

## カイコを利用した発現システムを用いて、組換えスパイクタンパク質の大量生産に成功。 新型コロナウイルスへの効率的な防御免疫の誘導を示す研究結果を確認しました ～早期実用化が望まれる国産ワクチン開発の加速化に向けたアプローチ～

KAICO 株式会社（福岡市西区、代表取締役：大和建太、以下：KAICO）と株式会社ユーグレナ（本社：東京都港区、代表取締役社長：出雲充、以下「ユーグレナ社」）は、九州大学農学研究院・薬学研究院、鹿児島大学農学部、長崎大学熱帯医学研究所の研究グループと共同で、カイコを利用した発現システム「カイコ・バキュロウイルス発現システム<sup>※1</sup>」を用いて、新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）感染に重要な役割を果たす組換えスパイクタンパク質<sup>※2</sup>の大量生産に成功しました。また、組換えスパイクタンパク質を抗原<sup>※3</sup>として接種することによるワクチン効果を高める物質としてアラムアジュバント<sup>※4</sup>と一緒に接種することで、より効率的な防御免疫の誘導を示す研究結果を確認したことをお知らせします。

本研究結果は、早期実用化が望まれる国産ワクチン開発の加速化とワクチン生産の効率化・安全性向上に向け、非常に有効なアプローチになるものとして期待されます。

なお、本研究結果は、2022年1月12日にスイスの学術誌「Frontiers in immunology オンライン版」（<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2021.803647/full>）に掲載されました。

新たに出現した SARS-CoV-2 は、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）を世界的に蔓延させており、COVID-19 の流行を収束に向かわせるためには、有効なワクチンを低コストで製造し、世界中に普及させる必要があります。

SARS-CoV-2 のスパイクタンパク質は、宿主細胞への感染において極めて重要な役割を担っており、スパイクタンパク質を標的としたワクチンや治療薬の開発が有効なアプローチの一つと考えられます。海外で開発され、すでに使用されている mRNA（メッセンジャーRNA）ベースのワクチン<sup>※5</sup>は、人体でスパイクタンパク質を産生するように設計されていますが、長期的な安全性・有効性・価格・温度管理などの観点から課題を抱えており、従来わが国で使用されてきた組換えタンパク質<sup>※6</sup>によるワクチンや不活化ワクチン<sup>※6</sup>との比較検証の必要性が指摘されています。

本研究では、SARS-CoV-2 の組換えスパイクタンパク質を、「カイコ・バキュロウイルス発現システム」を用いて発現させ、マウスでの抗体産生能を評価しました。また、「カイコ・バキュロウイルス発現システム」によって産生されるスパイクタンパク質を抗原とし、ワクチンと一緒に接種することで効果を高める物質であるアジュバント<sup>※4</sup>についても検討しました。

- ※1 カイコに感染するバキュロウイルス（昆虫を主な宿主として感染するウイルスの一つ）を用いることで、一般的によく使用される培養細胞よりも高発現で、カイコの生体内で目的タンパク質を発現させる技術です
- ※2 病原性のウイルスや細菌などの生体に免疫応答を引き起こす物質のこと
- ※3 新型コロナウイルスが感染する際に、ヒト受容体に結合するために使用する主要な表面タンパク質です。スパイクタンパク質がヒト細胞受容体に結合した後、ウイルス膜はヒト細胞膜と融合し、ウイルスのゲノムがヒト細胞に入り、感染を開始できるようになります
- ※4 アジュバントとは、ワクチンと一緒に接種して、その効果（免疫原性）を高めるために使用される物質のこと。アルミニウム塩を主とするアジュバントをアラムアジュバントといい、古くより汎用されています
- ※5 新型コロナウイルスのスパイクタンパク質の設計図となる mRNA（メッセンジャーRNA）を脂質の膜に包んだワクチン。このワクチンを接種し、mRNA がヒトの細胞内に取り込まれると、この mRNA を基に、細胞内でスパイクタンパク質が産生され、そのスパイクタンパク質に対する中和抗体産生や細胞性免疫応答が誘導されることで、新型コロナウイルスによる感染症の予防ができると考えられています
- ※6 組換えタンパク質とは、遺伝子工学的手法によりベクター上にクローン化された DNA から転写、翻訳されたタンパク質です
- ※7 不活化ワクチンとは、ウイルスや細菌の病原性（毒性）を完全に無くして、免疫を作るのに必要な成分だけを取り出してワクチン化したものです

## ■研究の内容と結果

### 「カイコ・バキュロウイルス発現システム」を用いて、SARS-CoV-2 の組換えスパイクタンパク質をカイコの血清から精製し、マウスに抗原として接種することで、マウス血清中に抗原特異的抗体<sup>※8</sup>を産生できることが確認されました

