

29amC-151

抗 Ras 人工抗体 Affibody の取得と細胞内シグナル伝達経路の阻害

○白井 千裕¹, 唐崎 美樹^{1,2}, 関口 昌弘², 北野 幸恵², 佐野 統², 岩崎 剛^{1,2}, 芝崎 誠司^{1,2} (1兵庫医療大薬, 2兵庫医大医リウマチ膠原病科)

【目的】抗体様機能を有する Affibody は、黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus* の細胞壁タンパク質 Protein A に由来するタンパク質分子リガンドである。Protein A を構成する分子内ドメインの一部のコンビナトリアル変異により、特定のタンパク質分子に親和性を賦与することができる。本研究では、ファージディスプレイ法を用いて Affibody のコンビナトリアル変異ライブラリーから、G タンパク質である Ras に親和性を有し、人工抗体として機能する Affibody が取得された。さらに、Ras による細胞内シグナル伝達機能の阻害により、炎症性サイトカイン産生の抑制効果を検討した。

【方法】ファージディスプレイ法により *in vitro* で Ras タンパク質分子に親和性を有することが確認された数種類の Affibody クローンをコードする遺伝子配列を pcDNA3.1(+)に挿入し、滑膜ならびに骨芽細胞に導入した。TNF- α 、オステオカルシン、SIP (スフィンゴシン-1-リン酸) などの刺激により産生される炎症性サイトカインへの Affibody による阻害効果や、細胞増殖への影響を検討した。

【結果および考察】まず、大腸菌発現用ベクターにコードされている Affibody 遺伝子が、上記ベクターにクローン化されていることを確認した。次に、標的培養細胞に導入した Affibody クローンのうち、細胞増殖を抑制するものが確認された。また Affibody による、IL-6 などの炎症性サイトカインの産生抑制についても効果が確認され、リウマチ疾患などに関与する細胞内シグナル伝達経路の阻害効果が期待される。