

【背景・目的】 感染症による死亡者数は年間 1000 万人以上にのぼり、その内の 90%以上は発展途上国の  
人である。こうした被害の拡大を抑えるため、予防ワクチンは不可欠である。しかし、発展途上国では冷  
蔵庫や注射器の不足等の問題によりワクチンが普及していないのが現状である。そこで、注射器を使用せ  
ず、なおかつ安全とされている経口食物ワクチンの開発が進められている。

本研究では抗原タンパク質を枯草菌(*B. subtilis*)で発現させ経口ワクチンとして用いることを目的とし  
た実験を行った。抗原タンパク質が細菌の内部でなくその表面に提示されると、免疫細胞に認識されやす  
く、菌体成分の効果により免疫が増強されるなどの利点がある。そのため抗原タンパク質の菌体表面提示  
のための抗原融合タンパク質の設計及び枯草菌での発現を行った。

【実験方法・結果】 マウスT免疫細胞により認識される卵白アルブミン抗原と、この抗原を安定化させ、  
その発現を確認するためのコレラ毒素Bサブユニットとの融合タンパク質遺伝子(*ctb-ova*)を設計した。さ  
らにこの抗原融合タンパク質を表面提示するため、枯草菌胞子の表層に局在する孢子コートタンパク質  
(CotB)との融合タンパク質遺伝子(*cotB-ctb-ova*)を設計した。表面に提示された抗原の回収のため、抗原  
融合タンパク質とcotBの間に特異的プロテアーゼ切断配列(thrombin)をいれ、切断された抗原ペプチド回  
収のためヒスチジンタグ(his)をC末端に付加した。プロモーターには複数のプロモーターの複合体である  
mwpを用いた。

このように設計した*mwp-cotB-thrombin-ctb-ova-his*融合遺伝子を、PCRを用いて作製した。次に、大腸  
菌と枯草菌のシャトルベクターであるpHY300PLKへ挿入し、pHY300-mwp-cotB-t-ctb-ova-his組み換えプ  
ラスミドを作製し、大腸菌(*E. coli*)で発現させプラスミドの確認を行った。この組み換えプラスミドを枯  
草菌へ導入し、融合タンパク質を発現させ、CTB に対する抗体を用いたwestern blotting 法により  
CotB-T-CTB-OVA-His融合タンパク質の発現を確認した。