

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	タンパク質分子針由来サブユニットワクチンの分子設計
Title(English)	Molecular design of protein needle-based subunit vaccines
著者(和文)	Nguyen Dan Que
Author(English)	Dan Que Nguyen
出典(和文)	学位:博士(学術), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12157号, 授与年月日:2021年12月31日, 学位の種別:課程博士, 審査員:上野 隆史,上田 宏,金原 数,小島 英理,丸山 厚
Citation(English)	Degree:Doctor (Academic), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12157号, Conferred date:2021/12/31, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	Nguyen Dan Que	
論文審査 審査員		氏名	職名	氏名	職名
	主査	上野隆史	教授	丸山 厚	教授
	審査員	上田 宏	教授		
		金原 数	教授		
	小島英理	教授			

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「Molecular design of protein needle-based subunit vaccines」と題し、英語で書かれ、5章より構成されており、タンパク質針(PN)を分子基盤とするサブユニットワクチンの分子設計の基礎から応用研究により、新しいワクチン創成を目指したものである。

第一章「General introduction」では、タンパク質超分子構造体の構築手法やタンパク質集合体のワクチン材料としての利用について述べている。近年、新たな材料として人工的に設計したタンパク質超分子構造体をワクチンとして用いる研究が進められている。著者は、これまでタンパク質集合体の特異な構造に着目し、新規材料を開発している。タンパク質集合体はタンパク質分子が規則正しく配列することによりさまざまな形状をとりうる生体分子材料である。特に、ケージやチューブ構造を有する集合体は、安定なサブユニットワクチンのテンプレートとして注目されている。本研究では、特に、タンパク質針の形成反応や安定性を利用したワクチン機能材料の作成を試みている。

第二章「Dynamic behavior of cargo proteins regulated by linker peptides on a protein needle scaffold」では、柔軟なリンカーである(GGGGS)と剛直なリンカーである(PAPAP)の単位配列の数の違いにより、リンカーの長さを変えた superfolder Green Fluorescent Protein (sfGFP)-X-PN (Xはリンカー)を構築したと述べている。PNは静的な足場タンパク質として、sfGFPはカーゴタンパク質として利用している。各タンパク質におけるsfGFPのダイナミクスを高速原子間力顕微鏡(HS-AFM)技術を用いて直接観察し、40秒間の観察によりすべての6分子の挙動を分析することで、各複合体の幅に対するリンカーの動的な影響とカーゴタンパク質の変動を調べている。その結果、リンカー長と、配列に依存した柔軟性の両方の効果がsfGFPの揺らぎとカーゴタンパク質と足場タンパク質の分子間相互作用に寄与していることを明らかにしている。PNは細胞内に侵入することができることから、標的タンパク質の選択やリンカーの残基数や構成要素の調整による効果的なワクチン設計への可能性が示唆されている。

第三章「Construction of protein needle and non-structural protein from norovirus」では、ヒトノロウイルス(HuNV)由来の非構造タンパク質であるviral protein genome-linked (VPg)を、PNと遺伝子融合したカーゴタンパク質として使用したことについて述べている。VPgは、ゲノムおよびサブゲノムRNAからの翻訳によるノロウイルスのゲノム複製に必須であり、免疫反応を刺激する効果が期待されている。VPgとPNのN末端を異なる種類のリンカーで結合させ、HS-AFMを用いてリンカー特性とそのダイナミクスを調べている。PNの針構造はVPg結合後も保持されており、複合体形成後も β シート構造が保持されていることが確認されている。従って、PNが非構造的なウイルスタンパク質とコンジュゲートするのに適した足場分子であることが示唆されている。

第四章「Protection against respiratory syncytial viruses by a design of P protein fused with protein needle」では、呼吸器シنشシャルウイルス(RSV)のリン酸化タンパク質(P)を遺伝子融合によりPNの表面にGGGGSリンカーを介して融合させることで、新しい人工サブユニットワクチンを開発したことについて述べている。GGGGSは、以前の報告のデザインに基づき、Pタンパク質のダイナミクスを維持しながらPとPNの間の距離を維持するために利用されている。このサブユニットワクチンは免疫した綿毛ラットで抗P抗体(IgAおよびIgG)の産生を誘導している。さらに、この複合体を綿毛ラットに接種することで、RSV力価が非免疫ラットやPのみの免疫ラットに比べて約2分の1に抑えられている。これらの結果によって、RSVのサブユニットワクチンの開発におけるPNの足場分子としての可能性が示唆されている。

第五章「General conclusion」では、第二章から第四章までの成果とその意義がまとめられている。タンパク質針による標的タンパク質融合や特異な集積構造の形成を利用することで、機能的なサブユニットワクチンの構築を達成している。また、リンカーを設計することにより、タンパク質針融合体の構造を制御することができ、新たな機能を付与することができるとしている。本論文の手法を様々なタンパク質集合体に適用することで、機能性ワクチン材料としての応用が期待されると述べている。

以上を要するに、本論文はタンパク質針を利用した機能性サブユニットワクチン材料の創成に関する多くの成果や知見が得られるものであり、学術上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士(学術)の学位論文として十分な価値があるものと認められる。