

## 新型コロナウイルスを捕捉・不活性化する人工抗体

名古屋大学大学院工学研究科の 村上 裕 教授の研究グループは、国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター感染・免疫研究部の 岩谷 靖雅 部長との共同研究で、新型コロナウイルスを捕捉・不活性化する人工抗体を作製しました。

本研究では、独自に開発した人工抗体を高速に作製する方法（TRAP 提示法）を用いて、新型コロナウイルスに特異的にかつ強く結合する複数の人工抗体を、わずか4日で取得することに成功しました（2020年4月7日に標的タンパク質を受け取り、同10日には配列解析を終えた）。得られた人工抗体は、単量体で新型コロナウイルス表面のスパイクタンパク質に  $K_D = 0.4$  nM 程度と非常に強く結合し、ヒトに感染するウイルスとしては最も近縁である SARS コロナウイルスの表面のスパイクタンパク質には結合しませんでした。また、本人工抗体を用いて、患者の鼻ぬぐい液から高効率に新型コロナウイルスを濃縮することにも成功し、さらに新型コロナウイルスと人工抗体を混ぜることで、新型コロナウイルスを細胞に感染できないように中和することにも成功しました。本人工抗体の骨格はヒト由来のタンパク質ですが、大腸菌で容易に大量生産でき、抗原検査による迅速な診断とともに、中和抗体としても応用できると考えられます。また、本研究で開発した人工抗体を高速に作製する方法（TRAP 提示法）は、COVID-19 だけでなく今後のパンデミックに素早く対処するための新技術となることが期待されます。

この研究成果は、2020年9月19日（日本時間）に「Science Advances」（米国科学振興協会雑誌）オンライン版に掲載されました。

## 【ポイント】

- ・わずか4日間で10兆種類の人工抗体群から、標的に結合する人工抗体を選び出すことができた。
- ・新型コロナウイルスに単量体で強く結合した ( $K_D = 0.4$  nM 程度)。
- ・SARS コロナウイルスには結合せず特異性が高い。
- ・患者の鼻ぬぐい液中の新型コロナウイルスに結合して濃縮できた。
- ・新型コロナウイルスに対して高い中和活性を持っていた ( $IC_{50} = 0.5$  nM 程度)。

## 【研究背景】

ウイルスのタンパク質に強く結合する抗体は、治療目的の中和抗体、もしくは抗原検査の際にウイルスタンパク質を特異的に捕捉する抗体として使用できる。そのため、迅速で高性能の抗体の作製技術は、急速なパンデミックを抑えるために必要不可欠である。一般的に、抗原検査に使用する抗体や中和抗体は、数ヶ月の開発期間を要する動物免疫によって得られる。この開発期間を短縮するために、近年、人工抗体を試験管内で創製する研究開発が進められている(2018年ノーベル化学賞のファージ提示法、mRNA提示法、cDNA提示法など)。

## 【研究内容】

我々は、新しい試験管内抗体作製法として、高い多様性(10兆種類)をもつ人工抗体候補群の中から高速に人工抗体を選び出す技術を開発した。まず、本方法を用いて、新型コロナウイルスに対する人工抗体の作製を行った(図1)。我々は2020年の4月7日に標的となる新型コロナウイルスのスパイクタンパク質を受け取り、10兆種類の人工抗体候補群の中から標的に結合する人工抗体をわずか4日で同定することに成功した。

