

ワクチン製造等に利用可能な ウイルス増殖促進技術

静岡県立大学 薬学部 薬学科
助教 紅林 佑希

2021年10月26日

- ウイルスの増殖に必須のシグナルを阻害
⇒ 新規治療薬/予防薬の創出
- 生体防御機構を阻害： ウイルスは効率的に増幅
⇒ **高効率なワクチン製造**（希望：鶏卵を超える）

＜鶏卵培養法（従来の方法）＞

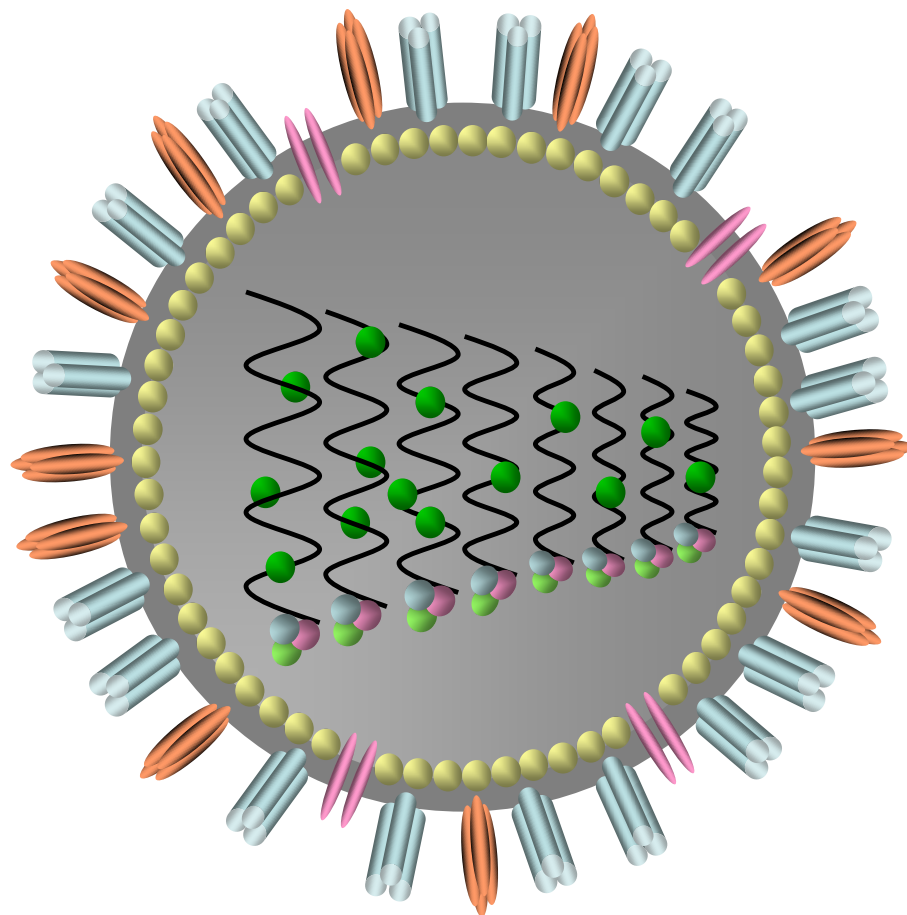
- 時間がかかる
- **ウイルスはよく増える**
- 抗原の変化（ワクチン効果の低下）
- パンデミックへの対応×

