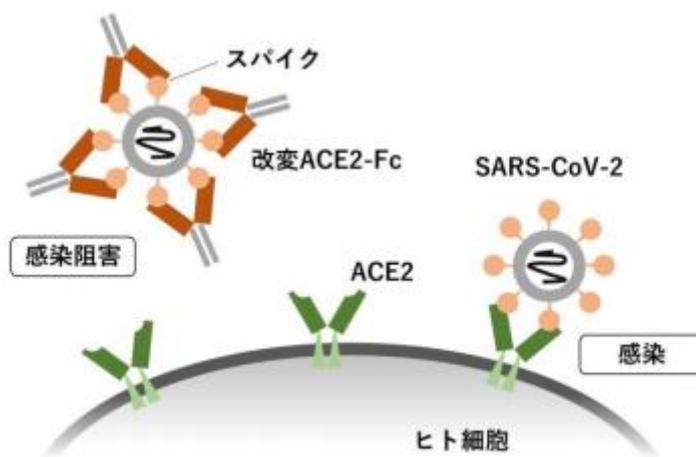


## 京都府立医科大学など、新型コロナウイルス中和タンパク製剤を開発

現在世界中で問題となっている新型コロナウイルス感染症(COVID-19)に対して有効な治療法はまだ確立されておらず、早急な治療薬やワクチンの開発が求められています。

京都府立医科大学循環器内科学 星野温 助教、大阪大学蛋白質研究所 高木淳一 教授、微生物病研究所 岡本徹 教授らの研究グループは新型コロナウイルスの受容体である ACE2 タンパクのウイルス結合力を 100 倍以上高めることに成功しました。新型コロナウイルスは、ヒト細胞の ACE2 タンパクと結合することで感染しますが、結合力を高めた高親和性改変 ACE2 タンパクを用いることで、ヒト細胞への感染を阻害する効果が期待されます。

今後はこの高親和性改変 ACE2 タンパクを用いたウイルス中和タンパク製剤の創薬を(株)生命科学インスティテュートと共同で行います。



### 【背景】

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)による感染症(COVID-19)の感染者は全世界で5000万人を超え、130万人以上の方が亡くなられています。新型コロナウイルスは粒子表面にあるスパイクタンパクがヒトの細胞表面にあるACE2タンパクに結合することで感染が起こります。そのため、治療方法の一つとしてスパイクタンパクをブロックして中和する方法があり、現在この中和製剤として抗体製剤の開発が盛んに行われています。しかし抗体製剤ではウイルスの遺伝子変異によりスパイクの形状が変

化して抗体が結合できなくなるエスケープ変異(1)が懸念されています。この問題を克服するために、共同研究グループは新型コロナウイルス受容体である ACE2 タンパクに着目し、ウイルスとの結合力を高めることで高い中和活性を持つタンパク製剤の開発に取り組みました。

### 【研究手法と成果】

共同研究グループでは指向性進化法という、言わば試験管内で ACE2 タンパクをウイルスに結合しやすくなるように進化させる方法を用いました。まず ACE2 遺伝子をエラーが入りやすい条件で増幅させることで、約 10 万種類の ACE2 変異体ライブラリを作製します。次に、それぞれの変異体を細胞表面に発現させてウイルスのスパイク成分とよく結合するものを回収します。回収された ACE2 変異体にさらに変異を導入し、同様の流れでよりスパイク成分と結合するものを回収します。これを繰り返すことで最終的に ACE2 のウイルススパイクとの結合力を 100 倍以上に高めることに成功しました(図 1)。結合力の指標である解離定数(KD 値)は野生型が 41.4nM に対して改変 ACE2 は 0.37nM と抗体製剤と同等以上の結合力を達成しました。

