

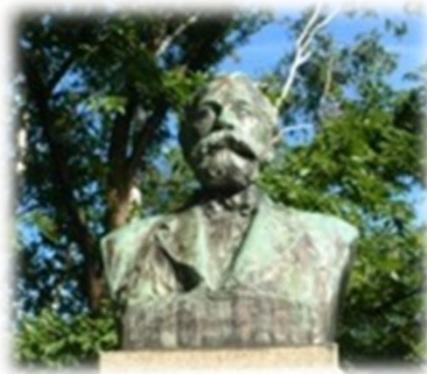


**HOKKAIDO**  
UNIVERSITY

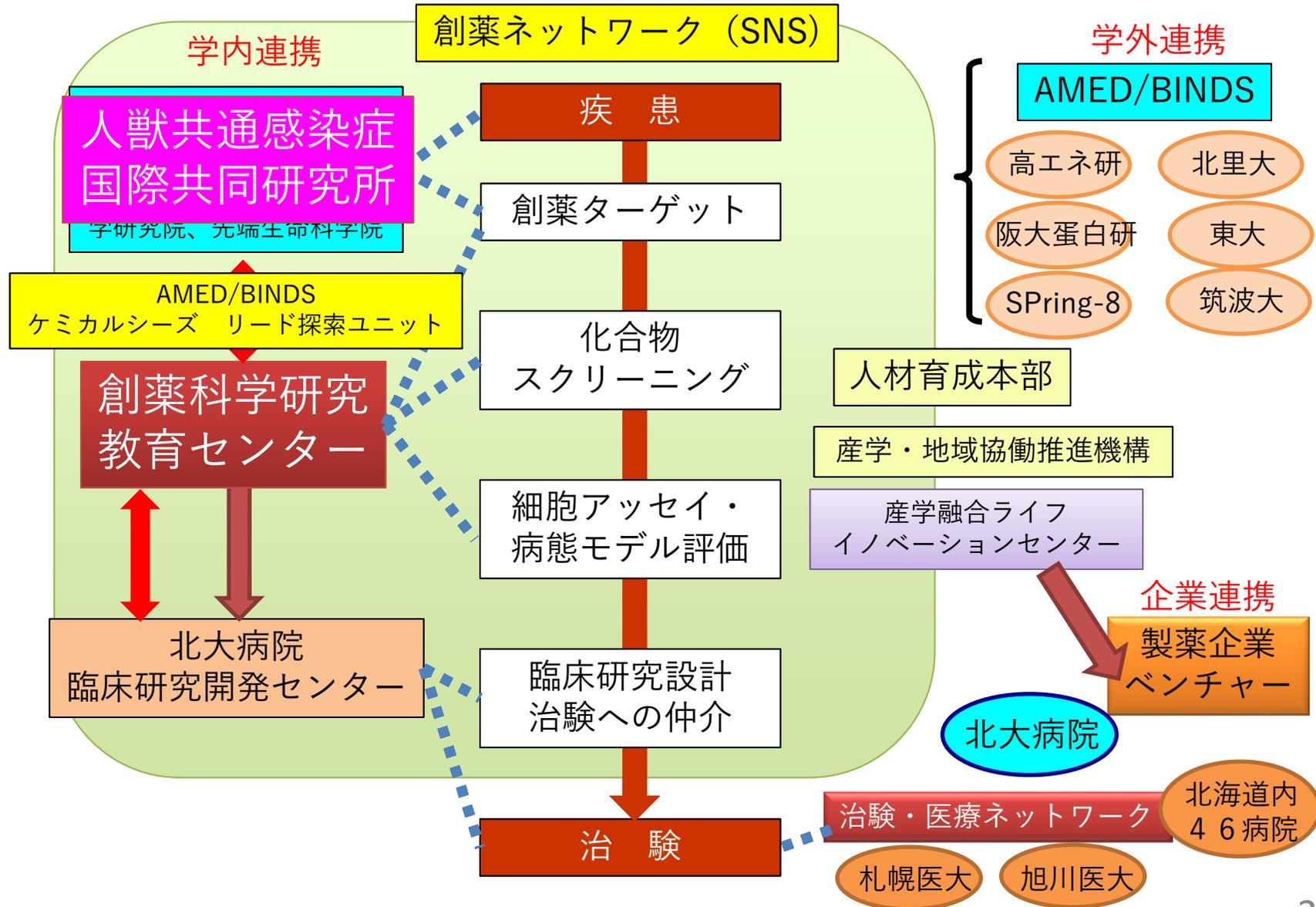
人獣共通感染症国際研究所  
BSL3クライオ電子顕微鏡  
国際連携へ

前仲勝実

(北海道大学薬学研究院・人獣共通感染症国際研究所)