＜細胞培養法＞

- 短期間で培養可能
- **ウイルス増殖性に課題（コスト）**
- 抗原の変化が少ない（ワクチン効果が高い）
- パンデミックへの対応○

高効率なワクチン製造においてウイルスの増殖性亢進が重要な課題である

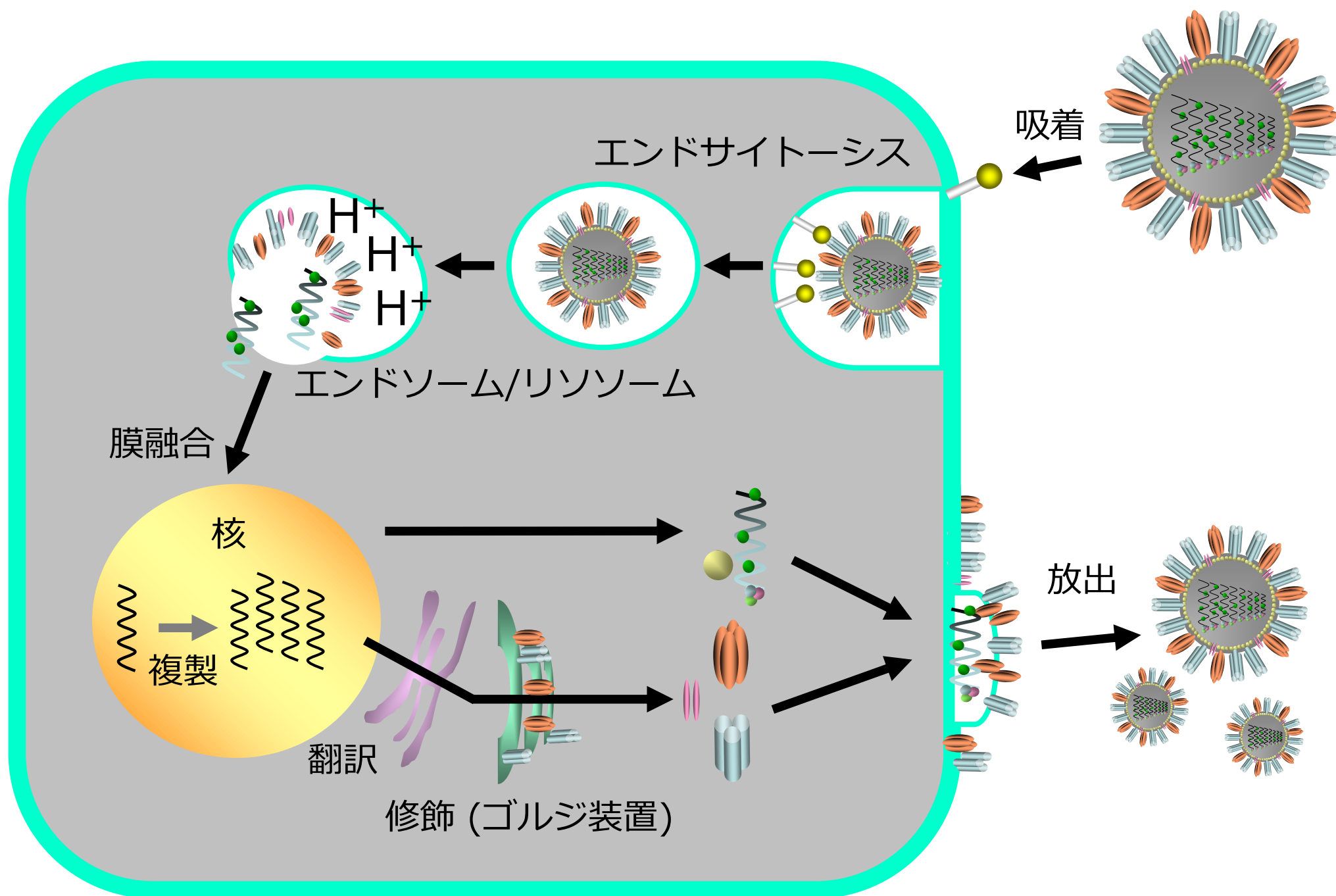
インフルエンザウイルス



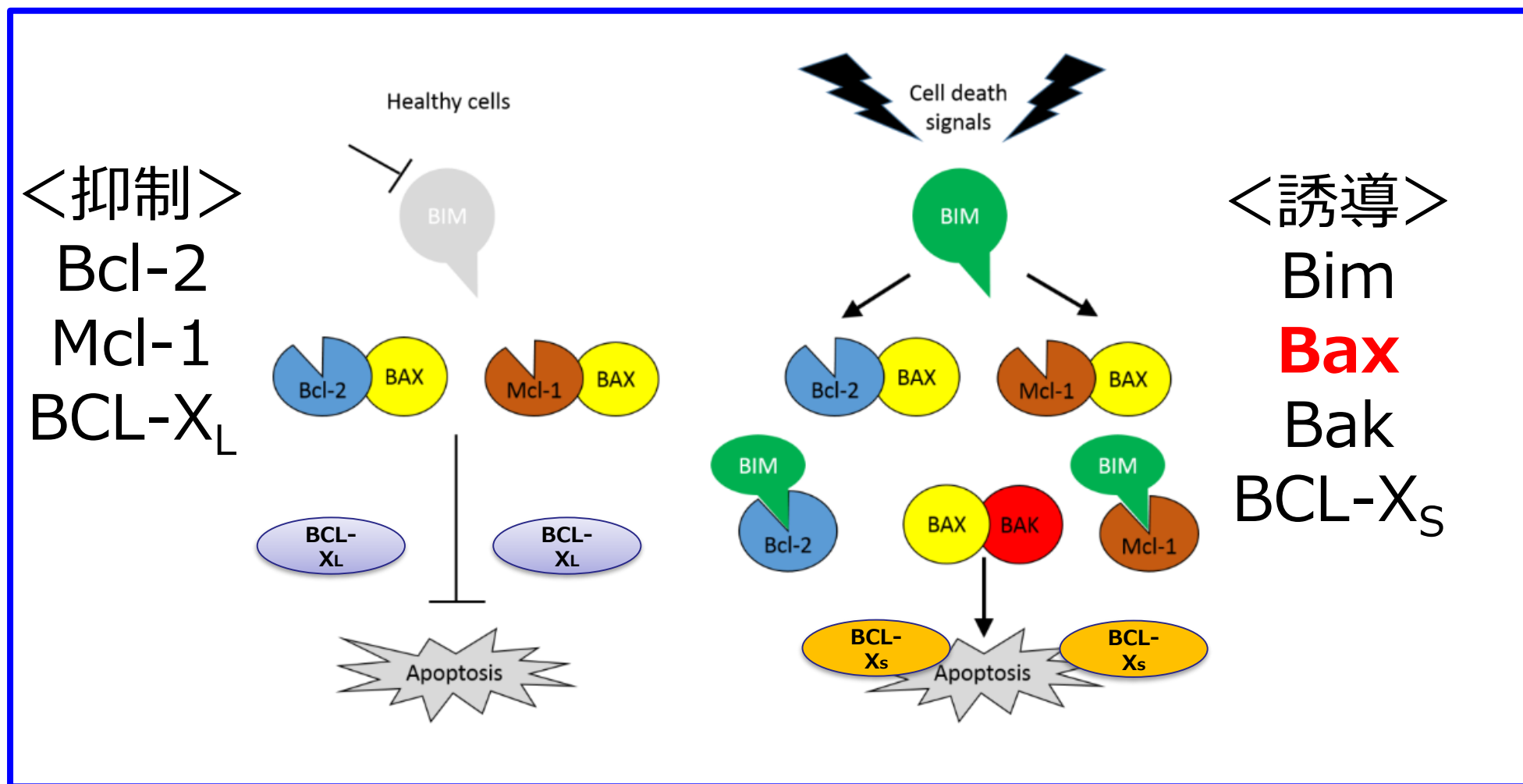
- HA (ヘマグルチニン)
- NA (ノイラミニダーゼ)
- M1
- M2
- NP
- vRNP complex