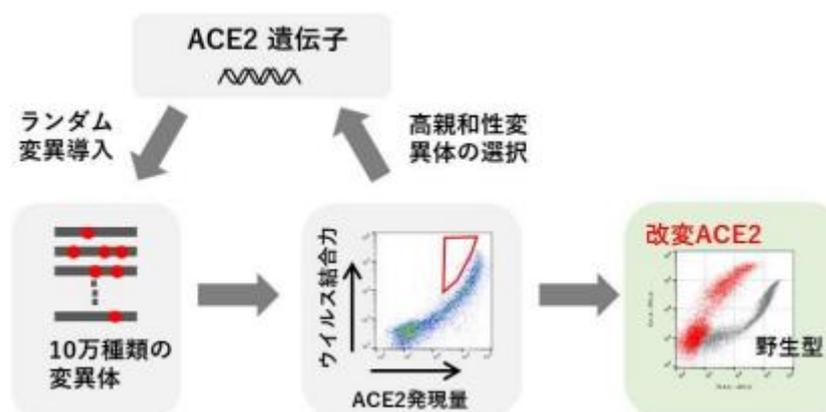


図 1. 指向性進化法による高親和性 ACE2 開発の概要

次にこの高親和性改変 ACE2 に抗体の Fc 領域(3)を結合させたタンパク製剤を合成し機能評価を行いました。Fc を結合させることで体内での薬物動態が安定化する事や、2 量体になり中和活性が向上する事が期待できます。シュードウイルス(4)に対する中和実験では 50%感染阻害濃度(IC50)が野生型では 12.6 $\mu$ g/mL であるのに対して改変型では 0.055 $\mu$ g/mL と約 200 倍の有効性を認めました。また新型コロナウイルスに対する中和実験では一般的な抗体製剤の血中濃度領域において改変型 ACE2-Fc で良好なウイルス中和活性が確認されました(図 2)。

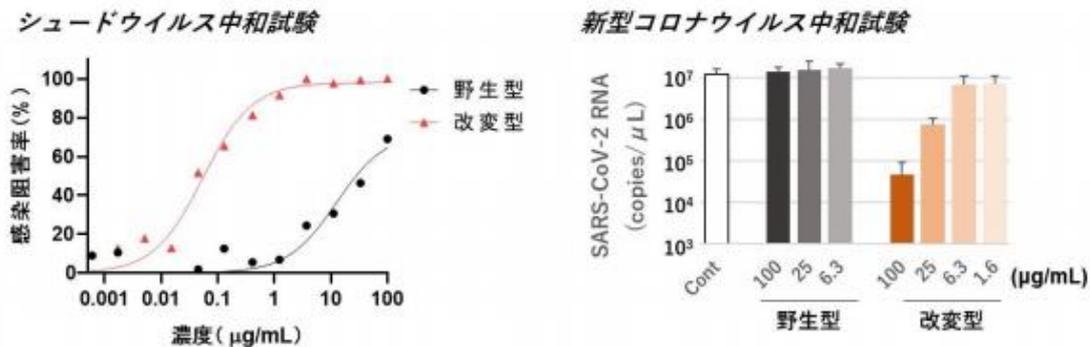


図 2. 改変 ACE2-Fc 製剤におけるウイルス中和試験

シュードウイルス中和試験では各濃度の ACE2-Fc とウイルスを 293T/ACE2 細胞と 1 時間反応させ、48 時間後にルシフェラーゼアッセイ法により感染率を評価(左側)。新型コロナウイルス中和試験では各濃度の ACE2-Fc とウイルスを Vero6/TMPRSS2 細胞と 2 時間反応させ、24 時間後に培地中に分泌されたウイルスコピー数をリアルタイム PCR 法で評価した(右側)。

### 【今後の展開】

本研究で開発された高親和性改変 ACE2 タンパクを用いて、高いウイルス中和活性を持ち、且つウイルスの遺伝子変異による薬剤耐性が問題とならない新たなモダリティによる治療薬の開発に(株)生命科学インスティテュートと共同で取り組みます。そしてこの製剤を、安全にヒトへ投与し普及させることができれば、世界を脅かしている COVID-19 に終止符を打つことが期待されます。

論文情報

タイトル : High affinity modified ACE2 receptors prevent SARS-CoV-2 infection

雑誌 : bioRxiv

URL:<https://doi.org/10.1101/2020.09.16.299891>

日本語発表資料

[https://resou.osaka-u.ac.jp/ja/research/2020/20201118\\_3](https://resou.osaka-u.ac.jp/ja/research/2020/20201118_3)