

## 2P-065 新規シリカ結合タグの開発と鹿児島県産シリカ含有鉱物「シラス」を担体とした低コストアフィニティー精製法への応用

○池田 丈, Abdelhamid Mohamed A.A., 本村 圭, 廣田 隆一, 黒田 章夫  
(広島大院・先端物質)  
ikedatakeshi@hiroshima-u.ac.jp

**【背景・目的】** これまでに当研究室では、胞子表面にシリカを蓄積する *Bacillus cereus* のシリカ蓄積メカニズムの解析を行い、胞子殻タンパク質 CotB1 がシリカの蓄積に関与することを明らかにした(第65回日本生物工学会大会トビックス)。さらに、CotB1のC末端に存在する14残基の塩基性領域がシリカに結合することを発見し、目的とするタンパク質にシリカ結合能を付与するタグ配列として利用できることを明らかにした。本研究では、このタグ配列の小型化を試みるとともに、シリカとの親和性を利用することで、安価なシリカ粒子を担体としたアフィニティー精製法の開発を行った。また、さらなる低コスト化を目指して、天然のシリカ含有鉱物を精製用担体として利用することを試みた。**【方法・結果】** シリカ結合能を維持したまま、シリカ結合タグのサイズを7残基まで縮めることに成功した。さらに、このタグがアルギニン溶液中でシリカより解離することを見出し、シリカ粒子を担体としたアフィニティー精製法を確立した(特願2014-215789)。天然のシリカ含有鉱物である鹿児島県産の「シラス」を担体とした場合も高純度・高収率で目的タンパク質を精製することに成功しており、その成果を報告する。なお、本手法で目的タンパク質の溶出に用いるアルギニンにはタンパク質の凝集を防ぎ、安定化させるという利点もある。

### Low-cost affinity purification method using a small silica-binding peptide and natural silica-containing mineral powder *Shirasu*, which is widely distributed among southern Kyushu

○Takeshi Ikeda, Mohamed A.A. Abdelhamid, Kei Motomura, Ryuichi Hirota, Akio Kuroda  
(Grad. Sch. Adv. Sci. Mat., Hiroshima Univ.)

**Key words** affinity purification, arginine, biomineralization, silica-binding peptide

## 2P-066 ダニアレルギーの次世代型分子診断実現に向けた基盤技術の開発

○住田 絃之介<sup>1</sup>, 小田 泰裕<sup>1</sup>, Kareem Gamal El-Ramlawy<sup>1</sup>, 田中 明彦<sup>2</sup>, 林 鷹治<sup>3</sup>, 秋 庸裕<sup>1</sup>, 小 埜 和久<sup>1,4</sup>, 河本 正次<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>広島大院・先端物質, <sup>2</sup>昭和大学・医, <sup>3</sup>たかの橋中央病院, <sup>4</sup>広島工大・生命)  
skawa@hiroshima-u.ac.jp

**【目的】** これまでに24種のダニアレルゲンが同定されているが、その診断及び治療技術開発への応用については必ずしも進展しているとはいえない現状にある。本研究では、組換えダニ主要アレルゲンの網羅的発現生産を試みると共に、これを用いて検体ごとに異なる感作アレルゲンを分子種レベルで特定する次世代型アレルギー診断技術の開発へと応用することを目的とした。

**【方法及び結果】** 20種類のダニ主要抗原(Der f1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 20, 21, 22)及び我々が同定した新規ダニ主要抗原(Mag133, DFA22, DFA67)の計23種類のアレルゲンcDNAを大腸菌コールドショック発現系に供して、全ての組換えアレルゲンを可溶性タンパク質として生産することに成功した。これら分子種に対するダニアレルギー患者IgEの反応性をイムノプロット法にて確認したところ、そのIgE反応スペクトラムは検体ごとに異なっていることが判明した。この結果から、本組換えダニアレルゲンライブラリーを用いて患者ごとに異なる原因アレルゲンを分子種レベルで特定できる可能性が強く示唆された。現在、本診断技術により得られる感作アレルゲン情報と臨床パラメーターとの相関の有無についても解析しており、合わせて報告する。

### Development of the next-generation molecular diagnosis for house dust mite allergy

○Gennosuke Sumida<sup>1</sup>, Yasuhiro Ota<sup>1</sup>, Kareem Gamal El-Ramlawy<sup>1</sup>, Akihiko Tanaka<sup>2</sup>, Takaharu Hayashi<sup>3</sup>, Tsunehiro Aki<sup>1</sup>, Kazuhisa Ono<sup>1,4</sup>, Seiji Kawamoto<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Grad. Sch. Adv. Sci. Mat., Hiroshima Univ., <sup>2</sup>Showa Univ. Med. Sch., <sup>3</sup>Takanobashi Central Hosp., <sup>4</sup>Fac. Life Sci., Hiroshima Inst. Technol.)