← 100~200 nm →

インフルエンザウイルスの感染機構

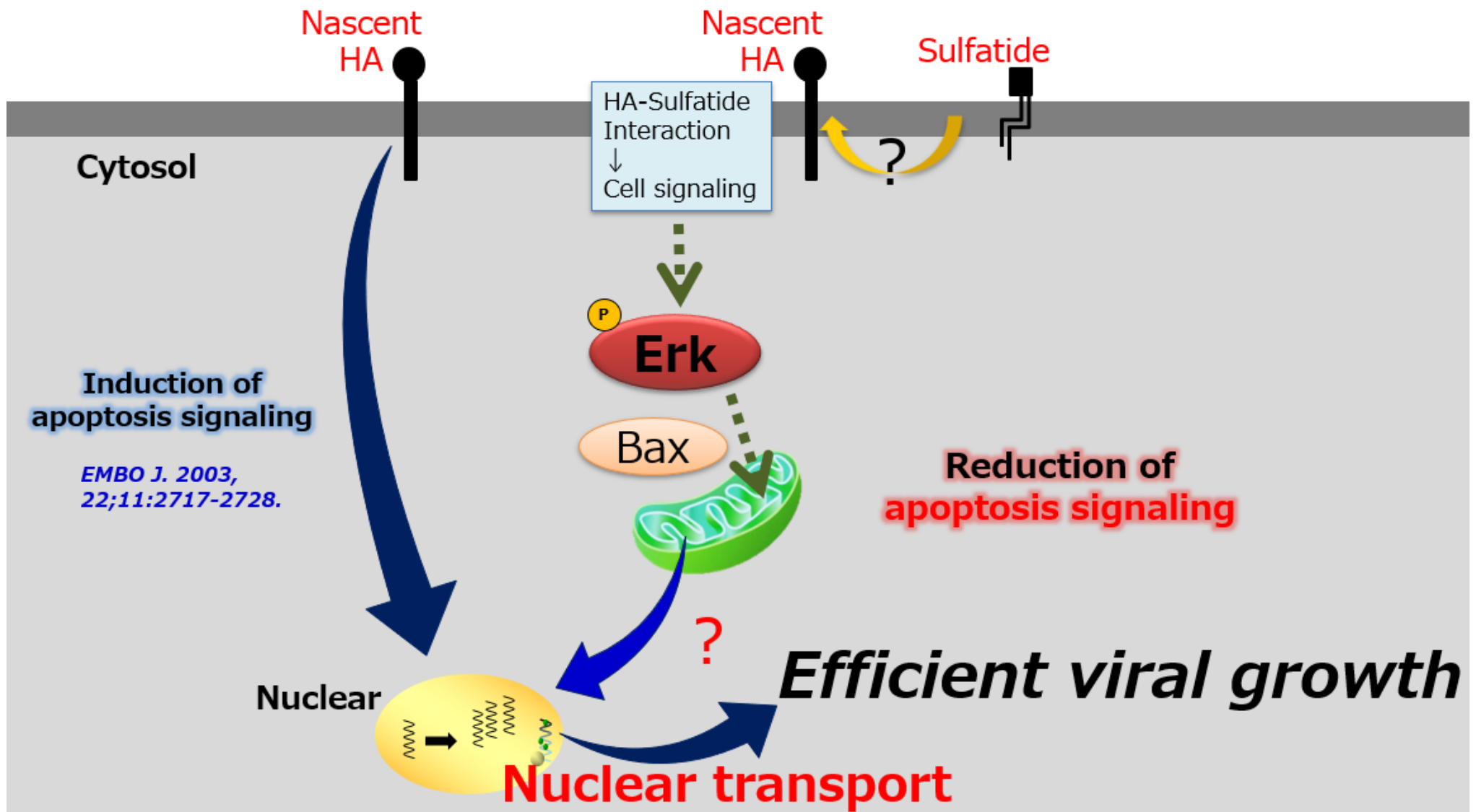


ミトコンドリア膜上におけるアポトーシス制御因子が インフルエンザウイルス増殖に関与する可能性



Mechanisms of efficient viral growth

➤ Sulfatide dependent cell-signaling

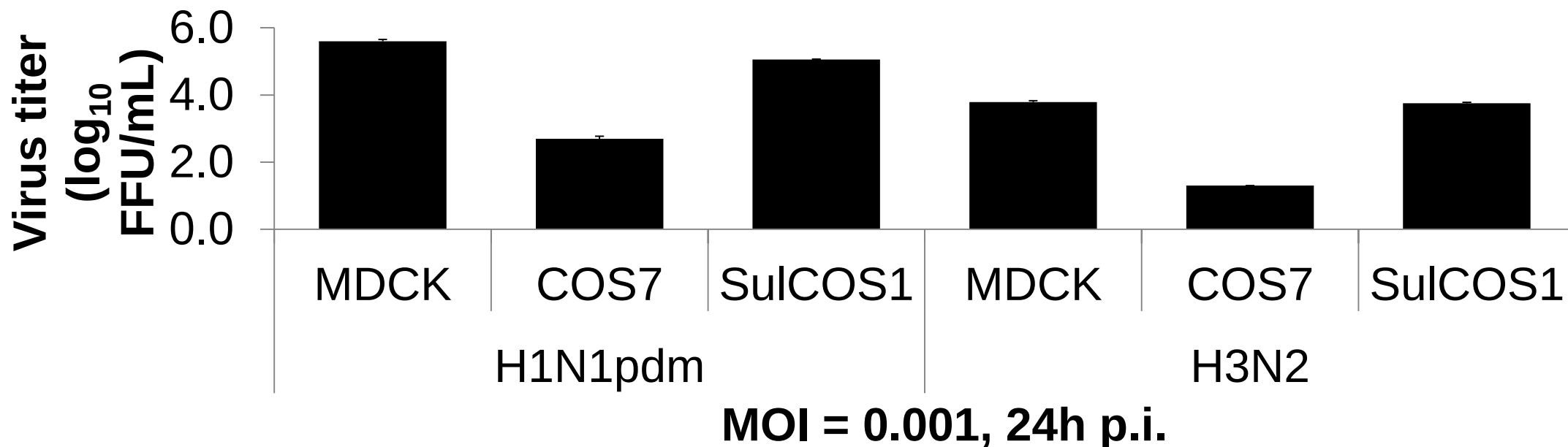


Mechanisms of efficient viral growth

➤ Expression profile of sulfatide in three cells

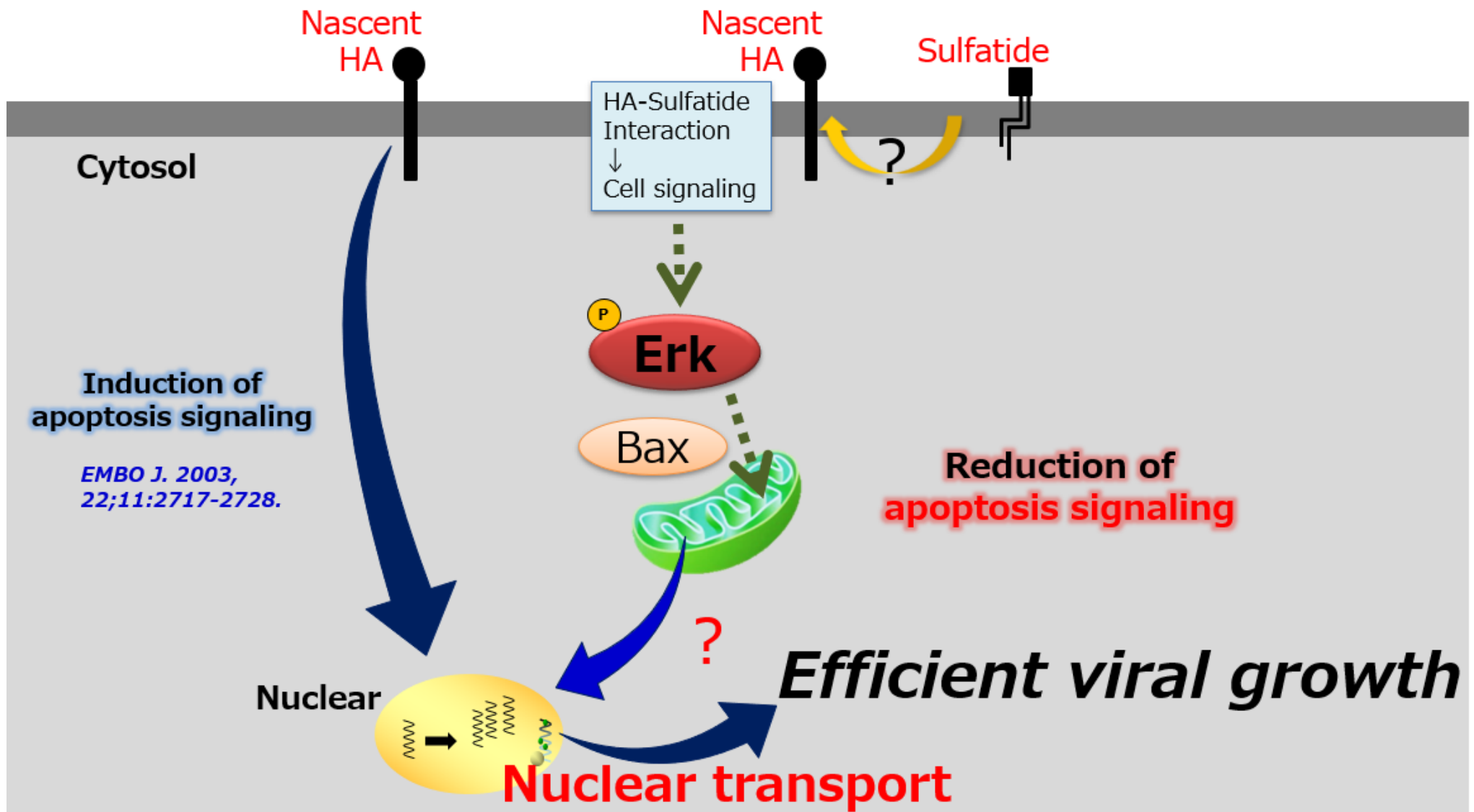
Cell	Sulfatide
MDCK	Internally expressed
COS7	Not expressed
SulCOS1	Over expressed

