

平成16年度卒業論文

コレラ毒素とスギ花粉症アレルゲン
の融合タンパク質遺伝子の作成と発現

Construction and expression of the gene coding a fusion protein
of cholera toxin and cedar pollen allergen

高知工科大学

物質・環境システム工学科

1050076 別府 祐二郎

指導教員 榎本恵一

要約

本研究では、コレラ毒素 B サブユニット (CTB) にスギ花粉症アレルゲンの一つである Cry j2 タンパク質から選択した7つのエピトープの情報を持つ合成遺伝子を連結した融合タンパク質遺伝子の発現を行った。融合タンパク質遺伝子をクローニング用ベクター (pUC18) に組み込み、目的の遺伝子の量を大腸菌内で増やした後、pUC18 を抽出し、制限酵素処理で融合タンパク質遺伝子を回収した。その後、制限酵素による切断部位を利用して、融合タンパク質遺伝子を発現用ベクター (pET28a) に組み込み、大腸菌内で融合タンパク質の発現を行った。pET28a でのタンパク質の発現は、lac オペレーターにより制御されているため、ラクトース誘導体である IPTG (isopropyl 1-thio- β -D-galactoside) を菌液に加え、タンパク質発現の誘導を行った。その結果、SDS-PAGE (SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動) により、約 26kDa のタンパク質の発現を確認した。さらに、ウエスタンブロット イングで発現タンパク質が抗コレラ毒素抗体と抗 Cry j2 抗体の両方と抗原抗体反応を起こすことを確認した。これらの結果から、コレラ毒素 B サブユニットと Cry j2 エピトープが連結した融合タンパク質が発現したと考えられる。