本研究では、九州大学農学研究院の日下部教授らの研究グループが主導して、「カイコ・バキュロウイルス発現システム」を用いて、他の発現システムでは発現・分泌が困難な組換えスパイクタンパク質三量体の大量生産に成功しました。

その精製した組換えスパイクタンパク質を抗原とした特異的抗体産生能を確認するために、12、1.2、0.12 μg のスパイクタンパク質を、マウスなどの研究で使用されているアジュバントであるフロイントアジュバント（CFA 及び IFA）<sup>※9</sup> とともにマウスにそれぞれ接種し、スパイクタンパク質特異的抗体（IgG）の産生量を測定しました。その結果、用量依存的な特異抗体が検出されました（図 1）。

※8 特定の抗原にのみ結合する抗体

※9 アジュバントの一種で、抗原と等量の油を混和し乳化させた状態で使用。IFA は不完全フロイントアジュバント（Incomplete Freund's adjuvant）、CFA は完全フロイントアジュバント（Complete Freund's adjuvant）を指し、IFA に菌体成分を加えたものです

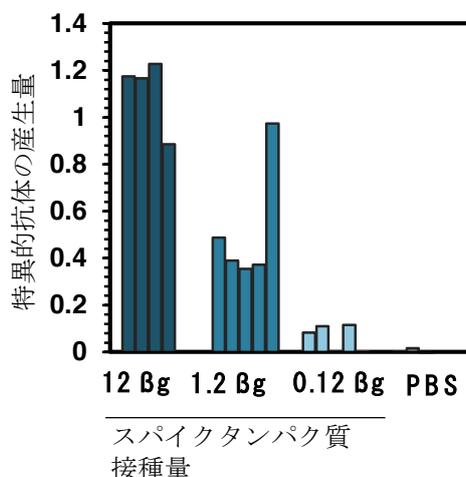


図 1：スパイクタンパク質抗原を接種したマウスにおける血清中抗体の産生

## アラムアジュバントの使用により、強力な中和抗体<sup>※10</sup>の産生能を有することが確認されました

次に、スパイクタンパク質抗原を接種したマウス由来の血清を使用して、SARS-CoV-2 感染に対する中和活性（中和抗体の産生能）を調べました。CFA 及び IFA をアジュバントとして抗原を接種したマウスの血清は弱い活性を示しましたが、アルミニウム塩をアジュバントとして用いた（アラムアジュバント）マウスの血清は、強力な中和活性を持つ COVID-19 患者の血清に匹敵する強力な感染抑制能を示しました（図 2）。

※10 中和抗体とは、体内に入ってきたウイルスの増殖や感染症を予防・排除・中和する抗体のことを言い、ワクチンやウイルスの免疫反応として産生されます

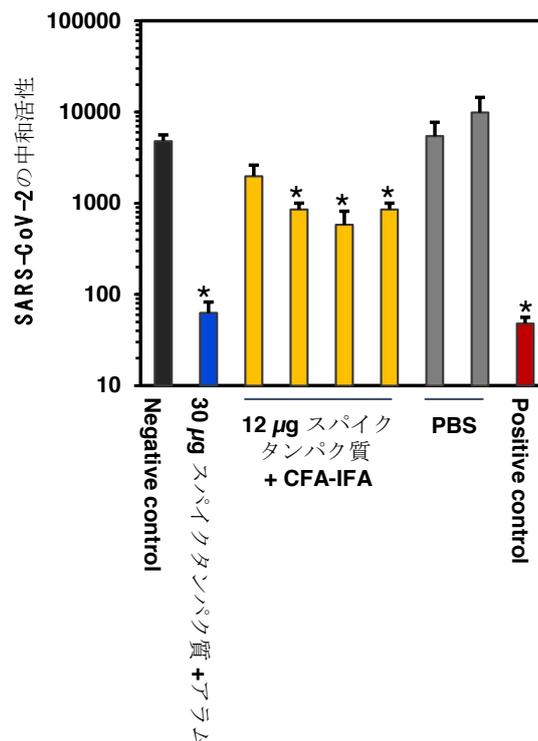


図 2 : スパイクタンパク質抗原を接種したマウス血清の SARS-CoV-2 の中和活性

\*p<0.05, vs Negative control, t 検定、Positive control は COVID19 患者の血清

## 微細藻類ユーグレナ由来パラミロンのアジュバントとしての有効性も示されました

さらに本研究では、微細藻類ユーグレナに含まれる貯蔵多糖であるパラミロンのアジュバントとしての有効性を確認しました。スパイクタンパク質抗原とともにアジュバントとしてのパラミロンを接種したところ、他のアジュバントと遜色ない特異的抗体産生能を示しました（図 3）。また、中和抗体産生能に関しても、マウスごとに個体差はあるものの、一定の中和抗体産生能を持つことが分かりました。さらなる検討が必要ですが、パラミロンをアラムなどの他のアジュバントと組み合わせて使用することで、スパイクタンパク質の使用量を減らすことや、追加の免疫効果を発揮することなどが期待されます。

