

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：13801

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H02544

研究課題名(和文) 高免疫応答型多価ウイルス様粒子を用いた原虫感染症治療用ワクチン開発基盤技術の構築

研究課題名(英文) Basic research on vaccine development for protozoan infectious disease treatment using polyvalent virus-like particles with high immune response

研究代表者

朴 龍洙 (PARK, Enoch Y.)

静岡大学・グリーン科学技術研究所・教授

研究者番号：90238246

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 30,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、カイコを用いてワクチンの素材として期待されるウイルス様粒子(VLP)の発現及びVLPの表面に2種類の抗原を提示した高免疫応答型多価VLPの作製に成功した。難治性原虫感染症の1種であるネオスポラ症を対象に作製した多価VLPをワクチンとして動物試験を行った結果、有意な高い生存率を示し、肺組織の損傷も少なかった。また、VLP上の抗原提示量の不均一さを改善するために、SpyTag-SpyCatcher化学結合法をカイコ発現系に適用し、新規VLPの作製に成功した。これによって複数の抗原を均一にVLP上に提示できるようになり、カイコで多価VLPを作製する基板を世界に先駆けて確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

古くから家畜化された昆虫で、非常に安全なタンパク質発現系として認められているカイコを用いたワクチン開発であり、特に、VLPの表面に複数の抗原を提示して、より免疫高化を高めたものである。この手法はネオスポラ感染症に限定することなく、世界3大感染症の1つであるマラリア原虫に対しても適応できる極めて挑戦的なものである。また、ウイルス由来のVLPを用いることでアジュバントを必要としないVLPワクチンの開発は、副作用軽減の面で医療産業へのインパクトは大きい。毎年のように発生する新興ウイルスによる感染症との戦いは続いており、本研究成果は、安心・安全な社会作りに大いに貢献できるものである。

研究成果の概要(英文)：In this study, we succeeded in the expression of virus-like particles (VLPs), which are expected to be used as vaccine materials, and production of highly immune-responsive multivalent VLPs that display two kinds of antigens on the surface of VLPs using silkworm expression system. As a result of an animal test using a divalent VLP prepared for Neosporosis, which is one of the intractable protozoal infections, as a vaccine, a significant survival rate was shown, and lung tissue damage was also small compared to those of a control group. We also applied the SpyTag-SpyCatcher chemical binding method to the silkworm expression system to improve the heterogeneity of antigen-displaying on VLPs and succeeded in producing a non-envelope VLP. This has made it possible to uniformly displaying multiple antigens on VLPs and established a multivalent VLPs expression in silkworms ahead of all other researches in the world.

研究分野：生物工学

キーワード：ウイルス様粒子 バイオテクノロジー カイコ ワクチン 原虫

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

原虫は真核単細胞で構成され、動物体内で無限に増殖する病原体である。マラリア原虫は、世界で年間 3~5 億人に感染し、200 万人以上の命を奪っている。トキソプラズマ原虫は、妊婦に感染すると、流産や新生児のトキソプラズマ症を引き起こす。ネオスポラ原虫は、多くの哺乳動物に感染し、流産、死産、ミイラ胎仔娩出を引き起こす。このような難治性原虫感染症は、人畜問わず莫大な損害を与えているが、未だ有効な予防法が確立されていない。原虫は、一般に感染後宿主体内でステージを変換し、表面抗原の変異が起こる。さらに、複数の宿主細胞表面接着因子を持ち、そのうちの 1 個だけが選択的に発現され、時間が経つと別の因子が排他的に発現する発現転換を繰り返し、宿主の獲得免疫を回避する。以上のことから、原虫に対するワクチンの開発は極めて困難とされている。本研究では、ネオスポラ原虫 (*Neospora caninum*) のステージ変換がトキソプラズマ原虫と極めて類似しているため、ネオスポラ症を難治性原虫感染症のモデルとして取り上げ、*N. caninum* に対するワクチンを作製し、得られた成果を基にマラリア原虫に対するワクチン開発に挑戦する。

### 2. 研究の目的

原虫のステージ変換や表面抗原の変異に対応できる多抗原提示型 VLP の開発が求められているが、複雑な操作を要するため成功例は極めて少ない。さらに、免疫細胞活性化を示す VLP や DNA ワクチンを兼ねた VLP の作製は報告例がない。研究代表者は、カイコを用い、ウイルスと同じ構造を持つ様々な VLP の作製実績を基に、新規抗原ワクチン候補の同定及び多抗原提示型 VLP (多価 VLP) の作製を遂行し、難治性原虫感染症に対応する VLP ワクチン作製基盤を世界に先駆けて創製する。