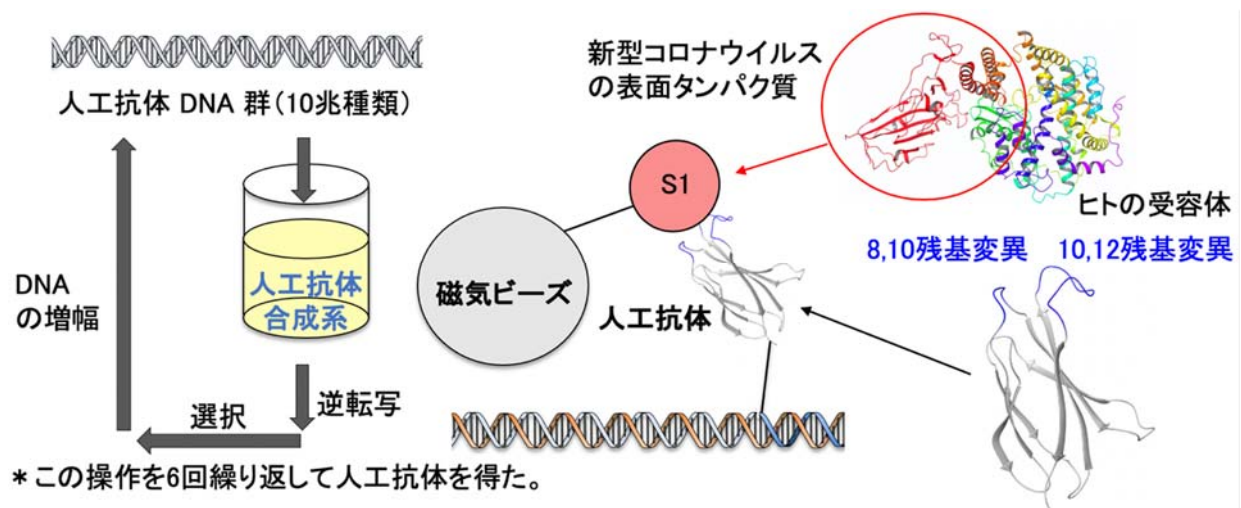


図1 TRAP提示法(人工抗体を高速に作製する方法)による、新型コロナウイルスに結合する人工抗体の創製。

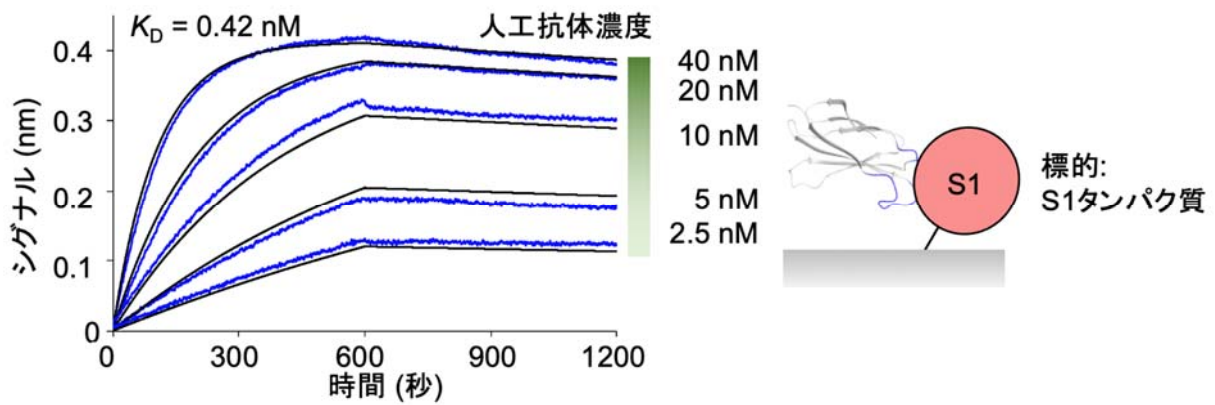


図2 バイオレイヤー干渉法を用いた人工抗体の、新型コロナウイルスが持つスパイクタンパク質への結合力決定。スパイクタンパク質のS1サブユニットをセンサー上に固定化して、600秒まで人工抗体存在下、600秒後からは人工抗体非存在下で計測した。

得られた人工抗体は、単量体で新型コロナウイルス表面のスパイクタンパク質に  $K_D = 0.4 \text{ nM}$  程度と非常に強く結合した（図2）。一方で、ヒトに感染するウイルスとしては最も近縁のSARSコロナウイルス表面のスパイクタンパク質には結合せず、高い特異性を示した。また、本人工抗体を患者の鼻ぬぐい液と混ぜ、人工抗体を磁気ビーズで集めることで、高効率に新型コロナウイルスを濃縮することにも成功した。さらに新型コロナウイルスと人工抗体を混ぜることで、新型コロナウイルスを細胞に感染できなくなるように中和することができた。この中和活性は、 $IC_{50} = 0.5 \text{ nM}$  程度とこれまでに報告されている中和抗体のうち最良のものと同程度であった。本人工抗体の骨格はヒト由来のタンパク質であり抗原性は低いと予想され、さらに、通常の抗体とは異なり大腸菌で容易に大量生産できる。今後、中和抗体としての応用とともに、抗原検査による迅速な診断にも役に立つと考えられる。また、本研究で開発した人工抗体を高速に開発する方法（TRAP提示法）は、短時間で人工抗体を創製できるため、今後のパンデミックに素早く対処するための新技術となることが期待される（図3）。

