

課題番号 9

新型コロナウイルス合成タンパク質を利用した 不活化評価方法の確立と 可視光応答型光触媒によるウイルス不活化表面の創製

[1] 組織

代表者：上田 恭介

(東北大学大学院工学研究科)

対応者：伊藤 甲雄

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

成島 尚之 (東北大学大学院工学研究科)

古泉 隆祐 (東北大学大学院工学研究科)

島田 啓太 (東北大学工学部)

研究費：物件費 50万円

[2] 研究経過

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)は世界に蔓延し、基礎疾患のある患者や高齢者の感染では重篤化するケースも見られる。本ウイルスは表面にスパイクタンパク質を含むエンベロープを有しており、このスパイクタンパク質を介して細胞に接着し感染する。SARS-CoV-2 は他のエンベロープウイルスと同様、紫外線や界面活性剤により不活化できるとされているが、空気中ではエアロゾルとして数時間分解されず、さらに金属やプラスチック等の平滑な表面では最長3日間、感染力を保持していることが明らかとなっている。そのため、ドアノブや手摺りに本ウイルスが付着した場合、常に感染の危険に晒されることとなる。感染予防のためには、人々の生活の中で手に触れる部分に付着したウイルスを、自然に不活化し、感染力を無くす方法が有効である。

我々はこれまで、チタニア(TiO₂)の光触媒活性に着目し、通常は紫外光でなければ発現しない光触媒活性を可視光応答化させるチタンの表面処理方法を開発し、大腸菌に対して抗菌性を有することを明らかにしてきた。本処理方法は、歯科用インプラント等の複雑形状や大面積への適応も可能である。さらに、チタニアの光触媒活性は細菌のみならず、エン

ベロープ型ウイルスを不活化させることが知られている。

従来のウイルス不活化能の評価は、対象とするウイルスを直接用いたものである。一方、SARS-CoV-2はBSL3レベルの施設でのみ扱えるため、扱いは容易ではない。そこで我々は、(1)人工合成したSARS-CoV-2スパイクタンパク質を用いた、材料表面における不活化能評価方法の確立、(2)確立した評価方法を活用し、SARS-CoV-2に対して可視光照射下において不活化効果を有するチタンの表面処理方法の開発、を目的として研究を遂行した。

以下、研究活動状況の概要を示す。

申請書作成時には既に、新型コロナウイルスによる研究自粛期間であったことから、申請内容について対応者らとe-mailやオンラインミーティングを活用して検討を行った。

採択後、代表者は英国への留学のために8月までは実際に実験を行うことはできなかった。一方、分担者である成島、古泉らにはe-mailやzoomを通じて打ち合わせや指示をして、可視光応答型光触媒チタニア膜作製について、実験および検討を行った。

加齢研の立ち入り自粛期間はe-mailや電話、webミーティングを活用して、対応者らとは1週間に1度程度の頻度で研究打ち合わせを行った。研究自粛の解除後は、加齢医学研究所にて実験を遂行したが、研究の遅れは否めず、進捗状況は当初計画どおりにはなっていない。

加齢医学研究所伊藤は、新型コロナウイルススパイクタンパク質の人工合成を担当した。上田、古泉、島田、成島は、光触媒活性をもつチタニア膜を作製し、実験に供した。

[3] 成果

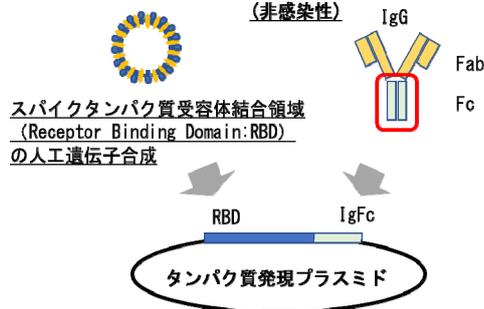
(3-1) 研究成果

SARS-CoV-2の遺伝子組換え実験は、文部科学大臣確認実験となるため、早速申請し、6月に承認を得ることができた。承認後に、SARS-CoV-2スパイクタ

ンパク質の DNA を人工合成して、タンパク質発現ベクターに組み込み、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質の発現プラスミドを構築した。タンパク質発現ベクターには、イムノグロブリン Fc 部分 (IgFc) が既に組み込まれており、完成したプラスミドでは、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質と IgFc 部分が融合したタンパク質 (SARS-CoV-2-IgFc) が産生されるようになっている。このプラスミドを培養細胞 (Expi293F) に遺伝子導入して、SARS-CoV-2-IgFc タンパク質を産生させた。この SARS-CoV-2-IgFc タンパク質を精製し、実験に使用した (図1)。

精製した SARS-CoV-2-IgFc タンパク質をチタニア膜に播種・固相化し、可視光を照射した。その後、膜上の液滴を回収し、固相化したタンパク質を pH 2.7 の Glycine-HCl により剥離し、中和した後に SDS-PAGE によるタンパク質の分解を評価した。その結果、可視光照射により、固相 SARS-CoV-2-IgFc の減少が確認され、スパイクタンパク質を分解することに成功した (図2)。今後、材料表面における不活化能評価方法を確実にするために実験条件の検討を行う予定である。

図1 新型コロナウイルススパイクタンパク質-IgFc融合タンパク質の作製 (非感染性)



(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究により、学内研究者との交流が飛躍的に活性化した。本年度は、CREST や基盤研究 A、JST A-STEP などの公的研究費の共同申請も進めることができた。本共同研究での交流を通じ、今後も大型研究費への申請に結び付けていきたいと考えている。本共同研究で開発したウイルスタンパク質の人工合成ならびにタンパク質分解定量法は、BSL3 レベル実験のため扱いが難しい感染症において、新たな評価方法になるものと期待される。

[4] 成果資料

- (1) 伊藤甲雄、上田恭介: 「新型コロナウイルス由来タンパク質を利用した不活化評価方法の確

立と可視光応答型光触媒活性によるウイルス不活化表面の創製」, 東北大学加齢医学研究所新型コロナウイルス感染症対策共同研究・共同利用第1回シンポジウム, 2021年10月26日 @Zoom.

図2 実験の概要

