

2023 年 6 月 15 日
Year/Month/Day

学 位 論 文 の 内 容 の 要 約
Summary of doctoral dissertation content

氏 名 Name	吉末 賢広
学位の種類 Doctoral degree	博士（工学）
学府又は研究科・専攻 Graduate School / Major	大学院工学府 生命工学専攻
指導を受けた大学 University	東京農工大学
学位論文題目 Thesis title	大腸菌にて作製した低分子量タンパク質ドメインを用いたワクチンシーズ開発及びモノクローナル抗体の確立～新型コロナウイルス・スパイクタンパク質受容体結合ドメイン（RBD）を例に用いた実証研究～ A Novel Method for Developing Vaccine Seeds and Monoclonal Antibodies Using Viral Protein Domains Produced in E. coli - A Feasability Study Using the SARS-CoV-2 Spike Protein Receptor Binding Domain (RBD)

【論文の内容の要約】 [Summary of the contents of the doctoral dissertation]

本論では、まず序論として大腸菌発現系と新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）の基本情報と背景及び目的を説明している。SARS-CoV-2 は 2019 年に発見されてから瞬く間に全世界に蔓延した。現在、パンデミックは沈静化しているものの、パンデミックに備えて迅速かつ安価に生産可能なワクチンが必要と考えられたことから、これらを解決できると考えられる大腸菌発現系を用いてワクチンシーズ開発とモノクローナル抗体の単離を行い、大腸菌発現系の有用性を実証した。

2 章では SARS-CoV-2 の Receptor binding domain (RBD)を大腸菌発現系にて作製し、バキュロウイルス発現系にて作製された RBD の立体構造と比較した。さらに、マウスにて RBD の免疫原性を検証した。そして、マウスから得た血清の中和活性を SARS-CoV-2-偽ウイルスと Vero E6/TMPRSS2 細胞を用いた感染中和試験で検証した。これらの検証の結果、大腸菌産生 RBD は二次構造の点で天然構造に近い構造を持つこと、マウスにて免疫原性を有すること、マウスから得られた血清は偽ウイルスに対して中和活性を有することが示された。

3 章では大腸菌発現系にて作製した RBD と哺乳類細胞（HEK293）にて作製されたスパ

イクタンパク質の免疫原性の比較とこれらを交互に投与することによる相乗効果をマウスで検証した。これらの結果、RBD とスパイクタンパク質を交互に投与した群は非常に高い中和活性を示した。この相乗効果は糖鎖修飾によるものなのか、構造によるものなのかはまだ議論の余地があるが、ワクチンの有効性を簡単に高めるため簡便な戦略になる可能性がある。

4 章では大腸菌発現系にて作製した RBD-C9R を投与したマウスからモノクローナル抗体を確立し、哺乳類発現系にて作製されたスパイクタンパク質に対する結合親和力を測定した。これらの結果、モノクローナル抗体はスパイクタンパク質と RBD のどちらにも結合し、非常に高い結合親和力を持つことが分かった。

最後に 5 章では本論の結論を述べた。我々は SARS-CoV-2 の RBD をモデルにして大腸菌を用いて作製した低分子量タンパク質ドメインのワクチンとしての有用性とモノクローナル抗体の確立のための抗原としての有用性を検証した。大腸菌発現系は組換えタンパク質の発現系として迅速かつ安価な手法であるが、ジスルフィド結合を有するタンパク質の発現などには不向きと考えられていた。しかし、我々は適切な方法にて立体構造を持たせることにより、大腸菌発現系がワクチン開発や中和抗体薬を開発する際に、有用な系として利用できる可能性を示した。また、本論にて標的にした SARS-CoV-2 はあくまで大腸菌発現系の有用性を検証するためのモデルであり、高いポテンシャルを持つ大腸菌発現系は SARS-CoV-2 以外の多くのウイルスやバクテリアなどへの応用が期待される。