➤ Virus efficiently growth in MDCK and SulCOS1 cells



Mechanisms of efficient viral growth

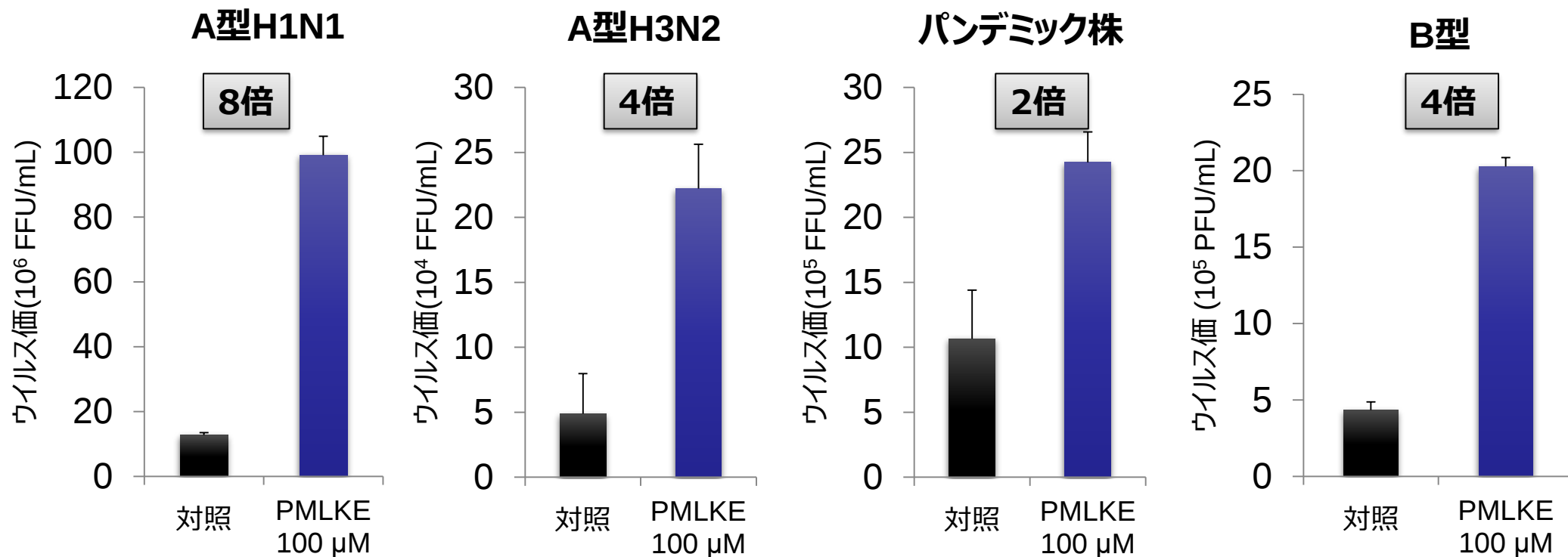
➤ Sulfatide dependent cell-signaling



背景：企業との共同研究知見

Bax-Ku70 interaction inhibiting peptide: **PMLKE** (human)