### 3. 研究の方法

#### (1) 多価 VLP の作製

*Rous sarcoma* ウイルスの Matrix, P10, Capsid, Nucleocapsid から成る 61 kDa のタンパク質を、抗原提示用エンベロープ RS-VLP (図 1) として用いた。この VLP は直径 60~80 nm でエンベロープを持っているため抗原を提示しやすい。抗原を VLP 上に提示するためのアンカーは、既に研究実績を有するバキュロウイルスの表面に多数存在している糖タンパク質 gp64 や GPI アンカーを用い、gp64 や GPI に抗原タンパク質を融合させた 2 種類以上のバクミドを作製した。更にカイコ体液への分泌効率を向上するために bombyxin シグナル配列を、発現量の向上のためにバキュロウイルスのポリヘドリンプロモーターを用いた。作製済みのバクミドをカイコに注射して多価 VLP を発現する。カイコ体液を回収し、密度勾配遠心分離によって精製を行い、ウエスタンブロッティングや ELISA、免疫電顕法により抗原提示確認を行った。

*Rous sarcoma* ウイルスの Matrix, P10, Capsid, Nucleocapsid から成る 61 kDa のタンパク質を、抗原提示用エンベロープ RS-VLP (図 1) として用いた。この VLP は直径 60~80 nm でエンベロープを持っているため抗原を提示しやすい。抗原を VLP 上に提示するためのアンカーは、既に研究実績を有するバキュロウイルスの表面に多数存在している糖タンパク質 gp64 や GPI アンカーを用い、gp64 や GPI に抗原タンパク質を融合させた 2 種類以上のバクミドを作製した。更にカイコ体液への分泌効率を向上するために bombyxin シグナル配列を、発現量の向上のためにバキュロウイルスのポリヘドリンプロモーターを用いた。作製済みのバクミドをカイコに注射して多価 VLP を発現する。カイコ体液を回収し、密度勾配遠心分離によって精製を行い、ウエスタンブロッティングや ELISA、免疫電顕法により抗原提示確認を行った。

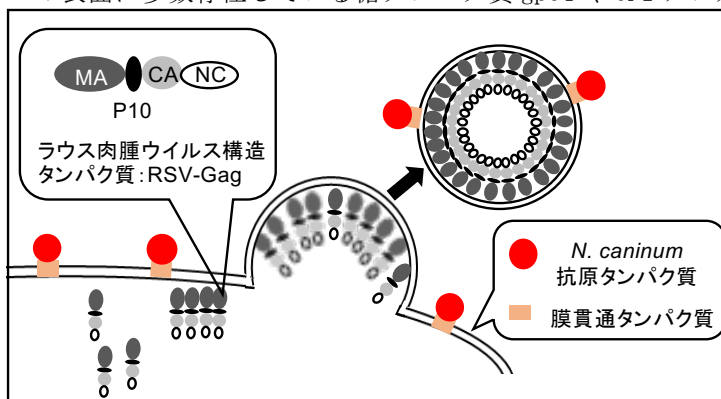


図 1 RS-VLP 形成過程。RSV-Gag タンパク質 (MA, P10, CA 及び NC) は細胞内で自己集合し、エンベロープ VLP として出芽する。この際、細胞表面に局在させたネオスポラ抗原タンパク質を提示する。

ウエスタンブロッティングや ELISA、免疫電顕法により抗原提示確認を行った。

## (2) 単一バクミドによる抗原提示 VLP の作製

複数の抗原を提示するために、複数のバクミドを共発現する方法では、抗原毎の発現量の差が生じる。さらに発現する抗原の種類が増えれば増えるほど発現量が低下する。この問題を解決するためには、複数のタンパク質を同時に発現させることが可能な単一バクミドによる発現系を構築した。

## (3) 高免疫応答型多価 VLP/DNA の作製

密度顆粒タンパク質の Dense granule protein 7 (GRA7)、ミクロネームタンパク質の Microneme protein 8 (MIC8) 及びロプトリータンパク質の Rhoptry protein 40 (ROP40) を封入対象の抗原遺伝子とし、哺乳類発現ベクター-pcDNA3.1(+) をクローニングベクターとした。各遺伝子をクローニングベクターに挿入後、エレクトロポレーション法とバイオビーズ SM-2 を用いてプラスミド DNA を VLP に封入した。それぞれの DNA を封入した VLP を HEK293T 細胞株に導入し、導入から 2 日後、遺伝子導入を観察した。pcGFP 5 をポジティブコントロールとし、GFP の蛍光を観察することで遺伝子導入効率を評価した。

## (4) マウスで感染阻害試験における多価 VLP ワクチンとしての評価

動物実験は、対照群 (PBS と提示無しの VLP) とワクチン接種群 (単価及び多価) を分けて、7 週齢の BALB/c マウスで行う。筋肉にワクチン 10~20 µg を接種し、2 週目、4 週目の計 3 回接種した。5 週目に原虫による攻撃実験を行い、10 週目に採血 (特異抗体の生産)、脳及び脾臓の摘出 (病理検査、Real-time PCR 法より原虫感染確認及びサイトカインの誘導確認)、並びに臨床観察 (体重や生存率) を行い、ワクチンとしての効果をそれぞれ検証して、原虫の侵入防御を定量化した。

