

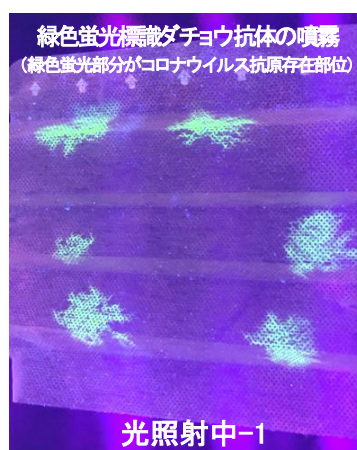
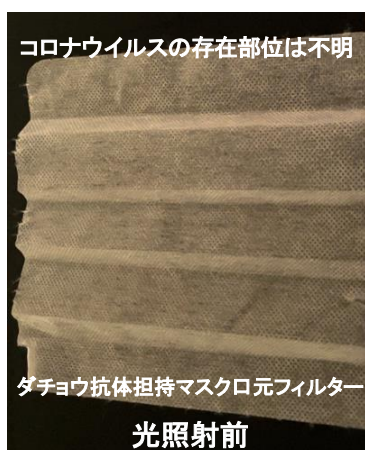
2021年10月1日

ダチョウ抗体を担持させた不織布マスクを用いて 口鼻からの新型コロナウイルスの可視化に成功

～ 低コストで簡易なウイルス検出技術の実用化を加速 ～

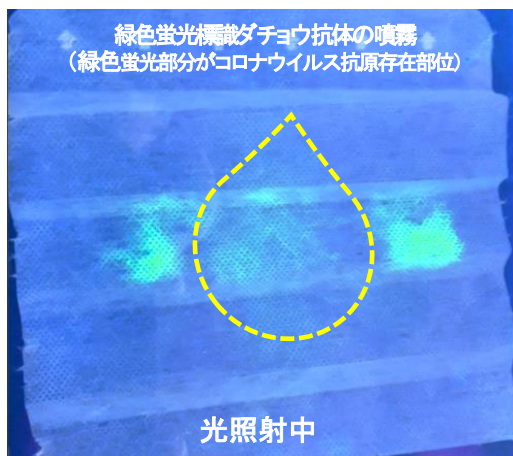
研究成果のポイント

- ◇ 京都府公立大学法人京都府立大学の塚本康浩学長らの研究グループは、このたび、ダチョウ抗体を担持した口元フィルター入りの不織布マスク(以下「ダチョウ抗体担持マスク」という。)を用いることにより、呼気からの SARS-CoV-2(新型コロナウイルス)の可視化が、蛍光抗体法で肉眼でも可能であることを見出しました。



マスクの口元フィルター上に配置したコロナ用ダチョウ抗体が咳やくしゃみ・鼻水内のコロナウイルスを捕捉。次に蛍光色素を標識したダチョウ抗体(標識二次抗体)を反応させ、光を照射することでウイルスを可視化。

- ◇ 新型コロナウイルス感染者が8時間使用したダチョウ抗体担持マスク(臨床検体)からも、ウイルスの存在が確認でき、下図に示すように、光源ボックスを用いて、同マスクに捕捉されたウイルスの可視化(目視)技術の開発に成功しました。



ウイルスは鼻の両側に多く付着することが判る。
(黄色点線領域が鼻の部分)

- ◇ また、光源に LED 紫外線ブラックライト及びスマートフォンの LED 光を用いた場合も、ダチョウ抗体担持フィルター上のウイルス抗原の可視化に成功しました。これにより家庭内でも簡単にマスク上のウイルスの可視化が可能となります。



- ◇ 今後、自家蛍光(バックグラウンド・ノイズとなるマスク素材自体からの蛍光)が極めて少ない不織布フィルターの開発、ダチョウ抗体担持マスクに捕捉されたウイルス抗原を強く可視化させるための光波長の選定などの研究を加速し、ダチョウ抗体担持マスクとスマートフォンの LED 光による、変異株を含むウイルス検出法を確立し、無発症及び未発症感染者からのウイルス排出を低コストで迅速に検出する技術の実用化を進めます。
- ◇ 実用化に関しては、米国スタンフォード大学医学部での臨床検体での検証を経て、京都府立大学発ベンチャー(オーストリッチファーマ株式会社[京都府精華町]、株式会社ジールバイオテック[大阪府吹田市])と検査機器メーカーが製品化(検査キット化)し、国内外で販売する予定です。なお、本技術は特許出願済みです。



研究の概要

新型コロナウイルス変異株のスパイクタンパク(抗原)の作製

新型コロナウイルスの変異株のスパイクタンパクの遺伝子を大腸菌ベクターに組み込み大量精製し、これをヒト HEK 細胞に遺伝子導入することで、リコンビナントタンパク質を精製。これをダチョウに免疫(注射)し、ダチョウの卵黄から高純度の抗体を回収。得られた抗体の反応性と特異性や性能は、ELISA 法(抗体と抗原の反応性を発色や発光により計測する免疫学的測定法)とウイルス感染実験により測定し、有用性を確認しました。また蛍光標識する抗体には、コロナウイルス粒子全体に反応するダチョウ抗体を作製。これにより、フィルター上ではコロナウイルスのスパイクタンパクにダチョウ抗体が特異的に結合し、結合したウイルス粒子全体に蛍光標識した抗体が結合するため、特異性と反応性に優れています。

