

未来社会創造事業 探索加速型  
「世界一の安全・安心社会の実現」領域  
年次報告書(探索研究)

H30 年度 研究開発年次報告書
---------------------

平成 30 年度採択研究開発代表者

[研究開発代表者名：上田 宏]

[国立大学法人東京工業大学科学技術創成研究院・教授]

[研究開発課題名：食中毒から生活者を解放する人工抗体提示細胞]

実施期間：平成 30 年 11 月 15 日～平成 31 年 3 月 31 日

## §1. 研究開発実施体制

### (1) 上田グループ(東京工業大学)

① 研究開発代表者: 上田 宏 (東京工業大学科学技術創成研究院、教授)

② 研究項目

- ・大腸菌を用いたモデルパトロール細胞の構築
- ・モデル低分子認識パトロール酵母の構築

### (2) 小林グループ(神戸薬科大学)

① 主たる共同研究者: 小林 典裕 (神戸薬科大学薬学部、教授)

② 研究項目

- ・病原性大腸菌認識パトロール酵母の創出のための準備

### (3) 三宅グループ(麻布大学)

① 主たる共同研究者: 三宅 司郎 (麻布大学 生命・環境科学部、教授)

② 研究項目

- ・病原性大腸菌認識パトロール酵母の創出のための準備

## §2. 研究開発実施の概要

### ・ パトロール大腸菌の構築

本PJの概念検証ならびに対照実験として、既報(Chang, H.-J. et al. ACS Synth. Biol. 2018, 7, 166–175)に基づき大腸菌を用いたモデルパトロール細胞を調製し、カフェイン応答性の検証を行った。カフェイン受容体(ナノボディ V<sub>HH</sub>と転写活性化ドメインの融合タンパク)ならびにレポーターとして GFP をコードするベクターを大腸菌に形質転換し、発現を誘導してカフェイン含有培地で一晚培養した所、ややデータにばらつきはあったが飲料を含むサンプル中のカフェイン濃度依存的な GFP 由来蛍光を確認することができた。

### ・ パトロール酵母の構築

上記に対応するカフェイン認識パトロール酵母と、アフラトキシン認識パトロール酵母の構築を開始した。カフェイン認識 V<sub>HH</sub> 抗体断片の性能確認のため、V<sub>HH</sub> と、多量体形成により活性化する熱安定化 β グルクロニダーゼ(GUS)変異体との融合タンパク質を構築し、蛍光基質を加えることで、飲料中に含まれる濃度域でカフェイン依存的な蛍光シグナルが得られた。また、三宅グループの小西らにより取得されたアフラトキシン認識モノクローナル抗体 V<sub>H</sub>/V<sub>L</sub> 遺伝子をクローン化し、同様に GUS 変異体融合タンパク質を構築したところ、これについても抗原依存的な蛍光シグナルが得られた。以上より材料の性能が確認できたため、次年度に予定通り酵母細胞での検討を進める。

### ・ 病原性大腸菌膜表面抗原の調製

次年度に用いる候補抗原として、しばしば広域で重篤な食中毒事例が問題となる腸管出血性

大腸菌の主要抗原 O157を選定し、ホルマリン固定抗原を調製した。他に、O26、O111、O128 及び O145 を示す腸管出血性大腸菌の抗原調製を準備した。

- ・ 病原性大腸菌認識抗体の調製

腸管出血性大腸菌 O157抗原と特異的に反応するマウスモノクローナル抗体産生細胞を調製した。