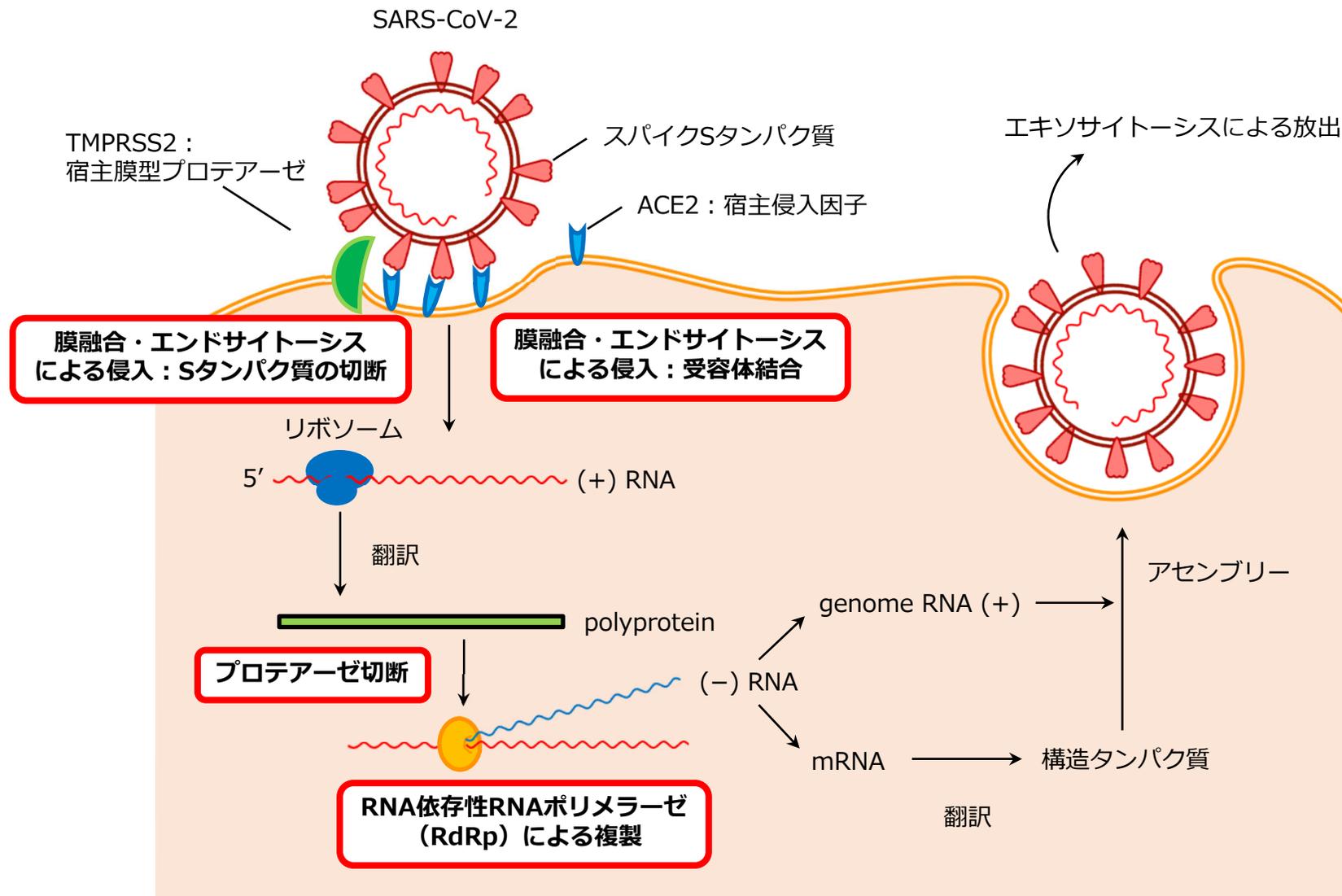


# 北海道大学創薬研究の運営体制





# Drug Targets for SARS-CoV-2

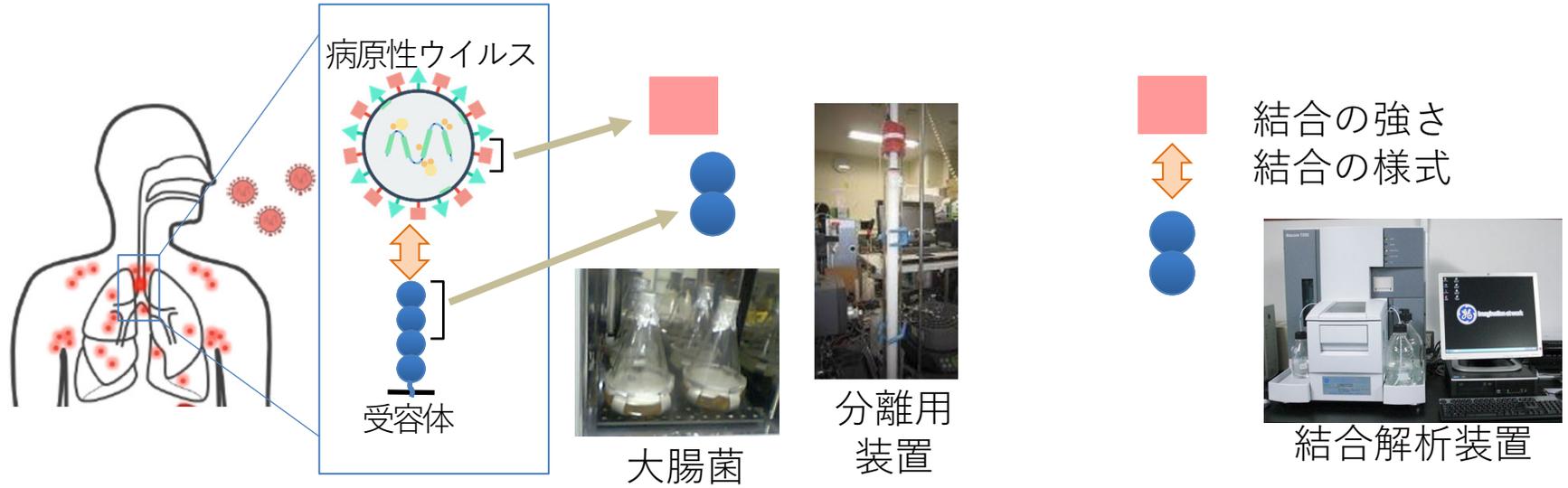


# 創薬開発のスキーム

① ターゲット探索

② 標的タンパク質の作成

③-1 機能評価



③-2 構造解析

④-1 化合物スクリーニング  
化合物ライブラリー

⑤ 改良、製造、使用へ



# クライオ電子顕微鏡：構造生物学における革新的な分解能の向上

分解能の向上

革新技術の導入

