

デングウイルスエンベロープタンパク質第3ドメインのアミノ酸置換による免疫原性の評価

黒田研究室

学籍番号:22261027

北川陽菜

[背景] デングウイルスは熱帯・亜熱帯地域を中心に甚大な健康被害をもたらしている。本ウイルスには4つの血清型 (D1, D2, D3, D4) が存在するが、既存のワクチン開発においては、抗体依存性感染増強 (ADE) のリスクが実用化の大きな障壁となっている。したがって、ADEを回避するためには、異なる血清型に対しても交差中和能を有する抗体を誘導できるワクチンが求められる。先行研究において、デングウイルスエンベロープタンパク質第3ドメイン (ED3) の3型 (D3ED3) および4型 (D4ED3) 間でエピトープ領域1(305-311 残基)全てを置換した結果、交差反応性を示した。そこで本研究では、D3ED3、D4ED3 両血清型のエピトープ領域1内でアミノ酸が異なり、かつ電荷が異なる305番残基 (Lys/Asp) または溶媒露出表面積 (ASA) の大きい309番残基 (Ser/Ala) に着目した。それぞれアミノ酸置換した変異体を作製し、1残基の置換が交差反応性に及ぼす影響を評価した。

[手法] D3ED3 および D4ED3 のエピトープ1領域において、305番または309番残基を他方の血清型の配列に置換した変異体 (D3K305D, D3S309A, D4D305K, D4A309S) を作製・精製した。RP-HPLCによる分取後、MALDI-TOF MSを用いて分子量を同定した。さらに、動的光散乱 (DLS)、静的光散乱 (SLS)、円偏光二色性 (CD)、およびトリプトファン蛍光測定により、各タンパク質の粒子径と二次構造、三次構造を評価した。続いて、BALB/cAJcl マウスに対し、野生型または変異体タンパク質 (30 µg/匹) を2週間間隔で計3回投与し、各週の採血から得た血清を用いて、間接 ELISA 法により抗 D3ED3 および抗 D4ED3 IgG 抗体価を算出した。

[結果・考察] 物性測定の結果、それぞれの変異体での粒子径、二次構造および三次構造に大きな変化はみられなかった。D3ED3 に対する抗体応答については、D3ED3 野生型投与群が最も高い抗体価を示した。一方、305番または309番残基の変異体を投与した群では、D3ED3 および D4ED3 由来のいずれにおいても明確な交差反応性や抗体価の上昇は認められなかった (図1)。これに対し、抗 D4ED3 の応答では、交差反応性は認められなかったものの、305番残基変異体である D4D305K 投与群において、D4ED3 野生型投与群よりも有意に高い抗体価が誘導された (図2)。以上の結果から、エピトープ領域1内の単一アミノ酸置換のみでは交差反応性を獲得するには不十分であることが示された。しかし、D4ED3 において305番残基を Asp から Lys へ置換 (D4D305K) することにより免疫原性が向上することが明らかとなり、組換えタンパク質ワクチンの設計において有用な知見となる可能性が示唆された。

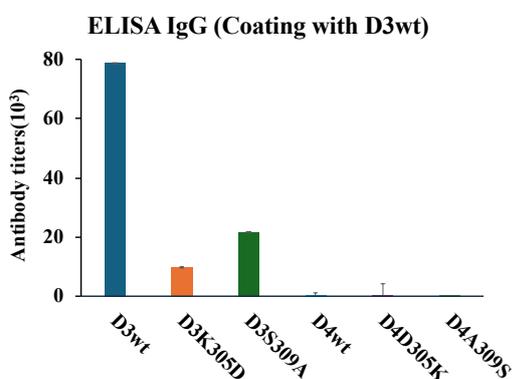


図1: 抗 D3ED3 抗体価の比較

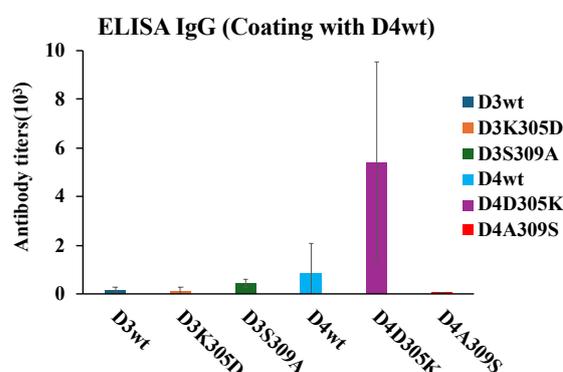


図2: 抗 D4ED3 抗体価の比較