## (5) 高免疫応答型 VLP の作製

VLP 表面に提示した抗原タンパク質の提示量が不均一であったため、免疫原性が不安定であった。また、カイコから発現した VLP はカイコ由来の夾雑タンパク質を多く含んでいるため、精製度の高い VLP を得るのは極めて困難である。そこで、エンベロープ型 VLP への抗原提示からノンエンベロープ型 VLP への抗原提示に検討を試みた。分子接着剤と呼ばれる SpyCatcher/SpyTag 化学修飾法を利用し、カイコ発現系に導入した。さらに、多数の精製方法をチャレンジし、より精製度の高いタンパク質を精製した。

## 4. 研究成果

### (1) 多価エンベロープ RS-VLP の作製

ネオスポラ症に対するワクチン候補として、*N. caninum* の抗原タンパク質である Surface antigen 1 (NcSAG1) 及び SAG1-related sequence 2 (NcSRS2) をラウス肉腫ウイルス (RSV) 様粒子 (RS-VLP) に提示させた抗原提示 RS-VLP を作製した。カイコ培養細胞やカイコ幼虫で発現させた抗原提示 RS-VLP を密度勾配遠心分離によって精製した (図 2A)。ウエスタンブロットティング (図 2B~D) や ELISA、免疫電顕法により抗原提示確認を行った。SAG1 と SRS2 の分子量は、それぞれ 43 kDa と 52 kDa であり、NcSRS2 に比べ NcSAG1 が多く RS-VLP への提示が確認された。

(2) 単一バクミドによる抗原提示 VLP の作製

ネオスポラの抗原 NcSAG1 と NcSRS2、および RSV 由来の構造タンパク質である Group antigen protein (Gag) をコードした遺伝子発現カセットを、ギブソンアッセムブリ法により単一の BmNPV バクミドに挿入し、カイコ幼虫で発現させた。カイコ体液中の RSV-LP を精製し、2 種類の抗原タンパク質と共に Gag タンパク質 (VLP の骨格) の発現を確認した (図 3A)。透過型電子顕微鏡により、粒子径が 60~80 nm の円形 VLP であり、VLP 表面には 2 種類の抗原の提示が確認出来た

(図 3B)。これらの結果は、単一の rBmNPV による複数の抗原提示 VLP の作製が成功したことを示す。

(3) 高免疫応答型多価 VLP/DNA の作製

抗原遺伝子 Dense granule protein 7 (GRA7)、Microneme protein 8 (MIC8) 及び Rhoptry protein 40 (ROP40) を導入した哺乳類発現ベクター pcDNA3.1(+)

を構築した。pcDNA3.1(+)

(4) マウスで感染阻害試験における多価 VLP ワクチンとしての評価

*N. caninum* に対し感受性の高い動物モデルのスナネズミ (*Meriones unguiculatus*) で感染阻害試験を行った (図 4A)。2 回の免疫で、ネズミの生体特徴の変化はなかったため、カイコ体液から精製されたタンパク質は毒性が認めないと思われる (図 4B)。高免疫応答型多価 VLP を免疫化後、スナネズミに *N. caninum* 原虫を攻撃したところ、平均体重が 61.0 g から 64.2 g に増加し原虫からの防御効果が賦与された。さらに、脳組織からゲノム DNA を抽出し原虫の定量 PCR を行った結果、抗原提示された VLP は効果的に原虫増殖を抑制した (図 4C)。免疫されたネズミの血液から、抗原特異的な抗体産生も確認できた (図 4D, E)。スナネズミは *N. caninum* に高い感

