

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	分子シャペロンを利用した分泌型 IgA 高発現植物の創出				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	中西 勝宏
	研究分担者	所属・職名	薬学部・講師	氏名	黒羽子 孝太
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	中西 勝宏

講演題目	分子シャペロンを利用した組換え型 IgA 高発現法の検討
------	------------------------------

研究の目的、成果及び今後の展望	<p>粘膜組織で感染防御に働く分泌型 IgA 抗体は、単量体 IgA 二分子が J 鎖を介して結合した二量体 IgA に更に分泌片 (SC) が結合したタンパク質複合体であり、SC の存在によって消化酵素に耐性となり消化管内で有効に働くことができる。粘膜組織を介して感染する病原体に特異的な分泌型 IgA を作製できれば、経口投与可能な抗体医薬品としての応用が期待できる。当研究室ではこれまでに、赤痢菌や O157:H7 に代表される腸管出血性大腸菌が産生する毒素である志賀毒素 (Shiga toxin1, Stx1) に特異的な IgG モノクローナル抗体 (D11C6) および IgA モノクローナル抗体 (G2G7) を獲得している。また、獲得した D11C6 の Fab 領域と IgA の Fc 領域を融合させたハイブリッド IgA 抗体の遺伝子を作製し、哺乳類細胞や植物での発現に成功している。しかし、分泌型 IgA の前駆タンパク質である二量体 IgA の生産の際、哺乳類細胞と植物のどちらの発現媒体を用いた場合においても、一定の割合で J 鎖と結合していない単量体 IgA が存在しており、IgA と J 鎖の結合率を向上させることで更なる分泌型 IgA の産生量の増加が期待できた。分泌型 IgA の感染症治療薬への応用を目指して、本研究では、分泌型 IgA 構築の律速段階となる IgA と J 鎖の結合の効率の向上を目的に、IgA と J 鎖の結合を介添えする分子シャペロンである marginal zone B and B-1 cell-specific protein (MZB1) を用いた二量体 IgA の発現量の増加を、哺乳類細胞と植物の 2 つの発現媒体で試みた。</p> <p>IgA 抗体を発現するマウス由来ハイブリドーマから獲得した MZB1 の cDNA を、二量体 IgA を発現する哺乳類細胞もしくは組換え植物体へ一過的に導入した。各発現媒体から得られた IgA を SDS-PAGE にて分離し、イムノブロット法にてサンプル中の二量体 IgA と単量体 IgA の比率を比較することで二量体 IgA の構築効率を比較解析した。一過性発現系ではどちらの発現媒体においても、MZB1 遺伝子の導入前後で約 250 kDa の分子量の二量体 IgA と 160 kDa の単量体 IgA のシグナル強度の比率に変化は見られなかった。一方で、二量体 IgA を発現する哺乳類細胞株へ MZB1 遺伝子を導入し、MZB1 の安定発現株を作製したところ、二量体 IgA/単量体 IgA 比および IgA 発現量の増加が見られた。二量体 IgA は単量体 IgA と比較してプロテアソームによる分解を受けにくく、細胞内で安定であることから、二量体 IgA の構築効率が向上し、IgA がより安定化したことが IgA 発現量の増加にもつながったと考えられる。植物発現系においても同様に、MZB1 を安定発現する植物を作出することで IgA 生産量の増加できることが示唆された。</p>
-----------------	--