

535

# Interleukin 4 低産生性 2 型ヘルパー T 細胞株の単離とその性質 ○氏家あづさ、疋田正喜、大森斉 (岡山大・工・生物応用)

【目的】近年、アレルギー疾患の原因物質である IgE 抗体の産生調節機構に関する研究が行われてきた。その結果、マウス B 細胞を LPS と interleukin 4 (IL4) で刺激する抗原非特異的な系においては IL4 が IgE の産生に必須であることが証明された。しかし、T 細胞の影響下で特異抗原に対する IgE を産生する、生理的条件下における IL4 の必要性については未だに不明である。そこで我々は、この点を解明するために IL4 産生能が著しく低下した 2 型ヘルパー T 細胞 (Th2) 株を単離し、その性質を検討したので報告する。

【方法】親株の Th2 clone には、in vitro で抗原特異的 IgE 産生を誘導できることを昨年度本大会で報告した D10.G4.1 細胞 (D10) を用いた。限界希釈した D10 を抗原刺激し、増殖の認められた clone について、2 種類の抗 IL4 抗体を用いる ELISPOT アッセイを繰り返すことにより IL4 低産生性株のスクリーニングを行った。

【結果】スクリーニングにより得られた 4 clone 中、ELISPOT アッセイが完全に陰性であった 1 clone を G2 細胞と名づけ詳細な検討を加えた。その結果、G2 細胞は親株の D10 に比べ約 1/20 の IL4 産生能しか有しておらず、IL4 mRNA レベルにおいても顕著な低下が認められた。しかし、IL5 に関しては mRNA レベルが D10 の約 1/2 にしか低下しておらず、非特異的にサイトカインの合成が阻害されているのではないことが示された。また、G2 細胞は特異抗原に対する増殖性を十分に維持していた。現在、G2 細胞と D10 を用いて抗原特異的な IgE の産生に IL4 が必須であるか否かについて詳細な検討を行っている。

Isolation and characterization of type 2 helper T cell clone with low productivity of interleukin 4. ○Ujike Azusa, Masaki Hikida and Hitoshi Ohmori (Dept. Biotechnol., Okayama Univ.)

【Key Words】IgE, interleukin 4, type 2 helper T cell clone

536

# 遺伝子組換えマウスミエローマ細胞の無血清培養による抗 HSV 高免疫原性融合タンパク質の生産 (武田薬品・生技研、\* 創薬研) ○伊藤隆司、竹河志郎、前島一孝、藤沢幸夫\*、澤田秀和

【目的】t-gD-IL-2は、単純ヘルペスウィルス I 型 (HSV-1) 深山株外被糖蛋白質 D の C 末端欠損体 (t-gD) と IL-2 を遺伝子工学的に融合させたもので、非融合型の抗原に比べて遙かに免疫原性が強く、ウィルス感染症の治療や感染予防のためのワクチンとしての有用性が期待されている (S. Hinuma et al: FEBS Letters, 288, 138 (1991); M. Nakao et al: J. Infect. Dis., 169, 787 (1994))。

我々は、この t-gD-IL-2 の工業的生産プロセスを確立する目的で検討した。

【方法及び結果】t-gD-IL-2 生産用の培地として、ダイゴ T 培地にアミノ酸類、インスリン、エタノールアミン、亜セレン酸、塩化第二鉄、 $\alpha$ -CyD、ブルロニック F68、デキサメサゾン、ポリペプトンを添加した無血清培地を開発した。

一方、Sp-neo-HDL-245 株を親株として限界希釈培養法によるクローニングと選抜を繰り返した結果、浮遊バッチ培養で約 100 mg/l の生産性を示す高産生株を得ることができた。この株を用いて 2 l 容ジャーフェンターで浮遊灌流培養を行ったところ、バッチ培養時に比べて生産性はさらに数倍高くなった。

この培養上清液から、ブチルトリオパール 650M、トリスアクリル GF05、スーパー Q-トリオパール 650M およびセファクリル S-300HR カラムクロマトグラフィーを順次行うことにより、高品質の t-gD-IL-2 を精製単離することができた。

Production of a high immunogenic fusion protein against HSV by serum-free culture of recombinant mouse myeloma cells. ○T. Itoh, S. Takekawa, K. Maejima, Y. Fujisawa and H. Sawada (Takeda Chemical Ind. Ltd.)

【Key Words】fusion protein, serum-free culture, mouse myeloma cells