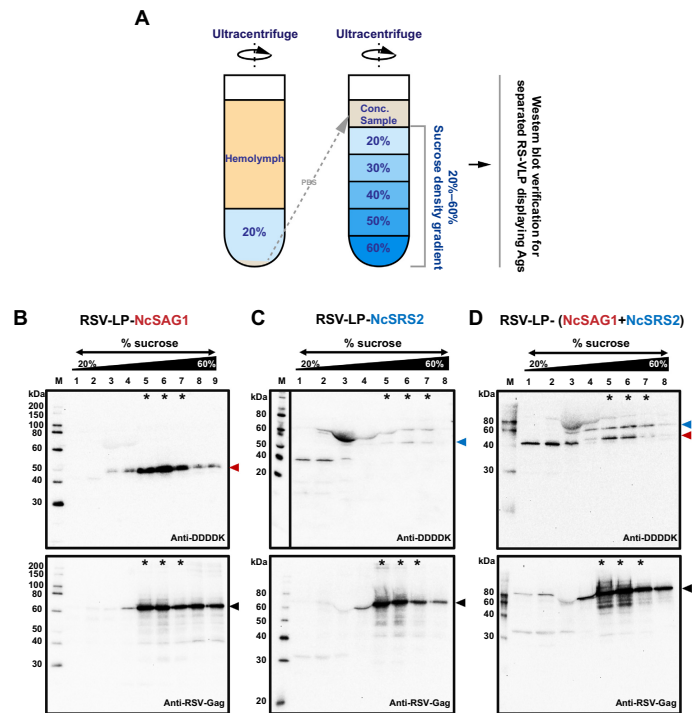


図 2. 抗原提示 RS-VLP のカイコ体液からの調

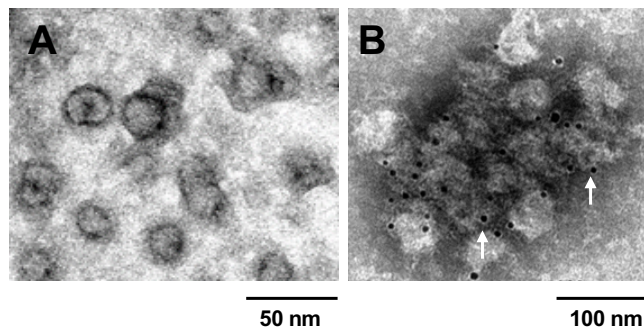


図 3. NcSAG1 および NcSRS2 を提示した RSV-LP の透過型電子顕微鏡 (A) と免疫電子顕微鏡画像 (B)。B のドットは抗原提示場所を示す。

受性を持ち、感染実験の後2週間で死亡した。生存率は、ワクチン接種群のスナネズミがより長く生存し、対照群と比べ、有意な高い生存率が確認できた (図4F)。臨床評価ではワクチンを投与しなかった肺組織の損傷が大きかった (図4G)。これらの結果より、カイコ生産系におけるネオスポラ抗原提示 VLP ワクチンの作製プラットフォームを構築できたと言える。さらに多価 VLP ワクチンの開発にチャレンジできる。

#### (5) 高免疫応答型 VLP の作製

複数の抗原の不均一の問題を解決するためには、複数のタンパク質を同時に発現させる単一バクミドによる発現や精製しやすいノンエンベロップ VLP が有利である。ノンエンベロップ VLP

として SpyTag-SpyCatcher システムを利用した。SpyTag (ST) と SpyCatcher (SC) は化膿レンサ球菌のフィブロネクチン結合タンパク質 FbaB に含まれるドメインである CnaB2 を 13 残基(ST)と 138 残基(SC)の2つの部分に分割することで、別々に発現させ混合すると互いに共有結合を形成し1分子にすることができる。この ST と SC による抗原の提示を行うために、カイコ発現系で初の SpyTag-SpyCatcher 系を構築した。カイコから精製したそれぞれの SC および ST タンパク (SC-EGFP と ST-mCherry) 同士でもカイコ生体内でも高効率でライゲーションすることができた。今後、*N. caninum* の抗原として Profilin (NcPROF) および Toxofilin (NcToxo) をカイコ発現系で発現させて、その抗原性およびワクチンとしての評価をマウスで行う予定であり、高免疫応答型多価 VLP 構築の社会実装を目指す。

