

Title	新型コロナウイルスの感染メカニズムを標的とする革新的新薬の合理的設計・創製
Sub Title	Rational design of innovative drugs targeting infection mechanism of SARS-CoV2
Author	大澤, 匡範(Osawa, Masanori)
Publisher	福澤基金運営委員会
Publication year	2023
Jtitle	福澤諭吉記念慶應義塾学事振興基金事業報告集 (2021.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>COVID-19の原因となるSARS-CoV-2は、ウイルス表面に発現しているSpike(SP)タンパク質が、ヒト細胞上のアンジオテンシン変換酵素II (hACE2) に結合することでヒトの細胞質内へ侵入、感染する。SARS-CoV2-SPとhACE2のProtein-Protein Interaction (PPI)の結合界面は、hACE2のヘリックス表面に3つの結合部位としてそれぞれ10Å程度離れて分布しており、広く浅いといった特徴を有する。そのため、これを阻害するには従来の「低分子薬らしさ」の指標である「分子量500以下」という従来の考え方を越えた、より大きな分子(中分子)が望ましい。また、中分子創薬で昨今着目されているペプチド・核酸医薬は生体内安定性や膜透過性が低いという問題がある。そこで本研究では、SARS-CoV2-SとhACE2のPPIを標的として、生体内安定性や膜透過性の問題が回避可能な「合成中分子」化合物を用いて、このPPIを直接阻害する化合物の創製を目指す。今年度は、これまでに我々が構築してきた中分子化合物ライブラリー中の5000化合物を対象に、SARS-CoV2-Sを発現したシュードウイルス感染系およびSP-ACE2のPPI阻害を評価するELISAでのスクリーニングを行った。シュードウイルス感染系では、4化合物のヒットを得ることができ、生ウイルス感染系で検証したところ、感染阻害活性を示した。しかし、ELISAではPPI阻害活性が見られなかったことから、別の作用機序による感染抑制作用であることが示唆された。一方、シュードウイルス感染系で細胞毒性が見られた化合物をELISAで評価したところ、3化合物にPPI阻害活性が認められた。</p> <p>また、本研究で得られるであろうヒット化合物とSPあるいはACE2との相互作用様式を解明し合理的分子設計に繋げるために、SPおよびACE2の発現系を構築し、大量発現・調製法を確立した。そこで、ELISAでの3ヒット化合物について、NMRを用いてSPおよびACE2との直接の相互作用の有無を検証したところ、これらの3化合物はACE2に結合することが分かった。今後、構造生物学的な解析を進め、合理的分子設計を行っていく。</p> <p>SARS-CoV2, which is responsible for COVID-19, enters into human cell by binding to ACE2 on the human cell surface using the Spike protein (SP) of the virus. Protein-Protein Interaction (PPI) between SP-ACE2 occurs at the wide and shallow interface. In order to inhibit the PPI, middle-sized compounds with molecular weight of higher than 500. Here, we aim to discover synthetic middle-sized compounds to inhibit the PPI as candidates for the innovative drugs against COVID-19.</p> <p>We evaluated 5,000 middle-sized compounds by pseudo-virus infection assay and ELISA assay. We found 4 hits compound by pseudo-virus infection assay. However, they did not exhibit inhibitory activity for the PPI by ELISA assay. From the ELISA assay, we found 3 compounds. Then, in order to investigate whether the compounds bind to SP or ACE2, we established large scale expression and purification method for the two proteins, and executed the binding assay by NMR spectroscopy, indicating that they all bind to ACE2. We will carry out the structural biological analysis to obtain structural basis of the PPI inhibition for further rational drug design.</p>
Notes	申請種類：福澤基金研究補助
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO12003001-20210002-0027

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	薬学部	職名	教授	補助額	1,500 千円
	氏名	大澤 匡範	氏名 (英語)	Masanori Osawa		
研究課題 (日本語)						
新型コロナウイルスの感染メカニズムを標的とする革新的新薬の合理的設計・創製						
研究課題 (英訳)						
Rational design of innovative drugs targeting infection mechanism of SARS-CoV2						
