

新型コロナウイルスに対する中和抗体を 簡便かつ迅速に測定できる新たな手法の開発に成功

横浜市立大学大学院医学研究科 微生物学の梁 明秀教授、宮川 敬講師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) に対する中和抗体を、感染性ウイルスを用いることなく、簡便かつ迅速に測定できる新しい手法の開発に成功しました。

今回開発した方法は、感染性を有する生ウイルスやゲノムを含んだ擬似ウイルスを使用しないため、危険な操作が不要で、3 時間以内に中和抗体の量を測定することが可能です。これまで多検体の解析が困難であった新型コロナウイルスに対する中和抗体の測定が、簡便かつ短時間に可能となることが期待されます。

研究の背景

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の感染者数は世界全体で 1000 万人を超え、死者数が 50 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。パンデミックの進行に伴い、集団の中の一部が感染防御免疫を獲得しているため、個人の免疫状態を明らかにする検査が必要です。現在、抗 SARS-CoV-2 中和抗体 (nAb) の存在の同定には、ウイルス中和試験が多く用いられています。しかしながら、試験期間が 4~5 日かかる低スルーット性や、実施に感染力のある生ウイルスを使用するため、バイオセーフティレベル 3 (BSL-3) 設備を備えた特殊な実験室が必要であるほか、多検体の解析に危険が伴うなどの問題があります。

これらの問題を克服するため、遺伝子組換えレンチウイルスベクターを用いた中和試験が代替法として使用されていますが、この手法でも判定に少なくとも 2~3 日かかるため、迅速性が低く、遺伝子組換えウイルスを使用するため、特別な実験室と熟練の検査員が必要となります。そのため、上記の中和試験に代わるハイスルーットな機能性抗体検査を開発する必要があります。

研究の内容

研究グループは、COVID-19 回復期患者および不顕性感染者の血清中に含まれる、中和抗体を定量的かつ迅速に測定できる「hiVNT システム」を構築しました (図 1)。実際の感染性ウイルスや遺伝子組換えウイルスを使用せず、ウイルスの殻だけからなる、ウイルス様粒子 (VLP) を使用することで、特殊な実験室や設備を