Biochem. Biophys. Res. Commun. 2014, 3; 321: 961-6



Focus assay: N=3, significance: student's *t*-test

Bax阻害(ペプチド添加)によりウイルスの力価（感染性ウイルス量）が増加



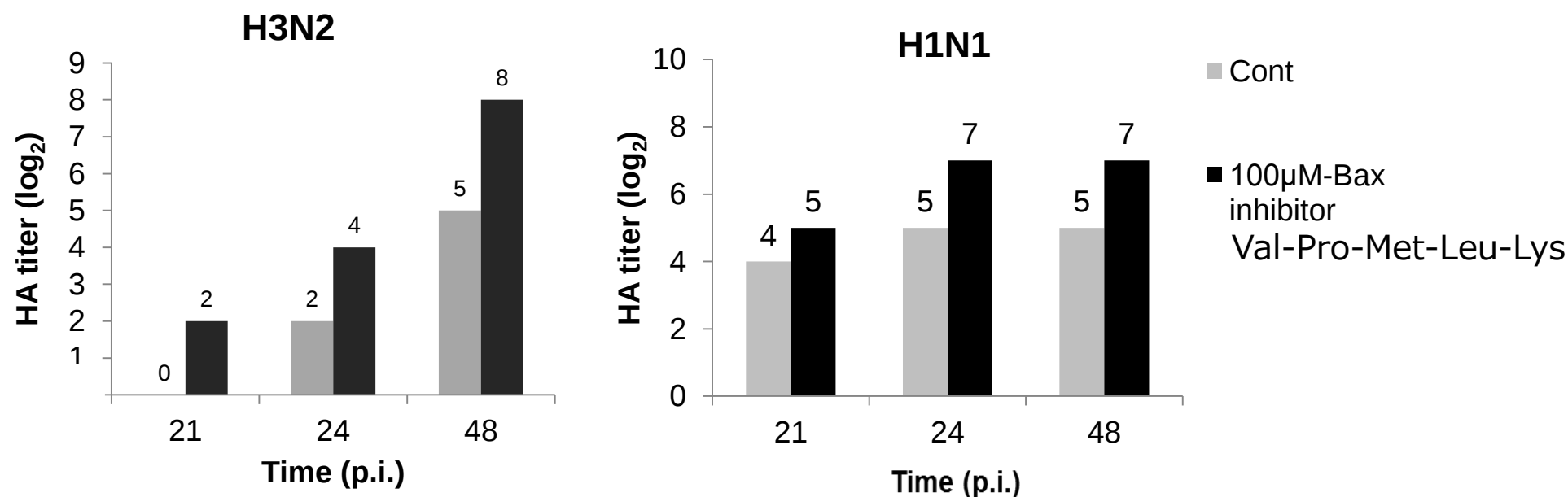
2019年2月 特許を共同出願（静岡県立大学-花王）

結果：Bax阻害剤添加によるウイルス増殖性評価

MDCK, $Moi=0.001$

Bax inhibitor (VPMLK) treatment: after 1h incubation of each virus