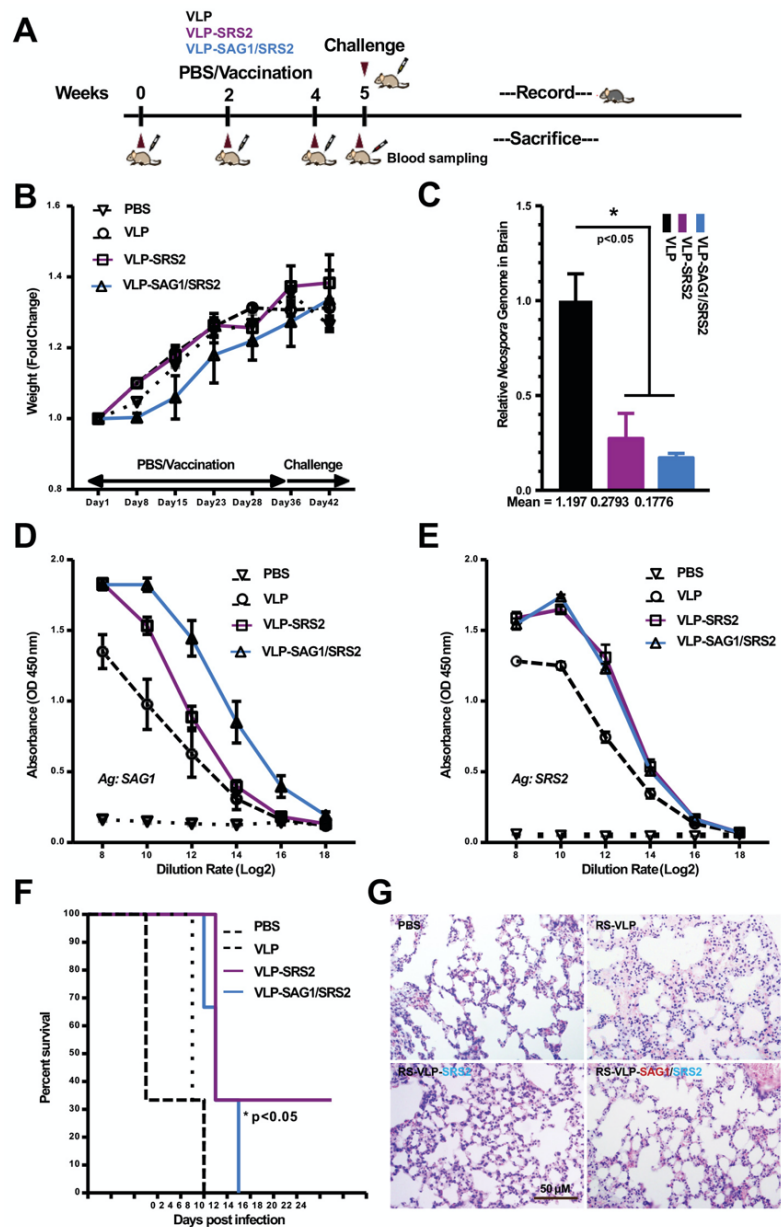


図 4. 抗原提示 RS-VLP の動物実験での評価。VLP-SRS2 及び VLP-SAG1/SRS2 はそれぞれ抗原として SRS2 及び SAG1/SRS2 を提示した VLP を示す。PBS は、ネガティブコントロール、VLP は対象群を示す。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 5件）

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Hamizah Suhaimi, Rikito Hiramatsu, Jian Xu, Tatsuya Kato, Enoch Y. Park  | 4. 巻<br>9             |
| 2. 論文標題<br>Secretory nanoparticles of <i>Neospora caninum</i> profilin-fused with the transmembrane domain of GP64 from silkworm hemolymph                             | 5. 発行年<br>2019年       |
| 3. 雑誌名<br>Nanomaterials  | 6. 最初と最後の頁<br>593     |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.3390/nano9040593  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)   | 国際共著<br>-             |
| 1. 著者名<br>Takatsugu Miyazaki, Ryunosuke Miyashita, Sota Mori, Tatsuya Kato, and Enoch Y. Park  | 4. 巻<br>127           |
| 2. 論文標題<br>Expression and characterization of silkworm <i>Bombyx mori</i> -1,2-N-acetylglucosaminyltransferase II, a key enzyme for complex-type N-glycan biosynthesis | 5. 発行年<br>2019年       |
| 3. 雑誌名<br>J. Biosci. Bioeng.   | 6. 最初と最後の頁<br>273-280 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.jbiosc.2018.08.014   | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-             |
| 1. 著者名<br>Robert Minkner, Rina Baba, Yae Kurosawa, Shinichiro Suzuki, Tatsuya Kato, Shintaro Kobayashi, Enoch Y. Park  | 4. 巻<br>1096          |
| 2. 論文標題<br>Purification of human papillomavirus-like particles expressed in silkworm using a <i>Bombyx mori</i> nucleopolyhedrovirus bacmid expression system          | 5. 発行年<br>2018年       |
| 3. 雑誌名<br>J. Chromatogra. B  | 6. 最初と最後の頁<br>39-47   |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.jchromb.2018.08.007  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-             |
| 1. 著者名<br>Takatsugu Miyazaki, Tatsuya Kato, and Enoch Y. Park  | 4. 巻<br>126           |
| 2. 論文標題<br>Heterologous expression, purification and characterization of human -1,2-N-acetylglucosaminyltransferase II using a silkworm-BmNPV bacmid system            | 5. 発行年<br>2018年       |
| 3. 雑誌名<br>J. Biosci. Bioeng.   | 6. 最初と最後の頁<br>15-22   |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.jbiosc.2018.01.011   | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-             |

|  |                     |
|--|---------------------|
| 1. 著者名<br>Tatsuya Kato, Moeko Hasegawa, Takeshi Yamamoto, Takatsugu Miyazaki, Ryosuke Suzuki, Takaji Wakita, Tetsuro Suzuki, Enoch Y. Park | 4. 巻<br>150         |
| 2. 論文標題<br>Expression of a functional intrabody against hepatitis C virus core protein in Escherichia coli and silkworm pupae              | 5. 発行年<br>2018年     |
| 3. 雑誌名<br>Protein Expression and Purification  | 6. 最初と最後の頁<br>61-66 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.pep.2018.05.009  | 査読の有無<br>有          |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-           |