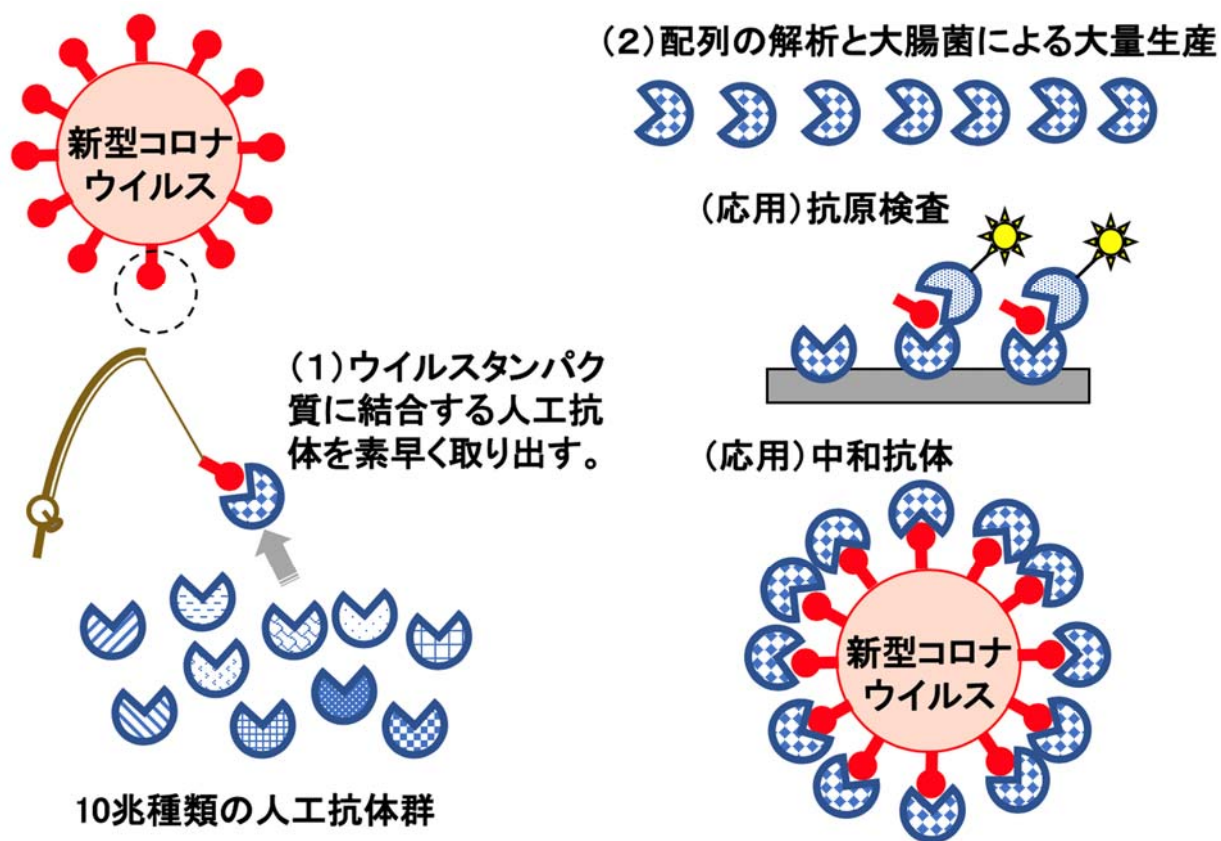


図3 人工抗体を高速に開発する方法（TRAP 提示法）を用いて、パンデミックウイルスに迅速に対処。

【用語説明】

人工抗体：既存のタンパク質のループ部分や表面に、標的と結合する配列を持つ人工的な抗体。通常は、ランダムなアミノ酸配列を導入したタンパク質群から選択操作によって得る。骨格にヒト由来のタンパク質を使用することで抗原性を下げることが出来る。

中和抗体：ウイルス感染を阻止する能力を持つ抗体

抗原検査と PCR 検査の比較：迅速で高精度な診断はウイルス感染のパンデミックを制御するために重要である。PCR 検査はウイルス感染診断法として優れた技術であるが、検体の集約の必要性や検査に時間を要するため、パンデミックの速度が速い場合には限界がある。理想的には、簡便な抗原検査でスクリーニングを行い、精度が高い PCR 検査は確定診断に活用することで、より確実にスムーズな診断が期待できる。

【論文情報】

雑誌名 : Science Advances

論文タイトル : Antibody-like proteins that capture and neutralize SARS-CoV-2  
(SARS-CoV-2 を捕捉・中和する人工抗体)

著者 : T. Kondo , Y. Iwatani , K. Matsuoka , T. Fujino , S. Umemoto ,  
Y. Yokomaku , K. Ishizaki , S. Kito , T. Sezaki , G. Hayashi , H. Murakami  
(近藤太志<sup>1</sup>・岩谷靖雅<sup>2,3</sup>・松岡和弘<sup>2</sup>・藤野公茂<sup>1</sup>・梅本駿<sup>1</sup>・横幕能行<sup>2</sup>・  
石崎敬悟<sup>1</sup>・鬼頭清太<sup>1</sup>・瀬崎貴大<sup>1</sup>・林剛介<sup>1,4</sup>・村上裕<sup>1,5</sup>)  
(1 名大院工、2 名医セ、3 名大院医、4 さきがけ、5 名大ナノライフ)

DOI:10.1126/sciadv.abd3916