HA Assay



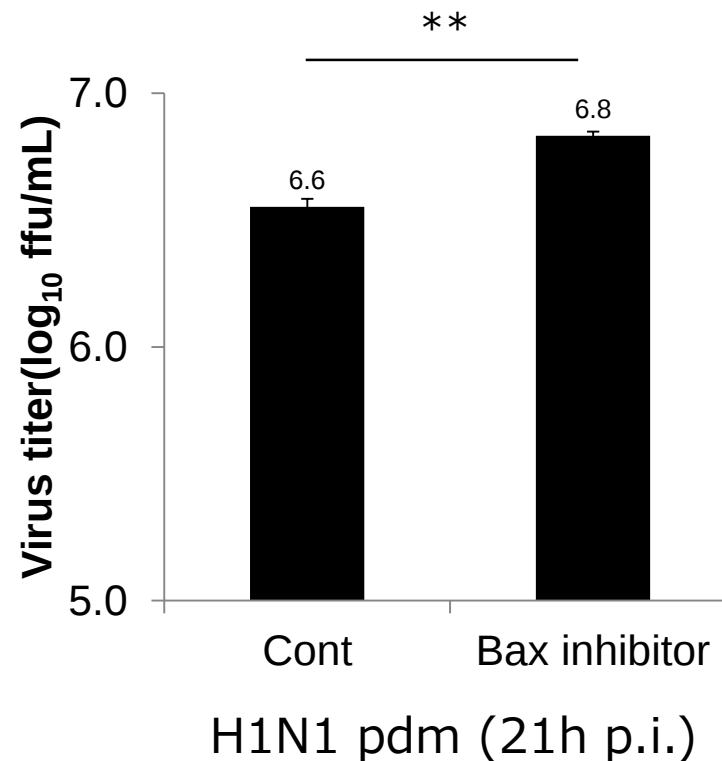
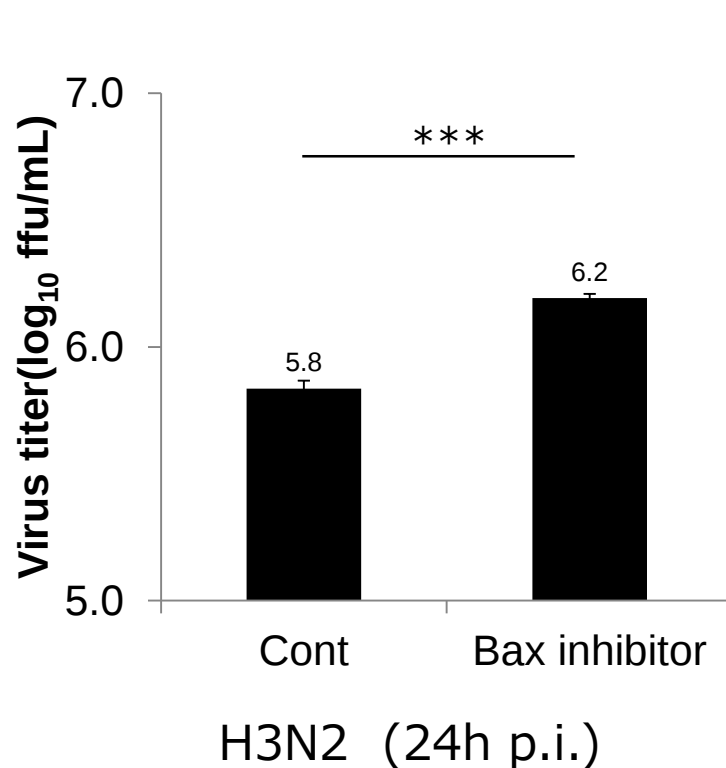
阻害剤の添加でウイルス増殖性を4~8倍に亢進

結果：Bax阻害剤添加によるウイルス増殖性評価

MDCK, $\text{Moi}=0.001$

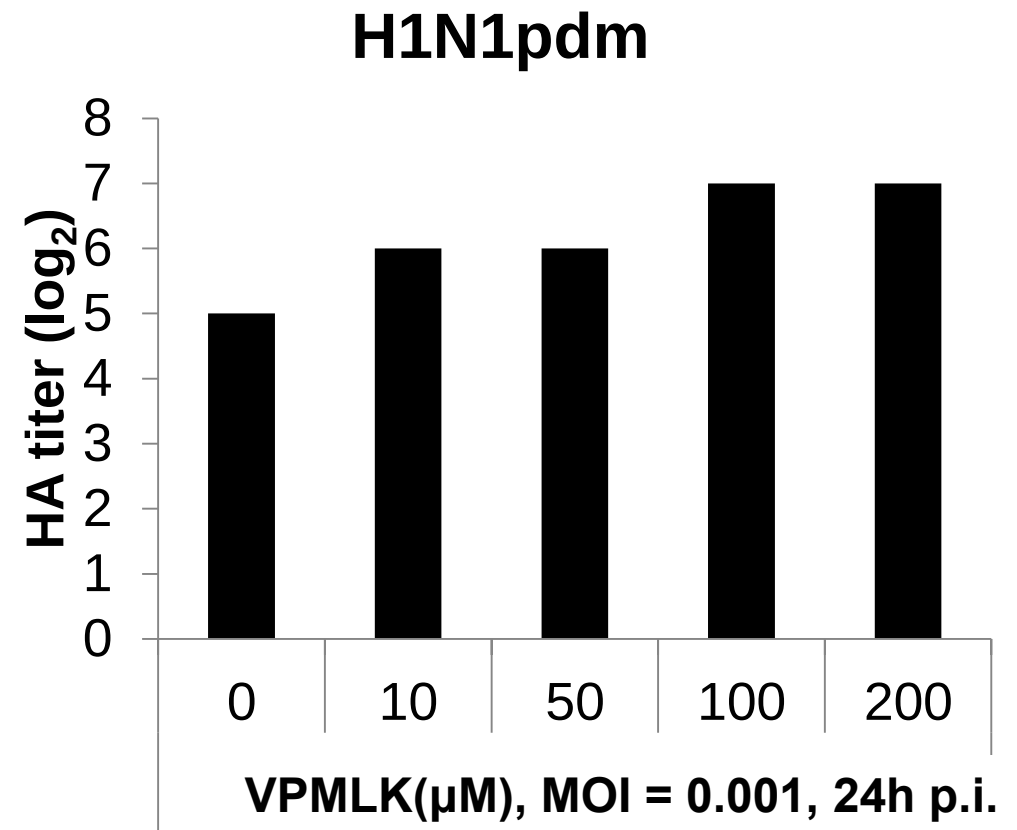
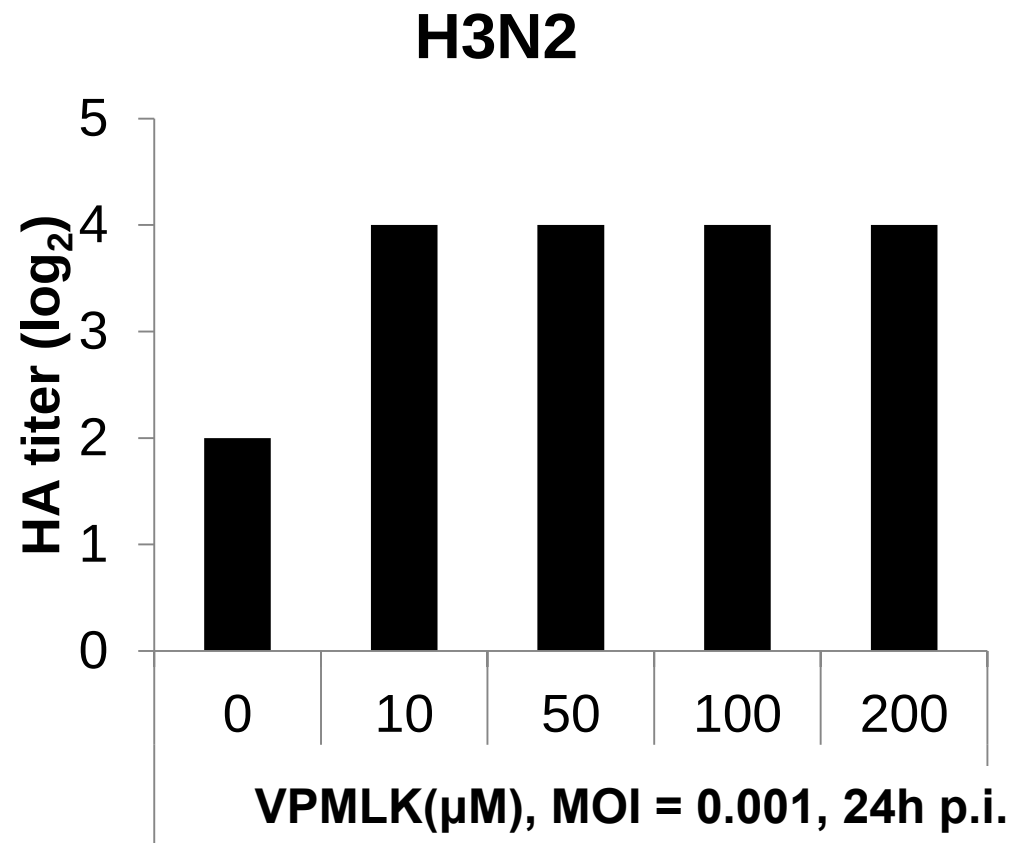
Bax inhibitor (VPMLK) treatment: after 1h incubation of each virus

