

卒業論文要旨

スギ花粉アレルゲンタンパク質の T 細胞エпитープをコードする

1150208 越智 尊史

組換え DNA による乳酸菌 *Lactococcus lactis* の形質転換

Takafumi Ochi

Transformation of *Lactococcus lactis* with a recombinant DNA

encoding T cell epitopes of allergic proteins of Japanese cedar pollen

スギ花粉症の治療法として、患者に花粉アレルゲンタンパク質を投与し免疫寛容を誘導する減感作療法がある。本研究室では、花粉アレルゲンタンパク質に含まれる、免疫寛容に必要な T 細胞エпитープを含む融合遺伝子を作成し、大腸菌で発現することに成功した。この遺伝子を乳酸菌内で発現させて花粉症の経口ワクチンとすることを想定し、大腸菌と乳酸菌の両方に対応したシャトルベクターに融合遺伝子を組み込み、乳酸菌の形質転換を行った。

まず、PCR により、大腸菌での発現ベクター DNA を鋳型として融合遺伝子を増幅した。それぞれ制限酵素処理した融合遺伝子とシャトルベクター pNZ8148 をライゲーション反応により結合させ、エレクトロポレーションによって大腸菌 MC1061 に導入した。形質転換された大腸菌クローンのコロニー PCR とアガロースゲル電気泳動によって、融合遺伝子の存在を確認した。さらに、大腸菌クローンからベクターを抽出し、DNA シーケンス解析により融合遺伝子がベクターに正確に組み込まれていることを確認した。抽出したベクターをエレクトロポレーションで乳酸菌 *Lactococcus lactis* に導入し、形質転換された乳酸菌を得ることが出来た。