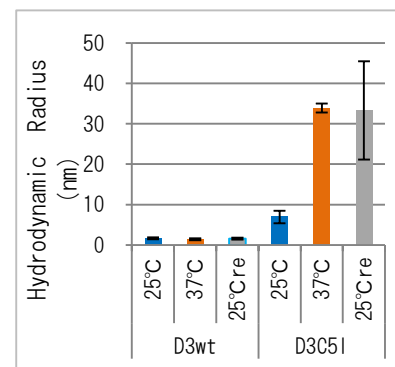


図 1) DLS 測定結果 (25°C-37°C-25°C)

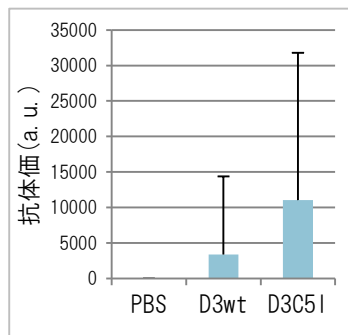


図 2) 免疫応答実験結果 (5 週目 抗 D3ED3 IgG 量)

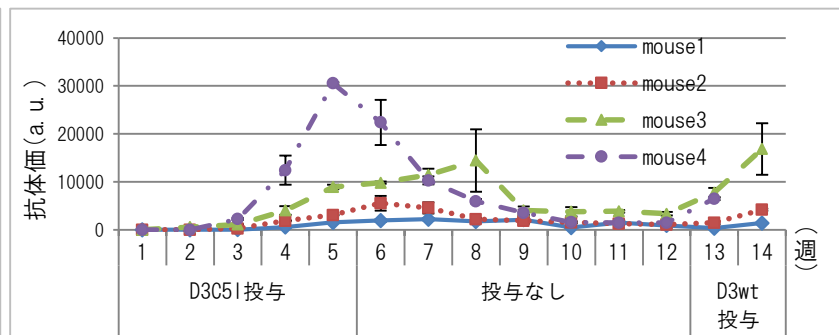


図 3) 免疫応答実験結果 (1~14 週 抗 D3ED3 IgG 量)