研究組織						
氏名 Name		所属・学科・職名 Affiliation, department, and position				
横川真梨子 (Mariko Yokogawa)		薬学部・専任講師				
1. 研究成果実績の概要						
<p>COVID-19の原因となるSARS-CoV-2は、ウイルス表面に発現しているSpike(SP)タンパク質が、ヒト細胞上のアンジオテンシン変換酵素II(hACE2)に結合することでヒトの細胞質内へ侵入、感染する。SARS-CoV2-SPとhACE2のProtein-Protein Interaction (PPI)の結合界面は、hACE2のヘリックス表面に3つの結合部位としてそれぞれ10Å程度離れて分布しており、広く浅いといった特徴を有する。そのため、これを阻害するには従来の「低分子薬らしさ」の指標である「分子量500以下」という従来の考え方を超えた、より大きな分子(中分子)が望ましい。また、中分子創薬で昨今着目されているペプチド・核酸医薬は生体内安定性や膜透過性が低いという問題がある。</p> <p>そこで本研究では、SARS-CoV2-SとhACE2のPPIを標的として、生体内安定性や膜透過性の問題が回避可能な「合成中分子」化合物を用いて、このPPIを直接阻害する化合物の創製を目指す。</p> <p>今年度は、これまでに我々が構築してきた中分子化合物ライブラリー中の5000化合物を対象に、SARS-CoV2-Sを発現したシュードウイルス感染系およびSP-ACE2のPPI阻害を評価するELISAでのスクリーニングを行った。シュードウイルス感染系では、4化合物のヒットを得ることができ、生ウイルス感染系で検証したところ、感染阻害活性を示した。しかし、ELISAではPPI阻害活性が見られなかったことから、別の作用機序による感染抑制作用であることが示唆された。一方、シュードウイルス感染系で細胞毒性が見られた化合物をELISAで評価したところ、3化合物にPPI阻害活性が認められた。</p> <p>また、本研究で得られるであろうヒット化合物とSPあるいはACE2との相互作用様式を解明し合理的分子設計に繋げるために、SPおよびACE2の発現系を構築し、大量発現・調製法を確立した。そこで、ELISAでの3ヒット化合物について、NMRを用いてSPおよびACE2との直接の相互作用の有無を検証したところ、これらの3化合物はACE2に結合することが分かった。今後、構造生物学的な解析を進め、合理的分子設計を行っていく。</p>						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
<p>SARS-CoV2, which is responsible for COVID-19, enters into human cell by binding to ACE2 on the human cell surface using the Spike protein (SP) of the virus. Protein-Protein Interaction (PPI) between SP-ACE2 occurs at the wide and shallow interface. In order to inhibit the PPI, middle-sized compounds with molecular weight of higher than 500. Here, we aim to discover synthetic middle-sized compounds to inhibit the PPI as candidates for the innovative drugs against COVID-19.</p> <p>We evaluated 5,000 middle-sized compounds by pseudo-virus infection assay and ELISA assay. We found 4 hits compound by pseudo-virus infection assay. However, they did not exhibit inhibitory activity for the PPI by ELISA assay. From the ELISA assay, we found 3 compounds. Then, in order to investigate whether the compounds bind to SP or ACE2, we established large scale expression and purification method for the two proteins, and executed the binding assay by NMR spectroscopy, indicating that they all bind to ACE2. We will carry out the structural biological analysis to obtain structural basis of the PPI inhibition for further rational drug design.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
米澤 朋起、清水 祐吾、池田 和由、、山本 雄一朗、野口 耕司、酒井 祥太、深澤 征義、横川 真梨子、大澤 匡範	COVID-19の原因となるタンパク質-タンパク質相互作用を標的とする合成中分子阻害剤のin silico解析	日本薬学会年会	2022年3月			
大澤匡範	新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の原因PPIを標的とする合成中分子阻害剤の合理的設計プラットフォーム	第5回 Translational and Regulatory Sciences シンポジウム	2022年1月			
大澤匡範	AI・ケモインフォマティクス・構造生物学の連携による新規 Protein-Protein Interaction(PPI)阻害化合物の探索	産官学創薬スクール「神経疾患に対する創薬トランスレーショナルリサーチを学ぶ」	2022年1月			