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Minkner Robert, Park Enoch Y.  | 4. 巻<br>40              |
| 2. 論文標題<br>Purification of virus-like particles (VLPs) expressed in the silkworm Bombyx mori | 5. 発行年<br>2018年         |
| 3. 雑誌名<br>Biotechnology Letters  | 6. 最初と最後の頁<br>659 ~ 666 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1007/s10529-018-2516-5  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-               |

|  |                     |
|--|---------------------|
| 1. 著者名<br>Miyazaki Takatsugu, Ishizaki Masaaki, Dohra Hideo, Park Sungjo, Terzic Andre, Kato Tatsuya, Kohsaka Tetsuya, Park Enoch Y. | 4. 巻<br>7           |
| 2. 論文標題<br>Insulin-like peptide 3 expressed in the silkworm possesses intrinsic disulfide bonds and full biological activity         | 5. 発行年<br>2017年     |
| 3. 雑誌名<br>Scientific Reports   | 6. 最初と最後の頁<br>17339 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/s41598-017-17707-1   | 査読の有無<br>有          |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)   | 国際共著<br>該当する        |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Kato Tatsuya, Itagaki Kohei, Yoshimoto Mai, Hiramatsu Rikito, Suhaimi Hamizah, Kohsaka Tetsuya, Park Enoch Y.                                   | 4. 巻<br>124             |
| 2. 論文標題<br>Transduction of a Neospora caninum antigen gene into mammalian cells using a modified Bombyx mori nucleopolyhedrovirus for antibody production | 5. 発行年<br>2017年         |
| 3. 雑誌名<br>Journal of Bioscience and Bioengineering  | 6. 最初と最後の頁<br>606 ~ 610 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.jbiosc.2017.06.015  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-               |

|   |                     |
|---|---------------------|
| 1. 著者名<br>Park Sungjo, Arrell D. Kent, Reyes Santiago, Park Enoch Y., Terzic Andre  | 4. 巻<br>7           |
| 2. 論文標題<br>Conventional and unconventional secretory proteins expressed with silkworm bombyxin signal peptide display functional fidelity | 5. 発行年<br>2017年     |
| 3. 雑誌名<br>Scientific Reports  | 6. 最初と最後の頁<br>14499 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/s41598-017-14833-8  | 査読の有無<br>有          |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)  | 国際共著<br>該当する        |

|  |                     |
|--|---------------------|
| 1. 著者名<br>Tatsuya Kato, Saki Sugioka, Kohei Itagaki, Enoch Y. Park   | 4. 巻<br>6           |
| 2. 論文標題<br>Gene transduction in mammalian cells using Bombyx mori nucleopolyhedrovirus assisted by glycoprotein 64 of Autographa californica multiple nucleopolyhedrovirus | 5. 発行年<br>2016年     |
| 3. 雑誌名<br>Sci. Rep.  | 6. 最初と最後の頁<br>32283 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/srep32283  | 査読の有無<br>有          |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)   | 国際共著<br>-           |

|  |                    |
|--|--------------------|
| 1. 著者名<br>Tatsuya Kato, Natsumi Kako, Kotaro Kikuta, Takatsugu Miyazaki, Sachiko Kondo, Hirokazu Yagi, Koichi Kato and Enoch Y. Park | 4. 巻<br>7          |
| 2. 論文標題<br>N-Glycan Modification of a Recombinant Protein via Coexpression of Human Glycosyltransferases in Silkworm Pupae           | 5. 発行年<br>2017年    |
| 3. 雑誌名<br>Sci. Rep.  | 6. 最初と最後の頁<br>1409 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/s41598-017-01630-6   | 査読の有無<br>有         |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)   | 国際共著<br>-          |

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Tatsuya Kato, Sho Arai, Hirono Ichikawa, Enoch Y. Park   | 4. 巻<br>38              |
| 2. 論文標題<br>Versatility of chitosan/BmNPV bacmid nanocomplex as transfection reagent in recombinant protein expression in silkworm larvae | 5. 発行年<br>2016年         |
| 3. 雑誌名<br>Biotechnol. Lett.  | 6. 最初と最後の頁<br>1449-1457 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1007/s10529-016-2144-x  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-               |



|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>VIPIN KUMAR DEO, Tatsuya Kato   | 4. 巻<br>105             |
| 2. 論文標題<br>Virus-Like Particles Displaying Recombinant Short-Chain Fragment Region and Interleukin 2 for Targeting Colon Cancer Tumors and Attracting Macrophages | 5. 発行年<br>2016年         |
| 3. 雑誌名<br>J. Pharma. Sci.   | 6. 最初と最後の頁<br>1614-1622 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.xphs.2016.02.011  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-               |

〔学会発表〕 計22件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 9件)

