

一過的タンパク質発現システムを用いたスギ花粉アレルゲンの収量向上に関する研究

三谷 郁佳（筑波大学 生物学類） 指導教員：三浦 謙治（筑波大学 生命環境系）

【背景・目的】

スギ花粉症は現在日本の人口全体の約 4 分の 1 が罹患するアレルギー疾患である。花粉症の治療には症状を一時的に抑制する「対症療法」、アレルゲンに対する過敏な反応を減らす「免疫療法」の 2 つのアプローチがあるが、後者では、アレルゲンエキスを舌下から投与する舌下免疫療法が、患者への負担も少なく、根治治療が期待できる治療法として注目されている。ただ、舌下免疫療法の治療で用いるアレルゲンエキスを調製するためには莫大な量の花粉が必要になるため、治療の普及のためには、より効率的な方法によって花粉アレルゲンを大量調製することが求められる。先行研究ですでに様々な微生物や植物を利用したアレルゲンの生産が行われてきたが、収量が上がらない、コストがかかる、発現したアレルゲンが患者の抗体に対し有効性を持たないなどとさまざまな理由であまり望ましい結果が得られていない。

そこで、今回研究に利用するのは、ベンサミアナタバコを用いた一過的タンパク質発現系「つくばシステム」である。まず、植物を宿主としてタンパク質を生産する利点として、植物由来の糖鎖がつくことでより天然に近いアレルゲンを作製できる点である。また、ベンサミアナタバコは、元来、病原菌の少ない乾燥地域由来の植物で、エネルギーの大半を成長、生殖に集中させ、植物免疫システムを喪失させた植物であり、栽培が簡単である。そのため、アグロバクテリウムなどの病原菌が感染しやすいという特徴がある。また、アグロインフィルトレーションとよばれる方法を用いることで、アグロバクテリウムに感染してから 3～7 日でタンパク質を生産できる。「つくばシステム」は、低コストの反面十分な収量が得られないとされてきた植物を用いたタンパク質生産系において、ベンサミアナタバコ新鮮重量 1 g あたり約 4 mg と、大腸菌などの異種タンパク質発現系に匹敵するレベルまで収量を上げることが可能なタンパク質高生産システムである。このシステムでは、ベクターにジェミニウイルス由来のローリングサークル型複製システムとダブルターミネーターを導入することで、タンパク質を一過的に大量発現することが可能となっている。

本研究では「つくばシステム」を用いて、花粉症治療に向けたスギ花粉アレルゲンの大量発現系におけるさらなる収量向上を試みる。

【方法】

1. アグロバクテリウムの準備

大腸菌プラスミドの制限酵素処理により、目的タンパク質をコードする遺伝子を導入し、ベクターを作製した。このベクターを用いてアグロバクテリウムに形質転換を行った。

2. タバコへのインフィルトレーション

ベンサミアナタバコに、バキュームを用いてアグロバクテリウムを浸漬させた。

【結果と考察】

詳細は発表会にて報告する。