

28Z-am05

IFN- α 8 変異体の創製— IFNAR2 アゴニスト—

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

【目的】ヒト IFN- α 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- α 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- α 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- α 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、 1.2×10^8 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- α 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- α 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- α 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。