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>宮崎 剛亜、宮下 龍之介、加藤 竜也、朴 龍洙                     |
| 2. 発表標題<br>カイコおよびヒト由来N-アセチルグルコサミン転移酵素IIのカイコ発現系構築と性質の比較 |
| 3. 学会等名<br>日本応用糖質科学会平成30年度大会 (第67回) 応用糖質科学シンポジウム       |
| 4. 発表年<br>2018年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Jian Xu、平松 利輝人、Hamizah Suhaimi、加藤竜也、Mayuko Kobayashi、Akari Fujimoto、池和 憲、朴 龍洙                        |
| 2. 発表標題<br>Neospora caninum antigens displaying-virus-like particles as a vaccine candidate against neosporosis |
| 3. 学会等名<br>第70回日本生物工学会大会  |
| 4. 発表年<br>2018年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Muzajjad Gozal Goffa, Vipin Kumar Deo、加藤竜也、朴 龍洙          |
| 2. 発表標題<br>Gag protein displaying different rHA mutants in silkworm |
| 3. 学会等名<br>第70回日本生物工学会大会  |
| 4. 発表年<br>2018年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Robert Minkner, 朴 龍洙   |
| 2. 発表標題<br>Study on efficient purification of recombinant protein from the silkworm larval hemolymph targeting pharmaceutical grade |
| 3. 学会等名<br>第70回日本生物工学会大会  |
| 4. 発表年<br>2018年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>朴 龍洙                                |
| 2. 発表標題<br>かいこは素晴らしいバイオファクトリー                  |
| 3. 学会等名<br>静岡大学・中日新聞連携講座2018第5回「静岡大学の現在」(招待講演) |
| 4. 発表年<br>2018年                                |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Hamizah Suhaimi, Rikito Hiramatsu, Jian Xu, Tatsuya Kato, Enoch Y. Park  |
| 2. 発表標題<br>Neospora caninum: Expression of Profilin and Recognition to Antigen-Specific Responses, Toll like Receptor 11 Ligand |
| 3. 学会等名<br>The 5th International Symposium toward the Future of Advanced Researches in Shizuoka University 2019 (国際学会)          |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Robert Minkner, Jian Xu, Tatsuya Kato, Enoch Y. Park  |
| 2. 発表標題<br>Study on efficient purification of recombinant protein from the silkworm larval haemolymph                  |
| 3. 学会等名<br>The 5th International Symposium toward the Future of Advanced Researches in Shizuoka University 2019 (国際学会) |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>町田 佑樹、平松 利輝人、徐 剣、加藤 竜也、朴 龍洙                           |
| 2. 発表標題<br>カイコでの単一BmNPVバクミドによるNeospora caninum抗原タンパク質提示ウイルス様粒子発現 |
| 3. 学会等名<br>日本農芸化学会2019年度大会                                       |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Jian Xu, Hamizah Suhaimi, Mikiko Hayashidani, Tatsuya Kato, Enoch Y. Park  |
| 2. 発表標題<br>Development of antigen-displaying virus-like particle vaccines by SpyTag/SpyCatcher superglue in the silkworm-bacmid expression system |
| 3. 学会等名<br>日本農芸化学会2019年度大会  |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Robert Minkner and Enoch Y. Park  |
| 2. 発表標題<br>Study on efficient purification of recombinant protein from the silkworm larval haemolymph targeting pharmaceutical grade |
| 3. 学会等名<br>5th International Conference on Biotechnology and Agriculture Engineering (ICBAE 2019)                                    |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Muzajjad Gozal Goffar, Deo Vipin Kumar, Tatsuya Kato, Park Y. Enoch   |
| 2. 発表標題<br>Displaying Hemagglutinin of H5N1 (A/Vietnam/1194/2004) and Hemagglutinin of H1N1 (A/New Caledonia/20/99) on Rous Sarcoma gag-577 Protein VLPs |
| 3. 学会等名<br>Sakura-Bio Meeting 2019 (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Hamizah Suhaimi, Tatsuya Kato, Enoch Y. Park                         |
| 2. 発表標題<br>Expression and Purification of Neospora caninum Profilin in silkworm |
| 3. 学会等名<br>International postgraduate Symposium in Biotechnology 2017 (国際学会)    |
| 4. 発表年<br>2017年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Enoch Y. Park  |
| 2. 発表標題<br>Silkworm biotechnology based sustainable prosperity of humankind         |
| 3. 学会等名<br>International symposium on bio-fusion food technology 2018 (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年<br>2018年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Rikito Hiramatsu, Tatsuya Kato, Enoch Y Park   |
| 2. 発表標題<br>Construction of Neospora caninum vaccine candidate based on Rous sarcoma virus like particle |
| 3. 学会等名<br>International symposium on bio-fusion food technology 2018 (国際学会)                            |
| 4. 発表年<br>2018年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Hamizah Suhaimi, Rikkito Hiramatsu, Tatsuya Kato, Enoch Y Park  |
| 2. 発表標題<br>Expression of recombinant Neospora caninum profilin in silkworm larvae                                      |
| 3. 学会等名<br>The 4th International Symposium toward the Future of Advanced Researches in Shizuoka University 2018 (国際学会) |
| 4. 発表年<br>2018年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Robert Minkner, Enoch Y Park  |
| 2. 発表標題<br>Study on efficient purification of recombinant protein from the silkworm larval haemolymph targeting pharmaceutical grade |
| 3. 学会等名<br>International symposium on bio-fusion food technology 2018 (国際学会)   |
| 4. 発表年<br>2018年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Hamizah Suhaimi, Rikito Hiramatsu, Tatsuya Kato, Enoch Y Park      |
| 2. 発表標題<br>Expression of recombinant Neospora caninum profilin in Bombyx mori |
| 3. 学会等名<br>日本農芸化学会2018年度大会  |
| 4. 発表年<br>2018年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>堀場早紀, 加子夏未, 宮崎剛亜, 加藤竜也, 朴 龍洙             |
| 2. 発表標題<br>ヒト由来糖転移酵素の共発現によるカイコ発現ヒトエリスロポエチンのN型糖鎖構造改変 |
| 3. 学会等名<br>日本農芸化学会2017年度大会                          |
| 4. 発表年<br>2017年                                     |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>稲垣 裕, 宮崎剛亜, 加藤竜也, 朴 龍洙              |
| 2. 発表標題<br>カイコ-BmNPV バクミド系で発現させた熱帯熱マラリア原虫抗原の解析 |
| 3. 学会等名<br>日本農芸化学会2017年度大会                     |
| 4. 発表年<br>2017年                                |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>高見佳宏, Vipin Kumar Deo, 加藤竜也, 朴 龍洙           |
| 2. 発表標題<br>カイコ-BmNPV/バクミド発現系によるMERS-CoVの組換えSタンパクの発現と精製 |
| 3. 学会等名<br>日本農芸化学会2017年度大会                             |
| 4. 発表年<br>2017年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>杉岡沙紀, 板垣滉平, 加藤竜也, 朴 龍洙                              |
| 2. 発表標題<br>Bombyx mori nucleopolyhedrovirusを用いた哺乳動物細胞への外来遺伝子導入 |
| 3. 学会等名<br>日本農芸化学会2017年度大会                                     |
| 4. 発表年<br>2017年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>朴 龍洙   |
| 2. 発表標題<br>Potential application of virus-like particles on vaccine preparation   |
| 3. 学会等名<br>Seminar National Biotechnology IV University Gadjah Mada (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年<br>2016年   |

