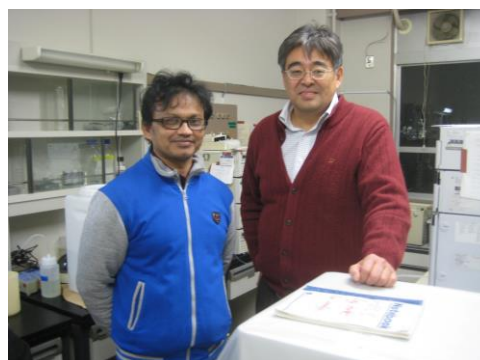


大学名	東京農工大学		
University	Tokyo University of Agriculture and Technology		
外国人研究者	モハマド・モニール・イスラム		
Foreign Researcher	MOHAMMAD MONIRUL ISLAM		
受入研究者	黒田裕	職名	教授
Research Advisor	YUTAKA KURODA	Position	PROFESSOR
受入学部/研究科	工学部生命工学科		
Faculty/Department	Department of Biotechnology and Life Science, Faculty of Engineering		

<外国人研究者プロフィール/Profile>

国籍	Bangladesh
Nationality	BANGLADESH
所属機関	チッタゴン国立大学
Affiliation	University of Chittagong
現在の職名	教授
Position	Professor
研究期間	2017. 11. 15-2018. 1. 13
Period of Stay	November 15, 2017 to January 13, 2018
専攻分野	生化学・生物物理学
Major Field	Biochemistry/Biophysics



農工大研究室にてのMMイスラム教授と受入れ研究者(黒)

<外国人研究者からの報告/Foreign Researcher Report>

①研究課題 / Theme of Research
(1) Construction, expression, purification and biophysical characterization of Solubility Controlling Peptide (SCP) tagged variants of double epitope grafted ED variants. (2) Monitoring protein aggregation using Dynamic Light Scattering (DLS) and Static Light Scattering (SLS).
②研究概要 / Outline of Research
SCP-tagged double epitope-grafted ED3 variants were constructed using site-directed mutagenesis, sequences were confirmed by DNA sequencing. All constructed variants were expressed in E. coli as inclusion bodies and purified by a combination of Ni-NTA and reverse-phase HPLC. Molecular weights were confirmed by MALDI-MS. Biophysical characterization of the variants were confirmed by Analytical HPLC, Circular Dichroism and DLS.
③研究成果 / Results of Research
(1) Four SCP-tagged ED3 variants constructed, expressed and purified successfully. (2) The SCP-tags did not much affected the structure and stability (as observed in CD spectra analyses).
④今後の計画 / Further Research Plan
Further detail biophysical characterization of the SCP-tagged ED3 variants and the effects of SCP-tags on the immunogenicity of double epitope-grafted ED3 in mice model.

<受入研究者からの報告/Research Advisor Report>

① 研究課題 / Theme of Research

本計画では、「デングウイルス由来のED3を用いた血清型特異的検出キットの開発」という研究を実施した。デング熱は蚊によって媒介され、アジアの広い地域で公衆衛生上の問題となっている。デングウイルスは、DEN1~4の4つの血清型に大別され、患者が何れかの血清型に初感染後に他の血清型に再感染すると、免疫交差反応によって、致死率5%と重篤なデング出血熱を発症することがある。本研究では、申請者が先行研究でX線結晶構造解析を行ったデングウイルス由来の糖エンベロープ蛋白質の断片（以下、ED3）を抗原に用いてウイルスを血清型特異的に検出する汎用的な技術を開発することを目的とする。ED3は分子量1万程度のβシートから成る蛋白質であり、そこに、抗体認識部位（エピトープ）及び宿主細胞の受容体の結合部位が座位しているため、デングウイルスの生存・感染に深く関わる蛋白質断片である。本研究において、デングウイルスに於ける免疫交差反応の物理化学的な解明が期待されるほか、デングウイルスの汎用的な検出キットに発展させることが期待される。

② 研究概要 / Outline of Research

デングウイルスの血清型特異的な検出法の開発には、まずDEN1~4を大腸菌で大量発現し、高純度に精製する。次に、ED3をマウスに5回から6回皮下注射し、血清を収集する。ED3と血清のELISA法を用いて、血清型特異的免疫反応を検証する（DEN3型に於いては実験が終了）。特異的な反応を示す血清をキット化（試薬や血清の長期保存用の調整）し、帰国後に検出キットの実用性を、患者の血液を用いてチッタゴン大学病院と共同研究を通じて検証する予定である。

③ 研究成果 / Results of Research

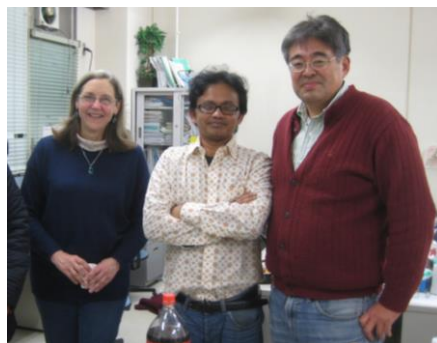
DEN3-ED3とDEN4-ED3及びその変異体を合計6種類の発現系を作製し、大腸菌を宿主に用いて大量発現させた。蛋白質をNi-NTAカラム及び逆相HPLC法を用いて、高純度に精製した。質量分析法（MALDI-TOF MASS）法を用いて精製蛋白質の分子量を検証した。その後、動的光散乱法（DLS）、静的光散乱法（SLS）、円二色性偏光法（CD）を用いて、それぞれの変異体の会合状態及び2次構造含量を検証し、抗原蛋白質がマウスに皮下注射する条件で天然構造を保つことを確認した。組換え蛋白質をマウスに複数回皮下注射し、抗DEN3-ED3とDEN4-ED3血清が生成可能であることを確認し、血清を収集した。帰国後に、両血清が患者の血液からDENウイルスを検出可能かをイスラム氏が検証する。

④ 今後の計画 / Further Research Plan

イスラム氏とは東京農工大学で学位取得後も、教育・研究面で協力してきた。教育面では、両大学間で姉妹校協定を結び、チッタゴン大学から優秀な留学生を東京農工大に継続的に受け入れてきた。研究においても、共同研究を実施して、学術論文や国際学会での共著発表を行っている。現在、イスラム氏はチッタゴン大学教授として祖国の科学技術・人材育成に貢献しており、昨年から当大学運営委員会の理事も務めている。一方、国立大学であるチッタゴン大学でも研究環境は劣っており、本訪問は氏が最先端の科学技術に再び触れる貴重な機会であった。取り分け、本研究によって、デングウイルスに於ける免疫交差反応の物理化学的な解明が期待されるほか、本研究で得る知識や経験は祖国での大学院教育に必ず活かせると考えている。また、この研究に基いたデングウイルスの汎用的な検出キットが開発することで、祖国の公衆衛生の改良に貢献できることが期待される。



受入れ研究室での久しぶりの実験。Getting back to benchwork in Kuroda's lab, TUAT.



送別会(1月9日)にて。左からP.Mc Gahan非常勤講師、MM. Islam博士、受入れ教員/Picture at farewell party taken with English Instructor Patricia Mc Gahan, Professor MM Islam, and host scientist Y. Kuroda