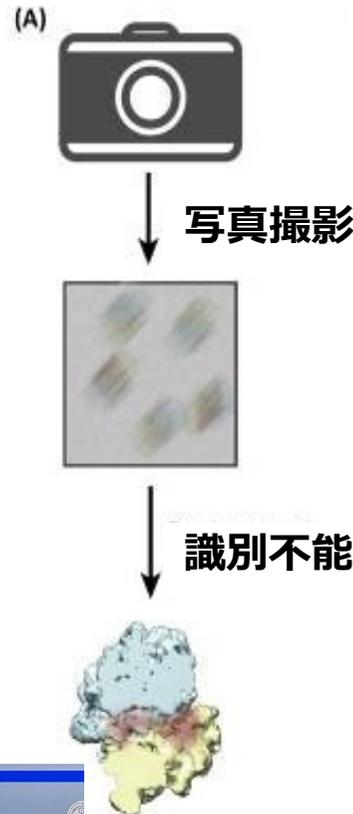
最先端クライオ電子顕微鏡の利用

従来  $\longrightarrow$  最新

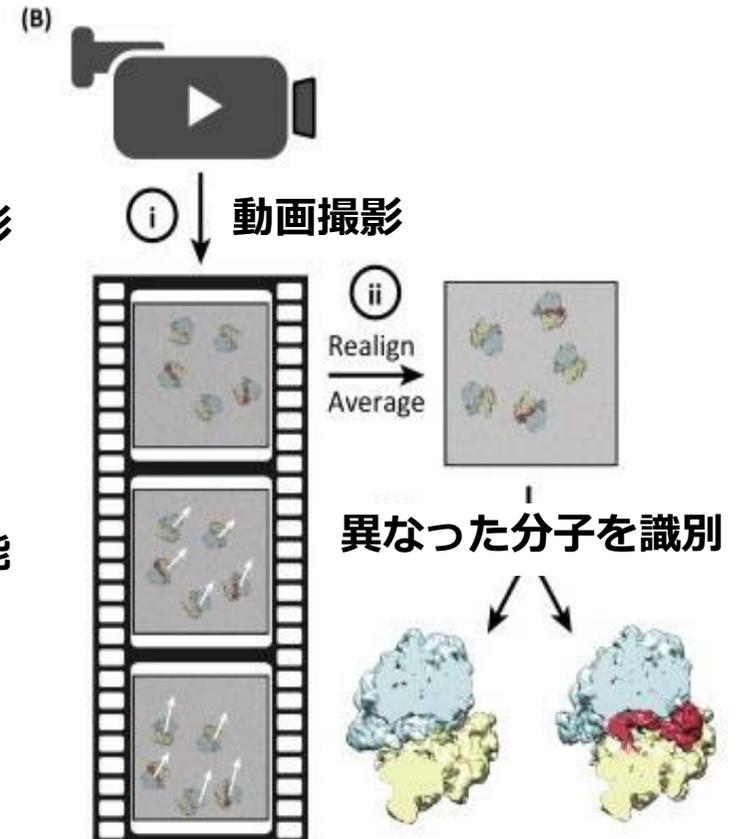
17 Å    10 Å    4 Å

蛋白質分子の構造が見える！

従来の電子顕微鏡



最先端クライオ電子顕微鏡



*Trends in Biochemical Sciences*, 40(1), 49–57, 2015

The Nobel Prize in Chemistry 2017

Nobelpriset i kemi 2017

