

(様式10)

【16nk0101340j0001】

平成29年5月31日

## 平成28年度医療研究開発推進事業費補助金 (創薬支援推進事業(創薬総合支援事業)) 成果報告書

### I. 基本情報

事業名：(日本語) 創薬支援推進事業・創薬総合支援事業  
(英語) Project Promoting Support for Drug Discovery “The iD3 Booster”

補助事業課題名：(日本語) デングウイルスワクチンの開発  
(英語) Research for Dengue vaccine development

補助事業担当者 (日本語) 感染病理部 部長 長谷川秀樹  
所属 役職 氏名：(英語) Department of Pathology, Director, Hideki Hasegawa

実施期間：平成28年8月1日 ～ 平成29年3月31日

## II. 成果の概要（総括研究報告）

### ・ 補助事業代表者による報告の場合

- 1) 我々はこれまでに DENV と同じフラビウイルス属のウイルスである日本脳炎ウイルス (JEV)、ウエストナイルウイルス (WNV) の VLP 抗原生産の技術開発に成功している。
  - 2) 1~4 型の DENV の VLP 発現用のプラスミドを構築した。
  - 3) VLP 発現系にて発現、分泌を調べた結果、DENV の全ての血清型について発現・分泌されるコンストラクトを得た。発現・分泌を向上させるべく、更なるコンストラクトの至適化を進めた。
  - 4) 至適化した VLP を安定的に発現する CHO 細胞株を樹立した。
  - 5) 安定発現細胞株で作製した 1 型 VLP を抗原とするワクチンをマウスに接種したところ、血清中に DENV1 型に対する ADE 活性の低い中和抗体が誘導された。また、安定発現細胞から作製した 3 型 VLP の免疫原性をマウスで評価し、ワクチン抗原に対する血清抗体が誘導されることを確認した。
- 1) Flaviviruses are a group of enveloped RNA viruses that includes dengue (DENV), yellow fever (YFV), West Nile (WNV), and Japanese encephalitis (JEV) viruses, related important human pathogens that cause severe febrile diseases of global impact. We have established the JEV-VLP and WNV-VLP production system using mammalian cell lines.
  - 2) The DENV complex is composed of four distinct but related viruses, designated as serotypes (serotype I - IV). Expression plasmid constructs of VLP of DENV Serotype I - IV have been established.
  - 3) Expression and secretion of VLP using these expression plasmid constructs were confirmed by ELISA system against flavivirus virus particles. Then, several other candidate plasmid constructs with some modification in ORF were developed to enhance the level of expression.
  - 4) Stable CHO cell lines for these VLPs were generated.
  - 5) Mice were immunized subcutaneously with the DENV1-VLP vaccine derived from the stable CHO cell line, then serum samples were collected from the mice have neutralizing potency against DENV1 virus with reduced ADE. Furthermore, immunization of the DENV3-VLP vaccine had induced the specific antibodies against the vaccine antigen.

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 0 件）

該当なし

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

該当なし

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当なし

(4) 特許出願

該当なし

平成28年度 委託実験調査成果報告書

I. 基本情報

事業名 : (日本語) 創薬支援推進事業・創薬総合支援事業  
(英語) Project Promoting Support for Drug Discovery “The iD3 Booster”

実験調査課題名 : (日本語) デングウイルスワクチンの開発  
(英語) Research for Dengue vaccine development

実験調査担当者 (日本語) 東京大学大学院農学生命科学研究科 特任准教授 寺田透  
所属 役職 氏名 : (英語) Graduate School of Agricultural and Life Sciences,  
The University of Tokyo, Project Associate Professor, Tohru Terada

実施期間 : 平成28年 8月 1日 ~ 平成29年 3月31日

## II. 成果の概要

- 1) 国立感染症研究所の長谷川部長らが構築したデングウイルス (DENV) の VLP 発現用プラスミドの配列に基づき、これが発現する外被タンパク質の立体構造モデルを、2 型 DENV の成熟ウイルス粒子の電子顕微鏡構造を鋳型とした比較モデリング法により構築した。
  - 2) このモデルに基づき、成熟ウイルス粒子における外被タンパク質の間の相互作用を予測した。
  - 3) 未成熟ウイルス粒子における外被タンパク質の立体構造モデルを、低解像度電子顕微鏡構造を用いて分子動力学法により構築した。
  - 4) このモデルに基づき、未成熟ウイルス粒子における外被タンパク質の間の相互作用を予測した。
- 1) We performed comparative modeling to construct structural models of the envelope proteins of dengue viruses (DENVs) (serotypes I–IV) expressed from the plasmids established by Dr. Hasegawa’s group of National Institute of Infectious Diseases based on the electron-microscopy structure of the mature DENV-2 virion.
  - 2) We analyzed the models and predicted intermolecular interactions between the envelope proteins in the matured virion.
  - 3) We performed molecular dynamics simulations to construct structural models the envelope proteins in the immature virion using a low-resolution electron-microscopy structure of the immature virion.
  - 4) We analyzed the models and predicted intermolecular interactions between the envelope proteins in the immatured virion.

## III. 成果の外部への発表

- (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 0 件)  
該当無し
- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表  
該当無し
- (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み  
該当無し
- (4) 特許出願  
該当無し