

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)

令和元年度 研究開発年次報告書

令和元年度採択研究開発代表者

[研究開発代表者名：松本 和彦]

[国立大学法人大阪大学 産業科学研究所・特任教授]

[研究開発課題名：
グラフェンによるインフルエンザ世界流行阻止の基盤構築]

実施期間：令和元年11月1日～令和2年3月31日

§1. 研究開発実施体制

(1) 阪大グループ(大阪大学)

- ① 研究開発代表者:松本 和彦 (大阪大学産業科学研究所、特任教授)
- ② 研究項目
 - ・デバイスの安定的な量産のためのプロセス開発
 - ・グラフェンセンサーマトリクスの開発
 - ・グラフェンセンサーを用いた精製ウイルスおよび臨床試料の計測

(2) 「中部大」グループ(中部大学)

- ① 主たる共同研究者:河原 敏男 (中部大学生命健康科学部、教授)
- ② 研究項目
 - ・糖鎖・ウイルス抗体の選定
 - ・臨床試料の計測システム検討

(3) 「京府医大」グループ(京都府立医科大学)

- ③ 主たる共同研究者:渡邊 洋平 (京都府立医科大学医学研究科、講師)
- ④ 研究項目
 - ・ウイルス抗体の選定
 - ・(ウイルス抗体の反応性試験評価:主に令和2年度に実施する項目)
 - ・(ウイルス抗体の Fab 化検討:主に令和2年度に実施する項目)

§2. 研究開発実施の概要

阪大グループでは今年度、グラフェンによるインフルエンザ世界流行阻止の基盤を構築するための基礎技術を、社会実装を見据えて洗練化させた。具体的にはまず、グラフェン上に清浄な界面を露出させるための保護膜プロセスについても検討した。次に、ウイルスの亜型鑑別を実現するため、亜型特異的な抗体を、結合活性を保ったまま断片化して固相化する技術を開発した。さらに、より安定的な糖鎖固定化を実現するためにアビジン/ビオチン反応の利用を試み、ビオチン化したシアロ糖鎖を用いてウイルスの検出を行った。最後に、これらを統合化して測定する際のシステム構成や電気測定手法についても検討した。

中部大グループはインフルエンザウイルスと糖鎖の結合性の差による感染宿主の選択機構の最適化・デバイス化として糖鎖ライブラリ構築を目指して研究を進めている。実用化を考慮して自然界からの抽出を中心に各種糖鎖を準備し、ウイルスとの結合性を調べた。本年度は、ウイルス受容体糖鎖の選定のために、分岐構造の異なる糖鎖を用いてウイルスとの結合反応性の評価を行った。その際、クラスター化条件を統一するため糖鎖を持たないタンパク質である Bovine Serum

Albumin (BSA)に固定化した状態で酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)用プレートに展開した。ヒトインフルエンザウイルスに対しては $\alpha 2-6$ 配位の糖鎖の結合性が大きく、パンデミック株に対して、ウイルスによる反応性の違いはあまり見られなかった。そして、少し大きな糖鎖である Sialylglycopeptide (SGP)では、BSA 固定化により糖鎖使用効率が上昇しているため、SGP をクラスター化した糖鎖プローブが使いやすい糖鎖プローブといえる。一方、社会実装に向けて、臨床試料の計測へ適用してシステム開発を行っていく。その際に、臨床試料は精製試料と異なり、夾雑物やたんぱく質などセンサー動作の阻害要因となる物質が含まれ、その処理方法を検討する必要がある。例えば、ブロッキングプロセスの最適化やその簡略化、採取試料に対する反応前処理等である。本年度は、超遠心精製プロセス等によるウイルス環境の変化を検討した。

京府医大グループは、グラフェン系に使用するインフルエンザ抗体として、抗体が認識するエピトープ領域の HA 構造上の位置を基に、HA stem に近い領域に結合する抗体と HA head に結合する抗体の候補を選出した。また、インフルエンザウイルス抗体として代表的な C43 抗体を対象として、先行的な Fab 化試験を実施した。その結果、比較的高い精製度と収量にて Fab 分画を精製することができた。確立したプロトコールを基本として、次年度において、選定する幾つかのウイルス抗体を対象に Fab 化を実施するとともに、精製した Fab 分画のウイルスとの結合性の試験を実施する。