Jacques Dubochet  
Université de Lausanne,  
Switzerland

Joachim Frank  
Columbia University, New  
York, USA

Richard Henderson  
MRC Laboratory of  
Molecular Biology,  
Cambridge, UK

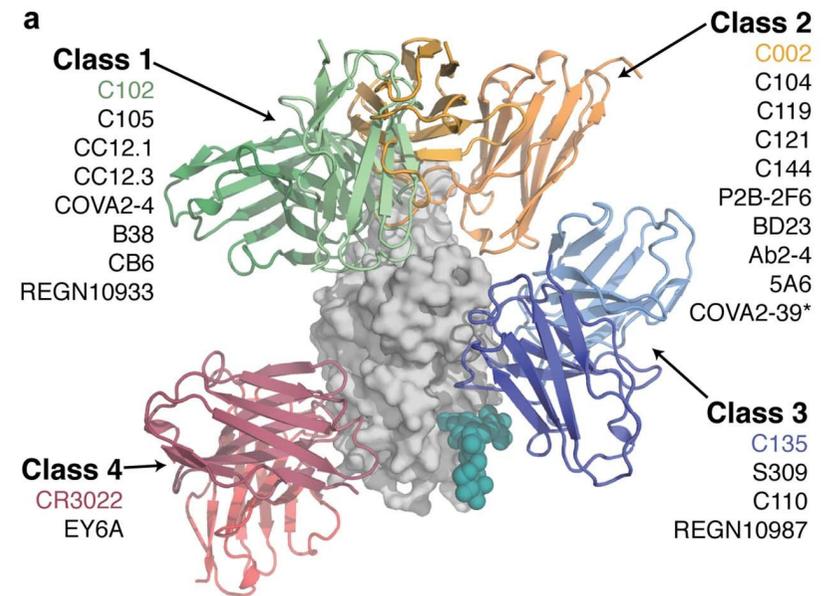
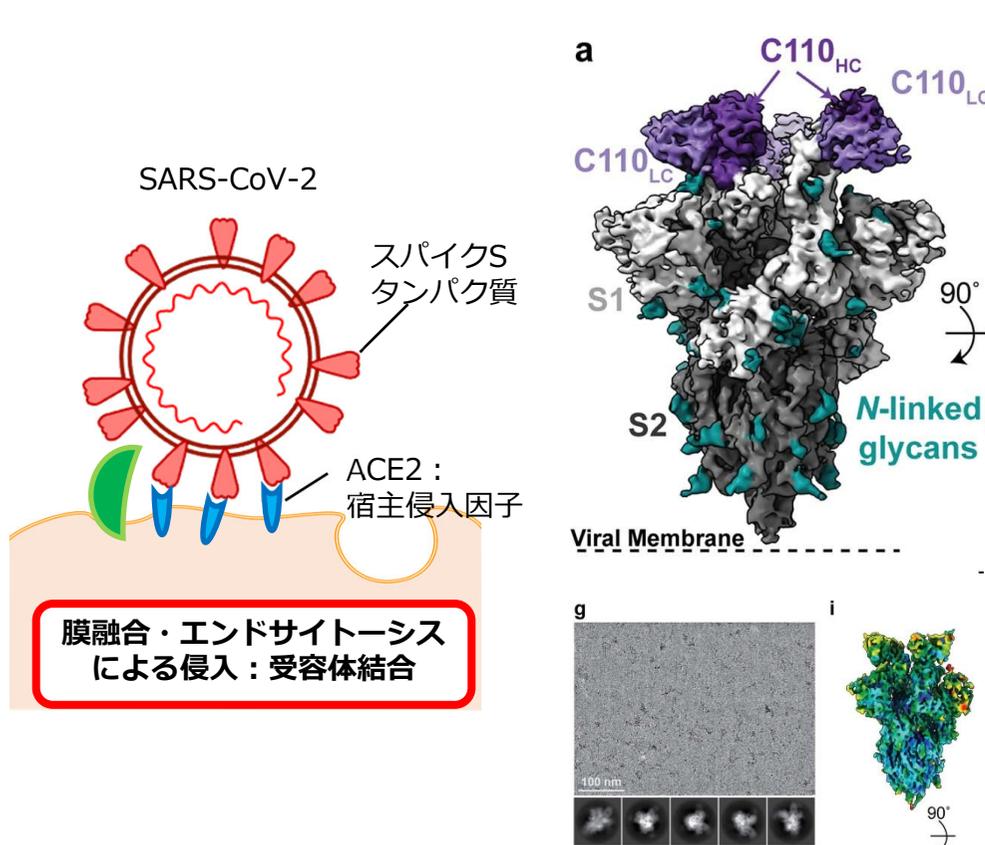
2017年ノーベル化学賞  
クライオ電子顕微鏡開発に貢献した3名に授与