新型コロナウイルスを最大限に捕捉するダチョウ抗体担持フィルターの作製

不織布に抗体を物理的に担持する方法、ポリ乳酸を配合し抗体を共有結合させる方法などを用いて、大量作製したダチョウ抗体の活性を最大限に保持できるフィルターの開発を行いました。ウイルスの可視化にはフィルターに液相が必要となるため、その素材での抗体保持性を ELISA 法により検証しながらフィルター上の抗体担持量とウイルス抗原量を変化させ、最小限のウイルス量でも捕捉できるフィルターへと最適化しました。

プローブとしての二次抗体の作製・選定

ダチョウ抗体担持フィルターに捕捉されたウイルス粒子を可視化するために、複数の蛍光・発光色素や酵素を標識した二次抗体(コロナウイルスを認識するダチョウポリクローナル抗体)を作製し、目で発色・蛍光が判定できる標識法と基質などの選定を行いました。

新型コロナウイルスの可視化

実験室内でウイルス抗原を液化したダチョウ抗体担持フィルター、及び新型コロナウイルス感染者が使用したダチョウ抗体担持マスク(口元フィルター)に、二次抗体を反応させた上で、一定の波長の光を照射することで、新型コロナウイルスの可視化に成功しました。光源の一つとしてスマートフォンの LED 光を使用した場合も、ダチョウ抗体担持フィルター上のウイルスの可視化が可能なことを確認しました。



マスクの脱着

マスクを外す
(使用前に口元フィルターにコロナ用ダチョウ抗体が結合済)



マスクの消毒

消毒
(ウイルスを無毒化)



口元フィルターの剥離

口元フィルターの剥離



口元フィルターの剥離

口元フィルターの取り出し



緑色及び赤色の蛍光色素で標識したダチョウ抗体(新型コロナウイルス用標識二次抗体)の噴霧



口元フィルターの剥離

口元フィルターを光照射装置上に設置



研究の背景と内容

新型コロナウイルス感染症(COVID-19)では、一人が感染させる人数(実効再生産数;Rt)はそれほど多くありません。しかし、ウイルスを大量放出するスーパースプレッダーが感染者の10人に1人程度存在し、たった一人ですべての人を感染させてしまうことがあり、無症状感染者などの呼気やクシャミ・咳飛沫や唾液・鼻水中のウイルス検出は、集団感染予防に有効な手段となります。

京都府立大学では、塚本康浩らが世界に先駆けて開発した“ダチョウを用いた高感度な新型コロナウイルス抗体の低コスト量産化技術”と“繊維素材への抗体担持技術”を組み合わせ、簡単な光照射だけでウイルス検出技術を開発しました。この技術は、コロナウイルスのみならず、インフルエンザウイルスやマイコプラズマなどの抗体を同時に混同して繊維に結合させ、標識となる二次抗体の蛍光色素を病原体ごとに変えておけば、一度に多種類の病原体を色の違いで判別可能です。

全世界で毎日のように用いられる「使い捨てマスク」にダチョウ抗体を担持した口元フィルターを入れることでウイルス感染検出が可能となれば、無発症の感染者(スーパースプレッダーなど)を早期に自主的に隔離でき、結果として集団感染や家庭内感染も防げます。

今後、呼気中ウイルスの簡易的迅速測定のためのマスク開発を行い、スマートフォンのLED光を用いた検査キットのウエアブル化、さらにスマートフォンの顔認証時におけるコロナ感染による生体反応のデータベース化にも着手していきます。



本研究成果が社会に与える影響

上記の研究を通じて、新型コロナウイルス感染拡大の大きな要因となっている未発症感染者(スーパースプレッダーなど)の集団への侵入阻止というWithコロナ社会での集団防疫のための新たな技術の早期社会実装につなげます。

本件に対する問い合わせ

(研究内容に関すること)

京都府立大学 学長 塚本康浩
TEL075-701-5101(代表)
E-mail;liaison-office[at]kpu.ac.jp



(JSTの事業に関すること)

科学技術振興機構 産学連携展開部 地域イノベーショングループ 佐藤喜一
TEL:03-6272-4732
E-mail;mp[at]jst.go.jp



(報道に関すること)

京都府立大学 産学公連携リエゾンオフィス | 科学技術振興機構 広報課
TEL:075-703-5356 | TEL:03-5214-8404
E-mail;liaison-office[at]kpu.ac.jp | E-mail;jstkoho[at]jst.go.jp



本発表の採択概要

(1) 研究開発課題名

研究成果最適展開支援プログラム(A-STEP)トライアウトタイプ

「ダチョウ抗体を用いた COVID-19 スーパースプレッダーの迅速検出法の開発」

(2) 研究代表者

塚本康浩(京都府立大学学長)

A-STEP トライアウトタイプについて

「with / post コロナ社会の変革」や「社会のレジリエンス向上」を含めた社会課題の解決に資する、大学等の研究成果に基づいた、開発ニーズを持つ企業等が着目する技術の実現可能性を検証するための試験研究を、令和 3 年度公募を前倒しする形で実施し、民間企業の投資意欲を刺激するとともに、with / post コロナ社会に資する新規性と社会的なインパクトを有する研究開発成果の社会実装を加速することを目指します。