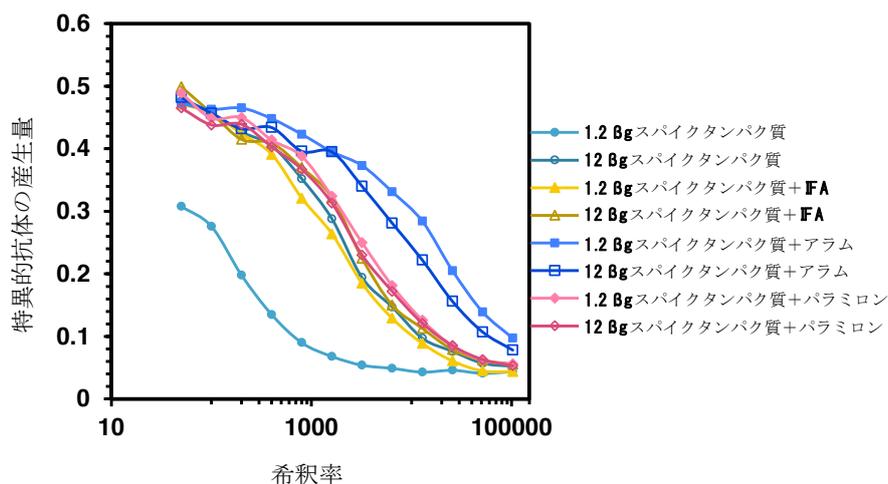


図 3 : スパイクタンパク質抗原を接種する際のアジュバントの検討

今後も KAICO 社とユーグレナ社は、健康食品、医療分野等での研究開発を行ってまいります。

#### <KAICO 株式会社について>

昆虫のカイコを利用して難発現タンパク質の医薬品・診断薬・試薬を開発することを目的に、2018年4月に設立した九州大学発ベンチャーです。KAICO 社は九州大学のオリジナルカイコを利用し、ワクチン、バイオ医薬品、診断薬などの大きな潜在需要がありながら、低コスト生産が実現できていない難発現タンパク質を大量生産できる生産プラットフォームを商業的に構築しています。2021年4月には、開発生産したワクチン抗原タンパク質が、経口摂取によりワクチン効果があることを確認し特許出願しています。

#### <微細藻類ユーグレナ（和名：ミドリムシ）について>

ユーグレナは、ワカメや昆布、クロレラと同じ藻の一種で、動物と植物の両方の特徴を持っており、ビタミン、ミネラル、アミノ酸、不飽和脂肪酸など 59 種類の栄養素をバランスよく含んでいます。なお、ユーグレナ特有の成分で  $\beta$ -グルカンの一種であるパラミロンは、近年機能性についての研究が進み、食品や化粧品などのヘルスケア分野などでの活用が期待されています。

#### <KAICO 株式会社と株式会社ユーグレナの連携について>

KAICO 社とユーグレナ社は、2020年10月より SARS-CoV-2 に対するワクチン開発の共同研究を開始いたしました (<http://www.kaicoltd.jp/press-release/20201001-2/>)。またユーグレナ社は、

KAICO 社が 2021 年 12 月に実施した第三者割当増資 (<http://www.kaicoltd.jp/press-release/20211215-2/>) に参画しております。

<株式会社ユーグレナについて>

2005 年に世界で初めて石垣島で微細藻類ユーグレナ（和名：ミドリムシ）の食用屋外大量培養技術の確立に成功。石垣島で生産したユーグレナ・クロレラなどを活用した機能性食品、化粧品等の開発・販売を行うほか、バイオ燃料の生産に向けた研究、遺伝子解析サービスの提供を行っています。また、2014 年より行っている、バングラデシュの子どもたちに豊富な栄養素を持つユーグレナクッキーを届ける「ユーグレナ GENKI プログラム」の対象商品を、2019 年 4 月より化粧品を含む全グループ商品に拡大。2012 年 12 月東証マザーズに上場。2014 年 12 月に東証一部市場変更。「Sustainability First（サステナビリティ・ファースト）」をユーグレナ・フィロソフィーと定義し、事業を展開。

<https://euglena.jp>