

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	新型コロナウイルス検出および治療薬シーズとなる人工核酸分子の探索				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	轟木 堅一郎
	研究分担者	所属・職名	東京農工大学・教授	氏名	池袋 一典
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	轟木 堅一郎

講演題目	新型コロナウイルス検出および治療薬シーズとなる人工核酸分子の探索
------	----------------------------------

研究の目的、成果及び今後の展望

【目的】新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)による感染症(COVID-19)の拡大が未だ止まない今、世界規模での治療法や診断法、予防法の確立が切望されている。各国でワクチン接種が進められているものの新たな変異株の出現や、医療提供状況の格差から、世界中の多数が抗体を有し事態が終息するにはなお数年を要し、かつ多くの被害者がで続けることが予想される。本研究において我々は、これまでに確立してきたDNAアプタマー獲得実績を元に、SARS-CoV-2を特異的に認識するDNAアプタマーを開発し、安価かつ世界中で安定供給可能なCOVID-19の新たな感染阻害剤および抗原検査法開発の橋頭堡とすることを目的とした。開発するDNAアプタマーは、SARS-CoV-2表面にあるスパイクタンパク質(S1)に特異的に結合することで、気道上皮細胞にあるアンジオテンシン変換酵素2(ACE2)への結合を介し感染抑制することを期待した。

【方法】24 bpのランダム配列とプライマー結合配列をもつ66 bpのオリゴDNAをmgスケールで移動相に加え、Fc-S1タンパク質(Sino Biological社製)をプロテインAカラムに固定化したタンパク質精製LCにより半日程度結合解離反応を繰り返した。S1-Fcに強く結合したオリゴDNAを回収し、次世代シーケンシング解析により約80,000配列を決定した。これらの配列を*in silico*アプタマー候補予測プログラム(SMART Aptamer¹⁾)にて解析し、クラスタリング、縮重度、2次構造の安定性を指標に上位30位までの候補配列を選抜した。これらを我々が開発した抗体医薬のハイスループットスクリーニング法であるELAA法²⁾に適用し最適配列を探索した。獲得したアプタマーのS1への結合部位を推定するべく、アプタマーはRNA composerにより2次構造へと変換し、HDOCK³⁾ server上でS1との*in silico*ドッキングシミュレーションを行った。

【結果】今回開発した手法により、ループ構造を持つ24塩基配列のS1特異的アプタマーを獲得することができた。S1に対する解離定数(K_d) = 33 nMであり、中和抗体などに匹敵する高い親和性を有していた。H-DOCKによるドッキングシミュレーションの結果から、本アプタマーがS1のN末端ドメインに結合することが示唆された。本ドメインはACE2への直接結合部位ではないが、結合部位の機能を制御し、感染増強に関わる重要な機能領域であるとの報告⁴⁾もあり、本アプタマーがSARS-CoV-2を認識するリガンドであるのみならず、感染重症化抑制のための創薬シーズとなることが期待された。

【参考文献】1) *Anal. Chem.*, **92**, 3307 (2020), 2) *Anal. Chem.*, **91**, 9125 (2019), 3) *Nat. Protoc.*, **15**, 1829 (2020), 4) *Cell*, **184**, 3452 (2021).