必要としません。

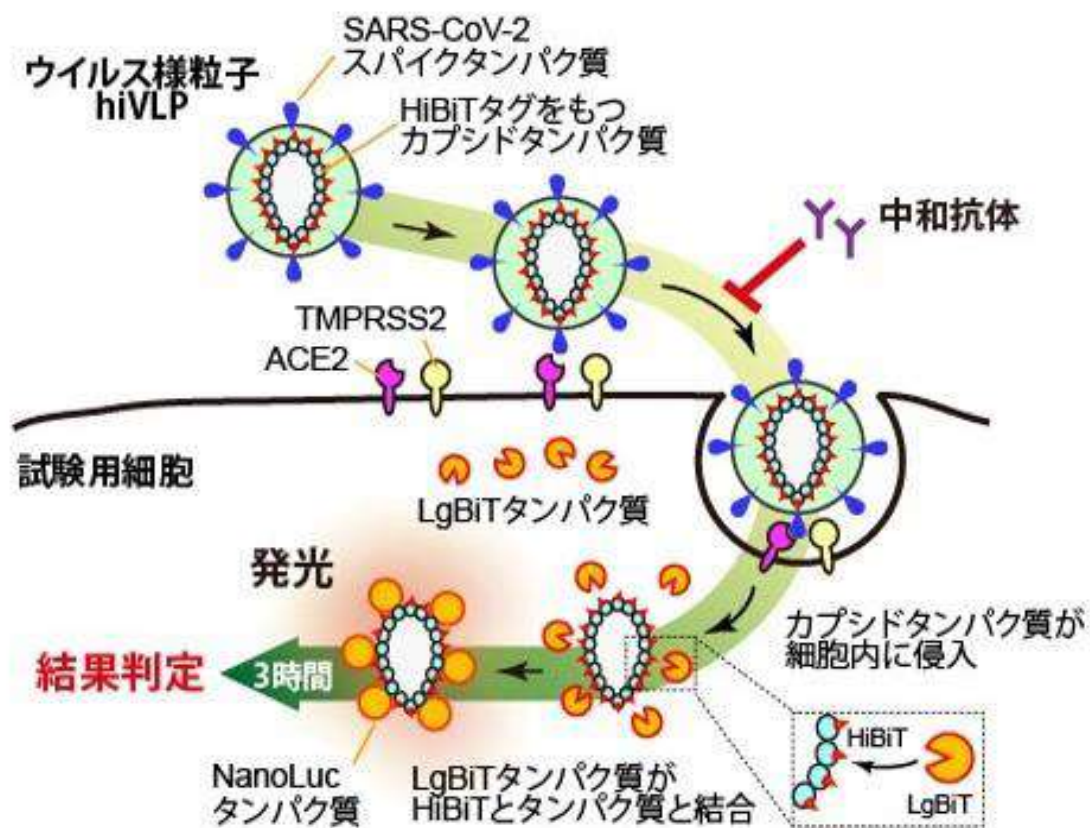


図1 新規中和アッセイ hiVNT システム

本研究グループが開発した hiVNT システムは、表面に SARS-CoV-2 スパイクタンパク質を、HiBiT タグ付けされた VLP と組み合わせて利用します。この VLP (hiVLP) は、LgBiT を安定的に発現する VeroE6/TMPRSS2 細胞に侵入した場合、容易に定量することができます。VLP 表面上のスパイクタンパク質が、ヒト細胞のアンギオテンシン変換酵素-2 (ACE2) 受容体に結合すると、VLP 膜と宿主細胞の膜が融合し、VLP を構成するカプシドタンパク質が細胞内に取り込まれます。すると、HiBiT と LgBiT が相互作用して NanoLuc 発光酵素が形成されます。したがって NanoLuc 酵素の発光を指標に、わずか 3 時間で VLP の細胞侵入量を測定できます。中和抗体を含む血清と VLP を同時に添加すれば、この発光は減少することになります。実際に COVID-19 の回復期患者血清 11 例を用いた検証では、すべての例で NanoLuc 発光の顕著な減少が見られました (図 2)。

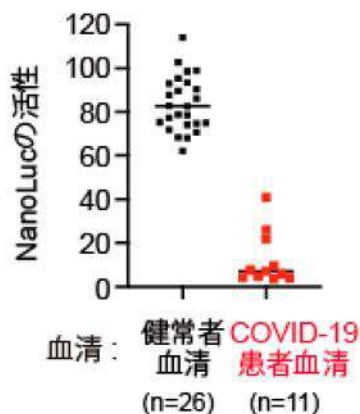


図2 患者血清を用いた検証データ

さらに hiVNT システムは、従来の検査法とほぼ同様の中和活性データを得ることができます(図3)。この検査法を駆使すれば、SARS-CoV-2 への免疫応答の動態や地域における感染の拡がり方を調べる多検体解析が可能になると考えられます。また、血清療法に貢献できる回復期患者の選定や、防御免疫保持の確認など、感染を広げるリスクの低下措置が可能になります。

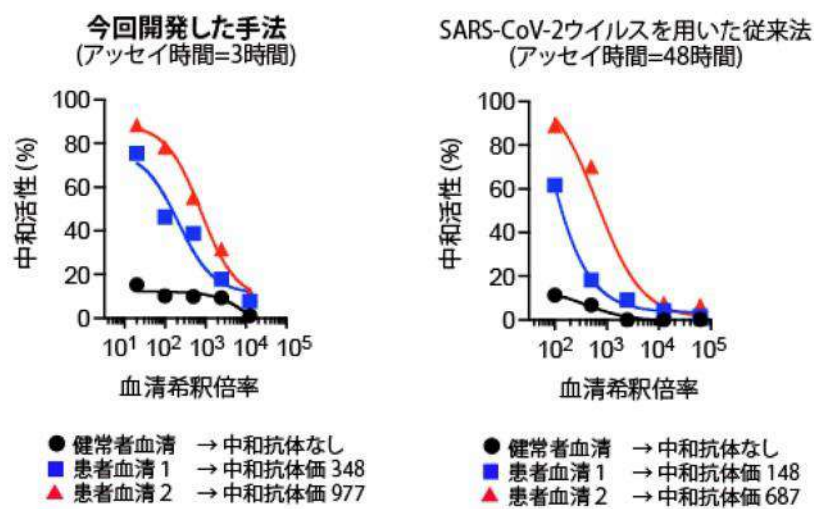


図3 従来法との比較データ

今後の展開

本研究では、ハイスループット中和試験法 hiVNT システムを確立しました。本手法は、症候性または無症候性 COVID-19 感染からの回復期血清中の SARS-CoV-

2 中和抗体の迅速定量のための単純、高スループット分析システムです。今後、本手法は防御免疫を持つ個人の同定、集団感受性研究に関する疫学的研究、治療効果やワクチン評価にも役立つと考えています。

論文情報

タイトル: Rapid quantitative screening assay for SARS-CoV-2 neutralizing antibodies using HiBiT-tagged virus-like particles

雑誌: medRxiv (preprint)

DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.07.20.20158410>.

日本語原文

https://www.yokohama-cu.ac.jp/amedrc/news/202007ryo_covid_hibit.html

文 JST 客観日本編集部