# スパイクS蛋白質を標的とした抗体医薬品の開発

スパイクS蛋白質と抗体との立体構造はX線結晶構造解析とクライオ電子顕微鏡解析の併用：**抗体の機能の理解とクラス分け**

## SARS-CoV-2 スパイクS蛋白質



Nature (2020). <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2852-1>

スパイクS蛋白質の全体構造はクライオ電子顕微鏡解析でなければ迅速に決定できなかった

# 薬学研究院創薬科学研究教育センター (2011~)



## バイオフィース創薬グローバルステーション (2020~)

Global station for Biosurfaces and Drug discovery



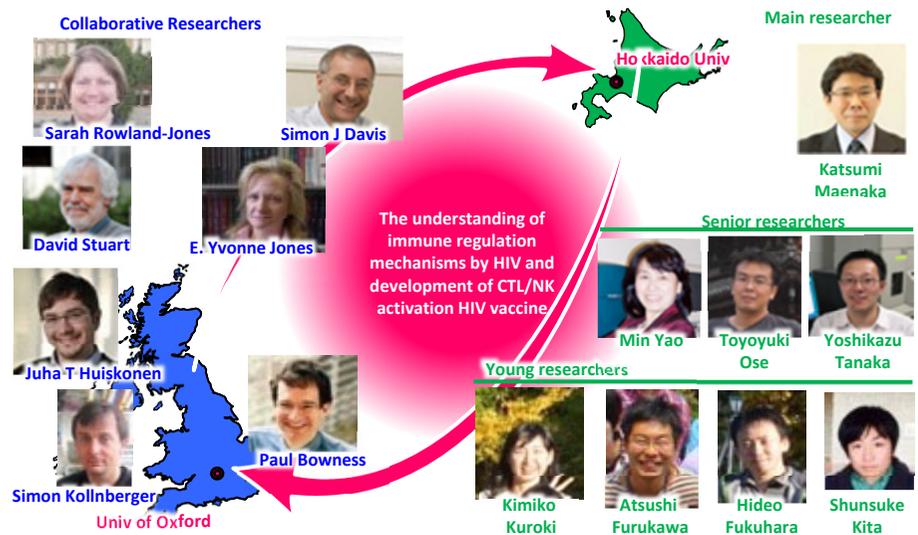
Global Station for Biosurfaces and Drug Discovery



### オックスフォード大学とのグローバル連携に基づくアカデミア創薬と教育

立体構造に基づく薬剤設計 - 化学化合物のオリジナルライブラリー  
中分子, 生物学的製剤, ワクチン

#### 優秀な研究者の循環を加速する戦略的国際ネットワークを推進するためのJSPSプログラム(2015-2018)



#### 最先端クライオ電子顕微鏡解析の連携

#### 北海道大学バイオフィースプロジェクト(2018-2023)シンポジウム



#### オックスフォード大学 4人の教授 来学

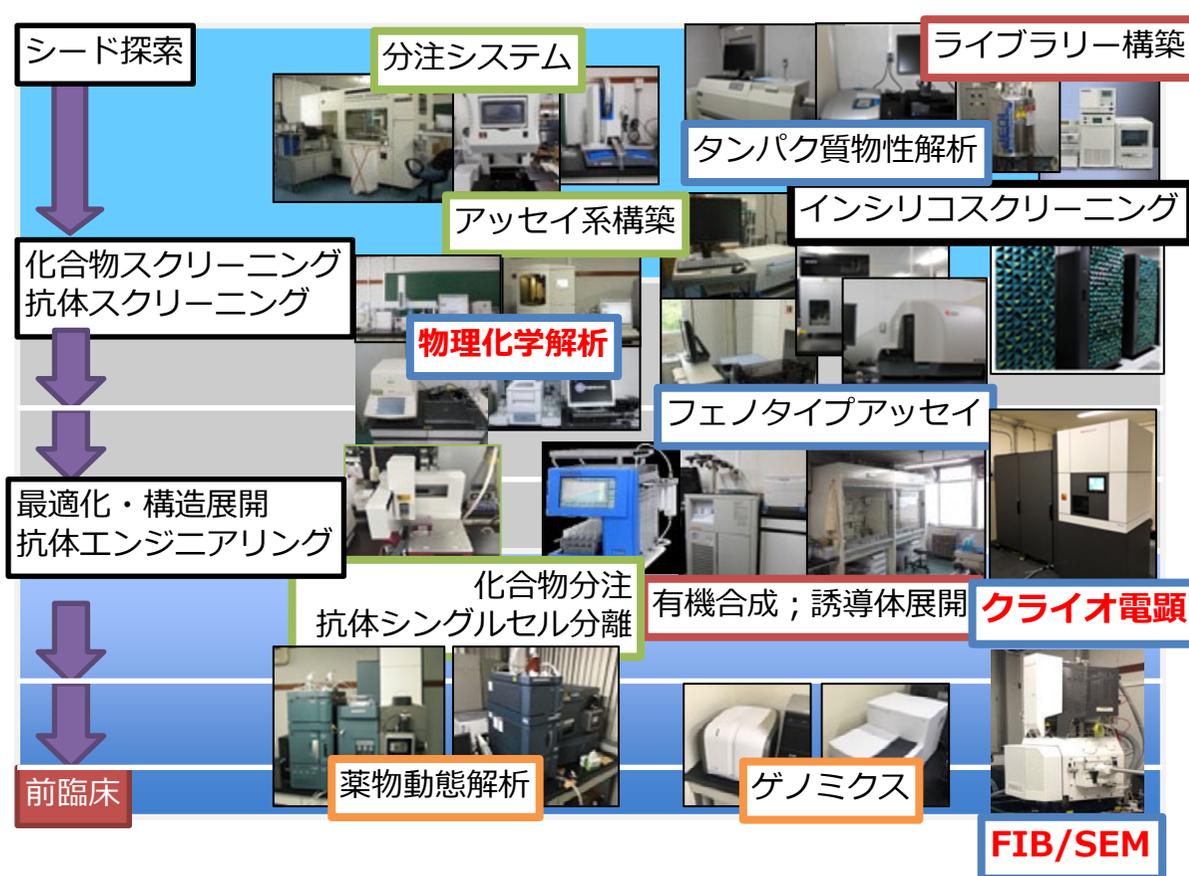
#### Hokkaido-Oxford インターンシップ(2014~) Nuffield Department of Clinical Medicine