Focus Assay



Growth analysis of Influenza virus

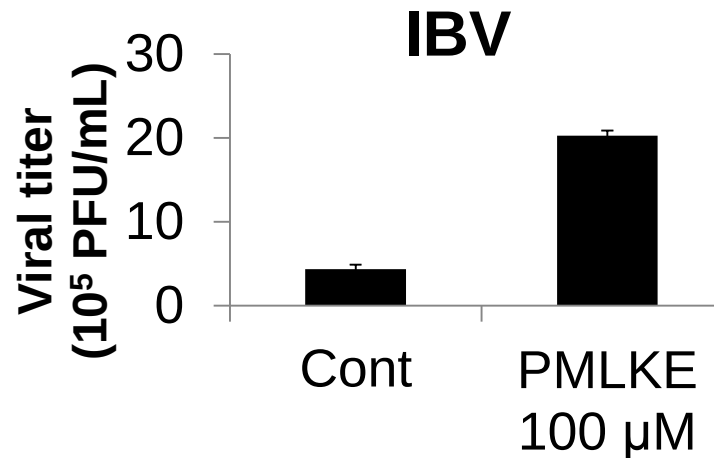
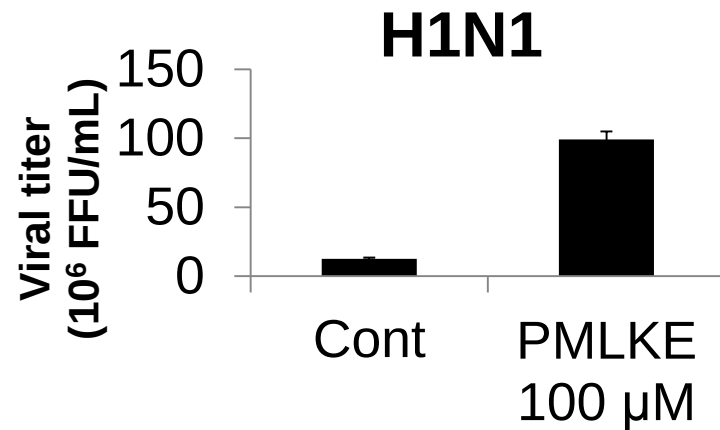
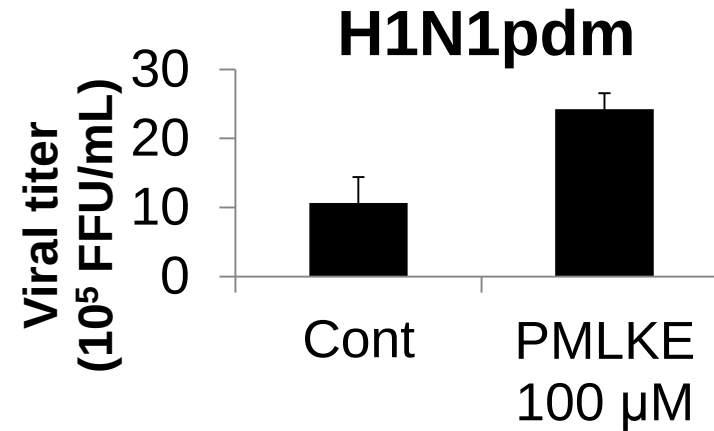
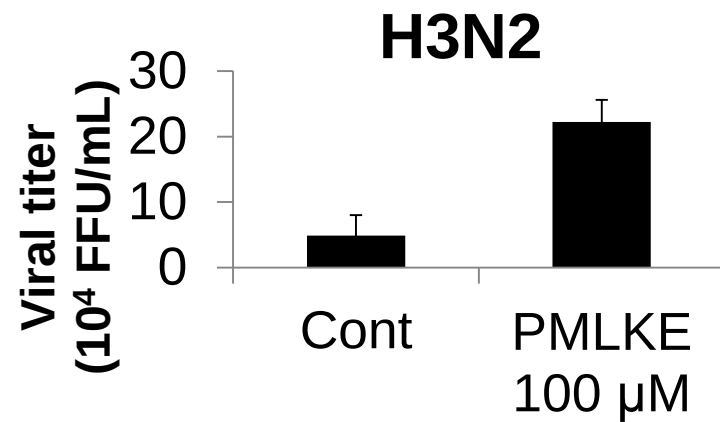
➤ Examination of dose-dependency for viral growth