〔図書〕 計3件

|  |                 |
|--|-----------------|
| 1. 著者名<br>Enoch Y. Park and K. Maenaka         | 4. 発行年<br>2019年 |
| 2. 出版社<br>CRC Press Taylor & Francis Group     | 5. 総ページ数<br>300 |
| 3. 書名<br>Silkworm Biofactory - Silk to Biology |                 |

|                               |                 |
|-------------------------------|-----------------|
| 1. 著者名<br>朴 龍洙                | 4. 発行年<br>2017年 |
| 2. 出版社<br>北隆館                 | 5. 総ページ数<br>110 |
| 3. 書名<br>別冊B10 Clinica慢性炎症と疾患 |                 |

|  |                 |
|--|-----------------|
| 1. 著者名<br>朴 龍洙, 加藤竜也   | 4. 発行年<br>2016年 |
| 2. 出版社<br>Springer   | 5. 総ページ数<br>251 |
| 3. 書名<br>Short Views on Insect Genomics and Proteomics Insect Proteomics, Vol. 2 |                 |

〔産業財産権〕

〔その他〕

|  |
|--|
| 静岡大学生物工学研究室<br><a href="http://www.agr.shizuoka.ac.jp/c/biotech/">http://www.agr.shizuoka.ac.jp/c/biotech/</a> |
|--|

6. 研究組織

|       | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                     | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)           | 備考 |
|-------|---|---------------------------------|----|
| 研究分担者 | 加藤 竜也<br><br>(KATO Tatsuya)<br><br>(00397366) | 静岡大学・農学部・准教授<br><br><br>(13801) |    |



## 6. 研究組織（つづき）

|       | 氏名<br>(研究者番号)                                      | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)              | 備考 |
|-------|--|------------------------------------|----|
| 研究分担者 | 宮崎 剛亜<br>(MIYAZAKI Takatsugu)<br>(30775721)        | 静岡大学・グリーン科学技術研究所・助教<br><br>(13801) |    |
| 研究分担者 | Deo Vipin Kumar<br>(Deo Vipin Kumar)<br>(80569806) | 静岡大学・国際連携推進機構・助教<br><br>(13801)    |    |
| 研究分担者 | 池 和憲<br>(IKE Kazunori)<br>(50159597)               | 日本獣医生命科学大学・獣医学部・教授<br><br>(32669)  |    |