

# 加熱変性リゾチームをベースとした 新規抗 SARS-CoV-2 ペプチド製剤の開発

帯広畜産大学・グローバルアグロメディシン研究センター・助教 武田 洋平

## ■ 目的

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)は2019年の出現以降、瞬く間に世界中に蔓延し未だパンデミックの終息の兆しは見えていない。そこで本研究では、ウイルス感染制御対策の更なる強化に寄与し得る新規食品由来 SARS-CoV-2 不活化物質のシーズとして加熱変性リゾチームに着目した。これまでの研究において、加熱変性リゾチームが SARS-CoV-2 を反応時間依存的に不活化することを明らかにしてきた。そこで本研究では、加熱変性リゾチームを構成する全長タンパク質のうち、異なる領域のアミノ酸配列を有する複数のペプチド断片を SARS-CoV-2 と作用させウイルス不活化活性を評価することで、加熱変性リゾチームの不活化活性のより詳細な構造活性相関の解明を試みた。また、加熱変性リゾチーム液中の塩濃度やウイルス液中の有機物濃度が SARS-CoV-2 不活化活性に与える影響を評価することで、加熱変性リゾチームのウイルス不活化活性に関する更なる知見の獲得を目指した。

## ■ 方法

加熱変性リゾチームのウイルス不活化活性を担う活性中心のアミノ酸領域を特定するため、4種類の合成ペプチド(Pep 1: 129のアミノ酸残基を持つ全長リゾチームのうちの1~35番目のアミノ酸残基; Pep 2: 36~61番目; Pep 3: 62~97番目; Pep 4: 98~129番目)を合成した。各試験液(陰性対照液である超純水、加熱変性リゾチーム、及び上記4種のペプチド断片を単独または2種類混合した液)をウイルス液と混合し24h反応させた後に、各群におけるウイルス力価を算出し、各試験液のウイルス不活化活性を評価した。また塩濃度の影響の評価試験においては、各試験液(NaCl非含有超純水、NaCl含有超純水、NaCl非含有加熱変性リゾチーム液、NaCl含有加熱変性リゾチーム液)とウイルス液をそれぞれ混合した。有機物濃度の影響の評価試験においては各試験液(超純水、加熱変性リゾチーム液)と牛血清アルブミン(BSA)非含有ウイルス液またはBSA含有ウイルス液をそれぞれ混合した。これら各混合液を1h反応させた後、ウイルス力価を算出し、各試験液のウイルス不活化活性を評価した。

## ■ 結果および考察

各ペプチド断片単独または異なる2種類のペプチド断片を組み合わせた場合の SARS-CoV-2 不活化活性を全長加熱変性リゾチームと比較した結果、単独のペプチド断片のみならず、2種類のペプチド断片を組み合わせた場合でも明確なウイルス不活化活性は認められなかった。以上の結果から、加熱変性リゾチームが強いウイルス不活化活性を発揮するためには全長が必要であることが示唆された。また、加熱変性リゾチーム液中の塩濃度が上昇することでウイルス不活化活性が増加することが示された。過去の知見から、塩濃度の上昇により加熱変性リゾチームがウイルスの凝集を促進する可能性が示されており、このようなウイルス凝集が不活化活性増強に寄与したと推測される。なお、多くのウイルス不活化物質においては、ウイルス液中の有機物の含有量が増加するとウイルス不活化効率が低下することが知られている。対照的に、加熱変性リゾチームによるウイルス不活化効率は有機物(BSA)の増加の影響を受け難いことが示された。このような性質は、有機物による汚染が激しい環境下におけるウイルスの不活化に加熱変性リゾチームが効果的に応用できる可能性を示唆しており、より厳格なウイルス感染制御対策の実行に寄与し得ると考えられる。

## ■ 結語

本研究により、加熱変性リゾチームの構造活性相関やウイルス不活化効率に影響を与える環境要因に関する新たな知見が得られた。今後は、加熱変性リゾチームの新規ウイルス不活化剤としての社会実装をより推し進めるために、更なるウイルス不活化活性の増強を達成することを目的に研究を継続する。