

令和2年度“オール近大”新型コロナウイルス感染症 対策支援プロジェクト研究報告書

企画題目	新型コロナウイルスに対する集団免疫を付与する経口ワクチンイネの開発
研究者所属・氏名	研究代表者：川崎 努 共同研究者：山口 公志

1. 研究、開発・改良、提案目的・内容

新型コロナウイルスを克服するために、世界の人々が集団免疫を獲得する必要がある。すでに、有効なワクチンが開発されたが、実際のワクチン接種は先進国を中心としたものであり、アフリカなど貧困地域へのワクチン供給については、不透明な部分が多い。そのため、集団免疫を付与するワクチンを、安価な方法により供給できる技術の開発が必要である。

2. 研究、開発・改良、提案経過及び成果

新型コロナウイルスのワクチンを、イネなどの植物で生成できれば、その種子をアフリカなどの貧困地域に供給し、その植物を経口摂取することで免疫を獲得することが可能になる。そこで、ワクチンを発現する植物を作出する技術の開発を行った。

1) ワクチンのための遺伝子のデザイン

新型コロナウイルスの DNA 配列を使用した場合、遺伝子組換え生物等の拡散防止措置の大臣確認実験となるため、センザンコウ由来のコロナウイルスの遺伝子配列を使って研究を行った。コロナウイルスがもつスパイクタンパク質の受容体結合ドメイン(RBD)は、ワクチンための抗原として有効であり、実際、現在開発されている多くのワクチンにおいて使用されている。センザンコウの RBD ドメインは、新型コロナウイルスの RBD ドメインと 96%の相同を示すため、植物で RBD を発現できるかを検証する上では、十分に有効であると考えられる。そこで、223 アミノ酸からなる RBD タンパク質を植物で発現させるため、アミノ酸配列は同一で、コドンを植物用に変換した DNA 配列をデザインし、DNA 合成を行い、目的とする DNA 断片を得た。

2) ワクチンを発現させるための遺伝子コンストラクトの作製

植物に発現させるためのプロモーターとして、高発現プロモーターである CaMV35S プロモーターを使用した。RBD の N 末端側あるいは C 末端側に、GFP や Myc エピトープタグ、HA エピトープタグを付加した合計 8 種類の遺伝子コンストラクトを作製した。

3) 植物細胞におけるワクチンの発現

上記で作成したコンストラクトを、アグロバクテリウムに導入し、それをタバコ葉にインフィルトレーションすることで、タバコ葉で発現させた。タバコ葉からタンパク質を抽出し、抗 GFP 抗体、抗 HA 抗体、抗 Myc 抗体を用いてイムノブロット解析を行ったところ、目的とする RBD タンパク質を確認することができた。さらに、モデル植物であるシロイヌナズナの植物体からプロトプラストを調製し、PEG 法を用いて、RBD 発現コンストラクトを植物細胞内に導入した。得られた細胞からタンパク質を抽出し、上記の抗体を用いてイムノブロット解析を行った。その結果、シロイヌナズナにおいても、目的とするタンパク質を確認することができた。

4) 新型コロナウイルスに対する抗体を用いた解析

市販されている新型コロナウイルスの RBD に対する抗体を購入し、植物で発現させたタンパク質を用いてイムノブロット解析を行ったところ、植物で発現させた RBD タンパク質は、新型コロナウイルスの抗体と相互作用することが分かった。このことから、植物で発現させた RBD タンパク質も、ワクチンとして有効であると考えられた。

5) ワクチンを発現する植物の開発

植物細胞において、目的とする RBD が発現することが確認できたため、作製した遺伝子コンストラクトを用いて、形質転換植物の作製を進めている。

3. 本研究と関連した今後の研究、開発・改良、提案計画

上記のように、植物細胞において、RBD タンパク質を発現させることに成功したため、現在、RBD タンパク質を発現する植物の開発を進めている。今後、得られた植物体を用いて、RBD タンパク質を安定的に発現できるかどうかを検討する予定である。

また、世界中で、様々なタイプの新型コロナウイルスのワクチンが開発され、筋肉注射によりワクチン接種が行われているが、植物で発現させたワクチンの経口摂取が有効であることが期待されるのであれば、変異型の新型コロナウイルスの RBD 配列を用いた取組みが必要になる。

4. 研究成果の発表等

発表機関名	種類(著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)
近畿大学	農学部紀要	本年度投稿予定

5. 開発・改良、提案課題の成果発表等

--