#### Hokkaido Summer Institute (2015~)

# 北大創薬センターの統合的創薬解析システム

低分子から抗体医薬品まで創薬研究用クライオ電子顕微鏡を有するシームレスな開発システムによる創薬モダリティ研究の実績



## 特色

創薬シーズから前臨床までシームレスに

充実した物理化学測定技術  
統合的構造解析技術



BSL-3  
クライオ電顕  
(2020年度予定)  
BINDS事業

クライオ電顕設置  
創薬拠点で占有する体制は  
国内アカデミア・企業では  
他にはない理想的環境

## 抗体医薬品開発：物理化学解析・構造解析

# クライオ電子顕微鏡の利用と期待

- ウイルス、核酸-脂質粒子を直接見る
- 生理的条件に近い構造、しかし、不活化処理が必要

nature

<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2665-2>

Accelerated Article Preview

## Structures and distributions of SARS-CoV-2 spike proteins on intact virions

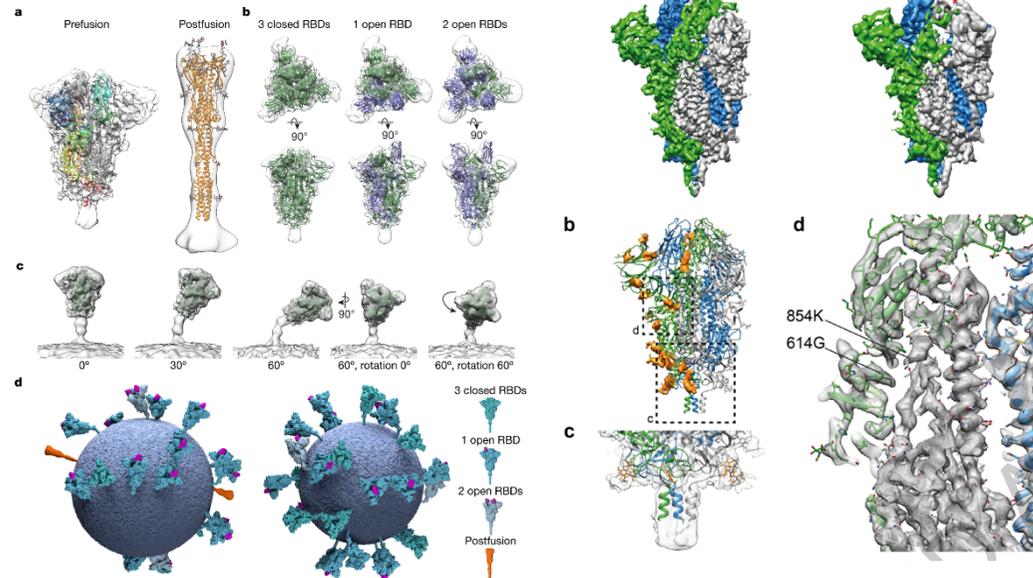
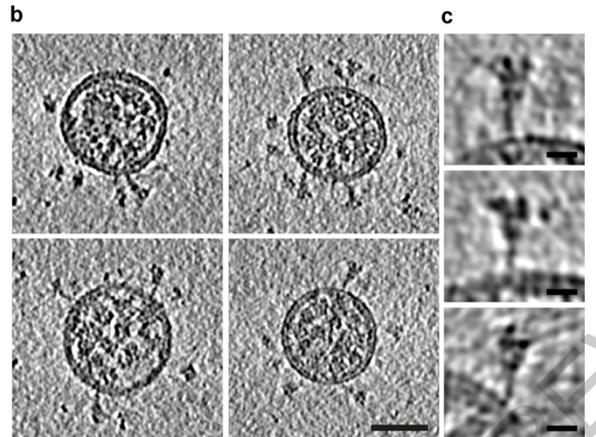
Nature 588, 498–502(2020)

Received: 2 July 2020

Accepted: 10 August 2020

Accelerated Article Preview Published online 17 August 2020

Zunlong Ke, Joaquin Oton, Kun Qu, Mirko Cortese, Vojtech Zila, Lesley McKeane, Takanori Nakane, Jasenko Zivanov, Christopher J. Neufeldt, Berati Cerikan, John M. Lu, Julia Peukes, Xiaoli Xiong, Hans-Georg Kräusslich, Sjors H. W. Scheres, Ralf Bartenschlager & John A. G. Briggs

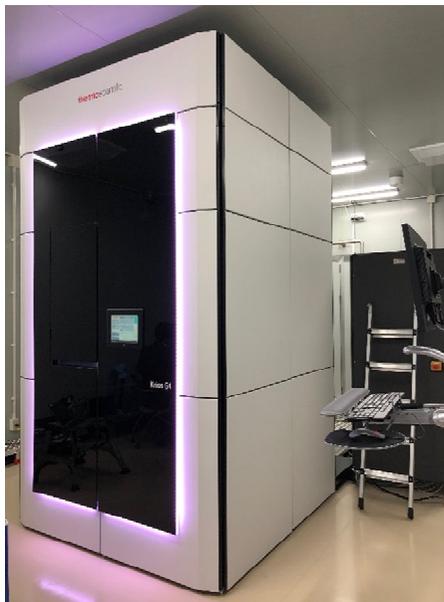


不活化処理をせずに観察するにはBSL3内での測定が必要

# BSL3設置のクライオ電子顕微鏡



人獣共通感染症国際研究所



バイオハザード対策クライオ透過型電子顕微鏡  
Thermo Scientific Krios G4-BSL3

Krios G4本体 高さ 3040 mm

電子直接検出器 Falcon 4

Aberration-free image shift (AFIS)

