

異分野融合による新型コロナウイルスをはじめとした感染症との共生に資する
技術基盤の創生

2020 年度採択研究代表者

2021 年度 年次報告書

津本 浩平

東京大学 大学院工学系研究科
教授

Antibody-Based Molecular Design に基づくウイルスの機能制御技術および
センシング技術の開発

§ 1. 研究成果の概要

本研究は、新型コロナウイルスを標的として Antibody-Based Molecular Design の実現を目指すとともに、創薬やセンシングの標的となり得るウイルス構成蛋白質に関する基礎研究を実施している。そのために、タンパク質工学、構造生物学、有機合成化学、一分子計測および電子顕微鏡などの分光学的手法を融合させ、中和抗体の低分子量化を通して、新型コロナウイルスに対する新しい治療薬および診断薬創出へ向けた技術開発に取り組む。本プロジェクトは 2021 年 2 月より開始され、2022 年 3 月までに以下の成果を得た。

- 本研究に必要な SARS-CoV-2 の主要蛋白質である、S 蛋白質、3CL-Mpro 蛋白質等の発現・精製系を確立した。こうした系を活用して、様々な研究機関と共同研究を実施している。
- SARS-CoV-2 プロテアーゼ 蛋白質をアルパカおよびウサギに対して免疫し、免疫ファージライブラリにより、ヒットクローンを得た。現在、発現ベクターを構築し、発現精製検討中である。
- SARS-CoV-2 プロテアーゼに対する低分子化合物のスクリーニングを実施し、ヒット化合物を得た。
- 中和抗体の単ドメイン化および CDR 切り出しによる低分子化を行い、抗原蛋白質に対する弱い結合親和性を確認した。上記の結合親和性の向上を目指し、CDR ペプチドの環状化のための条件検討を行なっている。
- SARS-CoV-2 N 蛋白質の動態を精査するために、gRNA に由来するいくつかの RNA 断片やポリアデニル酸などの RNA 試料と、N 蛋白質との間の相互作用を解析した。
- 計算機シミュレーションを用いた解析により、プロテアーゼおよび S 蛋白質 RBD に対する変異の影響を定量的に評価した。また、SARS-CoV RBD のダイナミクスと比較することで、CoV および CoV-2 に対して交差反応性を示す中和抗体設計のための指針を得た。

§ 2. 研究実施体制

(1) 津本グループ

- ① 研究代表者: 津本 浩平 (東京大学 大学院工学系研究科 教授)
- ② 研究項目
 - 動物免疫による抗体取得
 - 抗体の物性機能解析
 - 抗体の低分子量化

(2) 高橋グループ

- ① 主たる共同研究者: 高橋 聡 (東北大学 多元物質科学研究所 教授)
- ② 研究項目
 - 一分子蛍光分光法を使った N タンパク質および S タンパク質の特性と抗体結合の影響解析
 - 一分子蛍光分光法を使った N タンパク質の特性解析
 - 一分子蛍光イメージングを使った N タンパク質の特性解析

(3) 福原グループ

- ① 主たる共同研究者: 福原 秀雄 (北海道大学 大学院薬学研究科 准教授)
- ② 研究項目
 - 低分子化合物の取得と合成
 - 抗原タンパク質の調製

(4) 橋口グループ

- ① 主たる共同研究者: 橋口 隆生 (京都大学 ウイルス・再生医科学研究所 教授)
- ② 研究項目
 - 抗原タンパク質の調製
 - 抗原タンパク質および中和抗体の立体構造解析

【代表的な原著論文情報】

- 1) Matsunaga R, Tsumoto K. Addition of arginine hydrochloride and proline to the culture medium enhances recombinant protein expression in *Brevibacillus choshinensis*: The case of RBD of SARS-CoV-2 spike protein and its antibody, *Protein Expr Purif* 2022 Jun;194:106075. doi: 10.1016/j.pep.2022.106075.
- 2) Kuroda D, Tsumoto K. Microsecond molecular dynamics suggest that a non-synonymous mutation, frequently observed in patients with mild symptoms in Tokyo, alters dynamics of the SARS-CoV-2 main protease, *Biophys Physicobiol*, 2021 Aug 21;18:215-222. doi: 10.2142/biophysico.bppb-v18.022

- 3) Hasegawa T, Imamura RM, Suzuki T, Hashiguchi T, Nomura T, Otsuguro S, Maenaka K, Sasaki M, Orba Y, Sawa H, Sato A, Okabe T, Nagano T, Kojima H. Application of Acoustic Ejection MS System to High-Throughput Screening for SARS-CoV-2 3CL Protease Inhibitors, *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 2022 Mar 1;70(3):199–201. doi: 10.1248/cpb.c21-01003