

「枯草菌表面に提示される抗原タンパク質の遺伝子の作製」

Antigen protein gene for the surface display in *Bacillus subtilis*

【背景・目的】抗原タンパク質が細菌の表面にあると、抗原タンパク質単独と比べて免疫作用が強いことが知られている。これは、細菌の成分が免疫増強作用を持つためと考えられている。抗原タンパク質を細菌の表面に提示するには、表面に局在するタンパク質との融合タンパク質として発現させる必要がある。融合相手の候補としては、cotB（芽胞表面の局在タンパク質）や pgsA（細菌表面のポリグルタミン酸合成酵素）などが考えられる。本研究では、pgsA を用いて枯草菌表面への抗原タンパク質の発現を目的とするプラスミドを作製した。

【方法・結果】モデルワクチンの抗原の遺伝子として、マウス T 免疫細胞によって認識される卵白アルブミンエピトープの遺伝子 (*ova*) を使用した。このエピトープ（抗原決定基）を安定化させ、その発現を確認するために、コレラ毒素 B サブユニット遺伝子 (*ctb*) と結合させた。次に、枯草菌表面に提示されるタンパク質の遺伝子 (*pgsA*) と結合させた。また、表面に提示された融合抗原タンパク質 (CTB-OVA) を回収するため、*pgsA* と *ctb-ova* の間に、特異的なプロテアーゼである thrombin で切断される配列を付加し、切断されたペプチド (CTB-OVA) をアフィニティカラムで回収するために、C 末端側に His タグを付加した。さらに、N 末端側には、*pgsA-ctb-ova* 融合遺伝子を発現させるための *mwp* プロモーターを挿入した。これらを、大腸菌と枯草菌のシャトルベクターである pHY300PLK に挿入し、pHY300-mwp-pgsA-ctb-ova-his 組換えプラスミドを作製した。