

9TK-am05Q

合成抗原ペプチドによる HIV-1 gp41 の三量体構造を認識する抗体の誘導

野村 渉¹, 中原 徹^{1,2}, 大矢 亜紀¹, 大庭 賢二³, 田中 智博¹, 橋本 知恵^{1,2}, 海 哲夫¹, 村上 努³, 山本 直樹³, 玉村 啓和^{1,2} (1)東京医歯大生材研, (2)東京医大 院疾患生命研, (3)国立感染症研エイズセ)

【背景】 現在、エイズの治療において逆転写酵素阻害剤、プロテアーゼ阻害剤を組み合わせた多剤併用療法 (HAART) が効果を挙げているが、耐性ウイルスの出現や高額な治療費等の問題がある。新規治療法として期待される HIV ワクチン開発は困難を極めている。本研究では新しい作用点として感染初期過程の膜融合に着目した HIV ワクチン開発を目的とした。

【方法】 HIV_{gp41} の heix 領域にある N363 量体構造は感染初期過程の膜融合で重要になる。合成抗原分子によってこの構造に特異的な抗体を誘導することで膜融合及び感染を阻害できると考えた (図 1)。等価ナリソカー構造を持つ C₃ 対称性の新規低分子テンプレートを作成し、N36 ペプチドを thiazolidine ligation で導入して N363 量体構造を模倣した抗原分子とした。マウスを用いて抗体誘導実験を行い、抗体誘導能、血清中に含まれる抗体の選択性を検討した。

【結果・考察】 合成した人工抗原分子の CD スペクトルでは三量体が単量体に比べて α-ヘリックス性が増加したため、N363 量体構造の形成が示唆された。また、C34 と混合によっても α-ヘリックス性が増加したため膜融合過程において起こる 6 量体形成が反映されていると考察され、合成抗原分子が天然構造を反映していることが示唆された。マウスを用いた免疫実験では抗体誘導が確認され、3 量体型抗原を免疫したマウスの血清では単量体型抗原を免疫したマウスに比べて N363 量体に高い抗体価を示したため、3 量体構造を特異的に認識する抗体の誘導が示された。さらに、3 量体型抗原マウス血清は高い中和活性を示した。最近になって HIV-1 感染者のメモリー B 細胞由来の抗体が抗原構造認識能を有し、強い中和活性を示すことが報告された¹⁾ ことから立体構造特異的抗体を誘導する抗原分子デザインは HIV ワクチンとして有効であると考えられる。

参考文献 1) Walker, L. M. et al. *Science*, 326, 285-289. 2009.

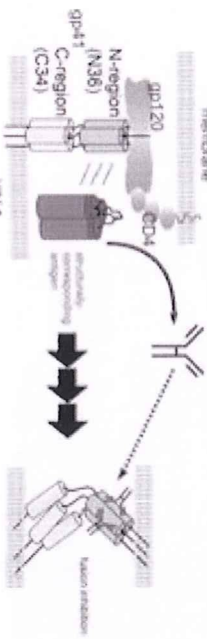


図 1. 膜融合を標的とした構造認識抗体の作用

口頭発表 29TK-am05Q

29 日 9:48~10:00

T-K 会場 津島会場 3F B33

化学系薬学 薬理活性物質2-その他(医薬化学)1

梅澤 直樹 (名市大院薬)

合成抗原ペプチドによる HIV-1 gp41 の三量体構造を認識する抗体の誘導

Specific recognition of HIV-1 gp41 by neutralizing antibodies induced by synthetic peptide antigen

○野村 渉¹, 中原 徹^{1,2}, 大矢 亜紀¹, 大庭 賢二³, 田中 智博¹, 橋本 知恵^{1,2}, 鳴海 哲夫¹, 村上 努³, 山本 直樹³, 玉村 啓和^{1,2}

(1) 東京医歯大生材研, (2) 東京医歯大院疾患生命研, (3) 国立感染症研エイズセ)

ハイライトポスター

8SH-am15

的配列特異的 DNA 組換え酵素の構築を目指した亜鉛フィンガータンパク質の用

増田 朱美^{1,2}, 野村 涉¹, 大庭 賢二³, 奥田 毅^{1,2}, Barbas, III CARLOS F.⁴, 本 直樹³, 玉村 啓和^{1,2} (1)東京医歯大 生体材料工学研, (2)東京医歯大 疾患生命科学科 研究部, (3)国立感染症研 エイズ研セ, (4)Department of Molecular Biology, The Scripps search Institute)

口頭発表 28SH-am15

28 日 11:48~12:00

S-H 会場 就美会場 3F T309

生物系薬学 タンパク質

今井 浩孝 (北里大薬)

亜鉛フィンガータンパク質 (ZFP) は約 30 アミノ酸のββα構造モジュールを有し、αヘリックスのアミノ酸側鎖が DNA 3 塩基と相互作用する。様々なアミノ酸側鎖の組み合わせをもった各コドロンに対応するモジュールを連結させ、任意の DNA 配列に特異的結合をするドメインが構築できる。ZFP を DNA 結合ドメインとした融合型 DNA 組換え酵素 (RecZFP) は能動的 DNA 組換えを行う。この方法は内因性遺伝子を標的とするため、新たな遺伝子ノックアウト法、もしくは遺伝子組み換え法として多様な分野への応用が可能である。本研究では酵素活性の高い RecZFP を構築するためにリンカー配列の影響、および ZFP の結合親和性の影響について検討を行った。

2-6 モジュールの ZFP を作製して結合親和性を評価し、それらを用いた組換え反応を検討した。大腸菌内での組換え反応では標的配列上流に RecZFP 遺伝子をコードしたプロモーターを導入し、一定時間培養後の反応産物中の生成物を定量した。結果として、反応効率が高くなる ZFP モジュール数や酵素のリンカー長に依存することが明らかになった。哺乳類細胞内での組換え反応では標的配列間に GFP 配列を導入した遺伝子を安定的にゲノム遺伝子に導入した細胞を用いた。2-6 モジュールの RecZFP を導入後、7-14 日間

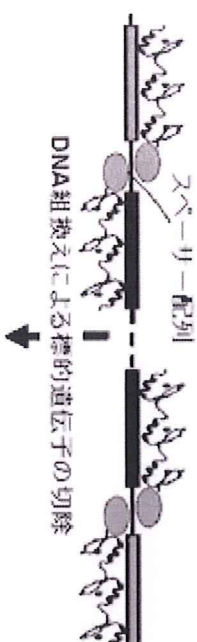


図: RecZFP による組換え反応モデル図

にわたって GFP に由来する蛍光強度の変化量を測定した。その結果、哺乳類細胞内での組換え反応が観察された。今後更に酵素ドメインを標的配列に対して最適化することによって、遺伝子の関連する疾病に対して応用することが可能になると期待できる。

標的配列特異的DNA組換え酵素の構築を目指した亜鉛フィン

ガータンパク質の応用

Application of zinc finger protein for construction of sequence-specific DNA recombinase

○増田 朱美^{1,2}, 野村 涉¹, 大庭 賢二³, 奥田 毅^{1,2}, CARLOS F.

Barbas,III⁴, 山本 直樹³, 玉村 啓和^{1,2}

(1)東京医歯大 生体材料工学研, (2)東京医歯大 疾患生命科学科研究部, (3)国立 感染症研 エイズ研セ, (4)Department of Molecular Biology, The Scripps Research Institute)

