

# 28Z-am05

IFN- $\alpha$ 8 変異体の創製— IFNAR2 アゴニスト—

○谷合 まどか<sup>1</sup>, 有安 利夫<sup>1</sup>, 有安 晴美<sup>1</sup>, 谷本 忠雄<sup>1</sup>, 太田 恒孝<sup>1</sup>,  
福田 恵温<sup>1</sup>(<sup>1</sup>林原生物化学研究所)

【目的】ヒト IFN- $\alpha$ には13種類のサブタイプが存在し、同じレセプターを共有するが、サブタイプ間の生物活性には大きな差がある。その中でも IFN- $\alpha$ 8 は非常に高い生物活性を有するだけでなく、他のサブタイプには無い細胞反応性を有するユニークな分子である。我々は IFN レセプターサブユニット (IFNAR2) への親和性をさらに上げる事で、既存の生物活性を増強させた IFN- $\alpha$ 8 変異体を創製する事を目指した。

【方法】IFNAR2 との結合に関与しているとされる、IFN- $\alpha$ 8 のアミノ酸6残基(L30、R33、R145、A146、M149、R150) をランダムなアミノ酸に置換するために、ファージディスプレイ法を用い、置換体は、IFNAR2 に対するパンニングにより網羅的に検索した。スクリーニングされたクローンは、大腸菌発現させて精製した後、抗ウイルス活性・細胞増殖抑制活性・IFNAR 親和性を評価した。

【結果および考察】上記6アミノ酸残基をコードする塩基配列をNNS置換し、 $1.2 \times 10^8$  pfu のファージライブラリーを構築した。IFNAR2 によるパンニング操作を2回繰り返した後、野生型 IFN- $\alpha$ 8 の塩基配列を切断する制限酵素処理により、効率的に高い生物活性を有する変異体のスクリーニングを行った。その結果、高い生物活性を示したクローンは、いずれも、L30、R33、R150 の塩基配列は置換していたがアミノ酸配列は換わらなかった。一方、R145、A146、M149 はアミノ酸置換され、興味深いことに M149 は Tyr にのみ置換されていた。これら変異体は、LS174T/VSV 系を用いた抗ウイルス活性および各種細胞増殖抑制活性が、野生型 IFN- $\alpha$ 8 の数十倍以上高く、IFNAR2 に対する解離定数  $K_D$  値は、野生型 IFN- $\alpha$ 8 とほぼ同等であったが、結合速度定数  $k_a$  と解離速度定数  $k_d$  は共に低下していた。