

新型コロナウイルスに対する人工抗体 Monobody の親和性成熟による中和活性の向上

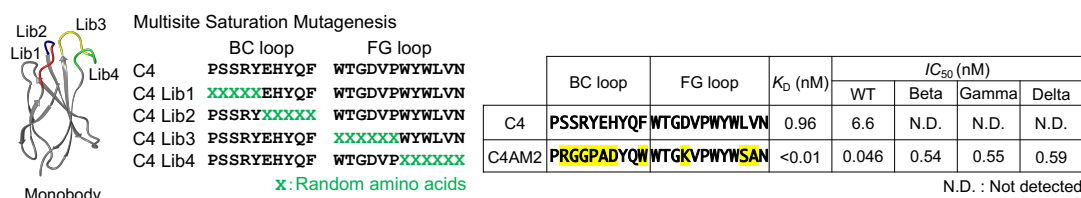
(名大院工¹・国立病院機構名古屋医療センター²・名大院医³・名大ナノライフ⁴) ○近藤 太志¹、松岡 和弘²、藤野 公茂¹、梅本 駿¹、林 剛介¹、岩谷 靖雅^{2,3}、村上 裕^{1,4}

Improvement of neutralizing activity of monobody against SARS-CoV-2 by affinity maturation (¹Graduate School of Engineering, Nagoya University, ²Department of Infectious Diseases and Immunology, Clinical Research Center, National Hospital Organization Nagoya Medical Center, ³Division of Basic Medicine, Graduate School of Medicine, Nagoya University, ⁴Institute of Nano-Life-Systems, Institutes of Innovation for Future Society, Nagoya University) ○Taishi Kondo¹, Kazuhiro Matsuoka², Tomoshige Fujino¹, Shun Umemoto¹, Gosuke Hayashi¹, Yasumasa Iwatani^{2,3}, Hiroshi Murakami^{1,4}

We report affinity maturation of monobodies against the RBD of SARS-CoV-2 and the neutralization activity against SARS-CoV-2 wild-type as well as variants of concerns. We selected matured monobodies from multiple-site saturation libraries by using the *in vitro* selection method, the TRAP display. One of the clones showed high affinity ($K_D < 0.01$ nM) against the RBD of SARS-CoV-2. Furthermore, the monobody C4-AM2 efficiently neutralized wild-type SARS-CoV-2 ($IC_{50} = 46$ pM, 0.62 ng/ml) as well as the Alfa ($IC_{50} = 1.0$ ng/ml), the Beta ($IC_{50} = 7.2$ ng/ml), and the Gamma ($IC_{50} = 7.4$ ng/ml) variants infection to the host cells. **Keywords** : Directed Evolution; Neutralizing antibody; SARS-CoV-2; Antibody-like proteins

我々は 10 kDa 程度と小さい Monobody 人工抗体骨格を用いて TRAP 提示法によって、スパイクタンパク質に対して高い親和性を持つ 7 種類の Monobody を 4 日間で選択することに成功している¹⁾。その中のクローン C4 は細胞を用いた中和活性測定で SARS-CoV-2 に対して $IC_{50} = 6.6$ nM と強い中和活性を示した。

そこで、C4 の中和活性の向上を目指して、親和性成熟を行なった。C4 の BC、FG ループの 5,6 残基をランダム化した mRNA ライブラリを構築し、スパイクタンパク質に対してセレクションを行なった。その結果、各ライブラリで出現割合が高かった配列を用いた C4-AM1 では、解離定数が $K_D = 0.11$ nM と約 9 倍に向上した。さらに、よく保存されていた部分を固定し、その他の部分をランダム化した第二世代ライブラリを構築し、より厳しい条件で選択を行なった。その結果、得られた C4-AM2 は、解離定数 10 pM 以下となり、中和活性も $IC_{50} = 46$ pM, 0.62 ng/ml、変異株でもアルファ 1.0 ng/ml、ベータ 7.2 ng/ml、ガンマ 7.4 ng/ml、デルタ 8.0 ng/ml と大幅に向上した。



1) Kondo, T., et al, *Sci. Adv.* **2020**, 6 (42), eabd3916.