

新型コロナウイルス抗原を特異的に検出できるモノクローナル抗体の作製に成功
～国産初の抗原簡易検査キット開発を目指す～

横浜市立大学大学院医学研究科の梁 明秀教授を中心とした共同研究グループは、新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) 抗原を特異的に検出できるモノクローナル抗体の開発に成功しました。今回、作製した抗体は、近縁の SARS コロナウイルスや風邪の原因となるヒトコロナウイルスとは交差反応を示さず、新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) だけに反応します (図 1)。今後、本抗体を用いることで、簡便かつ短時間に新型コロナウイルスだけを正しく検出できるイムノクロマトキットの開発を目指します。新型コロナウイルスであることを迅速に特定して、即時対応ができるようになれば、適切な医療や感染の拡大阻止につながります。

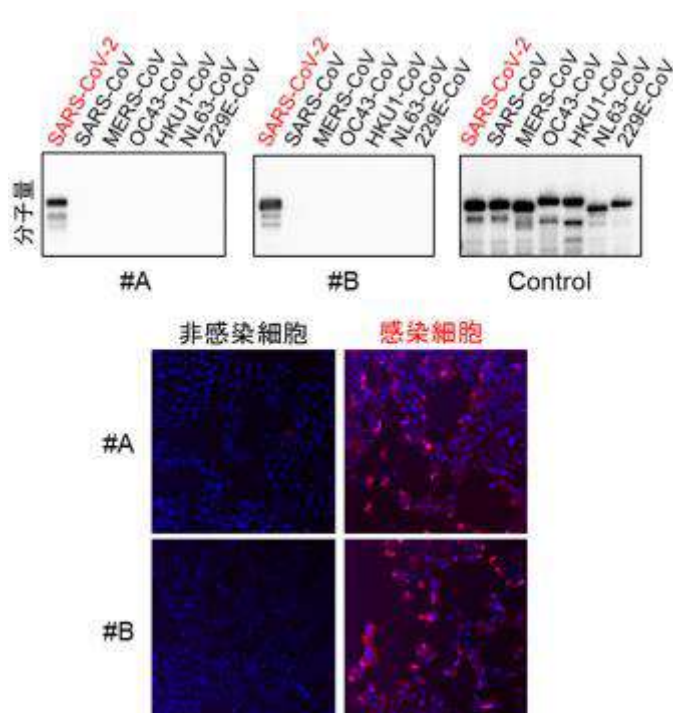


図1 抗体の性能評価

(上) ウェスタンブロットによる抗体の特異性解析。今回開発した抗体#A および#B は新型コロナウイルスのみを検出し、他のヒトコロナウイルスに交差反応しなかった。

(下) 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)を感染させた Vero-E6/TMPRSS2 細胞における蛍光免疫染色像。抗体#A および#B とともに感染細胞内のウイルス抗原を検出できた。青：細胞の核、赤：ウイルス抗原

研究の背景

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の感染者数は 200 万人を超え、世界全体の死者数が 16 万人以上と報告されており、世界的に公衆衛生上の非常に大きな問題として早急な対策が求められています。また、本邦における感染者数も 10,000 例を超え、今後の感染拡大が懸念されています。

現在、病原体検査は、PCR 法などのウイルス遺伝子検出法のみが適用されていますが、診断までに平均約 4～6 時間必要とし、特殊な機器を必要とするため、検査数が限定されている状況です。医療現場で使用可能な迅速診断法として、血清抗体検出キットが開発されていますが、現在のところ、体外診断用医薬品として承認された試薬（もしくは製品）はなく、また、本法は病原体に対する免疫応答（抗体）を確認する試験法であるため、感染早期の検査には適していません。

新型コロナウイルス感染症の実態を把握し、適切な感染対策と適正な医療を提供するためにも、感染早期における迅速簡易診断法の開発は緊急に進めなくてはならない課題です。一方、検査キットの開発には、新型コロナウイルス抗原を正確に認識できるモノクローナル抗体の開発が必須です。現在、使用されている抗体は、SARS コロナウイルスやその他の関連ヒトコロナウイルスなどへの交差反応が十分に検証されていないものが多く、新型コロナウイルスのみを的確に検出できる高性能なモノクローナル抗体はいまだ実用化されていません。

研究の内容

梁明秀教授を中心とした共同研究グループは、まず新型コロナウイルスを構成するヌクレオカプシドタンパク質（NP）を、梁教授の保有技術であるコムギ胚芽無細胞法を応用した病原体タンパク質合成法で大量に調製しました（図 2）。次に、これを免疫原としてマウスに接種することで、NP に対するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを 144 株樹立することに成功しました。この中から新型コロナウイルス抗原のみを特異的に認識する抗体を産生するハイブリドーマをスクリーニングしたところ、そのうちの 20 株が新型コロナウイルスのみを検出するモノクローナル抗体を産生していることが分かりました。

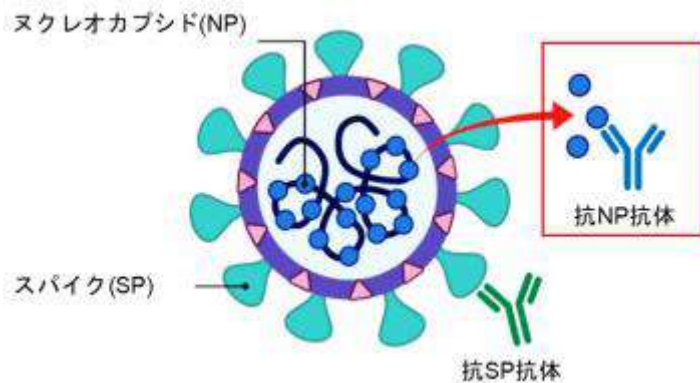


図2 新型コロナウイルスの構造と今回開発した抗体の標的

これらの抗体が認識する部位についても既に明らかにしており、各国で分離されている新型コロナウイルス株間においても保存されていることを確認しています。したがって、今回取得した抗体は、新型コロナウイルスを網羅的に検出できる優れた特性を有することが示唆されました。一方で、この認識部位は近縁のコロनावirusとは類似性が低く、実際に本抗体は他のヒトコロナウイルスとは全く反応せず、新型コロナウイルスとのみ反応することが明らかになりました。また、バイオレイヤー干渉法技術を用いた、抗原抗体相互作用解析により、これらの抗体は抗原タンパク質である NP に対して高い親和性を有することが分かりました。加えて、これらの抗体のうち 6 株は、免疫染色や ELISA 法(*3)などにも使用できる高品質の抗体であることがわかりました。

今後の展開

免疫学的手法を応用した検査キットの開発には、そのキットに用いられる抗体が病原体を正確に認識できるかどうか依存しています。現在、まだこのキットの開発には着手できていない状況ですが、今後、この高性能な抗体を用いることで、新型コロナウイルスのみを簡単・迅速に検出できるイムノクロマトキットの開発が期待されます。ウイルス抗原タンパク質を検出できる簡易イムノキットが構築できれば、特別な装置を必要とせず、外来やベッドサイドで、簡単な操作で短時間にウイルスを検出することが可能です。今後、迅速診断法を確立し、精度の向上を図ることができれば、PCR 検査との感度比較を行った上で、PCR 検査前のスクリーニング検査として使用できる可能性があります。

日本語原文

https://www.yokohama-cu.ac.jp/amedrc/news/202004ryo_covid_1.html