5 aa peptide improved viral growth with more than 10 μM.

Growth analysis of Influenza virus

➤ Diversity of viral types and subtypes



Several types of influenza virus were efficiently growth with 5 aa peptide in MDCK cells.

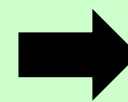
発育鶏卵におけるウイルス増殖亢進データ

動物： ホワイトレグホン受精卵 N=10×3 群

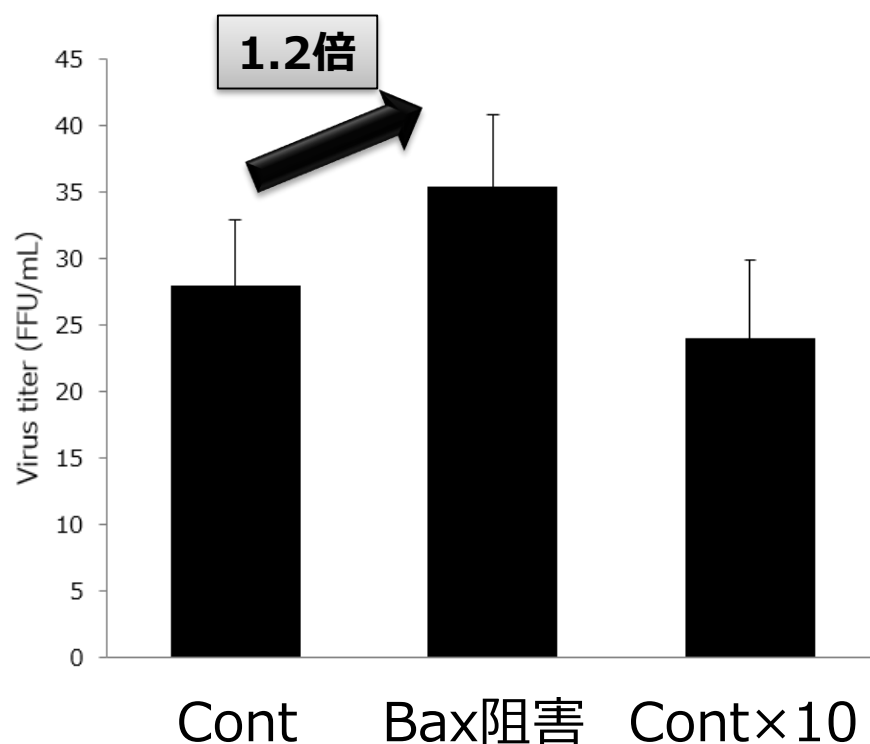
Virus： A/Puerto Rico/8/1934

- ① Cont (5×10^2 EID₅₀)
- ② VSALK (5×10^2 EID₅₀)
- ③ Cont×10倍量ウイルス(5×10^3 EID₅₀)

Day 11-13で
感染増殖



HA assay
Focus assay



**Bax阻害剤の添加により
発育鶏卵におけるウイルス増殖亢進を確認**

まとめ

- 本発表技術は、発表者らの行ってきたインフルエンザウイルス感染機構の解析に基づく発見である。
- 本技術はBaxシグナルに対する阻害物質(ペプチド)を添加することでウイルスの増殖を促進させる技術である。
- 本技術はワクチン製造やウイルス研究における培養効率を高め、低コスト化やウイルス培養時間の短縮が期待される。

本技術の特徴と想定される用途

本技術の特徴

- 添加剤のみでウイルスの増殖を促進させることができる。
- 添加剤自体は合成委託等で誰でも合成が可能な構造。
- 添加剤自体の供給量等による制約は極めて少ない。

想定される使用用途(例)

- ワクチン製造におけるウイルス増殖促進剤
- ウイルス研究におけるウイルス増殖促進試薬

企業への期待

- ワクチン製造開発の技術を持つ、製薬企業等との連携や事業化を希望。
- また、ワクチンを開発中の企業、ワクチン分野への展開を考えている企業には、本技術の導入が有効と思われる。

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 増殖方法
- 出願番号 : 特願2020-019900
- 特許番号 : 特許第6918320号
- 出願人 : 静岡県公立大学法人
花王株式会社
- 発明者 : 紅林佑希、鈴木隆、
大西慎太郎、森卓也

お問い合わせ先

ご連絡をお待ちしております。



静岡県立大学

教育研究推進部 地域・産学連携推進室

T E L 054－264－5124

e-mail renkei@u-shizuoka-ken.ac.jp