**Key words** house dust mite, allergen

## 2P-067 S-カチオン化全長・水溶性抗原を用いた高感度抗体技術による腫瘍免疫応答の定量評価

○二見 淳一郎<sup>1</sup>, 野々村 英典<sup>1</sup>, 木戸 桃子<sup>1</sup>, 新土居 奈緒美<sup>1</sup>, 藤枝 奈緒<sup>2,3</sup>, 細井 亮宏<sup>2,3</sup>, 藤田 佳那<sup>1</sup>, 万袋 木麻子<sup>1</sup>, 愛宕 祐基<sup>1</sup>, 木下 理恵<sup>1</sup>, 本荘 知子<sup>1</sup>, 松下 博一<sup>3</sup>, 上中 明子<sup>4</sup>, 中山 睿一<sup>4</sup>, 垣見 和宏<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>岡山大院・自科, <sup>2</sup>メディネット, <sup>3</sup>東大病院・免疫細胞, <sup>4</sup>川崎医療福祉大)  
futamij@okayama-u.ac.jp

進行性のがん組織内では、がん細胞が免疫からの逃避機構を獲得しているが、免疫抑制状態を解除する免疫チェックポイント阻害剤の登場で、がん免疫治療への期待が高まっている。免疫系ががん細胞の目印としているがん抗原は、腫瘍免疫応答の活性化に伴ってがん抗原に対する抗体も血清中に増加するため、腫瘍免疫活性を反映するバイオマーカーとして有望である。しかしこのがん抗原は多種多様で、がんと精巣に局限した発現を示すCancer-Testis(CT)抗原だけでも150種類以上ある。また、がん抗原の大半は不安定な物性の細胞内タンパク質で取り扱いには工夫が必要である。我々は多種多様な全長がん抗原を組み換えタンパク質として生産し、Cys残基に対して正電荷を導入するS-カチオン化法の活用で、保存安定性に優れた高純度・水溶性全長がん抗原が網羅的に調製できることを確認した。さらに、これらの抗原をMulti-Plexビーズに固定化することで、ごく微量の患者由来血清から多種類の抗体価の定量的な測定に成功した。本発表では本技術の概要と、がん免疫治療を改善するコンパニオン診断薬としての展望についてご紹介したい。

### Sensitive analysis of anti-cancer immune responses by chemically S-cationized full-length and water-soluble cancer antigens

○Junichiro Futami<sup>1</sup>, Hidenori Nonomura<sup>1</sup>, Momoko Kido<sup>1</sup>, Naomi Niido<sup>1</sup>, Nao Fujieda<sup>2,3</sup>, Akihiro Hosoi<sup>2,3</sup>, Kana Fujita<sup>1</sup>, Komako Mandai<sup>1</sup>, Yuki Atago<sup>1</sup>, Rie Kinoshita<sup>1</sup>, Tomoko Honjo<sup>1</sup>, Hirokazu Matsushita<sup>3</sup>, Akiko Uenaka<sup>4</sup>, Eiichi Nakayama<sup>4</sup>, Kazuhiro Kakimi<sup>3</sup>  
(<sup>1</sup>Grad. Sch. Nat. Sci. Technol., Okayama Univ., <sup>2</sup>Medinet Co. Ltd., <sup>3</sup>Dept. Immunother., Tokyo Univ. Hospi., <sup>4</sup>Kawasaki Univ. Med. Welf.)

**Key words** protein engineering

## 2P-068 ウイルス増殖に関与するセンダイウイルス C タンパク質の分子基盤解明

○小田 康祐<sup>1</sup>, 大竹 里奈<sup>2</sup>, 嶋 康幸<sup>1</sup>, 入江 崇<sup>1</sup>, 坂口 剛正<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>広島大院・医歯薬保健学, <sup>2</sup>広大・医)  
kosuke-81@hiroshima-u.ac.jp

レスピロウイルス属センダイウイルス(SeV)は、マウスに感染すると呼吸器疾患を引き起こすエンベロープウイルスである。SeVは、病原因子のひとつとして、P遺伝子領域からPとは異なるフレームを用いて、Cタンパク質を生産する。Cタンパク質は、ウイルス感染環の複数のステップで機能的に働き、ウイルス病原性の発現に密接に関与する。例えば、Cタンパク質は、宿主因子Alixと結合し、これを原形質膜へリクルートすることで、Mタンパク質が関与するウイルス様粒子の出芽効率を改善させる。他方、Cタンパク質は、宿主転写因子STAT1と結合し、ウイルス感染により産生されるインターフェロン(IFN)-alpha/betaおよびIFN-gammaによるシグナル伝達を阻害する。これにより、感染初期の生体防御機構である自然免疫が抑制される。実際のウイルス感染環において、Cタンパク質がもつこれらの機能が、ウイルス病原性に如何に関与しているのかは明らかにされていない。我々はこれまでに、X線結晶構造解析より、Cタンパク質の構造を明らかにした。その成果として、AlixおよびSTAT1との結合に重要なアミノ酸残基を同定した。さらに、Pタンパク質のアミノ酸配列を変えずに、AlixおよびSTAT1と結合しないCタンパク質変異体を作製することに成功した。今後は、これらの変異体をもつ組換えウイルスを作製し、Cタンパク質がもつ機能と病原性の関連性を解析していく予定である。得られた成果は、Cタンパク質を抗ウイルス薬のターゲットとして利用し、SeVに近縁の人畜感染ウイルスの治療戦略に役立てる。

### Molecular mechanism of Sendai virus C protein to propagate the virus during the infection

○Kosuke Oda<sup>1</sup>, Rina Ootake<sup>2</sup>, Yasuyuki Matoba<sup>1</sup>, Takashi Irie<sup>1</sup>, Takemasa Sakaguchi<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Grad. Sch. Biomed. Sci., Hiroshima Univ., <sup>2</sup>Sch. Med., Hiroshima Univ.)

**Key words** X-ray crystallography, virus, pathogenicity