

口蹄疫ウイルス非構造タンパク質の発現と精製

坂本 研一, 大橋 誠一, 山添 麗子

動物衛生研究所 海外病研究部

【目的】

海外では口蹄疫の防圧に緊急ワクチンを使用した事例がある。その場合清浄化には、ワクチン接種による抗体と自然感染による抗体の識別が必要となる。本病の不活化濃縮ワクチンは非構造蛋白質の含量が少なく、これによる抗体の識別が理論上可能と考えられる。バキュロウイルス発現系で本ウイルスの非構造領域遺伝子を発現させ、精製後、診断への応用を試みた。

【方法】

口蹄疫ウイルス非構造蛋白質遺伝子 2AB, 2B, 2C, 3ABC, 3D を標的とするプライマーを作出した。RT-PCR で増幅後、ベクターヘライゲーションし、クローニングを実施した。標的 PCR 産物を精製後、Baculovirus Expressioin Systems のプロトコールに従い、FMDV 非構造蛋白組換えバキュロウイルスを作出した。SF21 細胞に感染させてヒスチジンタグを有する 5 種類の非構造蛋白質を発現させ、口蹄疫標準

陽性牛血清とこれら発現非構造蛋白質との反応をウエスタンブロットで調べた。反応の認められた 2C, 3ABC, 3D を Ni Sepharose カラムを用いたアフィニティークロマトグラフィーで精製を試みた。

【結果】

FMDV 各種血清型標準血清では 2C, 3ABC と 3D でバンドが確認された。日本で口蹄疫に感染した黒毛和牛血清では 3ABC と 3D で反応が認められた。動物感染試験で得られた感染豚血清では、2AB と 2B でわずかながら反応が認められた。正常牛血清では反応は認められなかった。ワクチン接種牛血清と野外感染血清における抗体識別では 3ABC と 2C の組み合わせで、被検血清の 70～80% 程度が識別可能であった。Ni Sepharose カラムを用いたアフィニティークロマトグラフィーで 2C, 3ABC, 3D が単一のピークとして検出され、アクリルアミドゲル電気泳動後のクマシー染色で単一のバンドが確認された。