

昆虫ウイルスを用いた次世代型外来タンパク質発現系の開発

代表 岩永 将司

所属・職名 農学部・准教授

連絡先 TEL : 028-649-5454 FAX : 028-649-5401 E-mail : iwanaga@cc.utsunomiya-u.ac.jp

メンバー 川崎 秀樹

キーワード 昆虫ウイルス、組換えタンパク質発現、宿主域拡大、バキュロウイルス

背景および目的

昆虫バキュロウイルスを用いた外来タンパク質発現系はBEVS (Baculovirus Expression Vector System) と呼ばれ、ヨトウガを宿主とするAcMNPVとカイコガを宿主とするBmNPVがウイルスとして用いられている。世界的に利用されているのはAcMNPVを用いたBEVSであり、ヒトパピローマウイルスワクチンや前立腺ガンワクチン等が既に上市されている。AcMNPVを用いたBEVSは、開発以来様々な改良が加えられており、大腸菌の人工染色体を用いた組換えウイルスゲノムの作製法や、宿主として用いる培養細胞の無血清培地への順化、ヒト型糖鎖を付与させるための培養細胞の改変等が行われている。しかしながら、AcMNPVを用いた発現系は、宿主となるヨトウガの幼虫個体の飼育が容易でないために、その使用はヨトウガ由来の培養細胞に限られている。一方で、BmNPVの宿主であるカイコガは家畜化されているために幼虫の飼育が容易であり、培養細胞だけでなく幼虫個体を用いた組換えタンパク質の発現が可能である。その効率は実に培養細胞の1000倍程度と言われBmNPVを用いたBEVSの大きなメリットである。しかしながら、BmNPVを用いたBEVSは開発以来殆ど改良を加えられていないのが現状である。そこで本プロジェクトでは、BmNPVを用いたBEVSに関するイノベーションを創成し、次世代型の外来タンパク質発現系を開発する。

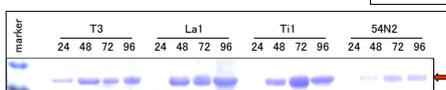
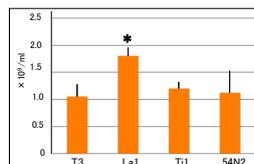
プロジェクトの内容

BmNPVを用いたBEVSを改良するため、本プロジェクトでは以下の3点に関して研究・開発を進める。

①新たなBmNPVウイルス株の解析とベクター化

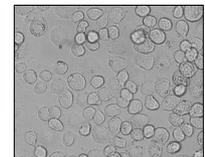
BmNPV-La株は、本学に保管されていたウイルス株の一つであり、従来のBmNPV標準株に比べて顕著なタンパク質の合成能が認められている。そこで、BmNPV-La株の解析を進め、BEVSへ利用するためのウイルスベクターを開発する。

従来のBmNPV標準株T3の約2倍のタンパク質合成能を持つBmNPV-La株を用いた高発現型ベクターの開発



②カイコ由来培養細胞へ混入する植物ウイルス様ウイルスの解析

近年、カイコ由来培養細胞には、ある種の植物ウイルスが混入していることが明らかとなっており、獣医薬タンパク質生産等に関して大きな問題となっている。そこで、この植物ウイルスの混入源や生活環を次世代シーケンサーを用いたRNA-seqによって解明する。



Bm-VF細胞; 特願2008-108370
J. Virol. Methods (2012)

③作製済みAcMNPVの宿主域の拡大

先行するAcMNPVは世界的に利用されており、既に多くの組換えウイルスが構築されている。そこで、作製済みAcMNPVの宿主域をカイコガへと拡大し、幼虫個体を用いた組換えタンパク質の大量発現を可能にさせる為の宿主域拡大ベクターを構築する。



+



作製済みAcMNPVと宿主域拡大ベクターを組み合わせることで、カイコ幼虫個体を用いた発現を可能にさせる。

期待される効果・展開

プロジェクトメンバーらは、既にBmNPVを用いたBEVSの改良のため、植物ウイルス様ウイルスの混入がない培養細胞「BmVF」の樹立や、ロット間の誤差や種々のウイルス混入の恐れのある牛胎児血清の添加を必要としない培養細胞「BmN-SFM」の開発を行ってきた。既に開発したこれらのツールと本プロジェクトの研究成果を組み合わせることで、より安全で、高い発現量を誇る次世代型のBEVS系を開発することが本プロジェクトの目標である。