

研究課題（テーマ）	SARS-CoV-2 スパイクタンパク質に対する一本鎖抗体の AI 技術による改良とウイルス親和性および感染中和活性の評価		
研究者	所属学科等	職	氏 名
代表者	工学部生物工学科	講師	牧野 祥嗣
分担者	富山県衛生研究所 ウイルス部	部長	谷 英樹
研究結果の概要			
新型コロナウイルス感染症（COVID-19）は落ち着きつつあるが、再パンデミックや、より強力な変異体の出現可能性は残ったままである。これまでに、原因ウイルス SARS-CoV-2 とその変異株を標的とする様々なバイオ製剤が開発されてきた。その1つである抗体は、抗体医薬として患者の重症化を防ぐ、抗原検査でウイルスを検出するなどの、重要な役割を担っている。我々はこれまでに、より有効な抗コロナ抗体の開発を目指し開発を進めたところ、ウイルス表面 S1 タンパク質に親和性を持つと考えられるクローンを複数取得することができた。そこで本研究では、実用レベルを目指した取得クローンの親和性改良、および、ウイルスを利用した結合活性および中和活性の評価を目的とした。研究を通して確立した抗体開発手順は、各種変異体や、他のウイルスに対応する scFv の開発にも応用可能である。 既に取得済みであった、4 種類の特に結合活性に優れると考えられたクローンは、大腸菌による組換え生産において、ほとんど可溶性画分に発現しない。そこで、取得したクローンのフレームワーク（FR）領域を、他の安定性、可溶性等に優れた FR に置換する、CDR グラフティングを試みた。先行研究（Andre Azevedo Reis Teixeira et al., <i>MABS</i>, 2021, 13(1), e1980942）では、この手法による抗体の特性改良が報告されている。その結果、CDR グラフティング後で可溶性発現量の改善が見られた。当初、AI での親和性および可溶性の改良を予定していたが、この結果を受けて、まずはこれら 8 つのクローンの親和性等の評価を行うことにした。 ELISA による評価の結果、これら 8 つのクローンは、S1 に比較的高い特異性をもって結合することがわかった。そこで、分子間相互作用解析装置である Octet RED96e を用いて、S1 上の感染部位である RBD ドメインとの親和性を評価したところ、N2 および N2_C クローンを除く 6 種のクローンすべてで、0.1 nM 未満の K_D という、非常に高い親和性が認められた。さらに、Octet システムにより、感染のトリガーとなる RBD とヒト細胞上の ACE2 の相互作用の阻害活性を評価したところ、程度の違いはあったが、すべてのクローンで阻害活性が認められた。最後に、これらの scFv による、SARS-CoV-2 シュードタイプウイルスの細胞感染への阻害活性を評価したところ、そのような阻害活性が一定程度あることが示唆された。これらのことから、開発した scFv について、医薬、診断薬での応用可能性が示唆された。			
今後の展開			
当初は AI による結合活性、scFv の特性等の改良を計画していたが、解析を進めるに従い、取得したクローンが高い S1（または RBD）親和性を持っており、また、RBD-ACE2 相互作用の阻害活性、細胞感染阻害活性（部分的）も持つなど、高い性能を持つことがわかったため、AI による活性改良から方針を修正した。ただし、scFv の発現量は依然として十分ではなく、細胞感染阻害活性にも副作用があることがわかっている。そこで、発現量の改良や、副作用の抑制を新たな目標として、AI による scFv 全体のアミノ酸配列のチューニングを試みる。			