

TUMSAT-OACIS Repository - Tokyo

University of Marine Science and Technology

(東京海洋大学)

Development of novel DNA vaccines by using genetically modified antigens of fish pathogens

メタデータ	言語: eng 出版者: 公開日: 2018-01-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Rondon, Barragan lang Schroniltgen メールアドレス: 所属:
URL	https://oacis.repo.nii.ac.jp/records/1479

【課程博士】 (博士論文審査及び最終試験の結果要旨)

学生氏名：RONDON BARRAGAN IANG SCHRONILTGEN (ロンドン バラガン イアン エスコロニジェン)

博士論文題目：Development of novel DNA vaccines by using genetically modified antigens of fish pathogens

(魚類感染症に対する組み換え抗原を用いた新規 DNA vaccine の開発)

博士論文審査：

申請者から提出された論文について、審査委員と申請者の間で質疑応答がなされた。

本研究は、魚類感染症に対する効果的な DNA ワクチンを開発することを目的として、細胞内のリソソームに局在する lysosome-associated membrane protein-1 (LAMP-1) 遺伝子と抗原タンパク質遺伝子を融合した新規 DNA ワクチンを作製し、効果を解析したものである。

第 1 章では、ヒラメを対象に LAMP-1 をコードする cDNA を単離し、構造解析および発現解析を行った。ヒラメ LAMP-1 (JfLAMP-1) は 418 アミノ酸からなり、シグナルペプチド、luminal ドメイン、膜貫通領域および細胞質領域を保持していた。JfLAMP-1 遺伝子は解析した全ての組織で発現しており、病原細菌のホルマリン不活化菌体の投与により mRNA 蓄積量が増加した。JfLAMP-1 タンパク質に対する特異抗体を用いた免疫染色により、本タンパク質は細胞内の顆粒に局在していることが示された。

第 1 章で決定した塩基配列を用いて、第 2 章では JfLAMP-1 とマダイイリドウイルスの主要抗原のひとつである主要カプシドタンパク質 (MCP) 遺伝子を融合した DNA ワクチンを構築し、特異抗体の誘導能を解析した。本研究では、JfLAMP-1 の luminal ドメインに MCP 遺伝子を組み込んだ 2 種類の DNA ワクチン (JfLAMP-1_MCP) を構築した。ヒラメ背側筋肉中に DNA ワクチンを注射し、4 週間後の血液における MCP に対する特異抗体価を解析したところ、MCP 遺伝子のみを組み込んだ DNA ワクチンに比べて、2 種類の JfLAMP-1_MCP ワクチンを接種した区では有為に高い抗体価を示した。

第 3 章では作製した JfLAMP-1_MCP ワクチンの感染防除効果を解析するため、マダイイリドウイルスに感受性の高いイシダイを用いて実験を行った。ワクチン接種 4 週間後に感染試験を行ったところ、JfLAMP-1_MCP ワクチンを接種した区は他の実験区に比べて高い生残率を示した。

これらの成果は、より感染防除能の高いワクチンを開発する上で重要な知見である。また、国内外の研究の水準に照らし、本成果は当該研究分野における学術的意義、新規性、独創性及び応用的価値を有している。以上のことから、申請者から提出された論文は、十分博士の学位に値することを審査委員一同確認した。

最終試験の結果要旨：

最終試験は 8 月 16 日に行われた。審査委員一同出席の下、学術論文については 1 編が第 1 著者として公表済み (Rondón-Barragán et al., *Fish Shellfish Immunol.* V67, p546-553) であるとともに、講演発表については国際会議 1 回発表していることを確認した。合同セミナーについては、企業型セミナーの単位を取得していることを確認した。また、大学院海洋科学技術研究科が指定した研究者倫理教育を修了していることを確認した。

学術論文は英語で書かれており、かつ、国際会議において英語で発表しており、語学については問題ないと判断した。また、申請者に対して、論文内容について最終確認のための質疑応答を行い、その内容は十分であった。一方、専門知識については公開發表会 (8 月 16 日) 当日の質疑や予備審査時でのディスカッションを含め十分であると審査委員一同確認した。

以上から、学生について博士論文審査、最終試験とも合格と判定した。