Fringe-free imaging (FFI)

Phase Plate

単粒子解析イメージングソフトウェア EPU

TEM/STEM Tomography

Column heating 60°C

Double HEPA filters in vacuum pumps

Remote Monitoring Station (BSL3ラボ内用)

内蔵除震機構iVIS

磁場キャンセリングシステム SC24

# 北大でのクライオ電顕運用の展望

病原体（コロナウイルス）を**不活化せず**に観察する。  
**生理的条件下での構造**  
**感染患者体内での状況を反映**

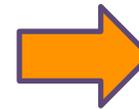
## 観察対象

コロナウイルス SARS-CoV-2

抗体との複合体  
細胞侵入阻害剤等薬剤との  
複合体

コロナウイルス感染細胞

SARS-CoV-2 タンパク質  
薬剤・抗体との複合体

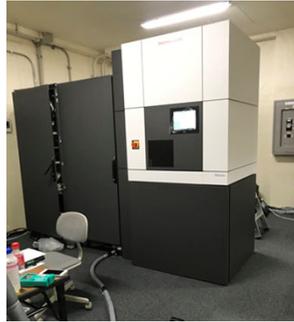


新興再興感染症  
微生物

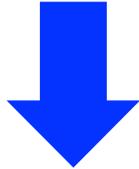
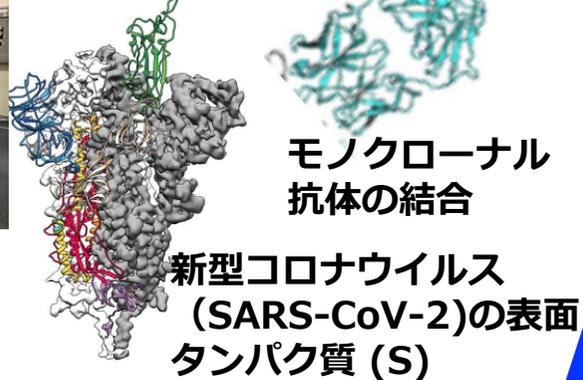
ウイルス  
核酸-脂質粒子  
細胞  
組織

# 構造解析に基づく治療薬・ワクチン開発

## クライオ電顕を北海道大学P3施設に設置

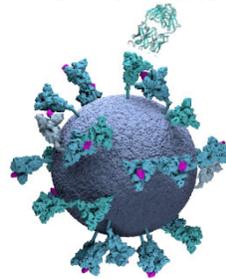


北大薬学研究院には既に  
クライオ電顕が設置済み



北大人獣セン  
ターP3施設に世  
界最高性能の  
300MeVのクラ  
イオ電子顕微鏡  
を設置し、生き  
たウイルス粒子  
の超微細構造解  
析、ウイルスと  
抗体の結合様式  
解析等が可能

モノクローナル  
抗体の結合



SARS-CoV-2  
ウイルス粒子

Nature 588, 498-502(2020)

## ワクチン開発 (COVID-19等のウイルス性疾患)

◆ 中和活性を有するモノクローナル抗体の作出 (国立感染症研究所)

COVID-19感染者から採集した末梢血を用いて、SARS-CoV-2感染に対する中和活性を有するモノクローナル抗体を効率的に選択する (Watanabe A et al. Cell, 2019)。

◆ クライオ電顕で得られた情報をワクチン・治療薬開発に活用

クライオ電顕で得られた、ウイルスタンパク質 (S)、およびウイルス粒子自体と中和活性を有する抗体の結合責任領域 (エピトープ) の情報に基づいて、

- 1) ワクチン接種者から採取する末梢血中のモノクローナル抗体のエピトープへの結合様式等のプロファイリングを、in vitroで確認すると共に、ウイルス粒子とモノクローナル抗体の結合についてクライオ電顕を用いて確認する。(北海道大学、京都大学)
- 2) 中和活性を有する抗体のエピトープをターゲットとした、新規ワクチンを開発する。
  - ・メッセンジャーRNAを用いたワクチン開発 (東京大学医科学研究所)
  - ・ウイルス様粒子を用いたワクチン開発 (大阪大学微生物病研究所)
  - ・SARSウイルスに対するワクチン開発の手法を活用 (長崎大学熱帯病研究所)
- 3) エピトープ領域をターゲットとする抗ウイルス作用を有する化合物の検索 (理化学研究所)
  - ・理化学研究所の計算科学研究センターのスーパーコンピューター「富岳」を用いて、エピトープ領域に結合する低分子・中分子化合物のin silicoでのスクリーニングを実施。
  - ・候補化合物の抗ウイルス作用をin vitro、in vivoの実験系で確認 (Imai M et al. Proc Natl Acad Sci, 2020)
- 4) ワクチン開発で問題となる抗体依存性感染増強 (ADE)の解明
  - ・COVID-19感染者から採集した末梢血から、感染を増強するモノクローナル抗体を選択する。
  - ・選択した抗体を用いて中和活性を有する抗体と同様にクライオ電顕を用いて、ウイルス粒子自体と感染を増強する抗体の結合様式を解析する。(北海道大学)
  - ・得られた情報に基づいて、抗体依存性感染増強作用を有する抗体を産生し難いワクチンを開発する。

