

異分野融合による新型コロナウイルスをはじめとした感染症との共生に資する技術基盤の創生

2020年度採択研究代表者

2020年度 年次報告書

永井 健治

大阪大学産業科学研究所

教授

感染症を在宅で簡易診断する技術基盤の開発

§ 1. 研究成果の概要

本研究は、SARS-CoV-2 を特異的に検出する化学発光バイオセンサーおよびスマートフォンカメラによる簡易検査法の開発を行う。2020年度はセンサーに使用するHLHペプチドの開発ならびにセンサーの設計を行った。

SARS-CoV-2をHLHペプチドの標的とした際の最適な結合部位の選定を行った結果、スパイクタンパク質のうち部分構造を切り出せるRBDが候補となった。RBDに結合するHLHペプチドをスクリーニングするために、合計7種類の異なるタイプのファージ表層提示HLHペプチド・ライブラリを構築した。いずれのライブラリもその配列多様性(ライブラリサイズ)は 10^9 以上であった。また、スパイクタンパク質のうち市販のRBDがスクリーニングに用いる標的として使用可能かどうかを、ACE2受容体に対する結合活性を確認することで判定した。ACE2濃度依存的なレスポンスが観測され、その解離定数は文献値と同等であったことから、入手したRBDは活性コンフォメーションを保持しており、HLHペプチドのスクリーニングに用いることができると判断した。

一方、HLHペプチドを組み込むバイオセンサーについては前例がないため、SARS-CoV-2特異的なHLHペプチドのスクリーニング作業と並行して、そのセンサー設計にて対象の検出が可能かを既存のHLHペプチドを用いて確認した。血管内皮増殖因子VEGF結合性のHLHペプチドを使用して、2通りの原理による化学発光/蛍光VEGFバイオセンサーを設計した。両設計ともに遺伝子を大腸菌へ導入したところ問題なく発現し、十分な量の組換えタンパク質を得ることができた。これらのタンパク質ではVEGFの添加による化学発光の増加、蛍光波長の変化がそれぞれ確認され、本プロジェクトの核となるHLHペプチドを利用したSARS-CoV-2検出システムが実現可能であることが示された。

§ 2. 研究実施体制

(1) 永井グループ

- ① 研究代表者: 永井 健治 (大阪大学 産業科学研究所 教授)
- ② 研究項目
 - ・化学発光検出原理の構築、HLHペプチドによるバイオセンサーの機能確認
 - ・SARS-CoV-2に対する化学発光バイオセンサーの開発
 - ・化学発光バイオセンサー撮影の条件検討
 - ・実用化に向けたバイオセンサー材料の準備
 - ・病原体変異に対応するための再スクリーニングプロセスの構築

(2) 藤原グループ

- ① 主たる共同研究者: 藤原 大佑 (大阪府立大学 理学系研究科 講師)
- ② 研究項目
 - ・HLHペプチドのスクリーニング

- HLH ペプチドの改良、最適化
- 病原体変異に対応するための再スクリーニングプロセスの構築

(3) 西野グループ

- ① 主たる共同研究者:西野 邦彦 (大阪大学 産業科学研究所 教授)
- ② 研究項目
 - SARS-CoV-2 の特徴構造、HLH ペプチドとの複合体構造解析
 - 病原体変異に対応するための再スクリーニングプロセスの構築
 - 各種病原体に対する特徴構造のスクリーニング