



Title	Use of the Recombinant Chimera Proteins, LacZ-Env and Gag-Env, for Immunological Studies on HIV-1 Infection
Author(s)	森本, 素子
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39559
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	もり 森 本 素 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 0 1 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 7 年 5 月 1 6 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 名	Use of the Recombinant Chimera Proteins, LacZ - Env and Gag - Env, for Immunological Studies on HIV - 1 Infection (組換えキメラ蛋白, LacZ - Env および Gag - Env を用いた HIV-1 感染における免疫学的研究)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 品 川 日 出 夫 (副査) 教 授 上 田 重 晴 教 授 栗 村 敬

論 文 内 容 の 要 旨

【目 的】

HIV 感染の増大にともない、その診断のために、特異性および純度の高い多量の HIV - 1 抗原が必要とされる。特に、ウイルス粒子の外被蛋白質に対する抗体 (抗 Env 抗体) の検出は診断に重要であり、抗 Gag 抗体の消長は、予後のマーカーとしての有用性が報告されている。抗 HIV - 1 抗体を検出するための抗原とする目的で、いろいろな Env 領域を大腸菌で多量産生させ、患者血清との反応性を調べた。

【方法ならびに成績】

17 種類の env 遺伝子領域を lacZ 遺伝子の 3' 末端につなぎ、大腸菌で LacZ - Env キメラ蛋白を発現させた。菌体を超音波破碎して SDS PAGE で解析し、3 例の感染者血清中の抗体と反応するエピトープをウエスタンブロット法で調べた。その結果、3 例の血清すべてと反応したのは、Env の 512 - 611 および 721 - 826 アミノ酸領域のペプチドを含むキメラ蛋白であった。HIV - 1 感染の診断用抗原としての有用性を調べるため、さらにこれらの領域について、41 例の陽性血清を用いて、感染者の血清に対する反応性を調べた。その結果、LacZ - Env (512 - 611) および LacZ - Env (721 - 826) は、それぞれ 100% および 78% が、感染者血清と反応した。しかし、これらの融合蛋白は、 β -ガラクトシダーゼによる偽陽性を生じる可能性があり、そのままでは診断用抗原として適当でないため、Env (512 - 611) 単独、および Gag - Env (512 - 611) を、T7 プロモーターを用いて発現させた。しかし、Env 単独では、発現量が非常に少なく、Gag 蛋白とのキメラ蛋白である Gag (121 - 406) - Env (512 - 611) および Gag (308 - 406) - Env (512 - 611) として多量発現に成功した。これらのキメラ蛋白は、41 例の陽性血清と強く反応したので、高度に精製し、ドットブロット法によって 60 例の陽性血清および 84 例の正常血清との反応性を調べた。その結果、20ng の蛋白量で陽性血清と十分に反応し、320ng でも正常血清による偽陽性は認められなかった。

【総 括】

高度に精製した Gag - Env 蛋白は、特異性および安全性が高く、診断のための抗原として、また予後を知る上で有用であると思われる。また、Env 領域は、ウイルスの細胞への感染に重要な役割を有するため、LacZ - Env は、HIV -

1の基礎研究や、ワクチン開発、モノクローナル抗体のエピトープマッピング等に有用性が高いと考えられる。

論文審査の結果の要旨

HIV (Human Immunodeficiency Virus) の基礎研究や、診断薬および治療薬の開発のために、純度の高いHIV特異的蛋白が必要とされている。本研究では、組換え遺伝子技法を利用してHIV-1のEnv蛋白を β -galactosidaseおよびHIV-1Gagとのキメラ蛋白として大腸菌で多量産生させ、感染者血清との反応性を調べた。その結果、非常に反応性の高い領域の多量産生に成功し、Gag-Envキメラ蛋白については高度に精製することができた。本研究によって得られた蛋白は診断用抗原として有用性が高く、安全性やコストの面からも優れたものである。また、これまで非常に難しいとされていたEnv蛋白を容易に精製することに成功した点でも意義がある。

HIVのEnv領域に対する抗体の検出は、感染診断の陽性基準とされ、そのための抗原として感染の危険性のない組換え蛋白を多量に供給できることは、HIVの蔓延を防ぐ意味で非常に重要であり、したがって、本論文は学位の授与に十分値すると考えられる。