## 民間企業と連携したCOVID-19対策

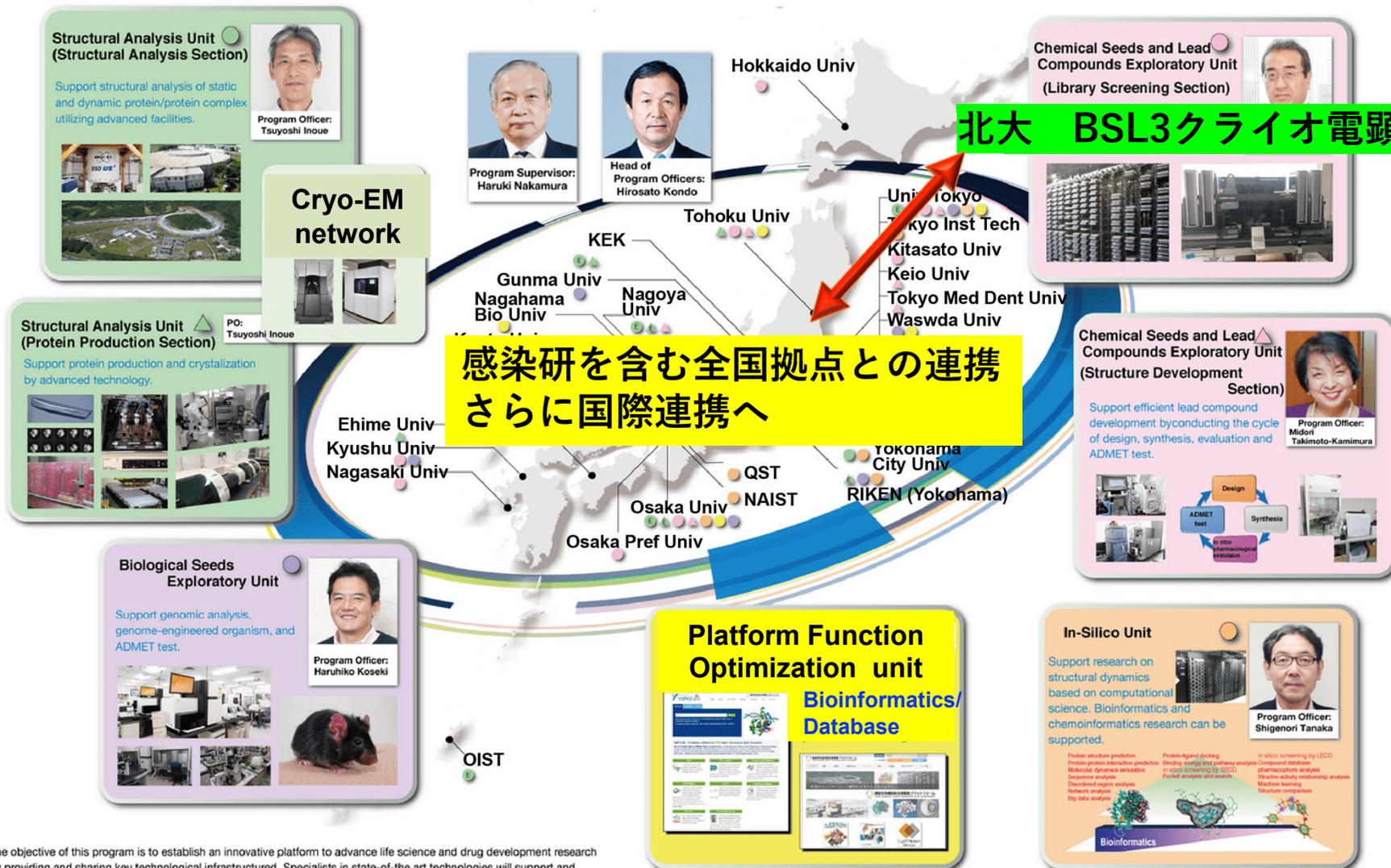
◆ 民間企業との連携

- ・塩野義製薬 (株) : 北海道大学と低分子化合物の探索
- ・第一三共 (株) : 東京大学医科学研究所とワクチン開発
- ・KMバイオロジクス : 国立感染症研究所とワクチン開発
- ・阪大微生物病研究会 (BIKEN財団) : 大阪大学微生物病研究所とワクチン開発





# Basis for Supporting Innovative Drug Discovery and Life Science Research (BINDS)



The objective of this program is to establish an innovative platform to advance life science and drug development research by providing and sharing key technological infrastructure. Specialists in state-of-the-art technologies will support and assist researchers who submit their proposals to members of the program.

新型コロナウイルス治療薬・ワクチンの開発  
→ 広く新興再興感染症に対する対策へ

## お問い合わせ先

北海道大学 大学院薬学研究院  
生体分子機能学研究室  
前仲 勝実

TEL : 011-706-3970    Fax : 011-706-4986  
メール : [maenaka@pharm.hokudai.ac.jp](mailto:maenaka@pharm.hokudai.ac.jp)