

5-2 遺伝子導入法による口腔機能の促進の研究グループ

5-2-47 グラム陽性細菌による有用物質産生系を応用した口腔機能の促進

<研究概要>

口腔機能を正しく保つことは生活の質（QOL）を保つ上で欠かせない要素の一つである。当研究ユニットでは、組み換え DNA 技術を用いてこの課題に取り組んでいる。日常生活において口腔機能が損なわれる最大の因子は、う蝕・歯周病に代表される口腔疾患に起因している。いずれも口腔内細菌の感染によりもたらされると考えられており、その予防法の確立が望まれている。口腔疾患においては、ワクチンなどの投与による能動免疫により微生物の感染を排除することは、予期せぬ副作用の観点から望ましいとは言い切れず、これに代わる受動免疫での予防に着目した。ここで、組換え DNA 技術により有用タンパク質の大腸菌での産生では、多くの場合不溶性のインクルージョンボディが生じることより、グラム陽性細菌を宿主とした菌体外産生を試みることにした。

当研究ユニットでは、*S. mutans* が産生する GTF 活性を抑制するモノクローナル抗体を、複数のハイブリドーマから得ている。これらのハイブリドーマより全 RNA を抽出し、上述した抗体活性を示す scFv をコードするプラスミドを、大腸菌を宿主として定法により作成した。これらのプラスミドより構造遺伝子を抽出し、大腸菌-*B. brevis* の両細菌により保持されるシャトルベクターに導入することにより、当該活性を有する scFv を *B. brevis* を宿主として菌体外産生に成功した。

また、効率良い受動免疫系を確立するためには、注目している細菌の病原因子を正確に捉える必要がある。*P. gingivalis* に由来する多くの病原因子の中で、ヘミンとの結合、および共凝集に関与する表層タンパク質の 1 つである HBP35 に着目し、本タンパクの機能をさらに明らかにすることを試みた。その結果、酸素ストレスに対し抵抗性を示す活性を有することが示唆された。

<得られた知見>

構造遺伝子をゲルより抽出し、これをリガーゼを用いた従来法によりシャトルベクターに導入することは、時として不可能な場合がある。この問題点を解決するため新たにヘテロダイマー法を開発し *B. brevis* を宿主とした scFv の菌体外産生に成功した。本法に用いるプラスミドをさらに加工することにより、注目する遺伝子のサブクローニングを容易に行うキットの商品化が可能と思われる。